
Mikrobiologisk analys för biostabilt dricksvatten

Ledningsnät, vattentorn och monokloramin

Mikael Danielsson
Linda Holmer
Daniel Hellström
Caroline Schleich
Alexander Keucken
Josefin Barup
Lena Meyer-Lind
Sandy Chan
Tage Rosenqvist
Catherine J. Paul
Peter Rådström

Svenskt Vatten

UTVECKLING

Svenskt Vatten Utveckling (SVU) är kommunernas eget FoU-program om kommunal VA-teknik. Programmet finansieras i sin helhet av kommunerna. Programmet lägger tonvikten på tillämpad forskning och utveckling inom det kommunala VA-området.

Författarna är ensamt ansvariga för rapportens innehåll, varför detta ej kan åberopas såsom representerande Svenskt Vattens ståndpunkt.

Svenskt Vatten Utveckling

Svenskt Vatten AB

POSTADRESS BOX 14057, 167 14 Bromma

BESÖKSADRESS Gustavslundsvägen 12, 167 51 Bromma

TELEFON 08-506 002 00

E-MAIL svensktvatten@svensktvatten.se

www.svensktvatten.se

RAPPORTENS TITEL	Mikrobiologisk analys för biostabilt dricksvatten. Ledningsnät, vattentorn och monokloramin
TITLE OF THE REPORT	Microbial analysis for biostable drinking water. Distribution systems, water towers and monochloramine
FÖRFATTARE	Mikael Danielsson, Lunds universitet och Norrvatten, Linda Holmer och Daniel Hellström, Norrvatten, Caroline Schleich och Alexander Keucken, Vivab, Josefin Barup och Lena Meyer-Lind, VA SYD, Sandy Chan, Sydvatten, Tage Rosenqvist, Catherine J. Paul och Peter Rådström, Lunds universitet
RAPPORTNUMMER	2022-9
ANTAL SIDOR	97
SAMMANDRAG	Studier i Lund, Storstockholm och Varberg har visat hur riktad flödescytometri kan användas för att övervaka och förstå de processer som avgör dricksvattnets biostabilitet i ledningsnätet. Dna-analys visade bland annat att när monokloramin togs bort som desinfektionsmedel för vattentransporten så minskade mängden oönskade bakterier i ledningsnätets biofilm, medan de goda bakterierna ökade.
SUMMARY	Studies in Lund, Stockholm and Varberg demonstrated how targeted FCM analysis can be used to monitor and understand the biostability of drinking water in the distribution system. Complementary taxonomic DNA analysis showed that the phasing-out of monochloramine reduced unwanted bacteria in the biofilm and increased the presence of "microbial dark matter".
SÖKORD	Biofilm, biostabilitet, dricksvattendistributionssystem, dricksvattenkvalitet, flödescytometri, mikrobiom, monokloramin, vattentorn
KEYWORDS	Biofilm, biostability, drinking water distribution system, drinking water quality, flow cytometry, microbiome, monochloramine, water tower
MÅLGRUPPER	VA-organisationer, forskare och konsulter
RAPPORT	Finns att hämta hem som pdf från Vattenbokhandeln. https://vattenbokhandeln.svensktvatten.se/
UTGIVNINGSÅR	2022
UTGIVARE	© Svenskt Vatten AB
REFERENS	Danielsson M., Holmer L., Hellström D., Schleich C., Keucken A., Barup J., Meyer-Lind L., Chan S., Rosenqvist T., Paul C.J. och Rådström P. (2022). Mikrobiologisk analys för biostabilt dricksvatten. Ledningsnät, vattentorn och monokloramin. SVU-rapport 2022-9. Stockholm, Svenskt Vatten.

Om projektet

PROJEKTNUMMER	19-102
PROJEKTETS NAMN	Rationell mikrobiell analys för biostabilt dricksvatten
PROJEKTETS FINANSIERING	Svenskt Vatten Utveckling, Norrvatten, SVOA, Vivab, Sweden Water Research och MSB

Förord

Initiativet till detta projekt kom från Norrvatten där man hade intresse av att undersöka biostabiliteten i distribuerat dricksvatten med bland annat flödescytometri (FCM). Befintliga metoder hade inte hjälpt dem att förstå och åtgärda de årligen återkommande problemen med förhöjda halter av heterotrofa bakterier i distributionssystemet. Norrvatten misstänkte att problemet delvis var kopplat till ett specifikt vattentorn. Detta blev startskottet till ett större FCM-projekt tillsammans med Stockholm Vatten och Avfall (SVOA), Sweden Water Research (SWR), Sydvatten, VA SYD och Vivab, i syfte att öka kunskapen om biofilmens inverkan på dricksvattenkvaliteten, med särskilt fokus på distributionsstörningar, kvalitetsåtgärder och stagnant vatten.

Tack vare det stora engagemanget från deltagande dricksvattenproducenter har utfallet av projektet överträffat förväntningarna. Arbetet har inkluderat många personalgrupper såsom drift- och laboratoriepersonal samt personal som arbetar med ledningsnät och reservoarer. Förutom de planerade studierna har ytterligare två delstudier inkluderats i projektet. Den första studien behandlade ett temporärt byte av vattenverk och därigenom den unika möjligheten att studera biofilmens respons på ett nytt och annorlunda dricksvatten. Den andra studien handlade om biofilmsprovtagning i ett vattentorn som tömdes på dricksvatten. Provtagningen krävde stora förberedelser för att garantera drift, hygien och säkerhet.

Det tidigare samarbetet med Vivab och en planerad utfasning av monokloramin gav projektet en gedigen start. Genom samverkan med Totalförsvarets forskningsinstitut (FOI) i Umeå fick vi möjlighet att studera biofilmens anpassning till ett monokloraminfritt dricksvatten med avancerad dna-analys. Den oväntat kraftiga biofilmsresponsen blev en utmaning för Vivab som noggrant följde utvecklingen. Att även måttliga mängder monokloramin så tydligt selekterade fram oönskade bakterier på bekostnad av goda bakterier kommer att bidra till ifrågasättandet av monokloramin.

Förutom medförfattarna vill jag tacka följande personer som bidragit till projektet: Henrik Aspegren och Markus Fröjd, SWR, Johan Celin, Sydvatten, Filip Hyllén och Petra Larsson, VA SYD, Susanne Lindhe, Markus Möller och Ebru Poulsen, SVOA, Jon Ahlinder, Björn Brindefalk, Ingrid Dacklin, Mats Forsman, Emelie Näslund Salomonsson och David Sundell, FOI, samt Kristjan Pullerits som är f.d. SWR-doktorand vid Lunds universitet.

Peter Rådström,
Professor emeritus, Lunds universitet
Projektledare

Innehåll

Förord.....	2
Sammanfattning.....	5
Summary	6
Förkortningar.....	7
1 Introduktion	8
1.1 Syfte och mål.....	10
1.2 Projektupplägg och frågeställningar	10
2 Material och Metoder.....	12
2.1 Lunds distributionssystem.....	12
2.2 Storstockholms distributionssystem.....	14
2.2.1 Norra Storstockholm	14
2.2.2 Södra Storstockholm.....	15
2.3 Varbergs distributionssystem	15
2.4 Konventionell analys	17
2.5 FCM-analys.....	18
2.6 ATP-analys	19
2.7 Partikelanalys	20
2.8 Dna-analys	20
3 Resultat	22
3.1 Lundastudien	22
3.1.1 Förändring av bakteriemängd	22
3.1.2 Förändring av bakteriesammansättning	25
3.1.3 Delsträckan Ringsjöverket till Källby VV.....	26
3.1.4 Egenkontrollparameterar	28
3.1.5 Jämförelse av FCM-data	30
3.1.6 Byte av vattenverk.....	31
3.2 Storstockholmsstudien.....	33
3.2.1 Reservoar 433.....	36
3.2.2 ATP-analys i reservoar 433.....	37
3.2.3 Partikelanalys i reservoar 433	38
3.2.4 Taxonomisk dna-analys	38
3.2.5 Södra Storstockholm.....	40
3.3 Varbergsstudien	42
3.3.1 Utgående dricksvatten från vattenverket.....	42
3.3.2 Ledningsnätet.....	43
3.3.3 HPC-analys på ledningsnätet.....	47
3.3.4 ATP-analys på ledningsnätet	48
3.3.5 Taxonomisk dna-analys.....	49
3.3.6 Förändring av bakterieklaser	50
3.3.7 Bakterieidentifiering.....	51
3.3.8 Biofilmens sammansättning.....	52
4 Diskussion	55
4.1 Biostabiliteten i distribuerat dricksvatten.....	55
4.1.1 Ett distribuerat vattenpaket.....	57
4.1.2 FCM och HPC.....	57
4.2 Cyklisk dricksvattenkvalitet.....	59
4.2.1 Det problematiska vattentornet.....	60
4.2.2 Biofilmszoner i vattentorn.....	61
4.3 Utfasning av monokloramin i Varberg.....	62

4.3.1 Utfasning av nitrifikationsbakterier.....	62
4.3.2 Kumulativ biofilmsfrisättning.....	63
4.3.3 HPC-frisättning.....	64
4.3.4 Opportunistiska patogener.....	64
4.3.5 Biofilmens ”microbial dark matter”	65
4.4 Summering och slutsatser.....	66
Litteraturförteckning	68
Bilaga A Lundastudien	76
Bilaga B Storstockholmsstudien.....	90
Bilaga C Varbergsstudien	94

Sammanfattning

Studier i Lund, Storstockholm och Varberg har visat hur riktad flödescytometri kan användas för att övervaka och förstå de processer som avgör dricksvattnets biostabilitet i ledningsnätet. Dna-analys visade bland annat att när monokloramin togs bort som desinfektionsmedel för vattentransporten så minskade mängden oönskade bakterier i ledningsnätets biofilm, medan de goda bakterierna ökade.

Kvalitetsanalyser görs dagligen på utgående vatten från vattenverken, och dessutom tas stickprov från ledningsnät och reservoarer. Det finns gränsvärden för indikatorbakterier, bland annat odlingsbara heterotrofa bakterier (HPC). Men HPC-analys påvisar bara en mycket liten del av bakterierna eftersom de flesta inte är odlingsbara. Indikatorbakterier är i många fall harmlösa, men ses som ett tecken på att det också kan finnas sjukdomsframkallande bakterier.

Projektet visar hur flödescytometri (FCM) och dna-sekvensering kan komplettera HPC-analys och ge en korrekt och mer detaljerad beskrivning av det mikrobiologiska samspelet mellan rening och distribution av dricksvatten. FCM kan ge information om totala antalet bakterier, andelen levande och döda bakterier samt om dna-innehållet i bakterierna. Mycket små bakterier med lågt dna-innehåll kallas ibland "microbial dark matter" eftersom de troligen utgör en stor del av Jordens biomassa. Dessa ultramikrobakterier är goda bakterier och ett viktigt inslag i en rik och naturlig biofilm i ledningsnätet.

I Lund distribueras ett relativt biostabilt dricksvatten. FCM visade här oförändrade andelar över året av bakterier med lågt, medelhögt och högt dna-innehåll. Vid högre vattentemperaturer ökade antalet bakterier, men sammansättningen ändrades inte. Med ökat distributionsavstånd minskade andelen bakterier med högt dna-innehåll, medan bakterier med lågt och medelhögt dna-innehåll ökade. Ett kortvarigt byte av vattenverk påverkade inte nämnvärt biofilmen i ledningsnätet, vilket visar på biostabiliteten hos vattnet.

I norra Storstockholm belystes utmaningen att upprätthålla vattenkvaliteten i ett vattentorn som under många år haft problem med höga halter av HPC under sensommar och höst. Med en ny FCM-styrd drifrutin kunde kvalitetsproblemet elimineras. Dna-analys av HPC-kolonier, reservoarvatten och biofilm från tornet visade på riklig förekomst av den harmlösa bakterien *Polaromonas*, något som synliggör HPC-metodikens svaghet. Man såg också att närvaron av monokloramin selekterade fram oönskade bakterier som påvisades i vattentornets biofilm. I södra Storstockholm belystes den biologiska instabiliteten i distributionszoner som växlade mellan klorfritt och klorpåverkan.

I Varberg analyserades biofilmens anpassning till ett monokloraminfritt dricksvatten. Tack vare historiska FCM-data kunde man följa biofilmens utveckling i sexton distributionspunkter efter utfasningen av monokloramin. Kompletterande dna-analys visade den gradvisa anpassningen av biofilmen till ett mer artrikt ekosystem i ledningsnätet. Heterotrofa bakterier, potentiella patogener och nitritbildande bakterier minskade i mängd, medan tidigare klorundertryckta ultramikrobakterier ökade i mängd.

Det är inte biologiskt möjligt och inte heller önskvärt att distribuera ett biostabilt dricksvatten som inte stödjer mikrobiell tillväxt. Målet bör i stället vara ett resiliellt mikrobiellt ekosystem som kan hantera distributionens utmaningar utan att dricksvattenkvaliteten och säkerheten försämras.

Summary

In this project, we have shown how targeted flow cytometry (FCM) can be used to monitor and evaluate microbial processes in the drinking water distribution system (DWDS). The aim was to identify overall factors that affect the biostability in four different DWDSs and to propose measures to maintain drinking water quality. The effects of primary and secondary disinfection were examined more in depth.

In the city of Lund, a relatively biostable drinking water is distributed. FCM showed here unchanged proportions of bacteria with low (L-LNA), medium (H-LNA) and high (new-HNA) amounts of DNA over the year in a specific sample point of the DWDS. At higher water temperatures, as expected, an increased number of viable bacteria was observed, but the bacterial composition did not change. With increasing distribution distance, the proportion of new-HNA decreased, from 80 % to 60 %, while L-LNA and H-LNA increased. A temporary change of waterworks from Ringsjöverket to Vombverket did not seem to affect the biofilm. The major alteration took place in the main pipe to Lund, where the effect of hypochlorite from Ringsjöverket selectively doubled new-HNA to 80 %, while the smaller LNA-bacteria decreased to 10 % each.

In the city of Stockholm, the challenge of maintaining water quality in a water tower that for many years had problems with high levels of culturable heterotrophic bacteria (HPC) was highlighted. Patterns in data from automatic FCM on outgoing reservoir water coincided with high HPC values, and with a new FCM controlled operating routine, the quality problem could be eliminated. DNA analysis of HPC colonies, reservoir water and biofilm samples from the tower showed the presence of *Polaromonas*, a harmless bacterium that highlights the weakness of the HPC methodology. In addition, the presence of monochloramine (MCA) selected undesired bacteria that were detected in the biofilm zones of the water tower. In the south of Stockholm, the biological instability in distribution zones with alternated MCA exposure was studied.

In the city of Varberg, the adaptation of the biofilm to a MCA-free drinking water was analyzed. Thanks to historical FCM data, it was possible to follow the response and development of the biofilm in sixteen DWDS points after the removal of MCA. Complementary DNA-analysis demonstrated the gradual adaptation of the biofilm to a more homogeneous and species-rich ecosystem in the DWDS. HPC bacteria, potential pathogens and nitrite-producing bacteria decreased in amounts. The previously MCA suppressed, harmless LNA-bacteria increased in number. The smaller LNA-bacteria are sometimes called “microbial dark matter” because they probably make up a large part of the earth’s biomass and strongly contribute to biodiversity.

In conclusion, these studies show how FCM and DNA-sequencing can give us an accurate and detailed description of the microbial dynamics and complexity in the interplay between treatment and distribution of drinking water. The idea of being able to distribute a biostable drinking water that does not support microbial growth may seem appealing, but this is not biologically possible nor desirable. The goal should instead be to support the establishment of a resilient microbial ecosystem that can handle the challenges of distribution without deteriorating drinking water quality and safety. A number of countries in Europe have shown that it is possible to distribute a biostable and safe drinking water without the addition of MCA.

Förkortningar

AOB	ammoniumoxiderande bakterier
ASV	amplikonsekvensvariant
ATP	adenosintrifosfat
BALO	från engelskans <i>Bdellovibrio</i> and like organisms
cfu	kolonibildande enheter (från engelskans colony forming unit)
dna	deoxiribonukleinsyra (från engelskans deoxyribonucleic acid)
DWDS	dricksvattendistributionssystem (från engelskans drinking water distribution system)
EKP	egenkontrollprogram
FCM	flödescytometri
H-LNA	bakteriefraktion av intakta bakterier med högre LNA dna-mängd
HNA	bakterier med högt dna-innehåll (från engelskans high nucleic acid)
%HNA	procent av bakterier med högt dna-innehåll
%HNA(ICC)	procent intakta bakterier med högt dna-innehåll
%HNA(TCC)	procent av totalantalet bakterier med högt dna-innehåll
HPC	odlingsbara heterotrofer (från engelskans heterotrophic plate count)
ICC	intakta/viabla bakterier (från engelskans intact cell count)
L-LNA	bakteriefraktion av intakta bakterier med lägre LNA dna-mängd
LNA	bakterier med lågt dna-innehåll (från engelskans low nucleic acid)
Mb	megabaspar
MCA	monokloramin (från engelskans monochloramine)
MPS	massiv parallellsekvensering
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
new-HNA	en ny HNA-fraktion av intakta bakterier som tar hänsyn till L- och H-LNA
NOM	naturligt organiskt material
NTM	icke tuberkulösa mykobakterier (från engelskans nontuberculous mycobacteria)
OTU	operativ taxonomisk enhet (från engelskans operational taxonomic units)
pcr	polymeraskedjereaktion (från engelskans polymerase chain reaction)
R2A	odlingsmediet Reasoner's 2 agar
TCC	totala antalet bakterier inklusive döda (från engelskans total cell count)
VBNC	livskraftiga men icke odlingsbara mikrober (från engelskans viable but non-culturable)
YEA	jästextraktagar (från engelskans yeast extract agar)

1 Introduktion

Våra kommunala VA-verksamheter producerar och distribuerar årligen 0,9 miljarder kubikmeter dricksvatten med kvalitetskrav som kan jämföras med de för övriga livsmedel (SLVFS 2001:30; Svenskt Vatten 2020). Idag finns stor sakkunskap om hur man utifrån olika råvattenkvaliteter effektivt renar yt- och grundvatten innan färdigt dricksvatten distribueras till konsumenterna. Det finns också stor kännedom om hur man hydrauliskt distribuerar vatten till konsumenten via komplexa ledningssystem med en totallängd på 84 000 km (Svenskt Vatten 2020). Mer kunskap behövs dock både om hur olika råvatten och reningsprocesser påverkar dricksvattenkvaliteten i olika delar av distributionssystemet, och om hur man kan upprätthålla och kontrollera en stabil vattenkvalitet genom hela nätet.

Enligt Livsmedelsverkets föreskrifter om dricksvatten (SLVFS 2001:30) så ska VA-verksamheterna producera och distribuera ett dricksvatten som inte riskerar människors hälsa. Detta innebär att ett färdigberett dricksvatten inte ska bidra till olämplig mikrobiell tillväxt och oönskade kvalitetsförändringar under passagen genom ledningsnätet. I stora distributionssystem med dricksvatten från ytvattenverk används traditionellt monokloramin för att förhindra återväxt och kvalitetsförändringar (LeChevallier & Au 2004). I Sverige uppskattar man att 2,85 miljoner konsumenter får monokloraminbehandlat dricksvatten (Svensson 2014). Nackdelar med att använda monokloramin är bland annat; (i) bildandet av toxiska desinfektionsbiprodukter, (ii) selektion av kloresistenta patogener, (iii) selektion av ammoniumoxiderande bakterier (AOB) som bildar skadligt nitrit, (iv) risk för ledningskorrosion och (v) smak- och luktproblem (Bertelli et al. 2018; Bautista-de los Santos et al. 2016; Donohue et al. 2019; Prest et al. 2016; Svensson 2014; Vreeburg & Boxall 2006; Waak et al. 2019).

Bruce E. Rittmann och Vernon L. Snoeyink (1984) beskrev redan på 1980-talet hur man teoretiskt skulle kunna uppnå ett "biostabilt" färdigberett dricksvatten, där den mikrobiella tillväxten begränsas, genom att reducera halterna av mikrobiella energi- och substratmolekyler såsom assimilerbart organiskt kol (AOC) och ammonium. Ett flertal odlingsbaserade bioanalytiska metoder utvecklades snart för att bestämma AOC-halter, biofilmsformation och bakteriell tillväxtpotential (Lavonen et al. 2018). Biostabilitet är idag ett vedertaget begrepp som alltmer förfinats tack vare framför allt dna-baserad flödescytometri (FCM) och ökad taxonomisk kunskap om biofilmer (Favere, 2021; Flemming, 2002; Jefferson, 2004; Prest et al. 2016). Att producera och distribuera ett dricksvatten som inte stödjer mikrobiell tillväxt överhuvudtaget är tyvärr inte praktiskt möjligt. Dock kan man förlänga dricksvattnets hållbarhet, dess "bäst före-datum", via beredningar och distributionssystem som stabiliserar den mikrobiella kvaliteten, dvs. sådana som minimerar oönskad mikrobiell tillväxt i distributionssystemet. Vi vet idag att endast några promille av vattenorganismerna är odlingsbara och att den icke-odlingsbara gruppen omfattar flera kvalitetsförsämrande och sjukdomsframkallande mikrober. Vi och andra menar därför att begreppet biostabilitet behöver vidgas till att omfatta samtliga mikrobiologiska händelser och processer av betydelse i ledningsnätet. Vattnets biostabilitet påverkas av både odlingsbara och icke-odlingsbara mikrober, av mängden och sammansättningen av mikroorganismer i färdigberett dricksvatten och av mängden och sammansättningen av biofilmsfloran i ledningsnätet (Chan et al. 2019; Pullerits et al. 2020b). Därtill kommer faktorer som mängden biotillgängligt organiskt material (Lavonen et al. 2018; Pick et al. 2019), fosfor, klor och kväveföreningar, samt flöden, vattentemperaturer, uppehållstider, rörmaterial, läckage, m.m., vilka alla har en generell påverkan på både biostabilitet och vattenkvalitet (Prest et al. 2016; Schleich et al. 2020; Stenström & Szewzyk 2004). De uppräknade faktorerna påverkar tillsammans olika mikrobers tillväxtpotential och deras upptag och frisättning av specifika kemiska

föreningar vilket i sig skapar nya förutsättningar för andra mikroorganismer nedströms i ledningsnätet.

Pullerits et al. (2020b) har visat att biofilmen i ett distributionssystem med monokloramin förändrades dramatiskt i ett segment på bara några få hundra meter markledning pga. det tillskott av ammonium i färdigberett dricksvatten som fås när monokloramin bereds. De energirika ammoniumjonerna gynnar AOB som får möjlighet att dominera biofilmsfloran och bilda nitrit. Nitriten gynnar nitritoxiderande bakterier som gradvis kommer att ersätta AOB-floran i ledningsnätet under bildandet av nitrat. Nitratet kommer i sin tur att gynna denitrifikationsprocesserna i biofilmen. Motsvarande biogeokemiska kretslopp finns även för andra kemiska ämnen såsom fosfor-, kol- och svavelföreningar.

Oavsett producerad vattenkvalitet kommer alltid vissa arter av mikroorganismer att frodas i distributionssystemet på bekostnad av andra. Särskilt intressant är det som sker i gränsskiktet mellan fasta ytor och vatten, dvs. i biofilmsskiktet. Minst 98 % av den totala biomassan i distributionssystemet är biofilmsorganismer som återfinns på ytor och partiklar (Liu et al. 2014) och antalet biofilmbakterier kan uppgå till 100 miljoner fastväxta bakterier per cm² röryta (Flemming 2002). Det har nyligen visats att biofilmsfloran i distributionssystemet består av minst hundratalet bakteriearter som frodas i ett metabolt samspel (Chan et al. 2019; Cruz et al. 2020; Potgieter et al. 2020; Pullerits et al. 2020b). Mycket talar för att de flesta aktiva mikroorganismer i distributionssystemet växer till i en skyddande biofilm och inte som enskilda, s.k. planktoniska, celler i vattenfasen (Flemming 2002; Jefferson, 2004; Goldford et al. 2018; Chan et al. 2019; Pullerits et al. 2020b). Biofilmsfloran i ledningsnätet har stor motståndskraft mot yttre påverkan t.ex. desinfektion och spolning. Den består framför allt av oligotrofa bakterier, alltså bakterier som är väl anpassade till låga temperaturer och näringsfattiga vatten (Jie et al. 2017).

Traditionellt har antalet odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier, s.k. odlingsbara heterotrofer (HPC), använts för att följa kvaliteten hos distribuerat dricksvatten och bedöma beredningseffektivitet exempelvis vid desinfektion (Bartram et al. 2003). HPC-metodiken kan härledas till mitten av 1880-talet och Robert Koch (Bartram et al. 2003). Tack vare nya mikrobiella odlingsmetoder kunde Robert Koch och andra visa att sandfilter, motsvarande dagens långsamfilter, effektivt reducerade antalet HPC i dricksvatten och förhindrade ett kolerautbrott i den tyska staden Altona 1892 (Knutsson, 2020). Robert Koch rekommenderade att antalet odlingsbara mikroorganismer inte skulle vara fler än 100 kolonibildande enheter (cfu) per ml för att ett vatten skulle bedömas som tjänligt för konsumtion. Detta gränsvärde gäller fortfarande för distribuerat dricksvatten (SLVFS 2001:30). De första formella riktlinjerna för analys av HPC i dricksvatten publicerades 1934 av Storbritanniens hälsoministerium (Anonymous, 1934). Publikationen är känd som ”rapport 71” och beskriver hur man analyserar antalet odlingsbara mikroorganismer i 1 ml vatten vid 22 °C. Senare versioner av rapport 71 lyfter fram vikten av att följa relativa HPC-förändringar över tid och att inte övertolka enskilda provresultat. Man insåg tidigt att kopplingen mellan antalet odlingsbara mikroorganismer och eventuell förekomst av patogener eller fekal kontaminering var svag, och att metoden därför inte kunde användas för att bedöma om vattnet var hälsofarligt eller inte. Donald J. Reasoner och Edwin E. Geldreich (1985) kompletterade 1985 HPC-metodiken med en ny standard baserad på odlingsmediet, Reasoner’s 2 Agar (R2A), med förlängd inkubationstid (5-7 dagar) vid 20 °C. Med det näringsfattiga mediet R2A kan fler oligotrofa HPC-arter som skulle kunna påverka dricksvattenkvaliteten påvisas.

Den nuvarande svenska standarden för långsamväxande bakterier är en modifiering av denna metodik och den Europeiska ISO-standard, EN ISO 6222 (Šlapokas 2020). Efter sju dygns inkubering vid 22±1 °C på jästextraktagar (YEA) ska endast bakteriekolonier räknas, med hjälp av förstoring (helst 10×). Livsmedelsverkets kompetensprovningens verksamhet visar dock att flera analyslaboratorier inte följer detta (Šlapokas 2020).

Några använder mediet R2A istället för YEA, andra räknar även jäst- och svampkolonier, och vissa avviker angående avläsning med tillräcklig förstoring. Detta stärker bilden av att HPC-analys enbart bör användas för att påvisa relativa förändringar och kvalitetsavvikelser i fastlagda provpunkter på ett visst distributionssystem.

1.1 Syfte och mål

Syftet med projektet var att med riktad FCM-analys öka kunskapen om hur dricksvattenkvaliteten hos slutanvändaren påverkas av distributionssystemets mikrobiologiska processer. Målet var att via studier av fyra helt skilda distributionssystem identifiera övergripande faktorer som kan förändra dricksvattenkvaliteten samt föreslå åtgärder för att upprätthålla leveranskvaliteten i alla delar av ledningsnätet. Befintliga åtgärder i ledningsnätet såsom desinfektion och olika flödesförhållanden utvärderades speciellt för att kunna processoptimera distributionen utifrån exempelvis hydrauliska principer.

1.2 Projektupplägg och frågeställningar

Rutinmässiga kvalitetsanalyser görs dagligen på det vatten som går ut från vattenverken. Därutöver tas stickprov från ledningsnät och reservoarer. Andelen mikrobiologiska undersökningar med resultatet ”tjänligt med anmärkning” var 5,0 % år 2019 enligt Svenskt Vattens VA-statistik (Svenskt Vatten 2020). Dessa stickprov är sannolikt inte tillräckliga för att ge en säker helhetsbild av den mikrobiella statusen i ledningsnätet och hur dricksvattenkvaliteten förändras innan vattnet når konsument. I det aktuella projektet har vi framför allt använt FCM för att analysera dricksvattnets biostabilitet och de mikrobiologiska processerna i ledningsnätet. FCM har visat sig ha både den enkelhet och den precision som krävs för att effektivt övervaka den mikrobiologiska vattenkvaliteten ”från råvatten till tappkran” (Buysschaert et al. 2018; Prest et al. 2016; Schleich et al. 2019; Schleich et al. 2020). Metoden ger inte bara information om det totala antalet bakterier och antalet levande/döda bakterier i vattnet utan även om den mikrobiella sammansättningen genom att skapa ett specifikt flödescytometriskt spektra som kan nyttjas för bakteriologisk floraanalys (Chan et al. 2018). Chan (2018) har också med hjälp av massiv parallellsekvensering (MPS) visat att den faktiska taxonomiska bakteriesammansättningen korrelerar med FCMs fluorescensspektra.

I projektet har vi studerat distributionssystemen i Lund (SWR, Sydwater och VASVD), norra Storstockholm (Norrwater), södra Storstockholm (SVOA) och Varberg (Vivab) med molekylärbiologisk analys (ATP, FCM och MPS), partikelanalys, kemisk analys och konventionell vattenanalys. Tanken var att samla in och analysera data från fyra olika dricksvattensystem med olika reningsprocesser och råvattentäkter. Förutom att följa de årliga kvalitetsförändringarna i dricksvattendistributionen i Lund, Storstockholm och Varberg har vi också studerat tre distributionshändelser. Den första händelsen berörde distributionssystemet i Lund som under en period i slutet av 2021 fick sitt dricksvatten från Vombverket istället för Ringsjöverket. Biofilmens eventuella inkompatibilitet med den nya dricksvattenkvaliteten studerades med hjälp av analysdata från 2020 och 2021. Den andra händelsen rörde ett vattentorn i norra Storstockholm som under många år haft problem med höga HPC-halter under sensommaren och hösten. Tack vare FCM kunde nya drifrutiner för vattentornet tas fram och utvärderas. Orsaken till de förhöjda HPC-värdena utreddes med taxonomisk dna-analys. Den tredje händelsen var utfasningen av monokloramin i Varberg januari 2020. Distributionssystemet utvärderades med frekventa FCM-analyser på 16 provtagningspunkter med monokloramin 2018 och 2019 samt utan monokloramin 2020 och 2021. Eftersom det ultrafiltrerade permeatvattnet i Kvarnagårdens vattenverk i Varberg är praktiskt taget cellfritt (Chan

et al. 2019), var det möjligt att följa de faktiska biofilmsförändringarna i olika delar av distributionssystemet med dna-analys. Den nya dricksvattenkvaliteten utvärderades med avseende på bl.a. AOB, HPC, nitritoxiderande bakterier, opportunistiska patogener, järnoxiderande bakterier och harmlösa biofilmsfrämjande bakterier.

Projektets övergripande frågeställningar var:

- Kan man uppnå biostabilitet när kvaliteten på färdigberett dricksvatten varierar?
- Hur påverkas vattenkvaliteten av reservoarer i distributionssystemet?
- Hur påverkas dricksvattenkvaliteten av att monokloramin fasas ut?

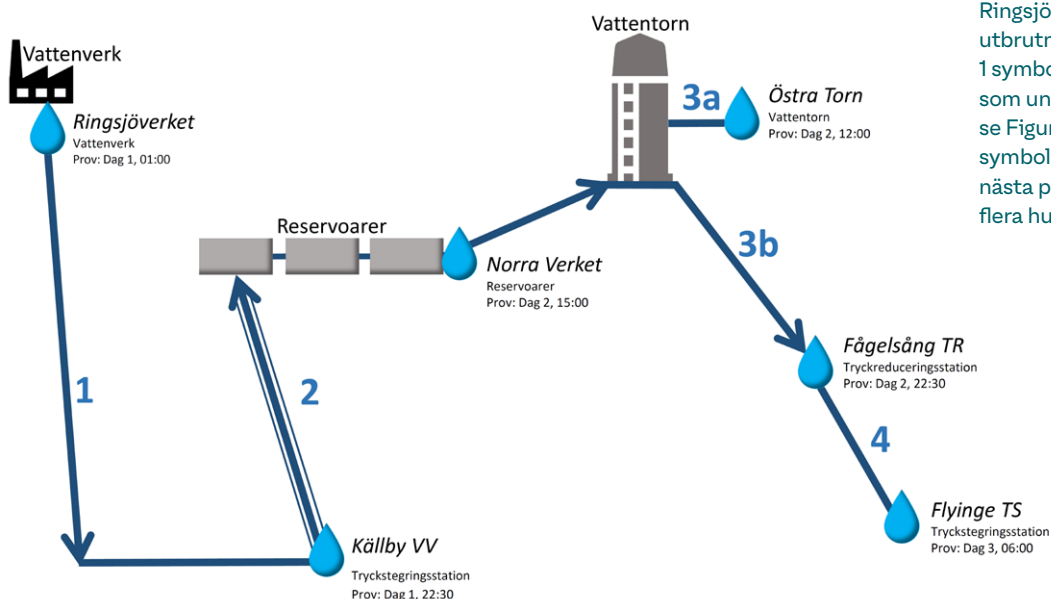
2 Material och Metoder

2.1 Lunds distributionssystem

Sydvatten AB, tillsammans med VA SYD, ansvarar för dricksvattenförsörjningen i delar av Skåne där Sydvatten AB är dricksvattenproducent och VA SYD är distributör. I denna studie ligger fokus på en utvald del av Lunds distributionsnät som utgår från vattenverket, Ringsjöverket. Råvattentäkt till Ringsjöverket är sjön Bolmen i södra Småland och råvattnet transporteras till Ringsjöverket via en 82 km lång tunnel där cirka 8 % grundvatten blandas in. Det inkommande råvattnet till Ringsjöverket behandlas med kemisk fällning med järnklorid, långsamfilter, UV-behandling och primär desinfektion med hypoklorit. Dricksvattnet som distribueras till Lunds stad når den södra delen av staden via en cirka 35 km lång överföringsledning. En del av det vatten som når Lund transiteras genom staden vidare till andra, mindre orter inom och utanför kommunen, bland annat Södra Sandby och Flyinge (Figur 2.1). Vattnets resa från Ringsjöverket till Flyinge tar drygt två dygn.

Provtagningspunkterna i den aktuella studien valdes i syfte att identifiera en sammanhängande längre del av systemet med goda möjligheter till provtagning (Figur 2.1). Målet var att inkludera så många olika anläggningar som möjligt – överföringsledningar, ett varierat ledningsnät i stadsmiljö, tryckstegringsstationer, reservoarer och distribution i större och mindre orter. Följande provtagningspunkter valdes:

- Ringsjöverket, Stehag (utgående vatten från vattenverk)
- Källby VV, Lund (överlämningspunkt från Sydvattentill VASYD, tryckstegringsstation)
- Norra verket, Lund (tryckstegringsstation, lågreservoar)
- Östra torns VT, Lund (tryckstegringsstation, högreservoar)
- Fågelsång TR, Södra Sandby (tryckreduceringsstation)
- Flyinge TS, Flyinge (tryckstegringsstation)



Figur 2.1

Schematisk översikt över provtagningspunkter och delsträckor. Tiderna i figuren anger beräknade rinntider (klockslag) utgående från att vattnet lämnar Ringsjöverket kl. 01:00. Den utbrutna delsträckan vid pil 1 symboliserar ett antal byar som undersöktes speciellt, se Figur 3.4. Den bredare pil 2 symboliserar att vattnet når nästa provtagningspunkt via flera huvudledningar i Lund.

Delsträcka 1 är från Ringsjöverket till Källby VV. Delsträcka 2 är från Källby VV till Norra verket. Delsträcka 3a avslutas i Östra Torns vattentorn, där en viss andel av vattnet når själva reservoaren (slutstation resa A via sträckan 3a) och en viss andel av vattnet enbart tryckstegras och levereras vidare till Fågelsång TR och Flyinge TS (slutstation resa B via sträckorna 3b och 4). Vattnet gör alltså en av två olika resor i studien, A respektive B. Östra torn inkluderades då det var av särskilt intresse att se vad som händer med det mikrobiella innehållet när vattnet uppehåller sig i ett vattentorn.

Provtagningsstider valdes efter vattnets rinntider mellan de olika punkterna för att fånga en så stor andel av samma "vattenpaket" som möjligt. Rinntiderna mellan de olika provtagningspunkterna beräknades med hjälp av en hydraulisk modell. Undantaget var rinntiden mellan Ringsjöverket och Källby VV som fastställdes vid varje provtagningsstillfälle baserat på aktuell produktion vid Ringsjöverket. Reservoaren fylls respektive töms vid fastställda tider under dygnet och provtagning skedde således under tömningstid. Provtagningsstidpunkten för Källby beräknades för att fånga det vatten som senare kommer att fylla på reservoaren vid Norra verket. Detta betyder att provtagningsstiden vid Ringsjöverket har anpassats för att tidsmässigt matcha provtagningsstiden i Källby, så att samma vattenpaket kunde provtas. På samma sätt beräknades även rinntiderna från Norra verket till Östra torn (resa A), från Norra verket till Fågelsång TR och från Fågelsång TR till Flyinge TS (resa B). Undantaget från korrekt provtagningsstid (se Figur 2.1) var Flyinge TS som vid flertalet tillfällen provtogs kl. 07:00 dag 3 (istället för 06:00 dag 3) och Fågelsång TR som provtogs 07:30 dag 3 (istället för 22:30 dag 2). Proverna från Flyinge och Fågelsång anses ändå vara representativa.

I verkligheten hålls inte ett visst vattenpaket intakt genom distributionssystemet utan det sker hela tiden en blandning av vatten som tillförts systemet vid olika tidpunkter, inte minst i en reservoar. Därför går det i praktiken inte att följa ett visst vattenpaket hela vägen från Ringsjöverket till Flyinge. Med hjälp av en hydraulisk modell går det dock att dela upp vattnets resa i delsträckor och få en teoretisk bild av hur stor andel av ett definierat vattenpaket som fortfarande är intakt från en vald punkt till nästa valda punkt.

Ett exempel på hur stora förändringar i ett vattenpaket kan bli, är resan mellan Norra verket och Fågelsång TR (sträcka 3b i Figur 2.1). Av ett definierat vattenpaket som lämnar Norra verket återstår bara 4 % av det ursprungliga vattenpaketet när det kommer till Fågelsång TR och bara 1,2 % i Flyinge TS. Resterande del av vattnet i det ursprungliga vattenpaketet har ersatts med annat vatten. Vi valde därför ett annat angreppssätt och definierade ett nytt vattenpaket som består av "100 % vatten som lämnar Norra verket", oberoende av om vattnet varit i reservoaren eller ej. Av paketet med "100 % Norra verket-vatten" återstår 18 % när vattnet når Fågelsång TR och 5 % när vattnet når Flyinge TS. Om man på samma sätt definierar ett vattenpaket bestående av "100 % Fågelsångsvatten" ut från Fågelsång TR, så är 25 % av detta vatten intakt när paketet når Flyinge TS. Resterande 75 % består av vatten som passerat Fågelsång vid andra tider än den tidpunkt som var föremål för beräkning och provtagning. Modelleringen bidrar till förståelsen av varför vattnets mikrobiella innehåll förändras mellan två provtagningspunkter och ger en större insikt om hur distributionssystemet fungerar.

Lundastudien har bestått av tre delstudier: (1) "*Bussresan*" där vattnets väg från Ringsjöverket till Flyinge följdes under 16 månader (14 provtagningsstillfällen). Samtliga punkter provtogs en gång i månaden från och med februari 2020 till och med juli 2021. (2) Den andra delstudien, *Jämförelse mellan två flödescytometrar*, utfördes på laboratorierna både hos Sydvatten och hos VA SYD i syfte att undersöka FCM-metodens robusthet. (3) Delstudie tre, *Byte av vattenverk*, undersökte hur dricksvattenkvaliteten i Lunds distributionssystem påverkades av att under ungefär en veckas tid få sitt dricksvatten från Vombverket istället för Ringsjöverket. Proverna transporterades efter provtagning till laboratorierna hos Sydvatten och VA SYD. Samtliga analyser utfördes i egen regi. Alla prover från provtagningsrundorna är analyserade med FCM enligt det gemensamma protokollet (se kapitel 2.4). Analyserna har utförts av antingen Sydvatten, VA SYD eller av båda parter. Övriga analyser (EKP-parametrar) har utförts av VA SYD.

2.2 Storstockholms distributionssystem

2.2.1 Norra Storstockholm

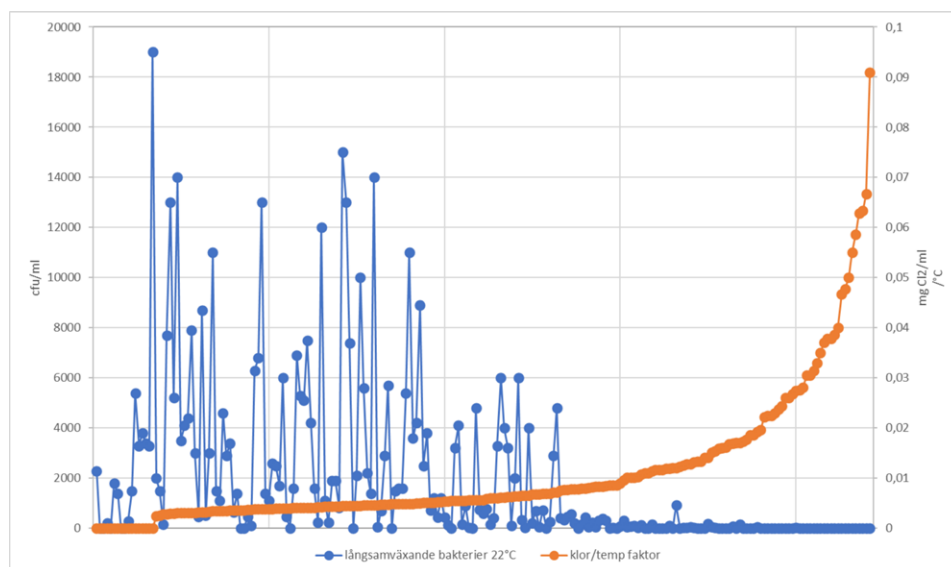
Norrvatten producerar dricksvatten för 700 000 människor i norra Storstockholm med konventionell beredning omfattande kemisk fällning, sandfiltrering, kolfiltrering, UV-behandling och tillsats av monokloramin (0,25 – 0,34 mg/l). Bakterieantalet i vattentäkten, Mälaren, och alla beredningssteg i vattenverket fram till färdig produkt har analyserats med FCM sedan 2017 (Danielsson 2018). Detta har lett till en systematisk årlig kartläggning av bakterienivåerna i Görvålverket. FCM analyserna har sedan slutet av januari 2020 utökats till att även omfatta nio provtagningspunkter i distributionsnätet (Figur 2.2). Syftet har varit att kartlägga bakterieförändringarna i dricksvattnet längs med två huvudledningar till en gemensam slutpunkt, pumpstation 691 med en uppehållstid på 4-6 dygn. Fokus har varit reservoar 433, ett problematiskt vattentorn. Reservoaren är ett genomströmningstorn byggt 1993 med kombinerad inlopp- och utloppsledning. Tornet har två separata bassänger; en inre och en yttre bassäng på 9 000 m³ vardera. Referenstornet, reservoar 450, är till sin utformning sett mycket lik reservoar 433 med liknande avstånd från vattenverket. Vattenvolymen är något större med en inre och yttre bassäng på 13 000 m³ respektive 12 000 m³.



Figur 2.2

De nio provtagningspunkterna på Norrvattens distributionsnät samt utgående dricksvatten från Görvålsvattenverk. Den norra huvudledningen går via pumpstation 211, reservoar 433 (ett problematiskt vattentorn) innan det går vidare till pumpstationerna 660, 662 och 691. Den södra huvudledningen går via vattentornen 450 och 459 samt pumpstationerna 210 och 661 innan dricksvattnet blandas med den norrgående ledningen.

Vattentorn har en viktig funktion att magasinera stora volymer dricksvatten som med självfall distribueras till konsumenterna. Dock kan dålig vattenomsättning och undermåliga blandningsprocesser i vattentornen och andra typer av reservoarer påverka dricksvattenkvaliteten (Nordblom & Ljunggren 2007). Vattentornen behöver vara täta för att förhindra kontaminering och solljus. Sediment ansamlas på botten över tid, vilket är en källa till organiskt material och mikrobiell biofilmsansamling. Det kan också bildas en biofilm på ytskiktet i tornen, s.k. flytslam eller ytfilm. Långa uppehållstider och höga temperaturer kan också orsaka tilltagande mikrobiell tillväxt och minska restklor. Reservoar 433 uppvisar varje sommar och höst kvalitetsanmärkning med anledning av odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier som överskred gällande gränsvärden (SLVFS 2001:30). Referenstornet 450 har nästan aldrig samma anmärkning på kvalitet trots de många likheterna. Tidigare utredning av reservoar 433 har visat ett samband mellan långsamväxande bakterier och höga temperatur tillsammans med låga klorkoncentrationer (Figur 2.3). Motsvarande samband mellan antalet odlingsbara mikroorganismer och klor har inte kunnat påvisas.



Figur 2.3

Korrelation mellan långsamväxande bakterier (cfu/ml) och den ökande kvoten mellan fritt klor (mg/l) och temperatur (°C) i reservoar 433:s inre bassäng. X-axeln visar ökande klor/temp-kvot för mätperioden september 2015 till december 2021.

Om det utgående dricksvattnet från reservoar 433 också visar förhöjda värden för antal långsamväxande bakterier finns en risk att dricksvattnet i närområdet bedöms som tjänligt med anmärkning. I syfte att mer systematiskt övervaka den mikrobiella dricksvattenkvaliteten anslöts den inre bassängens provtagningskran för utgående dricksvatten med tre olika automatiska analysinstrument; en BactoSense online flödescytometer (BactoSense; Sigrist, Schweiz), en online ATP analysator, EZ-ATP (AppliTek NV, Belgien), och en online partikelmätare (Uponor Corporation, Finland). Mätningarna som påbörjades 2020 har genererat en detaljerad bild av vattenkvaliteten i reservoarens inre bassäng som underlag för att kunna utvärdera olika driftåtgärder.

2.2.2 Södra Storstockholm

Stockholm Vatten och Avfall (SVOA) som producerar dricksvatten till 1,5 miljoner människor i södra Storstockholm med Mälaren som vattentäkt deltog i studien med fyra referenspunkter. Norsborgs vattenverk, ett av Nordens största, består av två produktionslinjer, Västra och Östra verket. Utgående dricksvatten från det Östra verket (referenspunkt A) och tre referenspunkter i ledningsnätet (B, C och D) har analyserats med FCM vid Norrvattens laboratorium. Provpunkterna i ledningsnätet som återfinns i det yttre distributionsområdet i södra Storstockholm valdes framför allt för de höga vattentemperaturerna som kan närma sig 18 °C, samt att provpunkt C tidigare har haft problem med förhöjda HPC-värden. Till skillnad från Görvälnverket saknar Norsborgs vattenverk kolfilter men har långsamfilter som en extra mikrobiologisk säkerhetsbarriär. Övriga beredningsprocesser är gemensamma med Görvälns vattenverk och omfattar kemisk fällning, sandfiltrering, UV och tillsats av monokloramin.

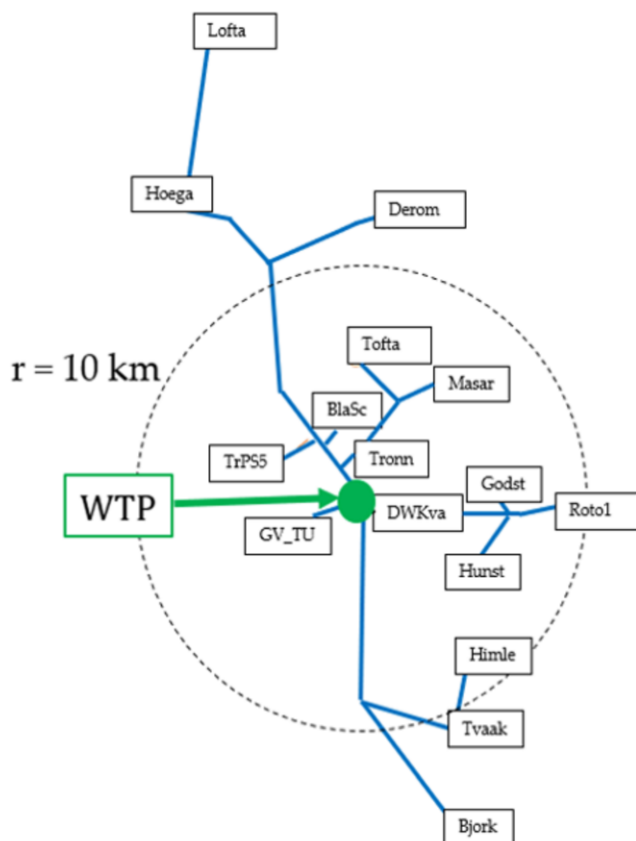
2.3 Varbergs distributionssystem

Vattenverket Kvarnagården i Varberg distribuerar cirka 5 miljoner m³ vatten årligen till 60 000 invånare genom ungefär 580 km rör, varav huvuddelen är av polyvinylklorid (35 %) och polyeten (20 %). Råvattnet, som består av 80 % sjövattnet och 20 % grundvatten behandlas med snabb sandfiltrering, ultrafiltrering (UF) i kombination med ett koaguleringssteg, pH-justering samt desinfektion med UV och monokloramin (mellan 0,13 och 0,21 mg/l).

Sedan april 2018 tar Vivab vattenprover på 16 strategiska provpunkter i ledningsnätet och vattenverket för att med FCM övervaka hur bakterieantalet i vattnet betar sig med

avseende på olika hydrauliska förhållanden i ledningsnätet och temperaturfluktuationer under årstiderna (Schleich et al., 2019; Schleich et al. 2020). Provpunkterna visas i Figur 2.4.

Provtagningspunkterna Lofta och Bjork ligger vid kommungränsen. Detta innebär att vatten från närliggande kommunen kan matas in i ledningarna, vilket kan påverka biofilmsfloran i dessa två biozoner. Utöver de manuella FCM-mätningarna finns också ett automatiskt FCM-instrument på vattenverket som övervakar bakterieantalet på utgående vattnet samt två instrument i ledningsnätet som online mäter bakterieantalet norrut och söderut. Det fanns även en online ATP-mätare i vattenverket på samma provtagningspunkt som online FCM under perioden december 2019 t.o.m. september 2020.

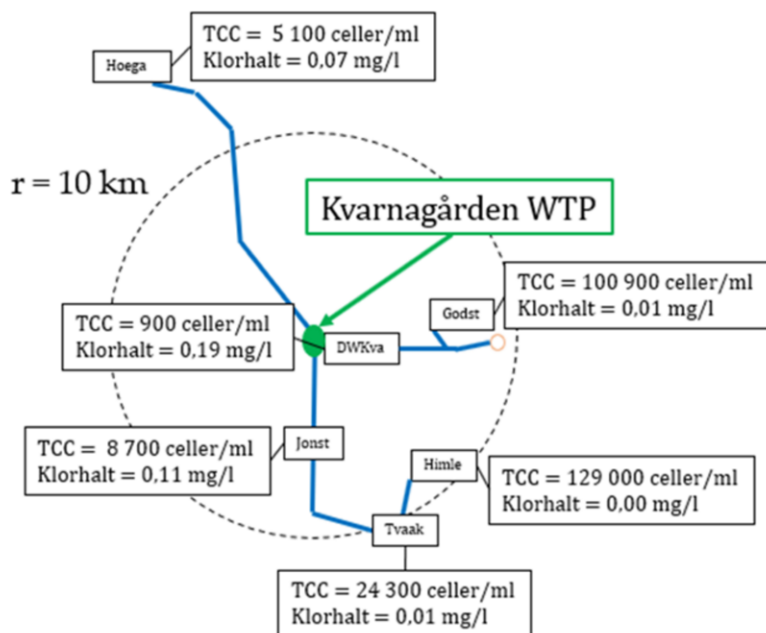


Figur 2.4

Provtagningspunkter i Varbergs kommun.

För dna-sekvenseringsstudien, den s.k. djupstudien, valdes sex provpunkter i Varberg baserat på bl.a. befintliga klorhalter (Figur 2.5). Dessa provpunkter utgör tre olika utgående huvudledningar från vattenverket, dvs. tre biozoner. Den norra linjen med högre flöde och kortare uppehållstid som går mot Ringhals kärnkraftverket analyseras med provpunkten Hoega. Öster om Kvarnagårdens vattenverk finns provtagningspunkten Godst. Södergående linjen följs med provpunkterna Jonst (en pumpstation närmare vattenverket), Tvaak och Himle. Dna-proverna från Himle kunde inte sekvenseras trots upprepade analyser och provbehandlingar pga. per-hämning.

Sammantaget bör dessa fem punkter ge information om hur olika parametrar i distributionen påverkar vattnet och orsakar kvalitetsförändringar. Exempel på parametrar som utvärderats är klorhalt, uppehållstid och ledningsmaterial. Alla provpunkter förutom Jonst är del av ett omfattande provtagningsprogram sedan våren 2018.



Figur 2.5

Provpunkter för djupstudien i Varbergs ledningsnät. Rutorna visar TCC och klorhalterna för respektive provpunkt (Mätperiod 08/10/2019 – 10/10/2019) innan djupstudien påbörjades.

2.4 Konventionell analys

Dricksvatten som livsmedel kontrolleras enligt Livsmedelsverkets krav som ska säkerställa leverans av "hälsosamt och rent" vatten (§ 7 SLVFS 2001:30). Kvalitetskontrollen innebär analys av mikrobiologiska och kemiska parametrar. De så kallade indikatorbakterierna kan signalera fekal förorening av vattnet vilket kan orsaka akut sjukdom. Det totala antalet mikroorganismer kan ge information om ledningsnätets "välmående".

Kemiska analyser ger viktig information om vattenkvaliteten och om stabilitet i beredningsprocessen och ledningarna. Ur hälsoperspektivet är det viktigt att kontrollera koncentration av till exempel metaller, ammonium och nitrit; rätt pH ska motverka korrosion i ledningar. Andra parametrar som färg, turbiditet, lukt och smak påverkar vattnets estetiska natur och utgör inte nödvändigtvis en hälsofar. I Tabell 2.1 och 2.2 listas parametrar som undersöktes i studien.

Mikrobiologiska parametrar *E. coli*, koliforma bakterier, mikrosvamp (jäst och mögel), aktinomyceter och *C. perfringens* sätts med membranfiltermetoden (SS-EN ISO 8199:2018). 100 ml av provet filtreras genom nitrocellulosafilter med 0,45 µm porstorlek och filterpapperet placeras sedan i en petriskål med selektivt medium. Mikroorganismer som är större än porerna, kommer inte passera filterpapperet och kan därför bilda kolonier på selektiva medier under specifika förhållanden (Tabell 2.1; ISO 8199:2018). Odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier bestämdes med hjälp av ingjutningsmetoden: 1 ml prov blandas med jästextrakt som sedan stelnar i en steril petriskål som förvaras vid 22 °C under tre till sju dygn (ISO 8199:2018).

Metod	Standard	Substrat
Koliforma	SS-EN ISO 9308-1:2014	Chromogenic coliform agar
<i>E. coli</i>	SS-EN ISO 9308-1:2014	Chromogenic coliform agar
<i>C. perfringens</i>	SS-EN ISO 14189:2016	Tryptose sulfite cycloserine agar
Mikrosvamp	SS 028192, utg 1	Cooke Rose Bengal agar
Aktinomyces	SS 028212, utg 1	Actinomycete isolation agar
Odlingsbara mikroorganismer	SS-EN ISO-6222, utg 1	Yeast extract agar
Långsamväxande bakterier	SS-EN ISO-6222, utg 1 mod	Yeast extract agar

Metod	ISO-Standard
pH vid 25 °C	SS-EN ISO 10523:2012
Färg	SS-EN ISO 7887:2012 del C
Turbiditet	SS-EN ISO 7027-1:2016, utg 1
Konduktivitet	SS-EN 27888, utg 1
Alkalinitet	SS-EN ISO 9963-2:1995
Klor	SS-EN ISO 7393-2
Ammonium	SS-EN ISO 11732:2005
Nitrit	SS-EN ISO 13395, utg 1
Metaller (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na)	SS-EN ISO 11885:2009 (ICP-AES)
Hårdhet, total	SS 028121, utg 2
Lukt och smak vid 20 °C	NMKL 183, 2005, utg 3, mod

Tabell 2.1

Översikt mikrobiologiska analyser.

Tabell 2.2

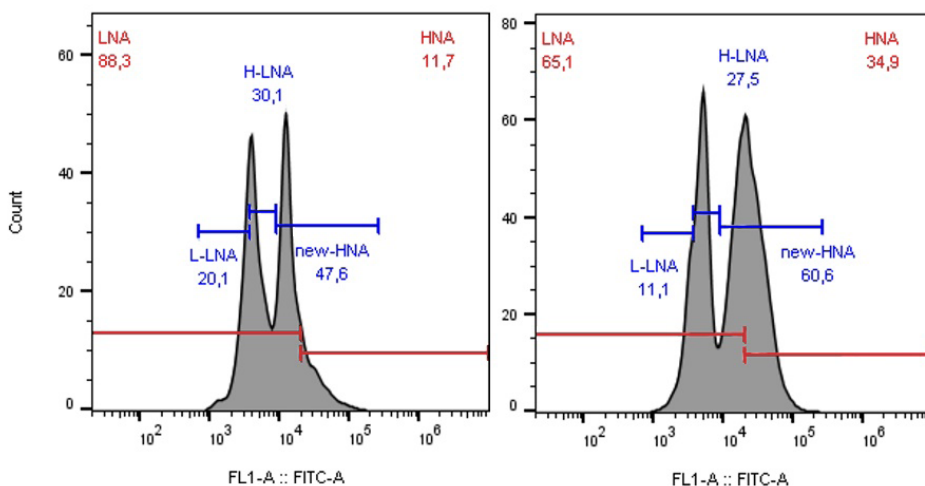
Översikt kemiska parametrar.

2.5 FCM-analys

FCM är en teknik för att antalsbestämma och karaktärisera celler i ett vattenprov (Prest et al. 2013; Schleich et al. 2020). I projektet användes två typer av flödescytometrar, ett laboratorieinstrument (BD Accuri C6 Plus; BD Biosciences, Belgien) och ett automatiserat online instrument (BactoSense; Sigrist, Schweiz) för att beräkna och karaktärisera bakterier i dricksvatten. Analysmetoden baseras på laserdetektion av infärgade bakterier i vattenprover. Två olika fluorescerande färger används för analysen; SYBR® Green I (Invitrogen AG, Schweiz) och propidiumjodid (Sigma-Aldrich, Tyskland). Båda ämnena binder till dna i cellerna och emitterar ljus i olika våglängd (grönt respektive rött ljus). Ytterligare en skillnad är att propidiumjodid är en större molekyl och penetrerar därmed inte celler med intakt cellmembran. Infärningsmetodiken möjliggör att under databearbetning visuellt kunna avskilja bakterier från partiklar och intakta från trasiga bakterier, vilket är en estimering av levande respektive döda bakterier. Prover färgades med SYBR Green I (1x slutkoncentration) i en total volym av 500 µl och inkuberades i mörkret under 15 minuter vid 37 °C. För mätningar av intakta celler (ICC) användes en kombination av både SYBR Green I och propidiumjodid (slutkoncentration 0,3 mM). Fluorescensen från SYBR® Green I och propidiumjodid avlästes vid 533 ± 30 nm = FL1 (grön fluorescens) respektive >670 nm = FL3 (röd fluorescens). Identiska inställningar (gates, se nedan) applicerades för båda typerna av infärgning (intact cell counts (ICC) och total cell counts (TCC)). Analys av rådata utförs med programvaran FlowJo (BD Biosciences, USA). Intensiteten av fluorescens som instrumentet detekterar beror på hur mycket färgämne som bundit till dna i cellerna. Mängden inbundet färgämne beror i sin tur på hur mycket dna som cellerna innehåller. Fluorescensintensiteten kan därmed ge information om dna-mängden i bakterierna, vilket möjliggör en indelning av bakterier med högt dna-innehåll (high nucleic acid, HNA) och lågt dna-innehåll (low nucleic acid, LNA). BactoSense tillåter manuella och automatiserade online mätningar

för både TCC och ICC. Vilken parameter som mäts beror på vilka reagenser och analyskassetter som används.

Vid tolkning av FCM-data används olika gränser, så kallade "gates", för att beskriva förändringar i fingeravtryckanalysen istället för att titta på enskilda fingeravtryck. Vid analys av FCM-data är det inte självklart vilka gränser som ska sättas för att identifiera förekommande grupper av bakterier, utan gränserna kan anpassas efter biofloras sammansättning i producerat och distribuerat dricksvatten. I detta avsnitt beskrivs hur gaten har anpassats till dricksvattens unika bakteriella sammansättning i Lund med omnejd. LNA-bakterierna har delats in i två grupper – en bakteriefraktion av intakta bakterier med lägre mängd dna (L-LNA) och en bakteriefraktion av intakta bakterier som har högre dna-mängd (H-LNA) (Figur 2.6). Den nya gaten för HNA-bakterier betecknas new-HNA eftersom den avviker från det standardiserade värdet i litteraturen (Prest et al. 2013). Från tidigare FCM-analyser av råvatten och dricksvatten från Ringsjöverket observerades att förändringen i LNA och HNA var framför allt associerad med långsamfilterprocessen i vattenverket (Chan et al. 2018).



Figur 2.6

De tre blå sträckor visar "gaten" för L-LNA, H-LNA och new-HNA på utgående dricksvatten från Ringsjöverket (vänster) samt provpunkten Flyinge TS (höger). De röda sträckor visar den traditionella indelningen i LNA och HNA bakterier enligt Prest et al. (2013).

2.6 ATP-analys

ATP är en energimolekyl bestående av adenin, ribos och tre fosfatgrupper, som används av alla celler. Levande organismer kan klyva fosfatgrupper från molekylen, vilket frigör energi för diverse metabola processer som till exempel proteinproduktion och celledeling. Mikroorganismer har olika mängd ATP beroende på art, miljö och tillväxtfas för att nämna några faktorer. Inom ramen av SVU projektet analyserades ATP med hjälp av online ATP analysatorn EZ7300 (Hach, Düsseldorf, Tyskland). Halterna ATP kan mätas genom bioluminescens när energin i fosfatgrupperna frigörs i form av fotoner när luciferas oxiderar D-luciferin. Ljusintensiteten mäts i relative light unit vilket är proportionerligt med ATP-koncentrationen i vattenprovet och till den aktiva eller levande bakteriemängden. Analysmetoden kan skilja mellan ATP som befinner sig i celler (intercellulär ATP, som korrelerar med den levande bakteriebiomassan) och fri eller extracellulär ATP som kommer från icke intakta celler. Fritt ATP finns i vattnet och ger en indikation om tidigare cellmängd. Total ATP är summan av intra- och extracellulär ATP i vattenprovet. Under mätningen detekterar instrumentet först den bioluminescerande reaktionen som sker vid oxidationen av D-luciferin med en inbyggd photon multiplier tube. Detta omräknar instrumentet till ATP-koncentration, i detta fall fritt ATP. Sedan lyseras alla celler

i mätcellen med en ultraljudssond innan den totala ATP-koncentrationen kan mätas. Slutligen beräknas den intracellulära ATP-koncentrationen som skillnaden mellan totala och fria koncentrationen. Mätområdet för EZ7300 är 0,5 – 200 pg/ml.

2.7 Partikelanalys

I projektet användes ett online instrument för övervakning av partiklar i dricksvatten (Uponor Corporation, Finland). Detta instrument skapar ett hologram (3-dimensionell bild) av partiklarna i vattnet med hjälp av laser där resultaten hanteras av en AI-algoritm. Mätningar av passerande partiklar sker med hjälp av en kamera som tar 45 bilder per sekund vilket ackumuleras under tre minuter. Algoritmen beräknar detta till ett statistiskt medelvärde av koncentration per volymenhet som representerar denna treminutersperiod. Denna partikelräknare användes för att analysera antalet B-partiklar som indikerar kluster eller partiklar som kopplas till fragment från biofilm eller sediment. B-partiklar förekommer normalt inte i dricksvatten. Detektionsområdet för partiklarna är 1 – 50 µm. På samma sätt som för övriga online instrument så detekteras incidenter i nästan realtid och kan på så sätt ge tidig varning för avvikelser i t.ex. distributionsnätet. AI-algoritmen sorterar in detekterade partiklar i olika kategorier, där majoriteten är vanligt förekommande i dricksvatten. Dessa naturligt förekommande partiklar kan under datahantering separeras från andra sorters partiklar som inte bör finnas i vattnet. Dessa partiklar kan inte identifieras utan kvarstår som obestämda. Inom den kategorin finns det många olika tänkbara partiklar som till exempel protozoer, flockar och alger. Alarmvärden för denna kategori av partiklar kan justeras, vilket möjliggör snabbt agerande. Instrumentet kan skapa ”fingeravtryck” som består av hur partiklarna är fördelade enligt storlek och symmetri. Fingeravtrycket jämförs sedan med referensproverna under normala förhållanden.

2.8 Dna-analys

Sekvenseringsanalys är en molekylärbiologisk metod för att bland annat identifiera taxa av mikroorganismer (för en mer detaljerad redovisning, se Lührig 2017). Inom projektet har det använts för att identifiera bakteriefloran i dricksvattnet i reservoar 433, ett problematiskt vattentorn i norra Storstockholm, och Varbergs distributionsnät. Sekvensering kräver en del förarbete, processen startades med att litervis med dricksvatten tappas på borosilikatflaskor som förvarades svalt några timmar innan de filtrerades. Filterpapper med porstorlek 0,22 µm användes för att filtrera 0,5 – 10 liter vatten per replikat, beroende på cellantalet samt bakgrundspartiklar. Dessa filterpapper täckta av mikroorganismer inkorporerades sedan i ett extraktionskit för dna (Fast DNA Spin Kit for Soil). Slutresultatet ger renat dna som sedan kunde användas som template för själva dna-sekvenseringen. Med hjälp av pcr-teknik och universella primers för bakterier, amplifierades den bakteriella V3-V4 regionen av 16S rRNA genen. Resultatet av dessa pcr-reaktioner är masskopierade dna-strängar som kallas för amplikoner. I detta fall masskopierades små dna-strängar från en del av 16S rRNA genen som finns i alla bakterier. Dessa amplikoner rengjordes med ett standardiserat kit på laboratoriet (UltraClean PCR Cleanup Kit, Qiagen, Tyskland), kvalitetskontrollerades och kvantifierades med agarosgel-elektrofores respektive fluorometri med hjälp av Qubit 2.0 dsDNA BR Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Illuminasekvensering med MiSeq Reagent Kit v3 användes för att erhålla resultat från amplikonerna som producerades via pcr-reaktioner. Detta är en teknologi som fungerar genom sekvensering under syntes. De dubbelsträngade amplikonerna från pcr-reaktionerna bryts isär och byggs upp till två nya identiska dna-strängar. De kvävebaser som inkorporeras till amplikonerna ger

ifrån sig fotoner vid inbindning. Varje kvävebas är kopplad till en specifik foton vilket vid inkorporeringen till dna-strängen frigörs och kan detekteras med speciella kameror. På detta sätt kan dna-sekvensen avkodas med fyra olika fotoner, en sort för varje kvävebas. Detta görs upprepade gånger under illuminasekvensering. Resultatet blir ett bibliotek av korta dna-sekvenser och databearbetning av detta kräver specifika mjukvaror. Dataanalysen genomförs i fyra steg; demultiplex, kvalitetsfiltrering, borttagning av artefakter, sammanslagning av operational taxonomic units (OTUs) eller amplicon sequence variant (ASVs) för att därefter slutligen taxonomiskt klassificeras (Callahan et al. 2017). Klassificering kan göras med hjälp av jämförelse mot kända sekvenser i en databas. På så sätt kan taxa identifieras från amplikonerna. Denna typ av teknologi kan på djupet analysera den bakteriella sammansättningen men är inte optimal för att detektera taxa med mycket låg förekomst. Fullängssekvensering av hela den bakteriella 16S rRNA genen utfördes enligt ovanstående analysprocess men på ett annat instrument, Nanopore MinION, för att fastställa specifika bakteriearter.

Dna-prover från reservoar 433:s inre bassäng togs den 20 september (bulkvatten) och den 21 september 2021 (biofilm). Reservoaren hade då varit driftad utan tömning i cirka en månad, vilket gav upphov till odlingsresultat som överskred gränsvärdet för långsamväxande bakterier (se Tabell B.1 i Bilaga B). Triplikater av bulkvatten (1 L) togs från fyra vattenzoner i den inre bassängen; (1) ytvatten den s.k. ytfilmen, (2) tappkran på 1 meter höjd från botten, (3) tappkran på 3 meters höjd från botten och (4) utgående reservoarvatten från botten av bassängen (Figur B.1). Referensprover togs på utgående dricksvatten från Görvälnverket. Biofilmsprover från vattentornet togs i samband med att den inre bassängen tömdes på vatten den 21 september. Steriliserade tandborstar användes för att samla in biofilmsmaterial från bassängens väggar på 2, 3, 4, 5 och 6 meters höjd från botten. Tio representativa kolonier från odlingsplattor med långsamväxande bakterier tagna från reservoaren den 20 september 2021 identifierades med taxonomisk dna-analys. Samtliga prover skickades till DNASense ApS (Aalborg, Danmark) för dna-extraktion och sekvensering av 16S rRNA genen (V3-V4 regionen).

3 Resultat

Lundastudien visar att man kan följa dricksvattnets biostabilitet med riktad FCM-analys. Istället för att använda standardiserade FCM-inställningar har vi använt en inställning som tar hänsyn till den unika bakteriesammansättningen i Lunds dricksvatten. Tack vare en kombination av hydraulisk modellering och förfinad FCM-analys kan man följa bakteriefloras resa i ett vattenpaket från vattenverket via låg- och högreservoarer till ett ytterområde i distributionssystemet.

Storstockholmsstudien har med sitt fokus på ett problematiskt vattentorn visat hur man med hjälp av automatisk FCM-analys kan drifva ett vattentorn samt förstå hur förändringarna i råvattnet påverkar den mikrobiella dricksvattenkvaliteten i ledningsnätet. Kompletterande dna-analys har identifierat och lokaliserat en tänkbar orsak till de förhöjda odlingsresultaten i vattentornet. Förutom FCM har man bedömt värdet av automatisk ATP- och partikelanalys samt studerat inverkan av monokloramin på biostabiliteten.

Varbergsstudien demonstrerar hur långsiktig och systematisk FCM-analys kan användas för att övervaka och förstå de mikrobiella processerna i distributionssystemet. Tack vare historiska FCM-data har man kunnat studera biofilmens reaktion och anpassning efter utfasningen av monokloramin. Kompletterande HPC- och dna-analyser styrker utvecklingen av ett mer naturligt och resiliellt ekosystem i distributionssystemet. De mikrobiella nackdelarna med monokloramin belyses med nya resultat.

3.1 Lundastudien

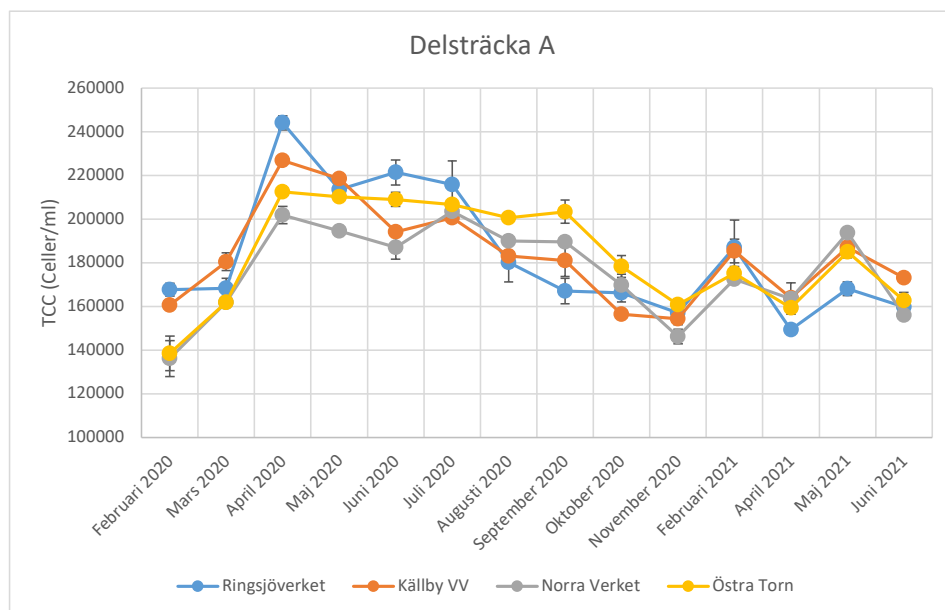
Resultaten från delprojektet ”Bussresan” redovisas enligt följande:

- Förändring av mängden bakterier under resans gång
- Förändring i bakteriell sammansättning under resans gång
- Särskilt fokus på delsträcka 1 mellan Ringsjöverket och Källby VV
- Resultat från egenkontrollparametrar, som komplement till FCM

3.1.1 Förändring av bakteriemängd

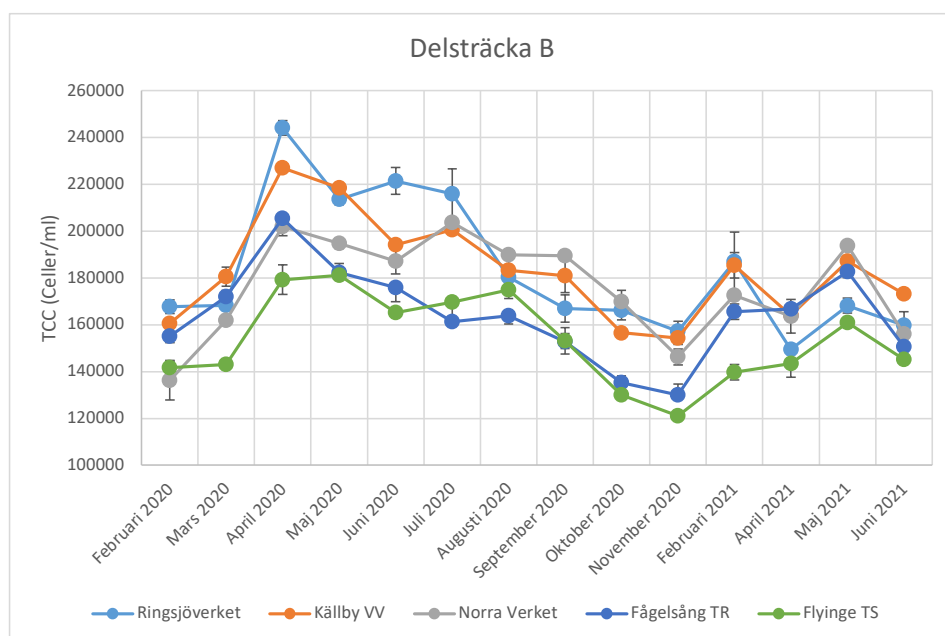
En ökning av totala antalet bakterier inklusive döda (TCC) uppmättes under provtagningsrundorna april-juli 2020 jämfört med under februari-mars 2020 (Figur 3.1). TCC-nivåerna minskade sedan efter sommarmånaderna för att under oktober-november återgå till liknande TCC-värden som i februari-mars. Efterföljande år låg april-juni på lägre TCC än motsvarande månader under 2020.

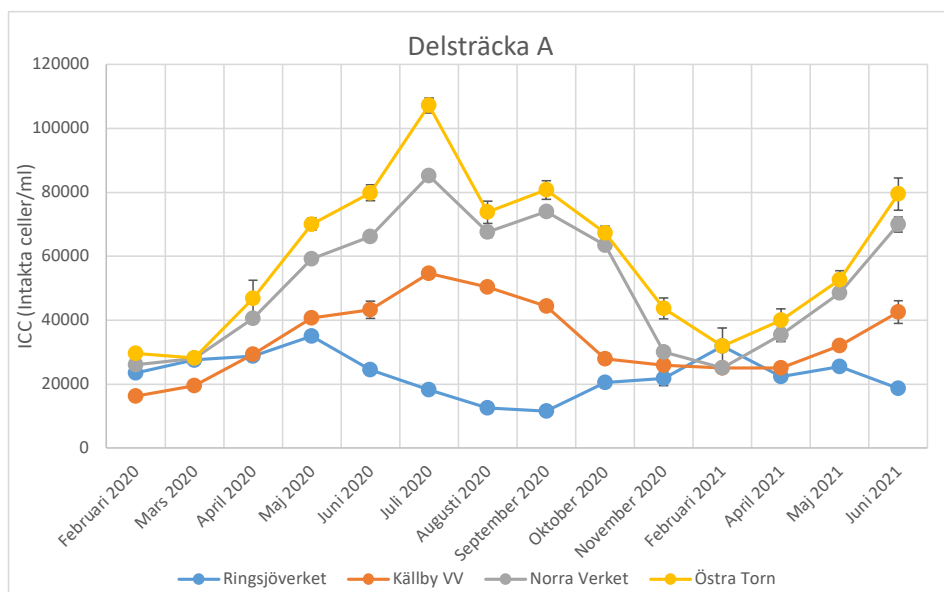
Figur 3.2 visar i motsats till Figur 3.1 enbart antalet intakta bakterier (ICC), en subpopulation av TCC vilket antas motsvara antalet viabla bakterier i ett vattenprov.



Figur 3.1

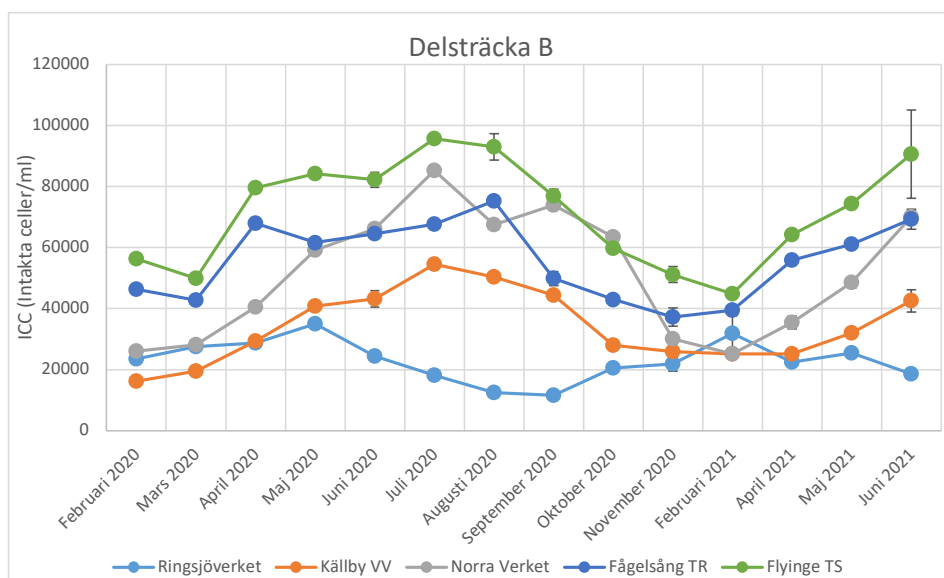
Totalantalet bakterier (TCC) från vattenprover från provpunkter (A) längs delsträcka 1, 2 och 3a: Ringsjöverket, Källby VV, Norra verket och Östra torn, och (B) längs delsträckor 1, 2, 3b och 4: Ringsjöverket, Källby VV, Norra verket, Fågelsång TR och Flyinge TS. Notera att under december 2020, januari och mars 2021 finns inga resultat för samtliga delsträckor.





Figur 3.2

Intakta bakterier (ICC) från vattenprover tagna (A) längs delsträcka 1, 2 och 3a: Ringsjöverket, Källby VV, Norra verket och Östra torn, och (B) längs delsträckor 1, 2, 3b och 4: Ringsjöverket, Källby VV, Norra verket, Fågelsång TR och Flyinge TS. Notera att under december 2020, januari och mars 2021 finns inga resultat för samtliga delsträckor.



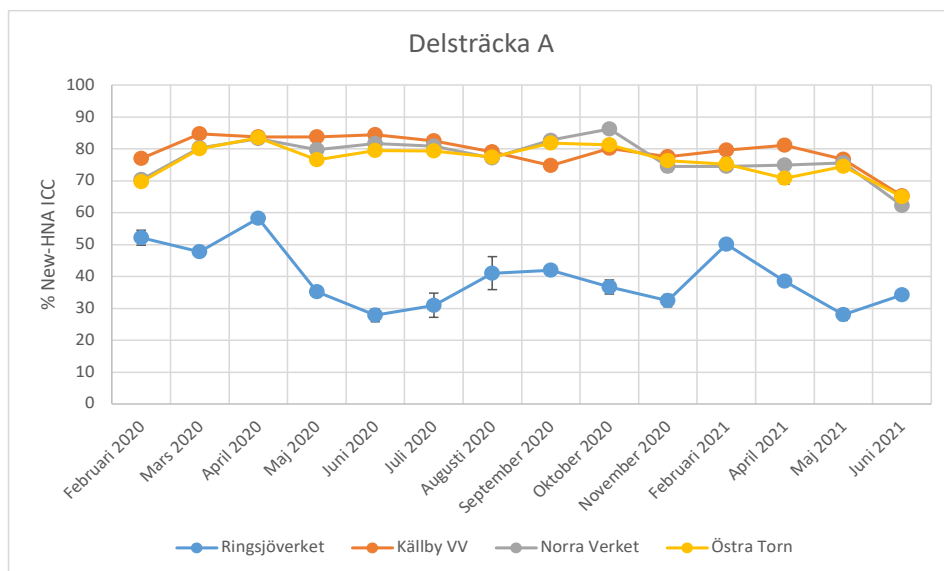
Medelvärde för utgående vatten från Ringsjöverket april-juni 2020 låg på cirka 226 000 bakterier/ml jämfört med 2021 då medelvärdet för samma månader var cirka 159 000 bakterier/ml. Variationerna för de individuella provpunkterna var störst för proverna från utgående vatten från Ringsjöverket, jämfört med slutpunkterna Flyinge och Östra torn. Detta indikerar att säsongpåverkan och variationen mellan åren har en större betydelse för utgående dricksvatten på Ringsjöverket än för provtagningspunkter i distributionssystemet. Variationen på utgående dricksvatten kan bero på många faktorer, exempelvis kvalitetsförändringar på råvattnet och temperaturskillnader mellan åren. Online mätningen på färgtalet (mäts spektrofotometrisk) på råvattnet vid Bolmen visar cirka 20 % högre färgtal under 2020 april – juni jämfört med 2021. Variationerna mellan åren kan också påverka processerna på Ringsjöverket. Långsamfiltren på Ringsjöverket är exempelvis ett processteg som kan påverkas av soltimmar, temperatur och variationer i råvattnet.

Prover från punkter som ligger längre ut i ledningsnätet visade en ökning av ICC under sommarmånaderna. Den högsta mängden ICC uppmättes från ett prov från Östra torn under juli, 107 000 bakterier/ml vilket motsvarade 52 % av den totala halten av bakterier i vattenprovet. Även längs sista delsträckan till Flyinge TS ökade ICC (Figur 3.2). Under sommaren har ICC ökat till ett medelvärde på 90 300 ICC/ml under juni-augusti för att återgå till ett lägre värde på 52 000 ICC/ml under oktober 2020 till februari 2021. Det är noterbart att ICC från vattnet som lämnar Ringsjöverket ligger relativt konstant mellan 12 000 och 35 000 bakterier/ml, dvs. cirka 13 % av TCC oberoende av säsong (Figur 3.2). Detta visar att cirka 90 % av bakterierna som lämnar Ringsjöverket har skadade membraner pga. beredningarna och råvattenkvaliteten. Längre ut i ledningsnätet har andel ICC ändrats jämfört med utgående dricksvatten från Ringsjöverket. Exempelvis ligger medelvärdet %ICC för Norra verket på 29 % under hela mätperioden och 46 % för Flyinge. Detta visar en ökningen av ICC-floran genom ledningsnätet vilket framför allt härstammar från tillväxt och frisättning av biofilmsbakterier.

3.1.2 Förändring av bakteriesammansättning

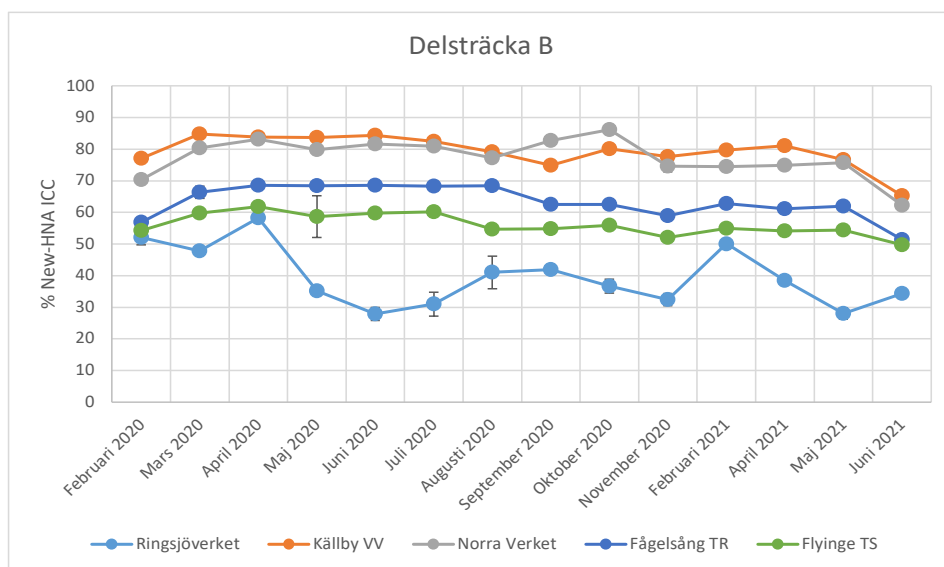
I detta projekt har den största förändringen i den bakteriella sammansättningen skett i populationen för ICC och när det gäller fingeravtryckanalysen redovisas därför endast denna del av resultaten. Analys av HNA- och LNA-bakterier visade att utgående vatten från Ringsjöverket under året varierar i andel new-HNA för ICC (Figur 3.3). Detta tyder på att råvattnets mikrobiella sammansättning förändras och/eller vattenverkets olika processer har säsongsbetonad inverkan på den mikrobiella sammansättningen. Förändringen sker framför allt genom en ökning av fraktionen L-LNA och minskning av new-HNA under provtagningsrundorna maj-november 2020 jämfört med provtagningsrundor genomförda under vårvintern (februari-april både 2020 och 2021). För vattenproverna från Ringsjöverket var ökningen från cirka 21 till cirka 46 % av L-LNA i vattenprovet från Ringsjöverket, vilket sammanföll med en minskning av gruppen new-HNA från 53 % under februari-april 2020 till 36 % för perioden maj-november.

Jämfört med vattnet som lämnar Ringsjöverket visade de andra provpunkterna i distributionsnätet en mindre variation av dessa parametrar, vilket återigen indikerade att säsongvariationen spelar störst roll för vattenverkets utgående vatten och mindre roll när vattnet transporterats genom distributionssystemet. Fingeravtryckanalysen visade ingen tydlig förändring av bakteriefloran som kan tyda på säsongvariation. Detta betyder att den tillväxt som uppmättes via ICC genom ledningsnätet och i reservoarerna *inte* resulterade i en förändring av den *bakteriella sammansättningen*, utan endast i en förändring av *antalet* bakterier. Däremot förändrades den *bakteriella sammansättningen* i vattnet genom resterande resa från Källby VV ut till Flyinge TS med en ökning av LNA-grupperna och en minskning av new-HNA. Medelvärdet för % new-HNA i Källby under mätperioden var cirka 79 % jämfört med Flyinge vilket låg på ett lägre värde på 55 %.



Figur 3.3

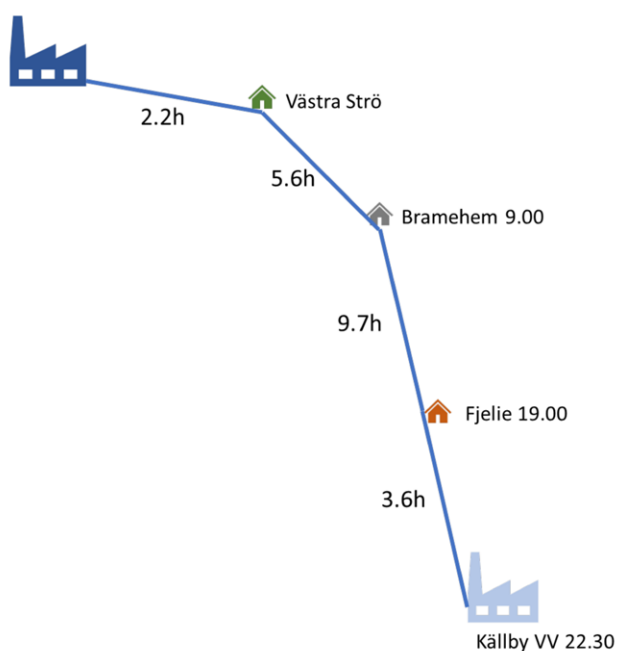
Procentfördelning av bakteriegruppen new-HNA definierad från fingeravtrycken från FCM. Resultaten beskriver förändringen av den bakteriella sammansättningen av ICC i vattnet genom delsträcka A och B under mätperioden februari 2020 till juli 2021. Notera att under december 2020, januari och mars 2021 finns inga resultat för samtliga delsträckor.



3.1.3 Delsträckan Ringsjöverket till Källby VV

Den största förändringen av fingeravtrycket skedde under delsträcka 1, Ringsjöverket till Källby VV (Figur 2.1 och Figur 3.3). Återigen var det grupperna L-LNA och new-HNA som stod för förändringen vilket indikerade en ändring av den intakta bakteriefloran i vattnet. Förändringen kan bero på efterverkningar av desinfektionsstegen på vattenverket (UV-behandling och desinfektion med hypoklorit). Effekterna kan inte mätas direkt i utgående vatten från Ringsjöverket utan kräver tid. Den bakteriella sammansättningen av utgående dricksvatten från Ringsjöverket ökade i gruppen new-HNA från 53 % (februari-april) och 36 % (maj-november) till 80 % vid Källby VV. Den motsatta trenden uppvisades för bakteriegruppen L-LNA. Där låg vattnet från Ringsjöverket på 21 % (februari-april) eller 42 % (maj-november) medan L-LNA i provet från Källby VV låg på cirka 9,4 %.

En fördjupning gjordes under tre vårmånader (april-juni 2021) i syfte att studera förändringen längs delsträcka 1 (Figur 3.4). Två nya punkter adderades och rinntider mellan samtliga punkter beräknades. De nya provpunkterna var Bramehem respektive Fjelielkammaren. Provpunkten Bramehem är en kammare cirka 8 timmar nedströms Ringsjöverket. Fjelielkammaren befinner sig cirka 18 timmar från Ringsjöverket. Efter ytterligare cirka 4 timmar når samma vattenpaket Källby VV.

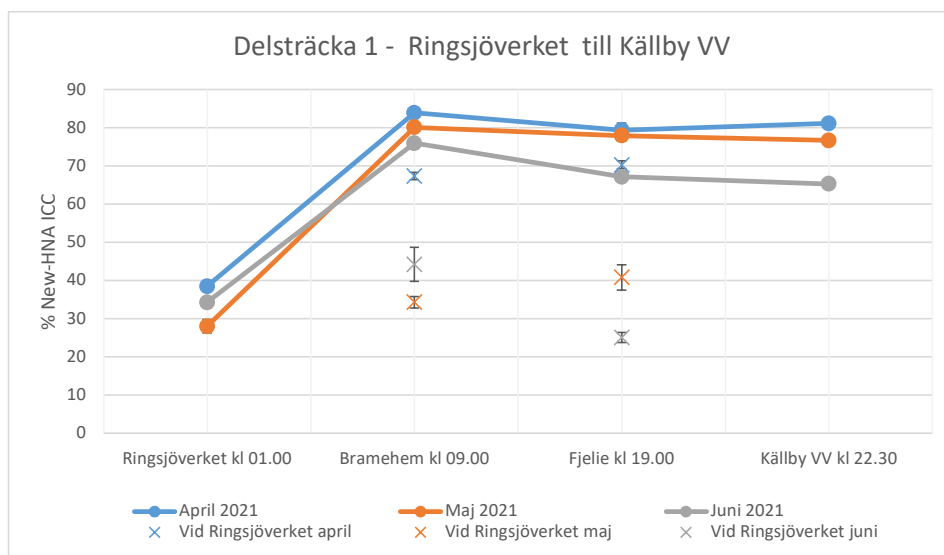


Figur 3.4

Schematisk bild av provpunkter från Ringsjöverket till Källby VV. Två extra provpunkter (Bramehem och Fjelie) lades till under april till juni 2021 för att studera den mikrobiologiska förändringen längs delsträcka 1. I figuren syns provtagningstider och transporttider mellan provtagningsspunkterna. Kammaren Västra Strö provtogs ej.

En fråga som behövde besvaras var om förändringen längs delsträcka 1 berodde på vattnets kontakt med biofilmen i ledningsnätet och/eller om det var desinfektionsprocessernas verkan på cellerna som var avgörande. För att studera påverkan av biofilmen kontra effekten av desinfektionen togs en större mängd prov ut från Ringsjöverket vid provtagningstillfället. Vattnet förvarades kylt i en steril glasflaska. Vid samma klockslag som prover togs i Bramehem och Fjelie togs sedan också ett prov från glasflaskan. På så vis erhöles prover med samma uppehållstid, men där skillnaden var om vattnet varit i kontakt med biofilmen i ledningsnätet eller ej.

Den tydliga förändringen av fingeravtrycket, dvs. ändring i den intakta bakteriefloran mellan Ringsjöverket och Källby VV hade redan uppstått vid Bramehem, cirka 8 timmar efter att vattnet lämnat vattenverket (Figur 3.5). Vattnet med ett innehåll av cirka 34 % new-HNA i ICC populationen från Ringsjöverket ändrades till att vid Bramehem innehålla en högre andel av new-HNA intakta bakterier (80 %). Denna förändring var inte lika tydlig för Ringsjövattnet från glasflaskan.



Figur 3.5

Andelen new-HNA bakterier från mängden ICC i vattenprover tagna under april (grön), maj (gul) och juni (orange) för delsträcka 1 inklusive två extra provpunkter Bramehem och Fjelie. Punkterna markerade med X är resultaten från vattenprovet taget från Ringsjöverket men förvarat i steril glasflaska.

Under april detekterades ingen tydlig ändring för utgående vatten Ringsjöverket, som förvarats i glasflaska i 8 timmar jämfört med Bramehemprovet (67 % jämfört med 84 %). Intressant nog så visade mätningarna under maj och juni tydliga skillnader mellan Ringsjöverkets vatten i glasflaska jämfört med samma vatten som har transporterats till Bramehem och Fjelie (medelvärde new-HNA på 34 % och 44 % från Ringsjöverket jämfört med 76 % och 80 % för Bramehem maj och juni). Förändringen som skedde i ledningsnätet hade redan uppstått vid Bramehem, dvs. efter 8 timmar i ledningsnätet. Detta indikerade att förändringen i fingeravtrycket mellan Ringsjöverket till Källby skedde redan efter 8 timmar och orsakades framför allt av biofilmen i ledningsnätet.

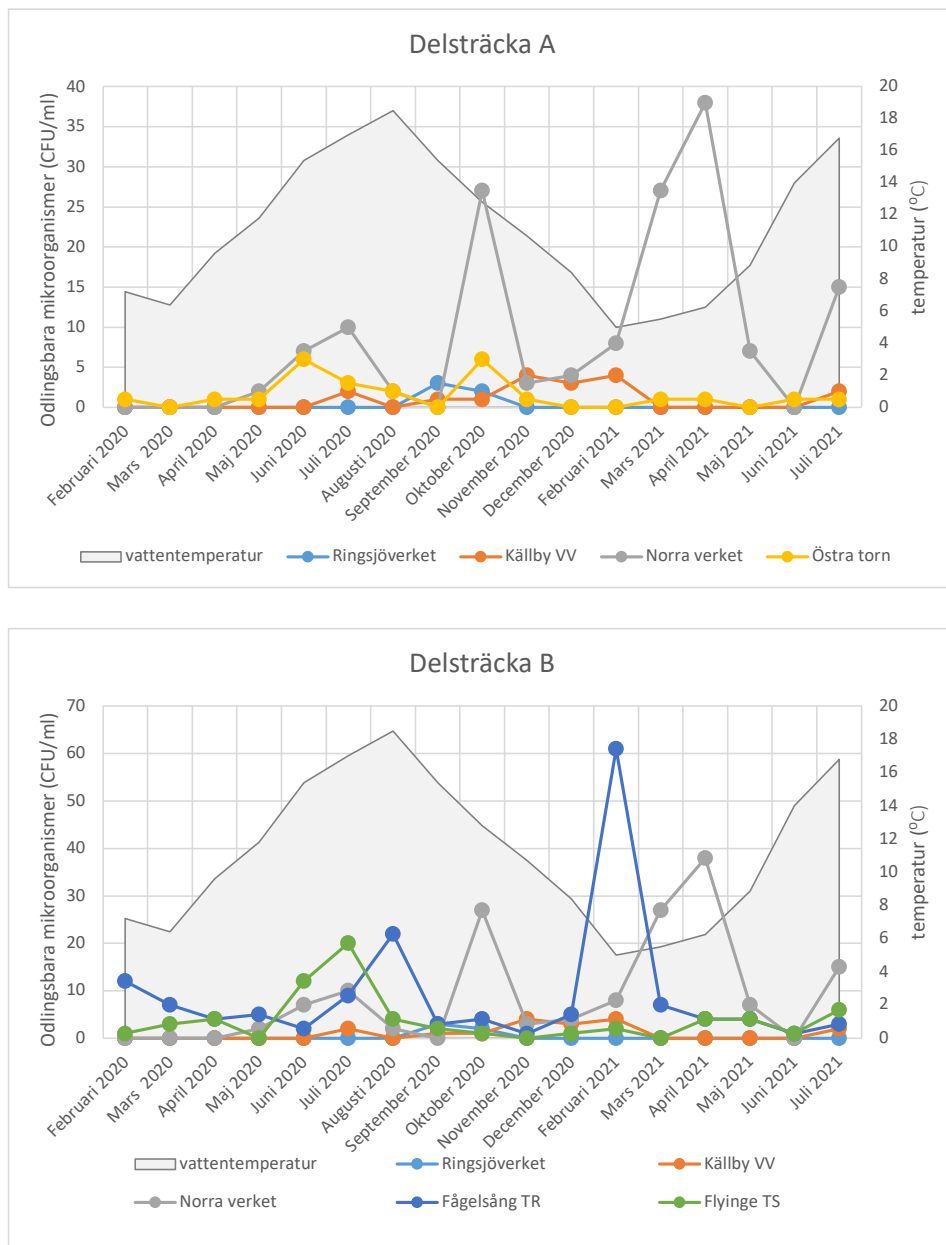
3.1.4 Egenkontrollparametrar

Ett sätt att öka kunskapen om FCM är att parallellt analysera ordinarie egenkontrollparametrar från samma vattenprover enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30). Varken *C. perfringens* eller koliforma bakterier detekterades i något prov under studieperioden och det detekterades endast några fåtal mikrosvampar och aktinomyccer (se Tabell A.1 och A.2 i Bilaga A).

Eftersom FCM bland annat visar TCC var det intressant att undersöka om analys av odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier visade samma trender som FCM (Figur 3.6 och Figur 3.7). Dessa analyser kan indikera föroreningar med annat vatten, jord och/eller HPC-tillväxt (ISO 6222:1999; SLVFS 2001:30). Dricksvattnet i Lund innehöll generellt låga halter av odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier. Under mätperioden från februari 2020 till juli 2021 blev inget prov tjänligt med anmärkning på grund av mikrobiell tillväxt. Proverna från Ringsjöverket och Källby innehöll knappt några odlingsbara mikroorganismer och resultaten låg under gränsvärden för utgående dricksvatten (10 cfu/ml). Provet som togs på utgående dricksvatten från Ringsjöverket juli 2021 och som innehöll 150 cfu/ml långsamväxande bakterier var ett undantag (Figur 3.6, Tabell A.2).

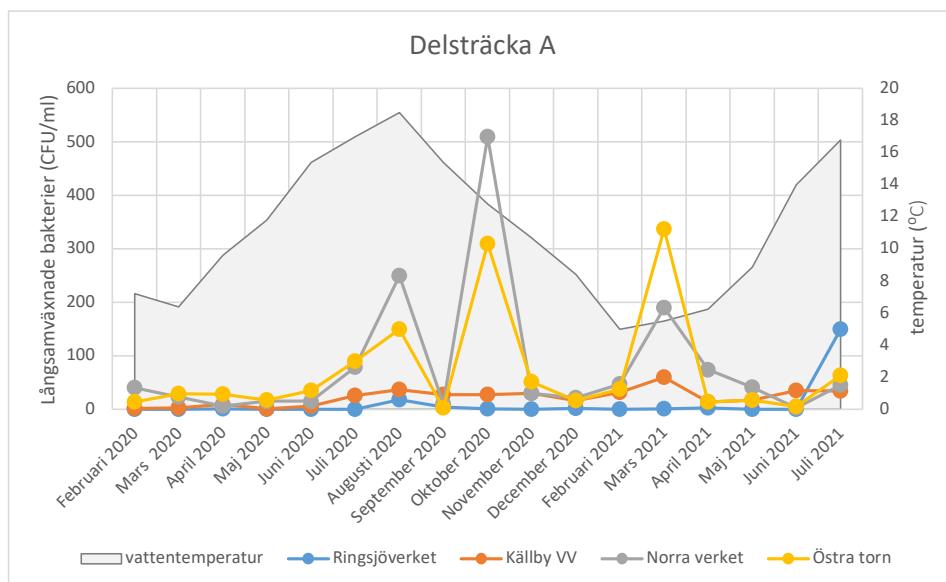
Med högre vattentemperaturer i juni-oktober 2020 påvisades högre halter av odlingsbara mikroorganismer på Norra verket och Östra torn samt högre värden vid Fågelsång TR, som minskade igen på väg till Flyinge TS. Det ska nämnas att vid ett tillfälle (oktober 2020) mättes en ökad tillväxt på Norra verket då långsamväxande mikroorganismer låg på 510 cfu/ml. Detta sammanföll med ett underhållsarbete vid reservoarerna. Samma parameter var då också förhöjd vid Östra torn (310 cfu/ml, Figur 3.6, Tabell A.1). Även mars 2021 observerades förhöjda HPC värden vid Norra verket, Östra torn och Fågelsång TR, dock kan denna händelse inte kopplas till några drift- eller underhållsarbeten.

Det fanns en tendens i ökning av HPC på reservoarerna Norra verket och Östra torn i samband med stigande vattentemperatur. I motsats till FCM-analysen håller inte trenden över hela sommaren, och det finns vinter- och vårmånader med höga HPC värden fast vattentemperaturen var låg. I ledningsnätets periferi, dvs. Flyinge TS, observerades en svag ökning i HPC pga. säsongvariationen.



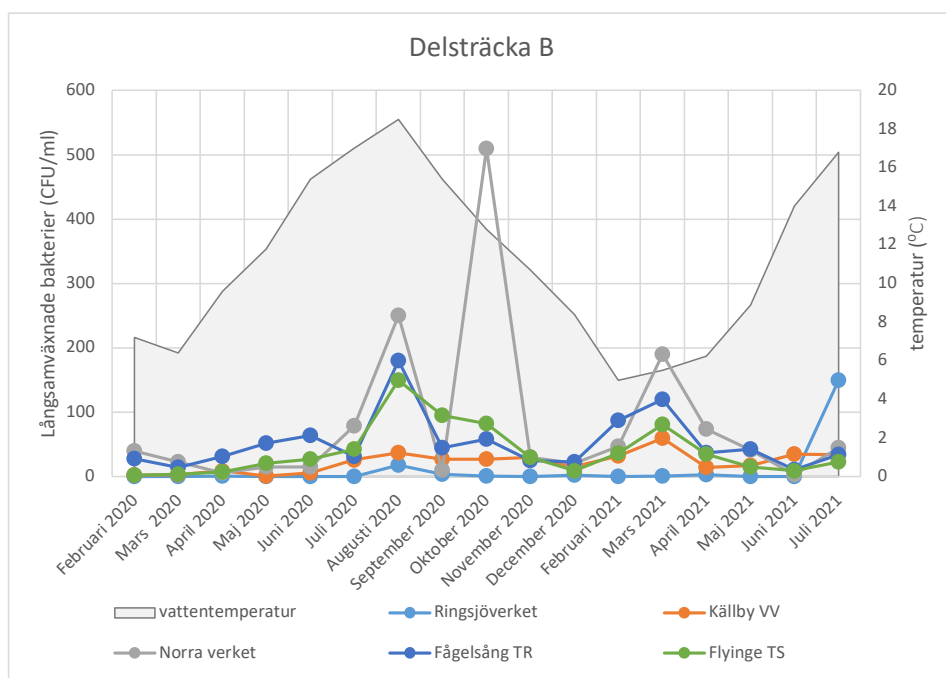
Figur 3.6

Odlingsbara mikroorganismer efter 3 dygn på (A) delsträcka A från Ringsjöverket till Östra torn och (B) delsträcka B från Ringsjöverket till Flyinge TS under mätperioden februari 2020 till juli 2021. Notera att under januari 2021 finns inga resultat för samtliga delsträckor.



Figur 3.7

Långsamväxande bakterier efter 7 dygn på (A) delsträcka A från Ringsjöverket till Östra torn och (B) delsträcka B från Ringsjöverket till Flyinge TS under mätperioden februari 2020 till juli 2021. Notera att under januari 2021 finns inga resultat för samtliga delsträckor.

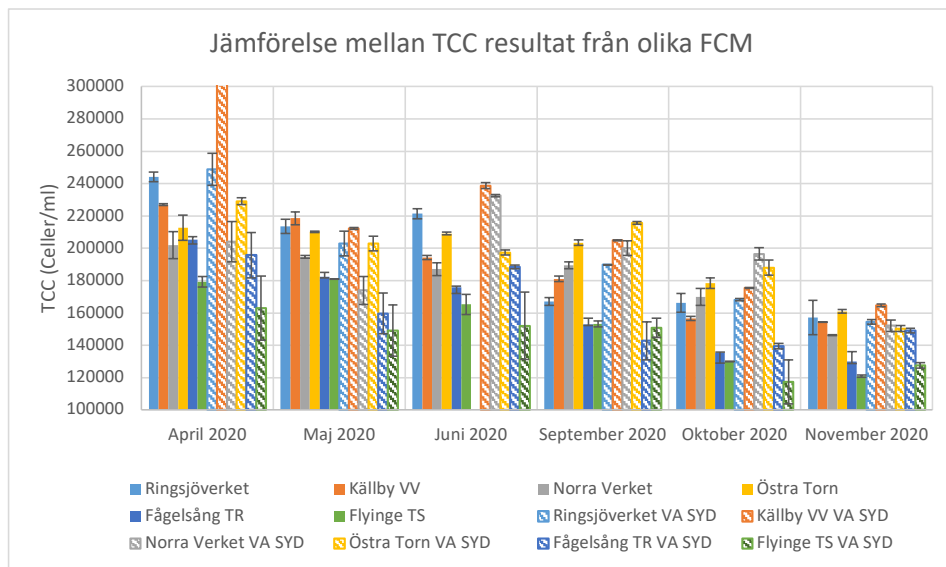


Även de kemiska parametrarna analyserades och resultaten visade normala värden för dricksvatten som inte kunde korreleras med FCM-resultaten. Eftersom kemiska parametrar bara visade minimala förändringar under årets förlopp, begränsade vi analyserna efter ett år till endast pH, klor och turbiditet. Bara två enstaka prov från Fågelsång TR och Flyinge TS visade turbiditet $>0,3$ FNU. pH-värden för alla prov låg mellan 8,3 och 8,6 under provtagningstiden. På Källby och resterande provpunkter i nätet var klorhalten i de flesta fall under detektionsminimum ($<0,03$ mg/l; Tabell A.1).

3.1.5 Jämförelse av FCM-data

I studien användes två flödescytometrar av samma fabrikat och analyser gjordes parallellt på båda instrumenten. Därmed var det möjligt att jämföra de båda instrumentens FCM-resultat från vattenprov som tagits vid samma tidpunkt och provtagningsställe. Syftet var att undersöka metodens robusthet och hur olika faktorer påverkade analysresultaten (t.ex. åldern på instrument och laser, olika reagensrör, olika laboratorier). Båda

laboratorierna använde sig av samma protokoll och gatingstrategi. För utvärdering av jämförelsen valdes data från sex månader (Figurerna 3.8, A.1 och A.2) för medelvärden från TCC, ICC och new-HNA.



Figur 3.8

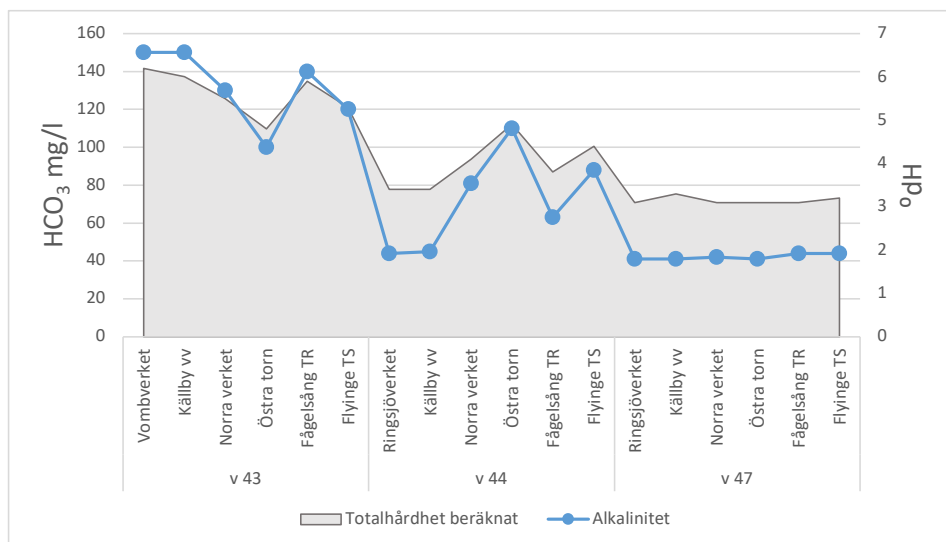
Jämförelse mellan två FCM-analyser från två olika laboratorier med samma vattenprover för parametern TCC. Sex månader under projektiden spritt över året presenteras i figuren där ifyllda staplar representerar resultat från Sydvattens laboratorium och de möntrade staplarna representerar samma resultat men från VA SYDs laboratorium, för olika provtagningspunkter.

Resultaten visar överlag på en gemensam trend mellan proverna. Dock kan inte specifika siffror jämföras då variationen är större mellan duplikaterna från analys på samma instrument än mellan instrumenten. En statistisk jämförelse mellan resultaten från Sydvatten respektive VA SYD för parametrarna TCC, ICC och new-HNA (%) visade ingen signifikant skillnad mellan resultaten ($p > 0,1$ two-sample Student's t-test). Jämförelsen visade därmed att två flödescytometrar kan leverera jämförbara resultat under förutsättning att samma protokoll och gatingstrategi används.

3.1.6 Byte av vattenverk

Under vecka 43 till 44 (2021) utförde Sydvatten ett större ledningsarbete som innebar att Lund under perioden försörjdes med vatten från Vombverket istället för med vatten från Ringsjöverket. Vombverket använder en annan råvattenkälla och har en annan beredningsprocess än Ringsjöverket. Händelsen var intressant att följa i syfte att se hur den bakteriella sammansättningen i vattnet skulle förändras för samma provtagningsrunda som projektet har följt men med ett annat dricksvatten.

Ett viktigt verktyg för att följa inblandning av Vombvatten i Lunds ledningsnät var att följa resultaten av kemiska parametrar. Figur 3.9 visar alkalinitet och totalhårdhet (°dH) som är distinkt för Bolmen- respektive Vombvatten. Ringsjöverkets utgående vatten har en alkalinitet på 45 mg/l och totalhårdhet på 3,5 °dH, till skillnad från Vombverkets utgående vatten med en alkalinitet på 150 mg/l och totalhårdhet på 6,5 °dH. Omkopplingen till Vombvatten visade sig som en skarp ökning av båda parametrar vid Källby VV. I reservoarerna vid Norra verket och Östra torn ökade alkaliniteten och totalhårdheten men det var tydligt att Vombvattnet blandades ut med det vatten som fanns kvar i systemet sedan tidigare, dvs. vatten från Ringsjöverket.

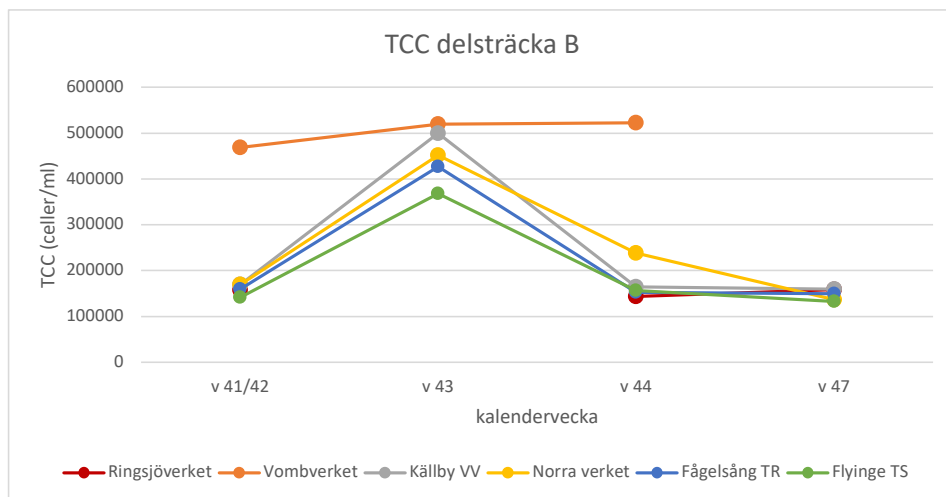


Figur 3.9

Alkalinitet och totalhårdhet vid olika provpunkter under veckorna 43, 44 och 47 2021. Resultaten visar inblandning av Vombvatten i ledningsnätet. Under vecka 44 kopplades ledningen från Ringsjöverket tillbaka och Lund förseddes återigen med Bolmenvatten.

I FCM-analysen kunde bytet av vattenkälla ses tydligt (Figur 3.10 och Figur A.3). Utgående vatten från Vombverket innehöll under oktober-november 2021 kring 500 000 TCC/ml vilket är en betydligt högre halt jämfört med Ringsjöverkets utgående vatten (150 000 TCC/ml). Under omkopplingen uppmättes en tydlig förändring i både TCC och ICC direkt efter att Vombvattnet nådde Lund, framför allt i provpunkterna närmast vattenverket.

När ledningsarbetet avslutades fick Lund åter vatten från Ringsjöverket, vilket gav en tydlig effekt för provtagningspunkten Källby VV där TCC samt ICC återgick till samma låga nivåer som innan omkopplingen. En liknande återgång sågs även på proverna från Fågelsång TR och Flyinge TS. På Norra verket var resultaten högre jämfört med veckan innan omkopplingen. Detta kan bero på kvarvarande Vombvatten i reservoaren, vilket omsattes under efterföljande veckorna till vecka 47 där resultaten åter nådde normalvärden för punkten med vatten från Ringsjöverket.

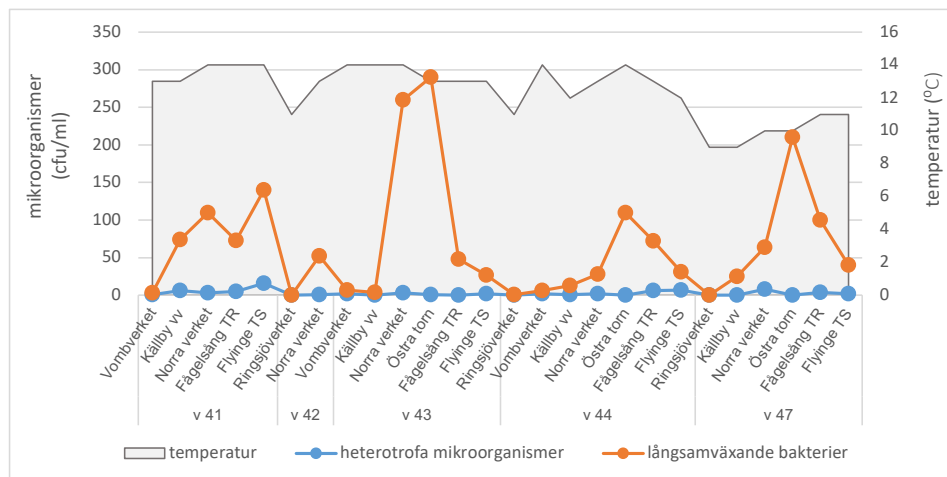


Figur 3.10

TCC under veckorna 41-47 2021 på "Bussresans" provpunkter delsträcka B. Notera att inget prov togs från utgående Ringsjöverket under v43.

Parametern odlingsbara mikroorganismer påverkades inte av händelsen och samtliga prover låg under 20 cfu/ml. Parametern långsamväxande bakterier var dock tydligt förhöjd på Norra verket och Östra torn under vecka 43 (Figur 3.11). Under vecka 44, när systemet återgick till det normala, hade antal långsamväxande bakterier återgått till låga nivåer igen. Historiska data visar dock att halten av långsamväxande bakterier på Norra verket och Östra torn ofta stiger i oktober månad (Figur A.4). De variationer

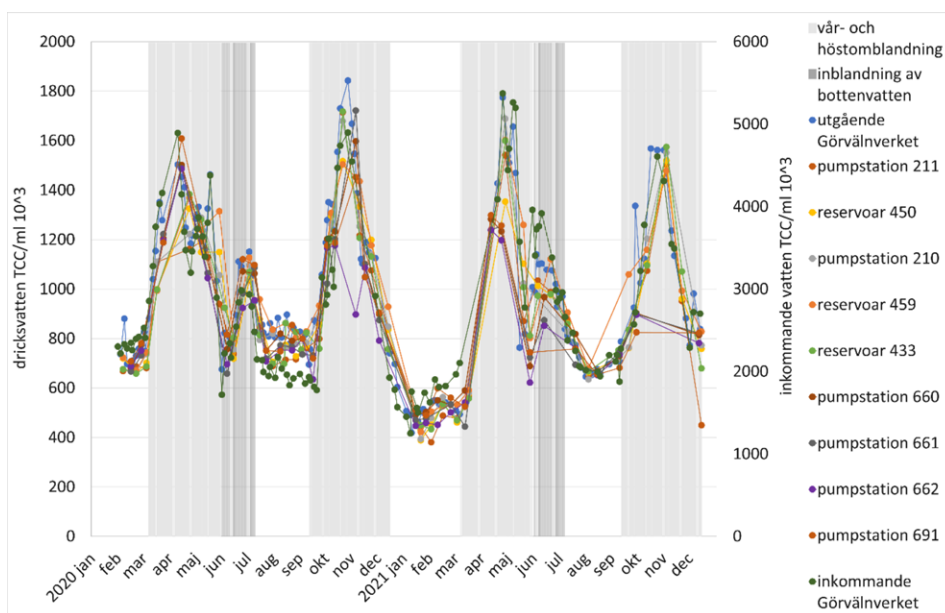
vi mätte vecka 41 till vecka 47 behöver därför inte vara associerade med omkopplingen. Våra resultat från omkopplingen exemplifierar att driftförändringar kan orsaka ändrad bakteriell sammansättning i dricksvattnet, samt att dessa kan mätas med FCM men inte alltid med konventionella metoder (odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier).



Figur 3.11
Odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier under veckorna 41-47.

3.2 Storstockholmsstudien

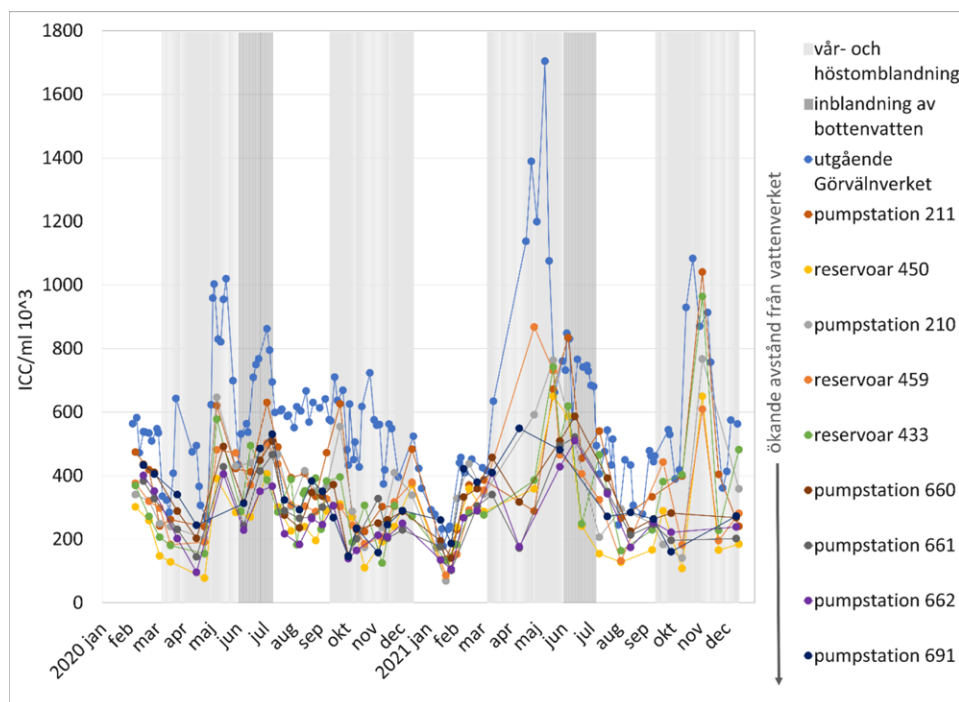
Norrvatten analyserar sedan 2020 vattenprover från nio strategiska provtagningspunkter i norra Storstockholms distributionsnät med FCM inklusive reservoar 433, ett problematiskt vattentorn (se Figur 2.2). Vattentornet som ligger längs med den norra huvudledningen har under många år haft problem med höga HPC-halter under sensomaren och hösten. Syftet med denna del av studien har varit att kartlägga bakterieförändringarna i dricksvattnet längs med den norra och södra huvudledningen. Figur 3.12 visar att TCC-nivåerna i ledningsnätet följer TCC-nivåerna i utgående dricksvatten från Görvälnverket i ett cykliskt förlopp med upp- och nedgångar åren 2020-2021. De lägsta TCC-värdena, på cirka 500 000 och 700 000 bakterier per ml, uppmättes i månads-skiftet januari/februari och augusti. De högsta TCC-värdena, cirka 1 600 000 bakterier per ml uppmättes i månadsskiftena april/maj och oktober/november. TCC-nivåerna i råvattnet följde samma cykliska förlopp men var drygt dubbelt så höga. Det är känt att det cykliska TCC-förloppet i råvattnet beror på Mälarens vår- och höstomblandningar när det varmare bottenvattnet stiger mot ytan och det kallare ytvattnet sjunker mot botten (Danielsson 2018). Görvälnverket har under den aktuella tidsperioden tagit in sitt råvatten på 22 meters djup förutom perioden 11-25 februari 2021, då intagsdjupet var 4 meter. Det ytligare råvattenintaget på 4 meter höjde TCC-värdena marginellt men påverkade inte det cykliska TCC-förloppet. Våromblandningen orsakade också en sekundär mindre TCC-topp i juni månad som sammanföll med signifikant påvisbara halter av ammonium och nitrit i Görvälnverkets ingående råvatten som ett tecken på att bottenvatten/sediment troligtvis nådde intaget (Figur B.2 och Figur B.3). De är känt att de anaeroba denitrifikationsprocesserna i botten sedimentet bildar nitrit och ammonium när nitrat reduceras (Gao et al. 2021). Att ytvatten hamnade i intaget under vår- och höstcirkulationen tydliggjordes av de mätbara alghalterna som följde TCC-kurvorna vid dessa två tidsperioder (Figur B.4).



Figur 3.12

Förändringen av TCC på Norrvattens ledningsnät samt på inkommande råvatten och utgående dricksvatten från Görvålverket åren 2020 och 2021. Vattenålder för provpunkterna är mellan <1 dygn upp till 4-6 dygn. Den gråa färgen markerar Görvålnerfjärdens naturliga vår- och höstomblandningar samt inbladning av bottenvatten i juni månad. Antal mätningar är 177 för år 2020 och 153 för år 2021. Resultat är medelvärde av dubletter.

Det cykliska TCC-förloppet med tydliga upp- och nedgångar (Figur 3.12) dämpades när antalet intakta bakterier, ICC, undersöktes (Figur 3.13). Utgående vatten från Görvålverket hade genomgående högre och mer varierande ICC-värden jämfört med provtagningspunkterna i ledningsnätet. De höga ICC-värdena våren 2021 i färdigberett dricksvatten berodde troligen på förändrade vattenströmmar från västra och norra Mälaren. Eftersom konduktiviteten är mycket högre i den norra vattenströmmen kunde strömförändringen också bekräftas i ordinarie konduktivitetmätningar på verket. Vattenproverna från pumpstation 661 via den södra huvudledningen uppvisade genomgående lägre ICC-värden jämfört med pumpstation 660 på den norra huvudledningen. Pumpstation 662 uppvisade ICC-värden däremellan som en konsekvens av att vatten från de två huvudledningarna blandades. Det ska nämnas att en mindre mängd dricksvatten från den södra huvudledningen och reservoar 459 når den norra huvudledningen mellan det problematiska vattentornet (433) och pumpstation 660, se Figur 2.2. Pumpstationen närmast vattenverket, 211, följde mer eller mindre ICC-värdena på utgående dricksvatten från Görvålverket, men på en lägre nivå. De tre vattentornen, 433, 450 och 459, uppvisade större ICC-svängningar med de högsta ICC-värdena i samband med vår- och höstomblandningarna i råvattentäkten.

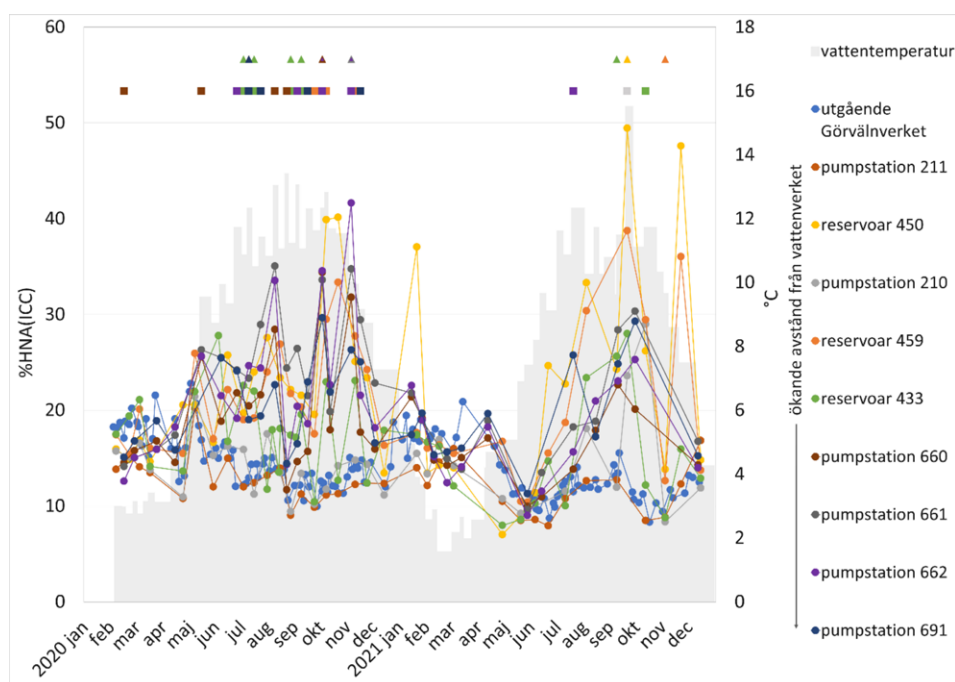


Figur 3.13

Förändringen av ICC på Norrvattens ledningsnät samt utgående dricksvatten från Görvälnverket åren 2020 och 2021. Vattenålder för provpunkterna är mellan <1 dygn upp till 4-6 dygn. Den gråa färgen markerar Görvälnfjärdens naturliga vår- och höstomblandningar samt inbländning av bottenvatten i juni månad. Antal mätningar är 177 för år 2020 och 153 för år 2021. Resultat är medelvärde av dubbletter.

Figur 3.14 visar HNA-variationen för ICC och de genomsnittliga vattentemperaturerna i ledningsnätet som var som lägst i februari (2 °C) och högst i augusti-september (14 °C) 2021. Utgående dricksvatten och pumpstationerna närmast Görvälnverket hade inte samma höga variation som de övriga punkterna i ledningsnätet. Det finns en tydlig koppling mellan höga HNA-värden och höga vattentemperaturer. Reservoarerna 450 och 459 uppvisade de högsta HNA-värdena medan drifttömningarna av det problematiska vattentornet, 433, periodvis sänkte HNA-nivåerna (se kapitel 3.2.1). Detta syntes tydligast i oktober 2021 när HNA-värdet drastiskt sjönk till ungefär samma %HNA-nivå som utgående dricksvatten från Görvälnverket pga. de frekventa och fullständiga tömningarna av vattentornet.

I samband med höga temperaturer och höga %HNA(ICC)-värden överskreds gränsvärdet för odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier (Figur 3.14). Trettiofyra av 344 vattenprover överskred då gränsvärdet för odlingsbara mikroorganismer och 14 av dessa 344 prover överskred gränsvärdet för långsamväxande bakterier. Drygt 80 % av proverna med anmärkning kunde kopplas till den norra huvudledningen och det problematiska vattentornet samt de efterföljande pumpstationerna 660, 662 och 691. På den södra huvudledningen var det framför allt reservoar 459 som uppvisade odlingsresultat med anmärkning (5 st.). Reservoar 450 hade ett prov med anmärkning. Klorhalterna i reservoarerna 433 och 450 var likvärdiga med ett genomsnittligt värde på 0,07 mg/l. Klorhalterna i reservoar 459 var något lägre med en genomsnittlig klorhalt på 0,03 mg/l.

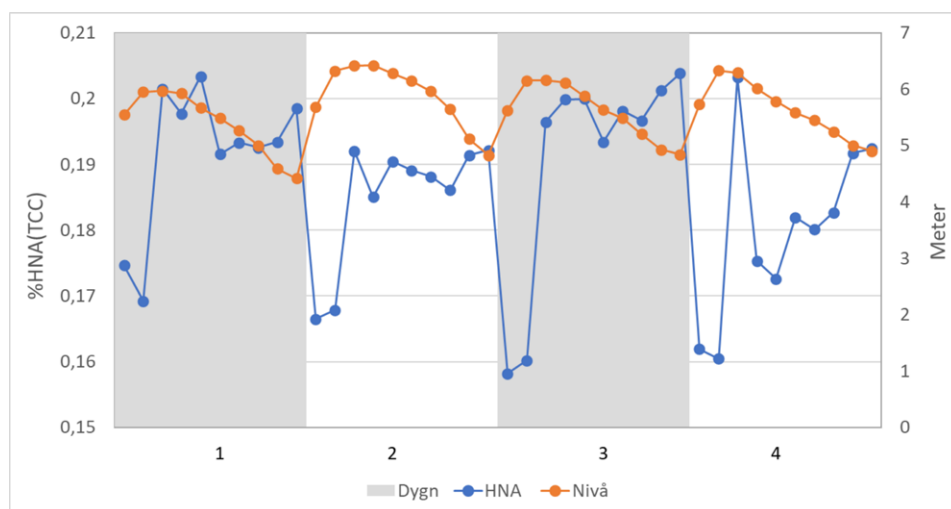


Figur 3.14

Förändringen av %HNA(ICC) på Norrvattens ledningsnät samt utgående dricksvatten från Görvålverket åren 2020 och 2021. Vattentemperaturerna var medelvärdena för de 9 provpunkterna samma dag. Utgående dricksvattentemperatur var oftast lägre under de varmare månaderna jämfört provtagningspunkterna på nätet; ibland lite mer än 1 grads skillnad. Rutor (odlingsbara mikroorganismer) och trianglar (långsamväxande bakterier) är odlingsvärden som översteg gränsvärdena (SLVFS 2001:30). Färgerna visar provtagningsplatserna.

3.2.1 Reservoar 433

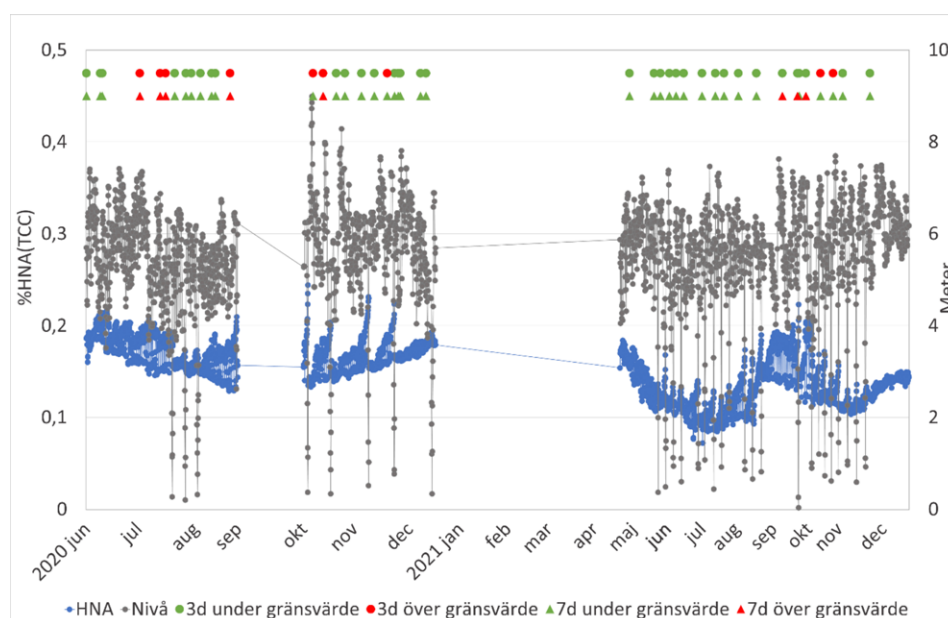
I reservoar 433 som är ett vattentorn finns en BactoSense online flödescytometer installerad sedan juni 2020 som mäter TCC och %HNA i reservoarens huvudledning. Det ska påpekas att samma huvudledning används för både in- och utgående bassängvatten. Bassängerna fylls på natten för att därefter leverera dricksvatten med självfall till konsumenterna de övriga tiderna på dygnet. Det automatiska FCM-instrumentet har med sina täta provtagningar varannan timme gett en detaljerad bild av bakterieförändringarna i tornets inre bassäng. Figur 3.15 visar vattennivåerna i den inre bassängen och %HNA(TCC) för fyra representativa dygn. De successivt sjunkande vattennivåerna under dagen visar konsumtionen och de stigande vattennivåerna när tornet fylls under natten. Andelen %HNA(TCC) följer samma cykel och sjunker distinkt när tornet fylls på natten för att slutligen motsvara cirka 16 % HNA(TCC) vilket motsvarade det inkommande reservoarvattnets %HNA(TCC).



Figur 3.15

Den cykliska förändringen av vattennivåer i meter och %HNA(TCC) i reservoar 433:s inre bassäng under fyra representativa dygn.

Figur 3.16 presenterar datasetet från juni 2020 t.o.m. december 2021 för tre representativa perioder. De dubbla reservoarbassängerna i reservoar 433 möjliggjorde att öka vattenomsättningen i en bassäng medan den andra utgjorde bufferten för leveranssäkerhet. På så sätt kunde en driftmetod testas, nämligen att genomföra partiella tömningar av den inre bassängen i juli månad 2020 när HPC-värdena överskred gränsvärdena (Figur 3.16 och Tabell B.1). Initialt testades 5 – 10 % större vattenomsättning i båda bassängerna genom att både fylla och tömma mer vatten under fem dagar. Den ökade omsättningen gav inget nämnvärt utslag på %HNA(TCC) och inte heller på odlingsbara mikroorganismer. Därför testades en kraftigare åtgärd, en total tömning av de båda bassängerna i tornet. Genom att göra det i omgångar fanns det fortfarande vatten för distribution i tornet. Denna tömning sänkte distinkt %HNA(TCC) och HPC-värdena. Därefter utvärderades tidsintervallen mellan tömningarna vilket tydliggjorde att HNA-värden som översteg 20 % sammanföll med HPC-värden som överskred gränsvärdena. Sommaren 2021 genomfördes regelbundna tömningar var 14:e dag vilket med marginal sänkte %HNA(TCC) samtidigt som odlingsresultaten visade enstaka cfu per ml. Noterbart sänktes basnivån för %HNA(TCC) i den inre bassängen under denna period vilket troligtvis berodde på en mer grundlig ursköljning av reservoaren.



Figur 3.16
Vattennivåer (meter) och %HNA(TCC) i reservoar 433:s inre bassäng från juni 2020 t.o.m. december 2021. Data visas för de tre perioder som driftmetoden med reservoartömningar utvärderades. Totalt var det 28 tömningar. Cirklar visar odlingsbara mikroorganismer och trianglar långsamväxande bakterier. Gröna cirklar/trianglar är godkända odlingsresultat medan rött redovisar prover som översteg gränsvärdet för mikrobiologiska analyser enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30). Tabell B.1 redovisar odlingsresultaten i cfu per ml.

Dock tömdes inte reservoaren under en månads tid i augusti och september 2021 vilket återigen genererade höga HPC-värden. Händelsen nyttjades för att ta dna- och odlingsprover från bulkvatten, ytfilm och biofilm i reservoarens inre bassäng. Därefter återupptogs drifrutinen för reservoaren vilket återställde dricksvattenkvaliteten samt återigen sänkte basnivån för %HNA(TCC) till cirka 10 %, ett värde som motsvarar andelen HNA på utgående vatten från Görvälnverket under hösten (Figur 3.16). Noterbart var att vinter- och vårperioderna saknade påtagliga %HNA(TCC) förändringar pga. de lägre vattentemperaturerna i hela systemet från råvatten till kran inklusive reservoarerna.

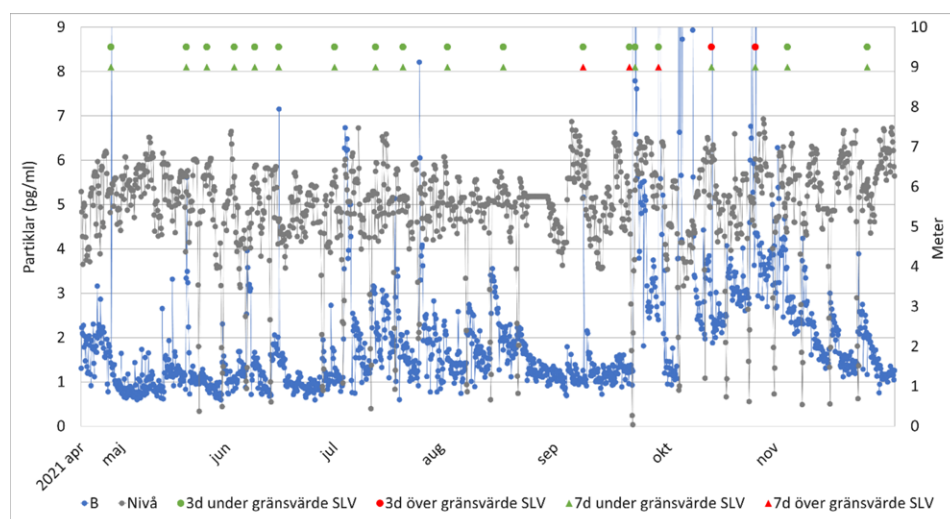
3.2.2 ATP-analys i reservoar 433

Norrvatten installerade en online ATP mätare (AppliTek EZ-ATP) den 10 oktober 2019 för att mäta extracellulärt-, intracellulärt- och totalt-ATP från reservoar 433:s inre bassäng. Detta instrument har levererat data cirka 2 år (november 2019 t.o.m. december 2021), med varierande tidsintervall på varje, varannan timme, var tredje och var fjärde timme (Figur B.5). Halten intracellulärt, s.k. bakteriellt, ATP varierade mellan cirka 2 och 6 pg per ml vilket är strax över instrumentets kvantifieringsgräns på 0.5 pg/ml.

Totalt ATP följde bakteriellt ATP på en marginellt högre nivå. Fritt ATP var < 0.5 pg/ml. ATP-värdena följde i stort vattentemperaturerna bortsett från februari 2020. Dock kunde ingen korrelation påvisas mellan; ATP och vattennivåerna i vattentornet, ATP och TCC, ATP och %HNA(TCC), eller ATP och HPC. Troligtvis var ATP-nivåerna i utgående reservoarvatten för låga för att kunna påvisa eventuella korrelationer.

3.2.3 Partikelanalys i reservoar 433

Tillsammans med de övriga två online instrumenten installerades en partikelsensor som mätte s.k. B-partiklar under drygt ett halvår 2021 i reservoaren (Figur 3.17). B-partiklar indikerar kluster eller partiklar som kopplas till fragment från biofilm eller sediment som normalt inte förekommer i dricksvatten enligt Uponor (se kapitel 2.7). De högsta B-partikelvärdena observerades i samband med en tömning av reservoaren för att därefter sjunka successivt till låga värden under längre drift. Manuell provtagning av reservoaren visade också hög turbiditet direkt efter en fullständig tömning av den inre bassängen. Detta visar att påfyllnadsprocessen av tornet rör upp partiklar, troligtvis från bottensediment, som därefter kan återsedimentera eller följa med utgående dricksvatten. Basnivån av antalet B-partiklar ökade något i samband med de mer frekventa tömningsrutinerna i oktober-november 2021. Dock gick nivåerna av B-partiklar ner successivt efter den 6:e tömningen av totalt nio vilket indikerade en "ursköljningseffekt" i reservoaren.



Figur 3.17

Förändringen av B-partiklar (blått) och vattennivåer (grått) i reservoar 433:s inre bassäng tidsperioden april t.o.m. december 2021. Cirklar visar odlingsbara mikroorganismer och trianglar långsamväxande bakterier. Gröna cirklar/trianglar är godkända odlingsresultat medan rött redovisar prover som översteg gränsvärdet för mikrobiologiska analyser enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30). Tabell B.1 redovisar odlingsresultaten i cfu per ml.

3.2.4 Taxonomisk dna-analys

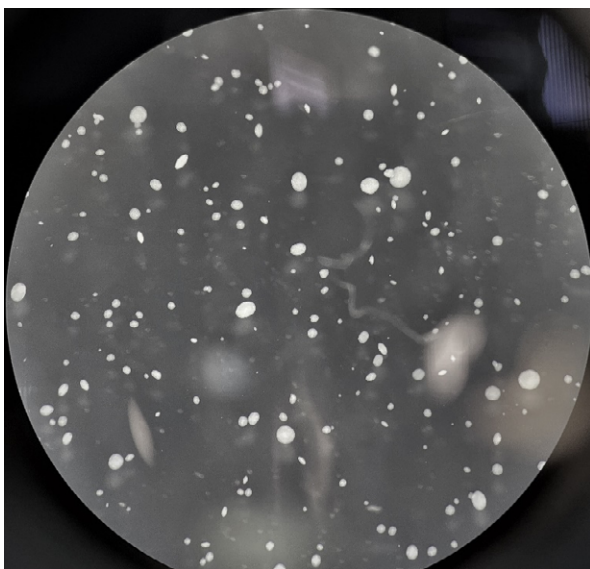
Dna-analysen från reservoar 433:s inre bassäng (Figur B.1), visade förekomst av tre potentiella HPC-bakterier i bulkvattnet och ytfilmen som kan ha orsakat odlingssvar med bedömningen tjänligt med anmärkning, nämligen *Sphingomonas*, *Polaromonas* och *Flavobacterium* (Figur 3.18). Övriga bakterier i bulkvattnet med en relativ förekomst på > 5 % var icke-odlingsbara eller svårödlade bakterier. Noterbart var att *Flavobacterium* visade stor förekomst i ytfilmen (18 %) jämfört med de övriga bulkvattenproverna från reservoaren (2,5 %). *Sphingomonas* och *Polaromonas* påvisades även i reservoarens väggbiofilm, men ej i utgående dricksvatten från Görvålverket. Biofilmsproverna från bassängens väggar visade att *Sphingomonas* och *Mycobacterium* ökade i relativ förekomst gradvis från den nedre delen av bassängväggen till den översta periodvis lyft-exponerade delen av reservoarväggen. *Pedomicrobium*, *Nitrospira* och Pir4 lineage ökade gradvis i relativ förekomst från den övre delen på bassängen (motsvarande en vattennivå på 6 meter) till de nedre delarna av bassängväggen (motsvarande en vattennivå på 2 meter).

	Biofilm vägg					Bulkvatten																					
CL500-29 marine group-	0	0.1	0.1	0.4	0.2	32.7	37.3	33.4	14.9	14.2	15	13.2	15	11.9	11.8	13.6	10.7	11.7	8.7								
Brevundimonas-	0.7	1.7	1.2	1.7	4	0	0	0	14.6	14.9	13.5	12.2	12.9	14	14	14.4	13.8	14.7	13.7								
hgcl clade-	0.2	0.3	0.3	1.4	0.8	19.2	13.2	17.5	7.5	7.8	8.6	7.9	8.8	8.1	6.5	6	5.1	4.5	5								
Sphingomonas-	2.4	3.5	2.1	9.4	17.1	0	0	0.1	8.8	9	8	8	8.7	8.8	9.6	9.5	6.9	6	7.4								
Polaromonas-	0.1	0.2	0.1	0.8	0	0	0	0	9.9	10.7	10	9.6	9.3	10.3	9.3	9.8	10.3	10.5	11								
Nitrospira-	26	21.3	16	11.2	2.4	0	0.1	0.1	0.8	0.7	0.9	1	0.9	0.8	1.1	1.2	1.1	1.2	1.1								
Flavobacterium-	0	0	0.2	0	0	1.4	1.9	2.1	2.5	2.2	2.4	2.4	2.3	2.9	2.7	2.6	17.2	19.2	17.1								
Candidatus Nitrotoxa-	0.2	0.2	0.3	0.2	0.1	0.6	0.5	0.5	5.6	6.2	6.2	6	6	6.1	6.7	5.3	5.1	5.2	6								
Pir4 lineage-	12.8	11.3	14.6	1.9	3.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0								
Hyphomicrobium-	6.9	7.4	8.5	6.7	5.9	0	0	0	0.5	0.5	0.5	0.6	0.5	0.4	0.6	0.6	0.5	0.4	0.4								
Mycobacterium-	0.3	0.4	0.5	2.2	28.6	0.2	0.2	0.3	0.1	0.2	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3	0.1	0.2	0.2	0.2								
marine group-	0	0	0	0	0	3.8	2.4	2.9	2.1	2	1.8	2.5	2.5	2.9	2.3	2.1	1.8	1.5	2.2								
Pedomicrobium-	7.9	8.2	6.9	3.8	3.1	0.2	0.3	0.3	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1								
f__Clade III_OTU_13-	0	0	0	0	0	3.1	1.8	1.8	2.1	1.8	2	2.9	2.6	2.6	2.8	3	2.2	1.5	1.9								
f__Burkholderiaceae_OTU_17-	0	0.1	0.2	0.3	0	0	0	0	2.6	3.2	3.6	2.7	2.9	2.7	2.8	2.4	2.2	2.7	2.8								
Methylotenera-	0.6	1.2	1.9	5.3	1.2	0	0	0	1.4	1.3	1.1	1.7	1.3	1.4	1.7	1.9	2.5	2.1	2.2								
Nitrosomonas-	1.7	1.7	1.4	2	0.3	0	0	0	2.1	1.9	1.7	2.2	1.8	1.9	2.7	2.5	1.4	0.9	1.1								
Sediminibacterium-	0	0	0	0	0.1	2.2	2.1	2.4	1.5	1.4	1.6	1.7	1.7	1.5	1.5	1.4	0.9	0.7	0.8								
Limnolobos-	0	0	0	0	0	2.4	2.3	2.3	1.1	1.2	1.2	1.3	1.1	1.3	1.4	1.2	0.9	0.8	1.1								
Lacunisphaera-	0	0	0	0	0	1.4	1.4	1.3	1.6	1.3	1.3	1.7	1.4	1.7	1.8	1.8	1.1	0.9	0.8								
	BF 2m-	BF 3m-	BF 4m-	BF 5m-	BF 6m-	Görvälnverket 1-	Görvälnverket 2-	Görvälnverket 3-	Kran torn 1m 1-	Kran torn 1m 2-	Kran torn 1m 3-	Kran torn 3m 1-	Kran torn 3m 2-	Kran torn 3m 3-	lågande DV torn 1-	lågande DV torn 2-	Ytfilm 1-	Ytfilm 2-	Ytfilm 3-								

Figur 3.18

Den relativa andelen i % av de 20 mest förekommande bakteriesläktena i reservoar 433:s inre bassäng. BF2m, BF3m, etc. är biofilmsprover tagna från bassängväggen på 2, 3, 4, 5 och 6 meters höjd från bassängbotten. Görvälnverket 1, 2 och 3 är referensprover tagna på utgående dricksvatten. Kran torn 1m 1, Kran torn 1m 2 etc. är triplikat på bulkvattenprover tagna via de permanenta tappkranarna på 1 m respektive 3 m höjd från bassängbotten. Utgående DV1 och 2 är duplikat tagna på utgående vattentornsvatten. Ytfilm 1, 2 och 3 är triplikat tagna på ytvattnet i bassängen.

Bakterieidentifieringen av åtta HPC-kolonier från reservoarens bulkvatten (fyra från utgående reservoarvatten, två från kran 1 meter och två från kran 3 meter, se Figur B.1), med långsamväxande bakterier från den 20 september 2021 (Figur 3.19), visade att samtliga åtta tillhörde släktet *Polaromonas*, en nitratreducerande frissimmande bakterie vars optimala tillväxttemperatur är 4 – 12 °C (Jang et al. 2019). Identifieringen av två HPC-kolonier från tornets ytfilm visade att båda tillhörde bakteriefamiljen *Microbacteriaceae*.

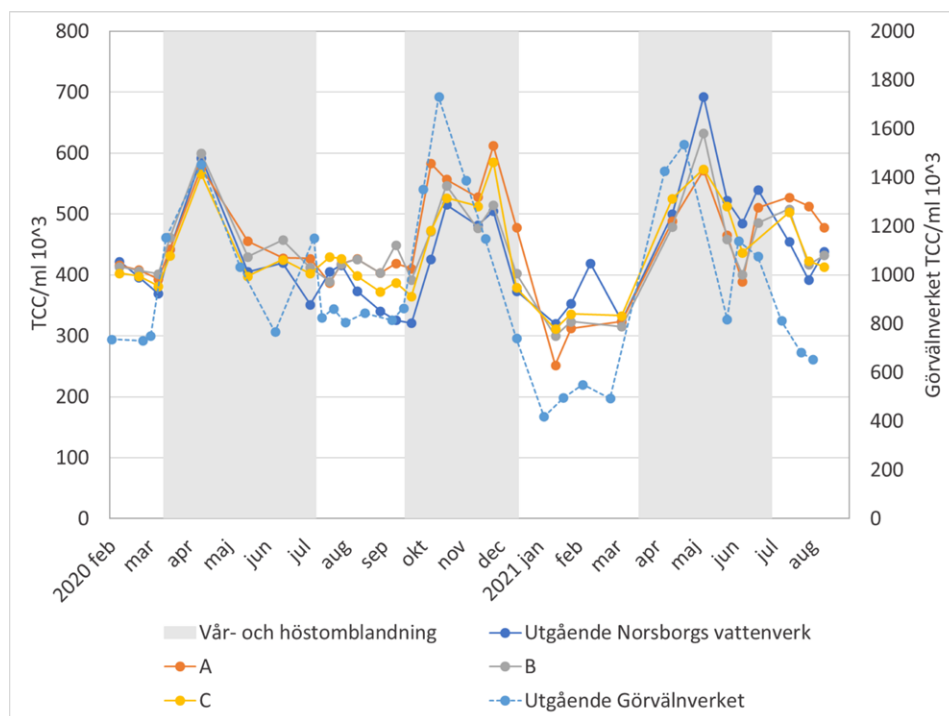


Figur 3.19

Representativ odlingsplatta med ingjutna långsamväxande bakteriekolonier från reservoar 433. Vattenprovet togs den 20 september 2021 (Tabell B.1).

3.2.5 Södra Storstockholm

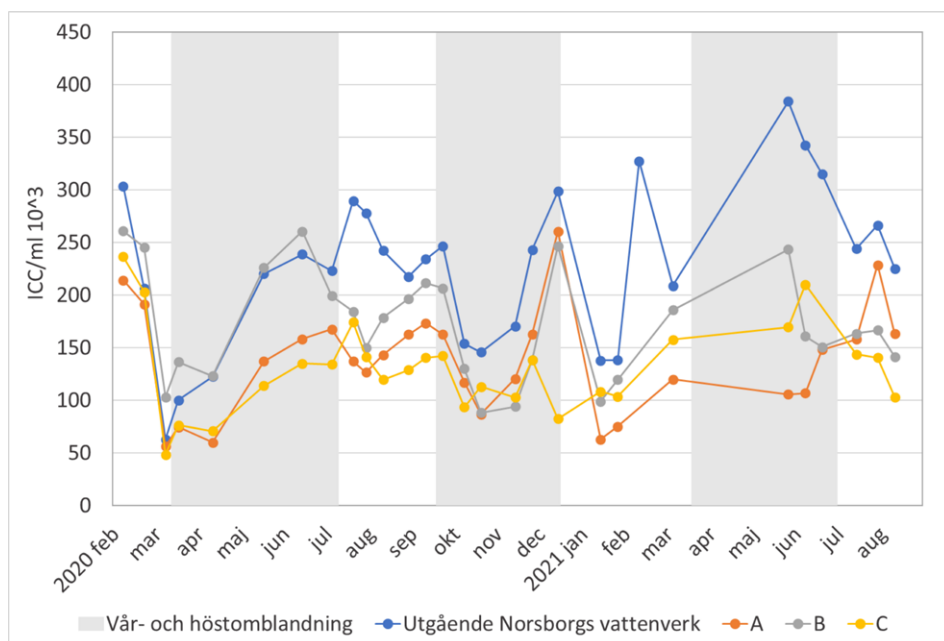
Stockholm Vatten och Avfall (SVOA) deltog i Storstockholmsstudien med fyra referenspunkter. De tre provpunkterna samt utgående dricksvatten från Norsborgs vattenverk uppvisade också ett cykliskt TCC-förlopp som uppenbarligen påverkades av Mälarens vår- och höstomblandningar (Figur 3.20). Dock var det cykliska förloppet mer dämpat jämfört med norra Storstockholm (Figur 3.12). De lägsta TCC-värdena, cirka 350 000 bakterier per ml, var ungefär hälften av motsvarande värden i norra delen av staden i januari/februari och augusti. De högsta värdena, cirka 600 000 bakterier per ml, var knappt 40 % av motsvarande värden i norr. De högsta värdena uppmättes i anslutning till vår- och höstomblandningarna i april/maj respektive oktober/november.



Figur 3.20

Förändringen av TCC i södra Storstockholms yttre ledningsnät i tre referenspunkter A, B och C samt i utgående dricksvatten från Norsborgs vattenverk från februari 2020 till augusti 2021. Den högra y-axeln visar TCC i utgående dricksvatten från Görvålverket. Den gråa färgen markerar GörvålInfjärdens naturliga vår- och höstomblandningar. Resultat är medelvärde av dubletter.

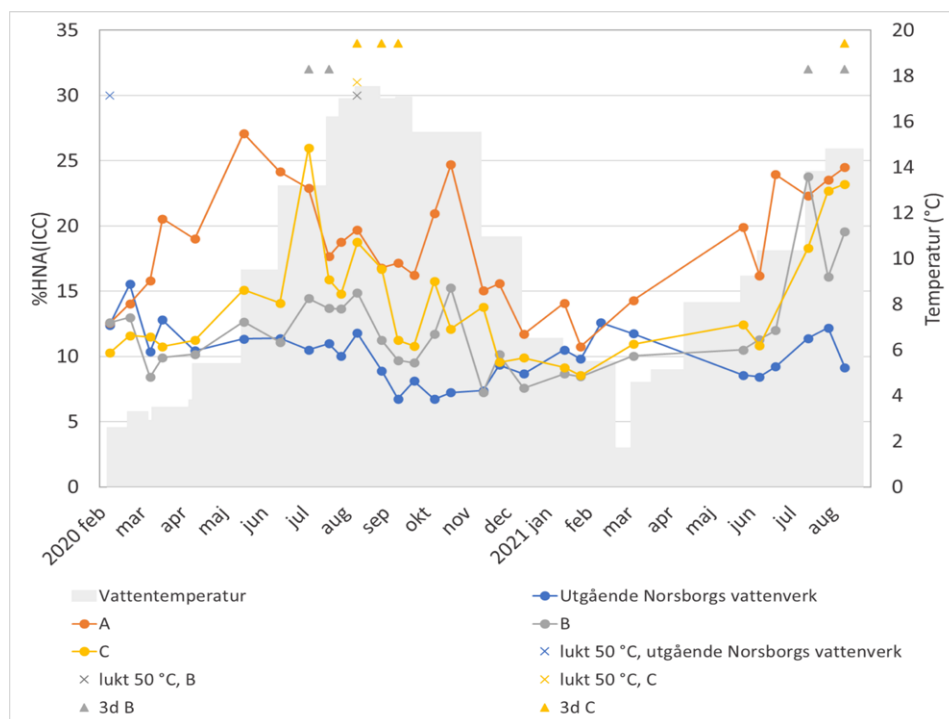
ICC-värdena låg på en högre nivå i utgående dricksvatten jämfört med provtagningspunkterna i ledningsnätet vilket överensstämmer med norra Storstockholm (Figur 3.21). De lägre ICC-nivåerna i ledningsnätet berodde troligtvis på den sekundära desinfektionen och UV-bestrålningen. Mälarens vår- och höstomblandningar påverkade också ICC-utfallet i vattenverket och ledningsnätet.



Figur 3.21

Förändringen av ICC i södra Storstockholms yttre ledningsnät i tre referenspunkter A, B och C samt i utgående dricksvatten från Norsborgs vattenverk från februari 2020 till augusti 2021. Den gråa färgen markerar Görvålnfjärdens naturliga vår- och höstomblandningar. Resultat är medelvärde av dubletter.

När förändringen av %HNA(ICC) uppmättes i utgående dricksvatten från Norsborgs vattenverk var värdena relativt stabila på cirka 10 % (Figur 3.22), vilket var lägre jämfört med norra Storstockholm (Figur 3.14). Den högsta %HNA(ICC)-variation uppmättes i A, en provpunkt utan påvisbara klorhalter över året, med undantag av något enstaka prov (Figur B.6). Dock överensstämde inte de högsta HNA-värdena i A och de högsta vattentemperaturerna, såsom i norra Storstockholm, vilket indikerar en annorlunda tillväxtrespons från biofloran. Provpunkterna B och C uppvisade stigande HNA-värden i juli när klorhalterna minskade (Figur B.6), samtidigt som vattentemperaturen närmade sig 17 °C. I samband med de klorfria perioderna i B och C noterades luktnämningar och HPC-värden som översteg gränsvärdet för odlingsbara mikroorganismer.



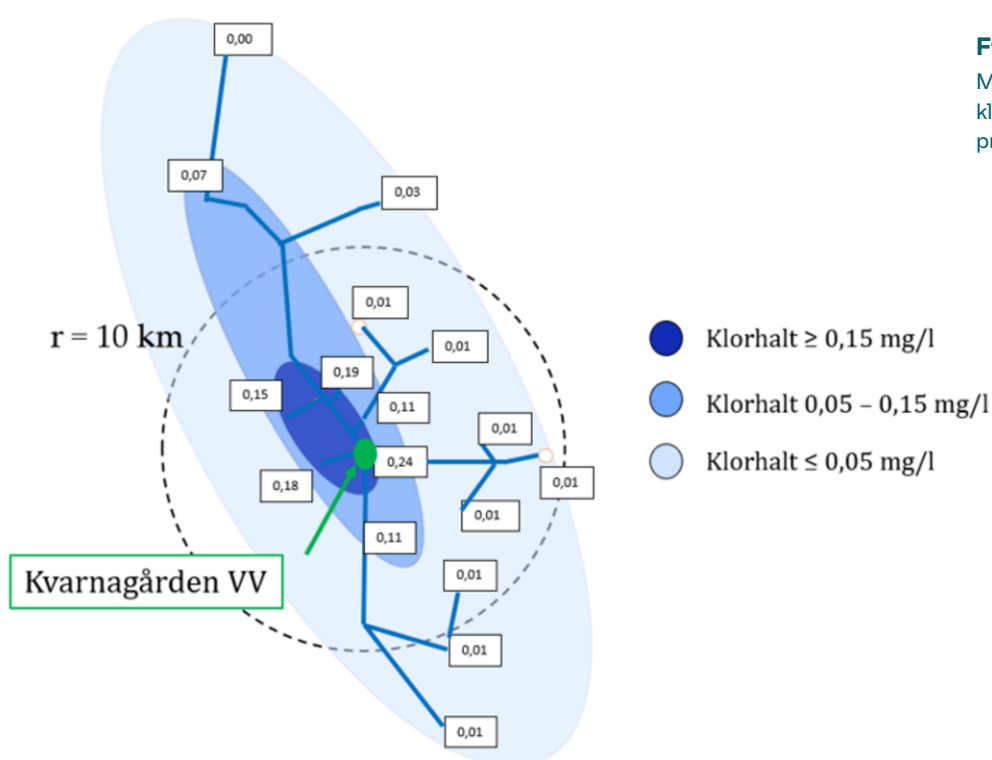
Figur 3.22

Förändringen av %HNA(ICC) i södra Storstockholms yttre ledningsnät i tre referenspunkter A, B och C samt i utgående dricksvatten från Norsborgs vattenverk från februari 2020 till augusti 2021. Vattentemperaturen är medelvärden på provtagnings-temperaturerna. Kryss visar prover med påvisad luktnämning och trianglar visar odlingsbara mikroorganismer som översteg gränsvärdet för mikrobiologiska analyser enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30). Resultat är medelvärde av dubletter.

3.3 Varbergsstudien

I Varberg studerades biofilmens successiva anpassning till ett monokloraminfritt dricksvatten i ledningsnätet. Vivab har analyserat 16 strategiska provtagningspunkter från hela kommunen med FCM åren 2018 t.o.m. 2021 (Figur 2.4). Under denna period var det möjligt att se hur bakterieantalet varierade i olika tryckzoner i ledningsnätet beroende på bland annat uppehållstider, avstånd till vattenverket och vattentemperaturer. Mätresultaten har sedan tidigare bildat underlag för att bestämma referensvärden för alla provpunkter och olika årstider innan borttagandet av monokloramin (Schleich et al. 2020). Referensvärdena har i denna studie använts för att uppskatta huruvida ökningen av TCC är beroende på utfasningen av monokloramin eller om det handlar om säsongsberoende trender.

Innan utfasningen av kloramin mättes även klorhalterna vid alla provpunkterna. Uppmätta klorkoncentrationer var mycket låga i ytterområdena i ledningsnätet (Figur 3.23).



Figur 3.23

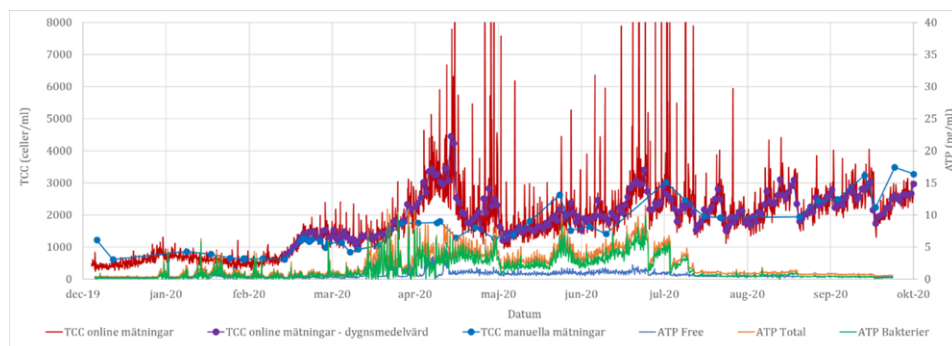
Mätresultat för totalt klor i mg/l Cl₂ på provtagningspunkterna.

3.3.1 Utgående dricksvatten från vattenverket

De första fyra veckorna efter avstängningen av monokloramin den 20:e januari 2020 fanns det inga indikationer på återväxt i ledningsnätet eller frisättning av biofilmbakterier pga. av förändrad dricksvattenkvalitet. Fr.o.m. den 18:e februari visades dock en ovanlig ökning av TCC på online FCM (BactoSense) i vattenverket. Resultaten bekräftades med manuella mätningar av bakterieantalet med en BD Accuri C6 (Figur 3.24). Värdena ökade från genomsnittligt 600 bakterier/ml till 1200 bakterier/ml. Värdena fluktuerade därefter lite men höll sig i stort sett på samma nivå. Dessutom upptäcktes en kraftig uppgång av andelen "high nucleic acid" (HNA) bakterier från runt 65 % till 90 % (Figur 3.25). Den 26:e mars började bakterierantalet återigen att öka i utgående vatten, både online och i manuella mätningar. Bakteriell tillväxt i provtagningsledningen och kontamination av BactoSense ledde dock till mätosäkerhet och avsaknad av noggrannhet

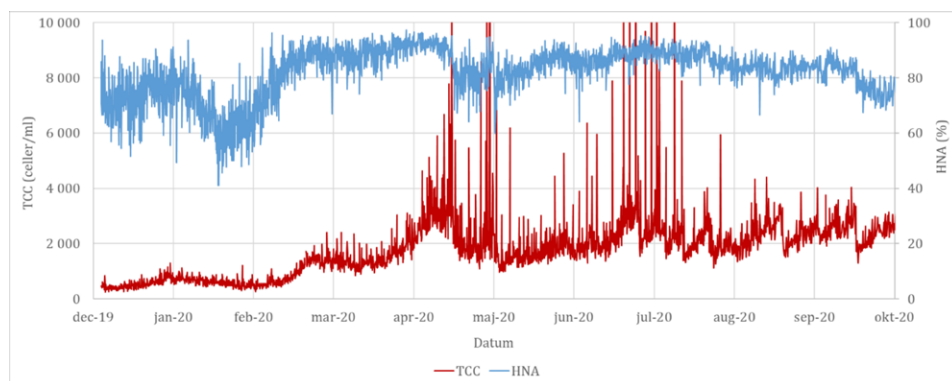
av resultaten sedan slutet av mars. Upprepad rengöring och spolning av provtagningsledningar kopplade till mätinstrumentet löste detta.

ATP-resultaten visade liknande trender som TCC. Innan borttagningen av kloramin låg ATP-värdena under 0,5 pg/ml ATP vilket ligger under instrumentets kvantifieringsområde (0,5 – 200 pg/ml). Från den 17:e mars började ATP-värdena att öka. Huruvida denna ökning var kopplad till det utförda underhållet av Hach den 16 mars (inklusive ny kalibrering av instrumentet) eller om detta orsakades av något annat kunde inte besvaras. Under sommarmånaderna visade ATP-värdena en snabbt stigande uppgång. Åtgärder som att spola provtagningsledningen och byta provtagningsslangen bidrog till att minska värdena. Dessutom ändrades rengöringsprotokollet från en gång per dag till en rengöring före varje mätning vilket resulterade i en stabilisering av de uppmätta värdena.



Figur 3.24

FCM- och ATP-resultat på utgående vatten i vattenverket Kvarnagården. Resultaten omfattar online mätningar från ATP- och FCM-instrument (inkl. dygnsmedelvärde) och manuella FCM-mätningar från samma provpunkt.

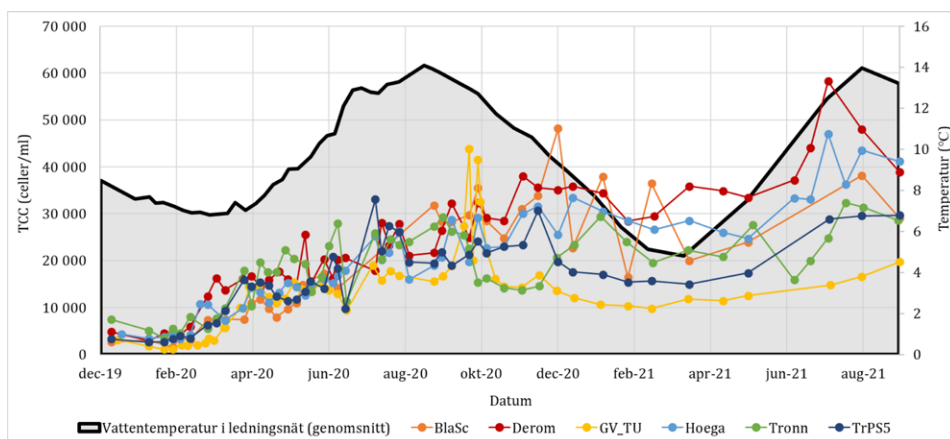


Figur 3.25

Online FCM-mätningar på utgående vatten (TCC och HNA).

3.3.2 Ledningsnätet

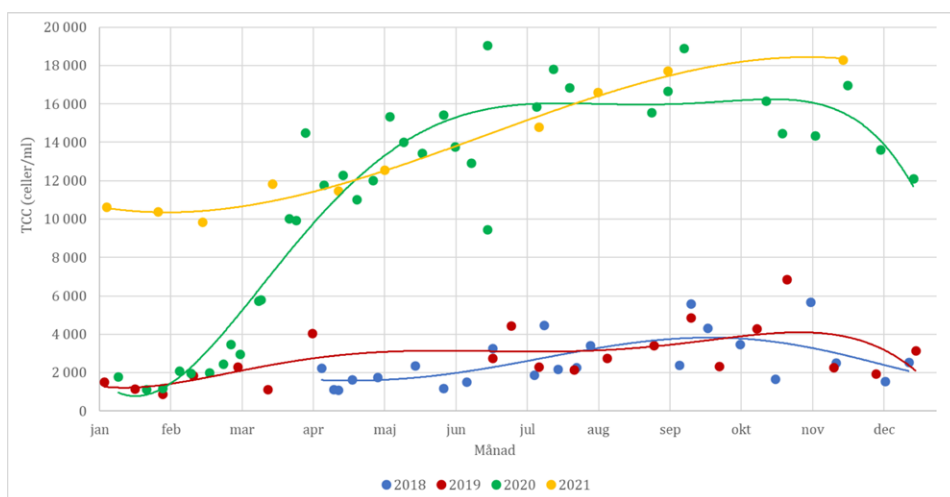
De första fyra veckorna efter utfasningen av kloramin fanns det inga indikationer på en bakteriell tillväxt i ledningsnätet eller frisättning av biofilmsbakterier på grund av förändrad dricksvattenkvalitet. Fr.o.m. mitten av februari började analysresultat från ledningsnätet visa samma trender som utgående vattenverketsvatten med en kraftig uppgång av TCC. Trenderna syntes framför allt på de punkter som ligger nära vattenverket och som tidigare har varit exponerade för ”högre” halter av kloramin (dvs. före utfasning av kloramin, Figur 3.26). Analyserna av basvärdena och mätresultaten visade att TCC i dessa provpunkter låg mycket högre än vad de brukade göra vid samma årstid tidigare år.



Figur 3.26

Utveckling av TCC i ledningsnätet vid punkter som hade mätbara klorhalter innan utfasningen av kloramin den 20 januari 2020.

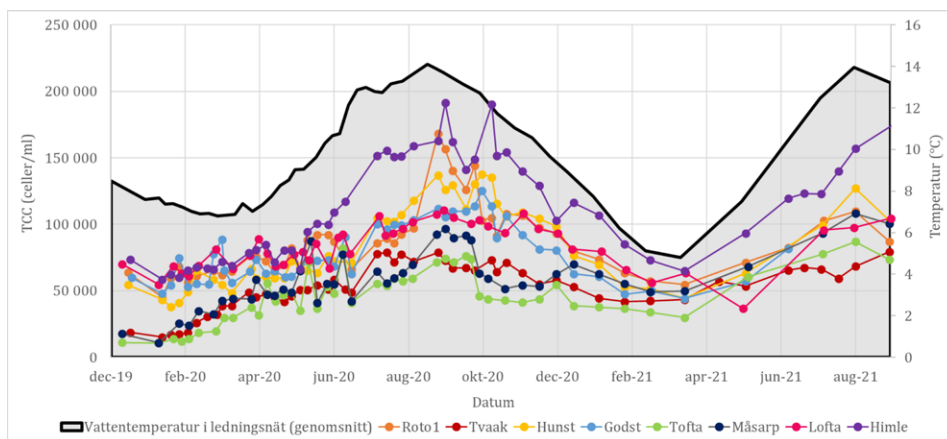
Ett exempel finns i Figur 3.27 som visar värdena i provtagningspunkten GV_TU som ligger nära vattenverket och som hade klorhalter omkring 0,18 mg/l innan utfasningen av kloramin. Under februari 2020 ökade TCC kraftfullt innan värdena började stabiliseras i juni på en nivå som var sex gånger högre jämfört med åren 2018 och 2019. TCC-nivåerna vid provpunkten GV_TU låg i juli 2018 och 2019 på cirka 2700 celler/ml. Motsvarande period 2020 och 2021 låg värdena på cirka 17 000 celler/ml vilket visar det nya referensvärdet för GV_TU i juli utan monokloramin i ledningsnätet.



Figur 3.27

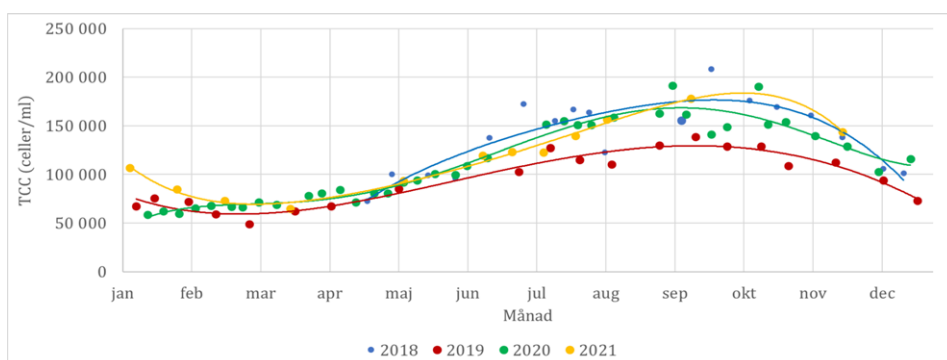
Utveckling av TCC på provpunkten GV_TU under åren 2018, 2019, 2020 och 2021.

Distributionspunkterna som ligger längre bort från vattenverket och som inte hade varit utsatta för klor innan utfasningen visade inga stora förändringar med avseende på TCC (Figur 3.28). Förändringarna av bakterieantalet följde vattentemperaturen och trenderna från tidigare år. Ett exempel är provtagningspunkten Himle (Figur 3.29). Himle ligger i ett ytterområde och vattnet på provpunkten hade inga mätbara klorhalter innan utfasningen. Utvecklingen av TCC under åren 2020 och 2021 i Himle uppvisade samma förlopp som under åren 2018, vilket tyder på att utfasningen av kloramin inte hade någon stor påverkan på bakterieantalet. Det ska dock nämnas att sommaren 2018 var ovanligt varm jämfört med 2019-2021 vilket höjde vattentemperaturen i Himle med knappt en grad. Den ringa temperaturhöjningen kan mycket väl ha påverkat TCC-värdena i Himle.



Figur 3.28

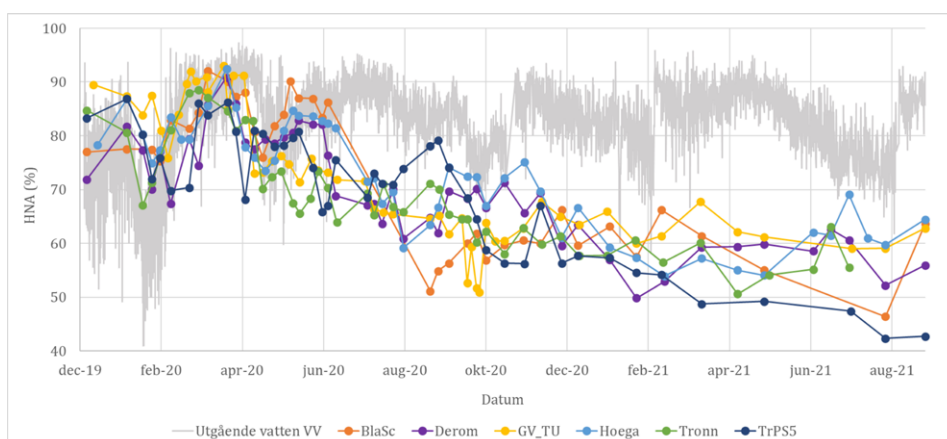
Utveckling av TCC i ledningsnätet vid provpunkter som inte hade mätbara klorhalter innan utfasningen av kloramin den 20 januari 2020.



Figur 3.29

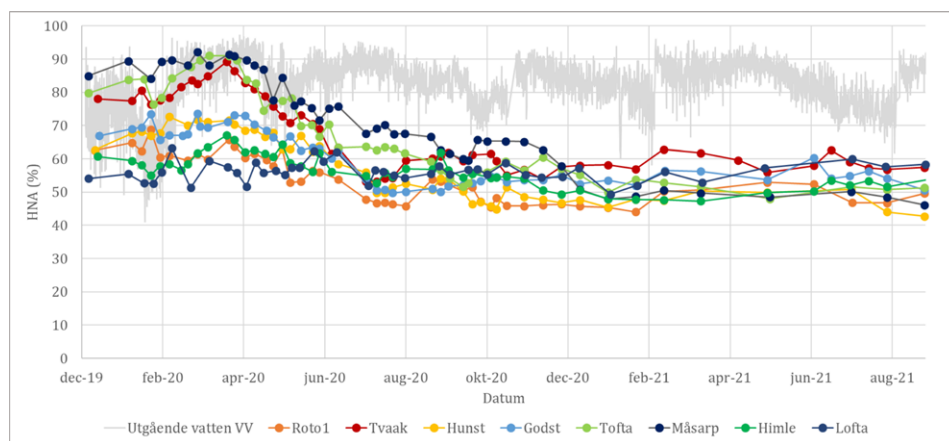
Utveckling av TCC på provpunkten Himle under åren 2018, 2019, 2020 och 2021.

Analysen av andelen HNA-bakterier i proverna från de centrala distributionsområdena visade liknande trender som analysen av utgående vattenverksvatten med en initial uppgång av andelen HNA-bakterier (Figur 3.30). Provpunkterna från ytterområdena visade initialt ingen större HNA-förändring (Figur 3.31). I början av sommaren 2020 påvisades dock en tydlig nedgång av andelen HNA-bakterier i ytterområdena i ledningsnätet som stabiliserades under hösten 2020. I de centrala provpunkterna fortsatte andelen HNA bakterier minska till sommaren 2021 (Figur 3.30). Procentandelen av HNA-bakterier minskade i samtliga provtagningspunkter från 55 – 90 % till 45 – 65 %.



Figur 3.30

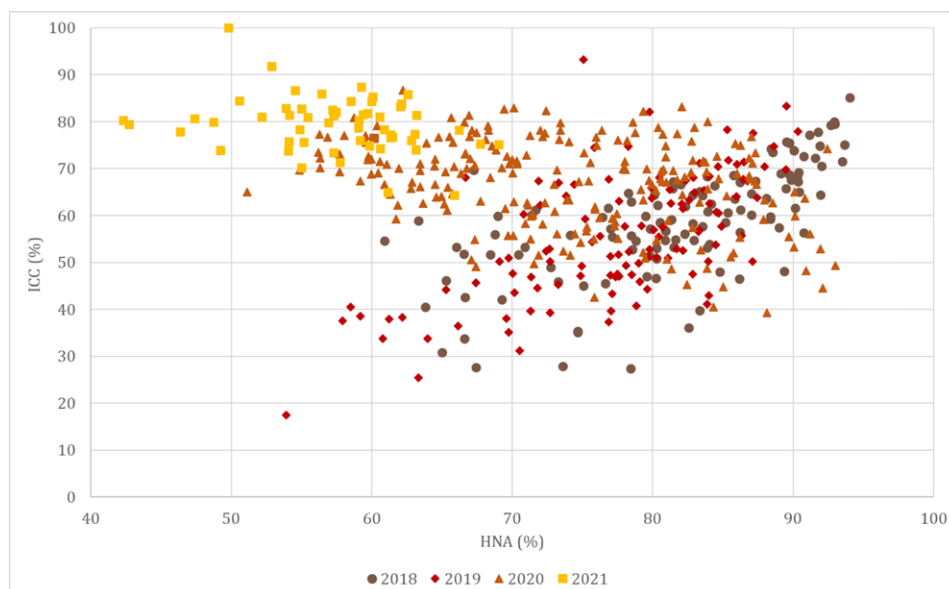
Utveckling av %HNA i det centrala ledningsnätet vid provpunkter som hade mätbara klorhalter innan utfasningen av kloramin den 20 januari 2020.



Figur 3.31

Utveckling av %HNA i ledningsnätet vid punkter som inte hade mätbara klorhalter innan utfasningen av kloramin.

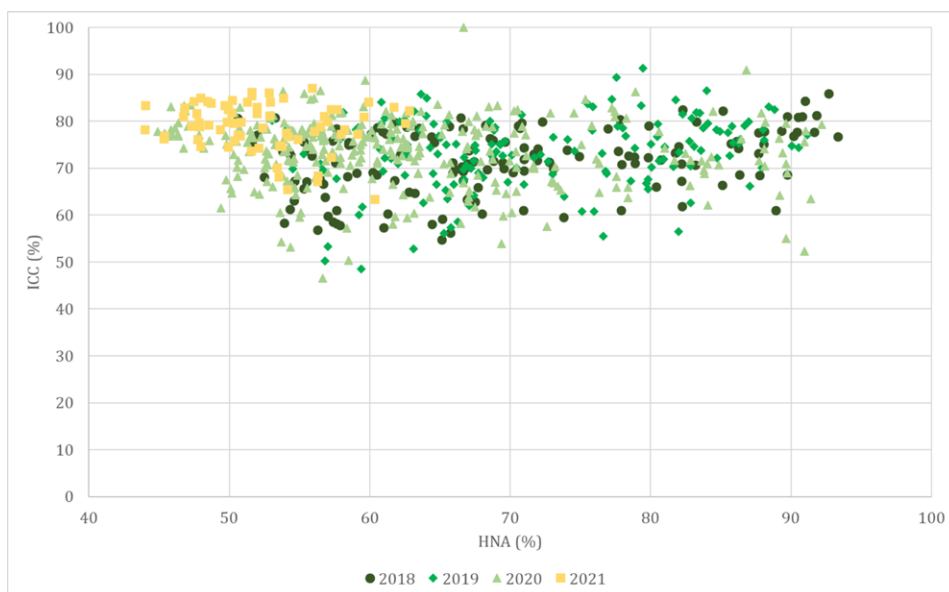
Vid närmare analys visade sig att även andelen ICC förändrades efter utfasningen av monokloramin. Den procentuella andel ICC ökade framför allt i provpunkter som tidigare varit utsatta för monokloramin. Figur 3.32 illustrerar hur %ICC ökade från genomsnittlig 55 % i 2019 till 80 % i 2021 medan %HNA-bakterier minskade från genomsnittlig 77 % 2019 till 58 % 2021.



Figur 3.32

Förändring av %HNA och %ICC åren 2018 t.o.m. 2021 i provtagningspunkter som innan den 20 januari 2020 varit utsatta för kloramin.

Vid provpunkter som inte tidigare utsatts för kloramin var ökningen av ICC minimal från cirka 73 % 2019 till 79 % 2021. Detta jämfört med den stora minskningen av andelen HNA bakterier från cirka 75 % 2019 till 52 % 2021 (Figur 3.33).

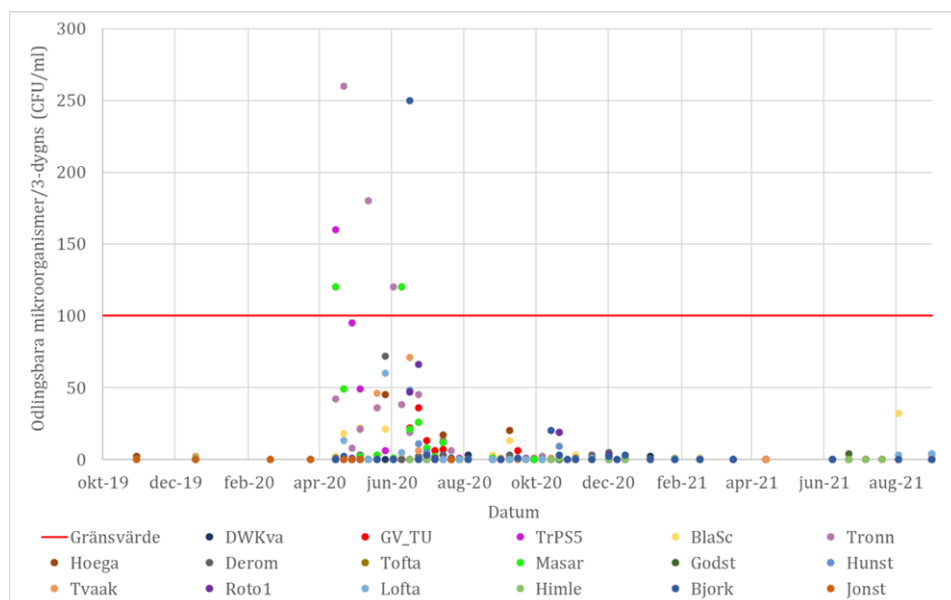


Figur 3.33

Förändring av %HNA och %ICC åren 2018 t.o.m. 2021 i provtagningspunkter som inte tidigare varit utsatta för kloramin, dvs. från ytterområdena i distributionssystemet.

3.3.3 HPC-analys på ledningsnätet

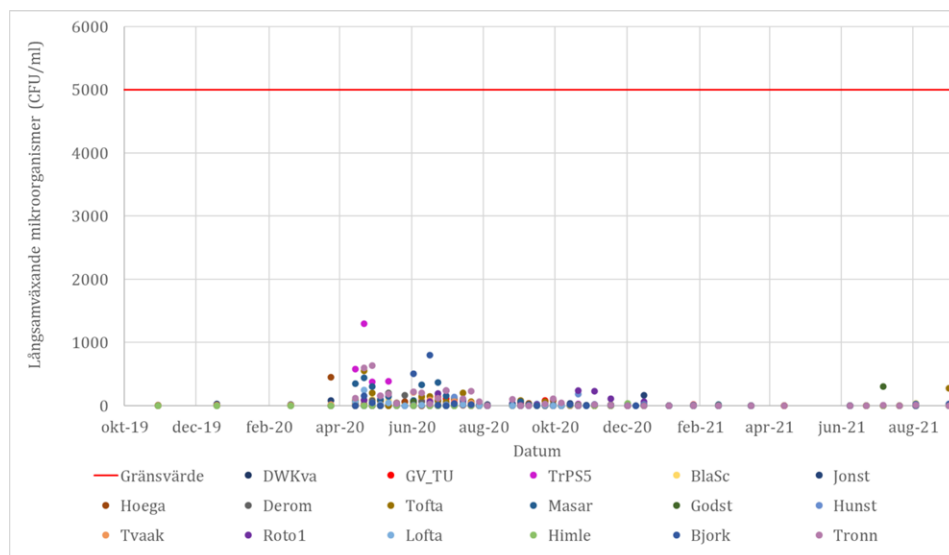
HPC-analysen, dvs. odlingsbara mikroorganismer (3-dygns) och långsamväxande bakterier (7-dygns) utfördes av ett externt analyslabb (SYNLAB Analytics & Services Sweden AB). Sedan mitten av april 2020 utökades provtagningsprogrammet för HPC till att omfatta alla 16 provtagningspunkterna plus Jonst. Beslutet fattades pga. de stigande TCC-värdena våren 2020 efter utfasningen av kloramin. Figur 3.34 visar resultaten för HPC av odlingsbara mikroorganismer (3-dygns), som ökade i mitten av april, speciellt från provtagningspunkter som tidigare påverkats av kloramin. Vid ett par tillfällen över-skred bakteriehalten i ett par provpunkter gränsvärdet för odlingsbara mikroorganismer enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30). I slutet av juni 2020 började HPC-värdena att minska till enstaka cfu/ml för nästan alla provtagningspunkter, samtidigt som TCC började stabiliseras i ledningsnätet.



Figur 3.34

HPC-värden för odlingsbara mikroorganismer (3-dygns) från 17 provtagningspunkter. Gällande gränsvärde enligt dricksvattenförordningen (100 cfu/ml) överskreds flera gånger (SLVFS 2001:30), speciellt vid provpunkterna TrPS5, Tronn och Masar som tidigare utsatts för högre klorhalter.

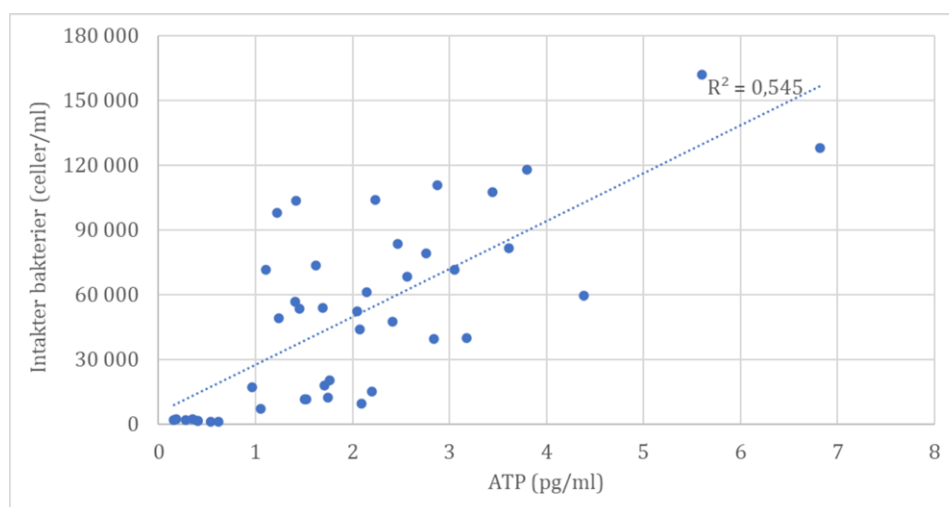
I Figur 3.35 visas halterna av långsamväxande bakterier (7-dygns) från samma vattenprover som används för 3 dygns-analysen. Resultaten pekar på liknande trender som för odlingsbara mikroorganismer. Inledningsvis, från oktober 2019 till februari 2020 påträffades inga eller låga halter av långsamväxande bakterier. Från slutet av mars 2020 påvisades högre halter tills slutet av juni. Därefter börjar värdena att stabiliseras på relativt låga nivåer. Till skillnad från 3-dygns var ökningen av 7-dygns måttlig under den kritiska perioden med cfu-värden som var långt under gällande gränsvärde.



Figur 3.35
HPC-resultat för långsamväxande mikroorganismer (7-dygns) i ledningsnätet. Gällande gränsvärde enligt dricksvattenförordningen (5000 cfu/ml, röd linje) överskreds aldrig (SLVFS 2001:30), dock fanns högre halter långsamväxande bakterier framför allt vid provpunkter som var utsatta för högre klorhalter innan utfasningen.

3.3.4 ATP-analys på ledningsnätet

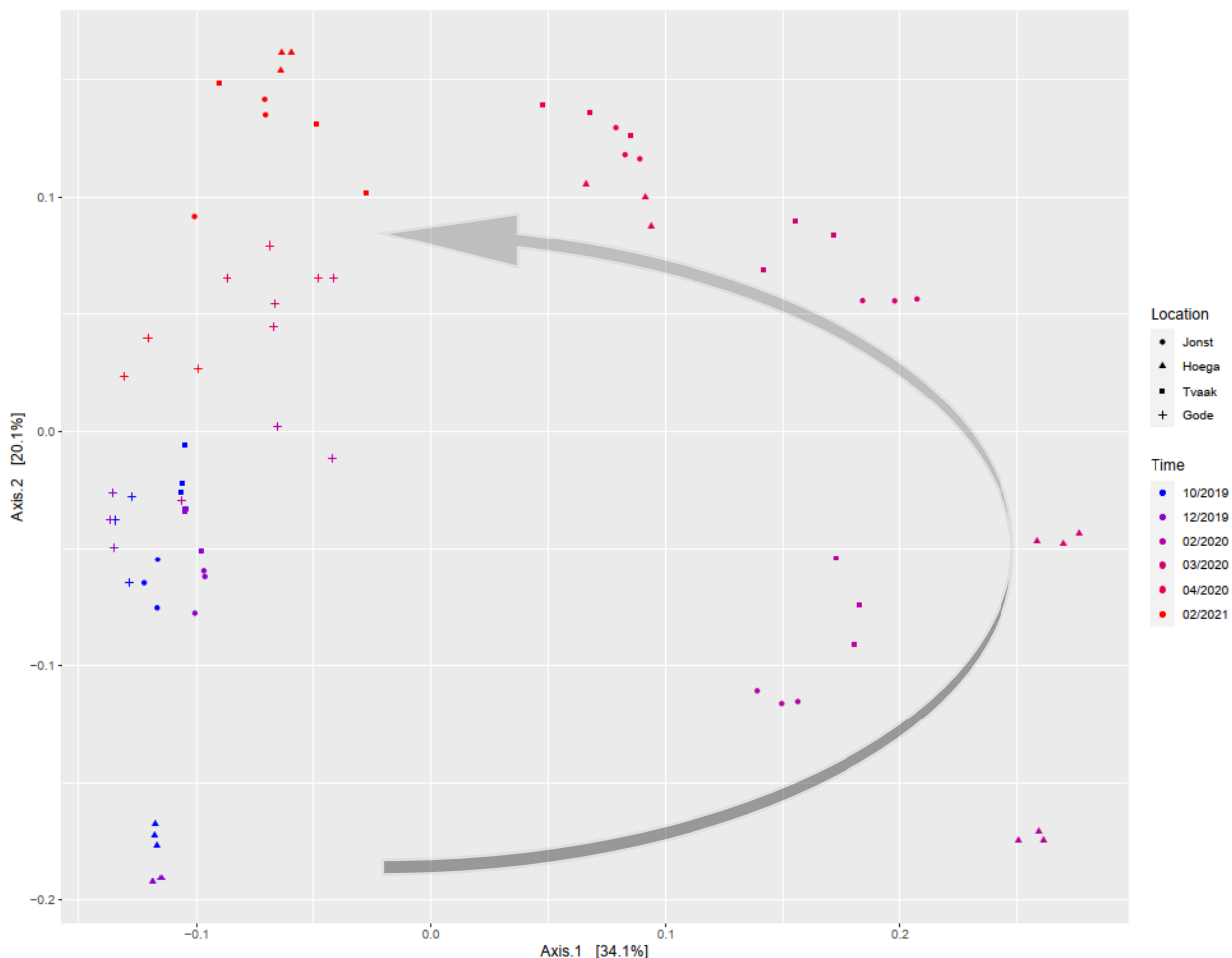
Bakterieantalet i det utgående vattenverksvattnet (<1000 celler/ml) var för lågt för att kunna kvantifieras med befintlig ATP-instrumentering (mätområde 0,5 - 200 pg/ml). Dock fanns det goda möjligheter att mäta ATP-halterna på de olika provtagningsplatserna i distributionssystemet, dvs. analysera biofilmens metabola aktivitet. För att undersöka om det var möjligt att korrelera FCM- och ATP-resultat analyserades dricksvatten från samtliga 16 provpunkter med instrumentets manuella funktion. Vattenproverna hade olika bakterieantal vilket borde motsvara olika ATP-nivåer. Figur 3.36 visar sambandet mellan ICC och bakteriella ATP-koncentrationer (pg/ml). Korrelationskoefficienten R^2 är 0,545 vilket visar att det fanns en moderat korrelation mellan ICC och bakteriell ATP i vattenproverna.



Figur 3.36
Korrelationen mellan ICC och bakteriell ATP från 43 prover från olika provpunkter i ledningsnätet.

3.3.5 Taxonomisk dna-analys

För att undersöka vilka bakterietaxa som lämnade biofilmen i samband med utfasningen av monokloramin togs dricksvattenprover från fyra provtagningspunkter i distributionsystemet, Jonst, Hoega, Tvaak och Godst, vid sex tillfällen under en tidsperiod på 16 månader (Figur 3.37). Ordningen på provpunkterna följer den uppskattade klorhalten där Jonst ligger närmast vattenverket med högst klorhalt (Figur 2.5). Dna i proverna analyserades taxonomiskt med vedertagen sekvenseringsmetodik (se kapitel 2.8). Weighted UniFrac distance PCoA användes för att översiktligt visualisera skillnader i den bakteriella sammansättningen mellan de olika proverna. Varje provpunkt i Figur 3.37 representerar hela bakteriefloran taxonomiskt. De 24 prover som togs innan utfasningen av monokloramin bildar två visuellt distinkta kluster, se punkter tillhörande 10/2019 och 12/2019 i figuren. Proverna från Hoega bildar ett mindre kluster längst ner i figuren. Utmärkande för Hoega som ligger i ett ytterområde i ledningsnätet är höga vattenflöden, mätbara kloraminhalter och låga TCC-halter (Figur 2.5). Proverna från februari, mars och april, dvs. 1, 2 och 3 månader efter utfasningen av kloramin den 20 januari, uppvisar en kraftig förändring av bakteriesammansättningen i vattenproverna från Jonst, Hoega och Tvaak jämfört med Godst, se provpunkterna längs med pilen i figuren. Den första indikationen på stigande TCC-värden var den 18 februari vilket även slump sammanföll tidsmässigt med dna-provtagningen den 18-20 februari (Figur 3.24). Godst ligger i ett ytterområde i distributionssystemet med icke mätbara kloraminhalter och höga TCC-värden (Figur 2.5). Uppehållstiderna i Varbergs distributionssystem har tidigare utretts och var cirka 0-24 timmar i Jonst och Hoega och 24-48 timmar i Tvaak och Godst (Schleich et al. 2020). De sista proverna som sammanföll med stabila TCC-värden bildar ett distinkt taxonomiskt kluster i det övre vänstra figurhörnet. Slutproverna representerar den nya floran i de fyra distinkta distributionszonerna 13 månader efter kloraminutfasningen.



3.3.6 Förändring av bakterieklaser

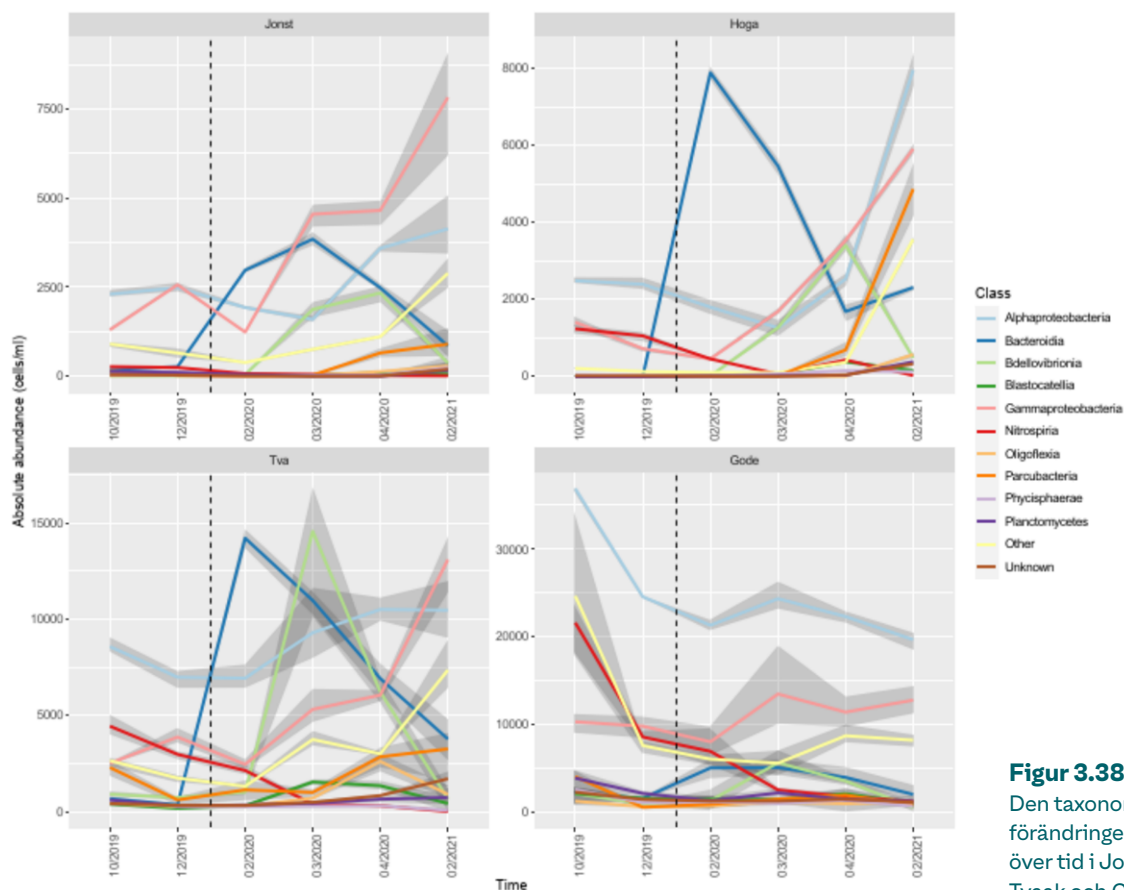
Figur 3.38 visar förändringen av de tio cellrikaste bakterieklaser över tid i de fyra provtagningspunkterna. Cellantalet (celler/ml) för klasserna är uppskattade beräkningar som tar hänsyn till uppmätta TCC-värden enligt en metod publicerad av Props et al. (2017). Förändringen av bakteriesammansättningen var som mest dramatisk i Jonst, Hoega och Tvaak vilket ligger i linje med PCoA-analysen (Figur 3.37). Den taxonomiska förändringen på klassnivå kan utifrån responsmönstret på kloraminutfasningen delas in i tre grupper. Den första gruppen som utgörs av klassen *Nitrospira* kännetecknas av en successiv minskning av bakterierna i dricksvattnet. Klassen *Nitrospira* som visade sig framför allt bestå av bakteriesläktet *Nitrospira*, en nitritoxiderande bakterie, har tidigare dominerat biofilmsfloran i Varberg på längre avstånd från vattenverket (Pullerits et al. 2020b). De uppskattade cellnivåerna av *Nitrospira* innan övergången till kloraminfritt vatten återspeglar i stort TCC-halterna där Jonst har lägst nivåer och Godest högst nivåer (Figur 2.5). Den successiva utfasningen av *Nitrospira* i vattenfasen var påtaglig och cirka två månader efter kloraminutfasningen stabiliserades cellantalet på de nya nivåerna.

Den andra responsgruppen som bestod av klasserna *Bacteroidia* och *Bdellovibrionia* ökade till de högsta nivåerna 1-3 månader efter kloraminutfasningen för att därefter återgå till relativt låga nivåer. Klassen *Bacteroidia* som kulminerade i februari-mars visade sig bestå av bakterier tillhörande *Sphingobacteriales*, *Flavobacteriales* och *Chitinophagales*. Merparten av *Flavobacteriales* tillhörde släkten *Flavobacterium* som är en känd HPC-bakterie som bildar gul-röda kolonier (Bartram et al. 2003). *Bdellovibrionia* som nådde kulmen i mars-april bestod framför allt av bakteriesläktet, *Bdellovibrio*, en bakterie vars tillväxt är beroende av att parasitera på andra gram-negativa bakterier (Pasternak et al. 2014).

Figur 3.37

Jämförelse av bakteriefloran i fyra provpunkter i distributionssystemet. Före (blått) och efter (rött) utfasningen av monokloramin med weighted UniFrac distance PCoA-analys. X- och Y-axeln i figuren är dimensionslösa och visar variationen i data från de två första principalkomponenterna efter PCoA transformation. Triplikat av prov togs med monokloramin i distributionssystemet vid två tillfällen (29-30/10-2019 och 17-19/12-2019) och efter utfasningen av monokloramin vid fyra tillfällen (18-20/2-2020, 23-25/3-2020, 21-23/4-2020 och 15-17/2-2021). Den grå pilen visar floraförändringen i provpunkterna (blå-lila-röd färgton) över tid.

Den tredje responsgruppen tillhörande klassen *Gammaproteobacteria* där exempelvis bakteriesläktena *Ellin6067* och *Methylothera* ökade i cellantal efter provtagningarna i mars och april. Även klasserna *Alphaproteobacteria* och *Parcubacteria* ökade successivt i cellantal i de tidigare monokloraminexponerade provtagningspunkterna. Troligtvis berodde responsen på tilltagande biofilmtillväxt och ökade nivåer av speciellt *Rhizobiales Incertae Sedis* (en *Alphaproteobacteria*), *Parcubacteria*, *Ellin6067* och *Methylothera* i vattenfasen, Förutom *Methylothera* har man inte kunnat isolera, odla och fysiologiskt karaktärisera de övriga bakterierna.



Figur 3.38

Den taxonomiska förändringen på klassnivå över tid i Jonst, Hoga, Tvaak och Godst. Y-axeln visar "absolute abundance" i celler per ml enligt Props et al. (2017). X-axeln visar de sex provtagningstidpunkterna (månad/år). Klasser som inte uppfyller kriterierna att ha minst 1000 celler per ml i minst 10 prover har kombinerats som "other". Med "unknown" avses bakterier som inte kan identifieras på klassnivå. De färgade linjernas grå zoner visar det 95 % konfidsensintervallet för triplikaten. Den streckade vertikala linjen i figurerna visar tidpunkten för utfasningen av monokloramin den 20 januari 2020.

3.3.7 Bakterieidentifiering

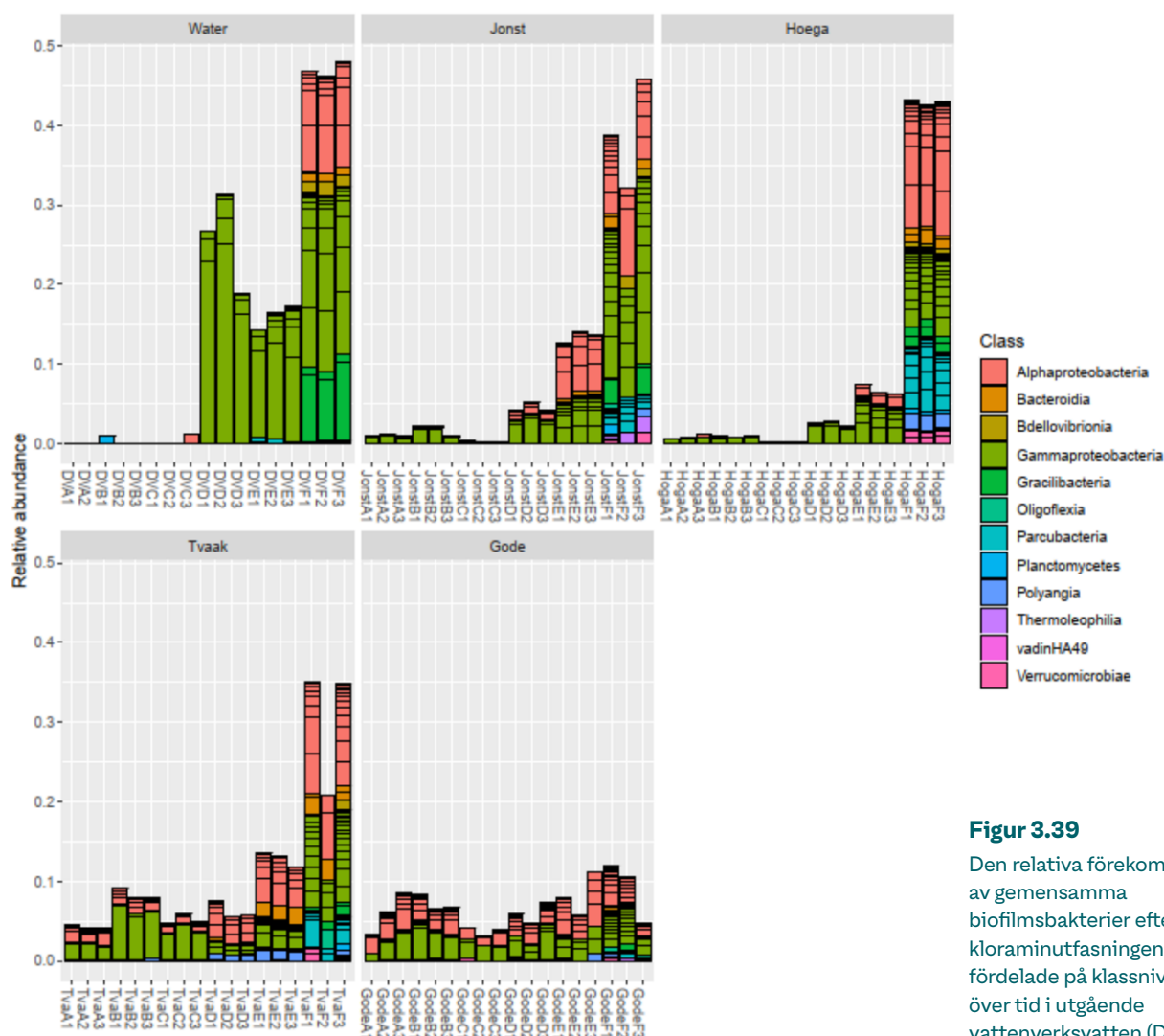
Tabellerna i Bilaga C redovisar signifikant förändrade bakteriesläkten ($p < 0,01$) efter utfasningen av monokloramin samt artidentifiering av några kända bakteriearter som kan påverka dricksvattnets kvalitet och säkerhet. Koncentrationsförändringarna är uppskattade beräkningar enligt Props et al. (2017). En successiv utfasning av nitrifikationsbakterierna, *Nitrosomonas* och *Nitrospira*, påvisades i samtliga provpunkter. Dock var den relativa reduktionen av den nitritbildande *Nitrosomonas* (9-10 ggr.), större jämfört med *Nitrospira* (5-6 ggr.). Artidentifieringen enligt fullängssekvensering av 16S rRNA genen visade förekomst av fyra *Nitrosomonas* arter (*N. AL212*, *N. eutropha*, *N. Is79* och *N. ureae*) och fem *Nitrospira* arter (*N. defluvi*, *N. inopinata*, *N. japonica*, *N. lenta* och *N. moscoviensis*). En annan grupp bakterier som minskade i dricksvattnet var de korrosionsassocierade bakterierna *Dechlorosoma* och *Ferribacterium* i Jonst vars rörledningar består av segjärn (Achenbach et al. 2001).

Med tanke på att Pullerits et al. (2020b) har visat förekomst av bakteriesläktena *Mycobacterium* och *Legionella* i ledningsrörens biofilm i Varberg sommaren 2018 var det viktigt att verifiera resultaten och identifiera arterna. *Mycobacterium* som

påvisades i samtliga provpunkter minskade till nivåer som var 3-8 ggr lägre än nivåerna med monokloramin. Arterna identifierades som *M. angelicum*, *M. aquiterrae*, *M. barrassiae*, *M. ELW1*, *M. paragordoniae*, *M. PYR15* och *M. YC-RL4*, som klassas som lågvirulenta opportunistiska patogener (Davies et al. 2012; Tortoli 2014). Den relativa cellförekomsten av *Legionella* var för låg för att tas med i tabellredovisningen. Artidentifieringen visade förekomst av ett 20-tal arter (*L. adelaidensis*, *L. cherrii*, *L. clemsonensis*, *L. dresdenensis*, *L. fallonii*, *L. geestiana*, *L. hackeliae*, *L. israelensis*, *L. jordanis*, *L. longbeachae*, *L. lytica*, *L. oakridgensis*, *L. pneumophila*, *L. saintheleni*, *L. saoudiensis*, *L. spiritensis*, *L. taurinensis*, *L. tunisiensis* och *L. waltersii*) varav några är potentiellt opportunistiskt patogena (Lesnik et al. 2016). Ytterligare bakterier som minskade i förekomst var *Hyphomicrobium*, *Pedomicrobium* och *Sphingomonas*. *Sphingomonas* är en vanligt förekommande biofilmsbildande *Alphaproteobacteria* som bildar gul-orange HPC-kolonier, minskade 3-6 ggr. i de kloraminutsatta provpunkterna. Bakteriesläkten som ökade i mängd var framför allt de biofilmsparasiterande bakterierna *Bdellovibrio bacteriovorus*, *Bdellovibrio ZAP7* och *Peredibacter* som tillhör gruppen BALOs (*Bdellovibrio* and like organisms) (Pasternak et al. 2014).

3.3.8 Biofilmens sammansättning

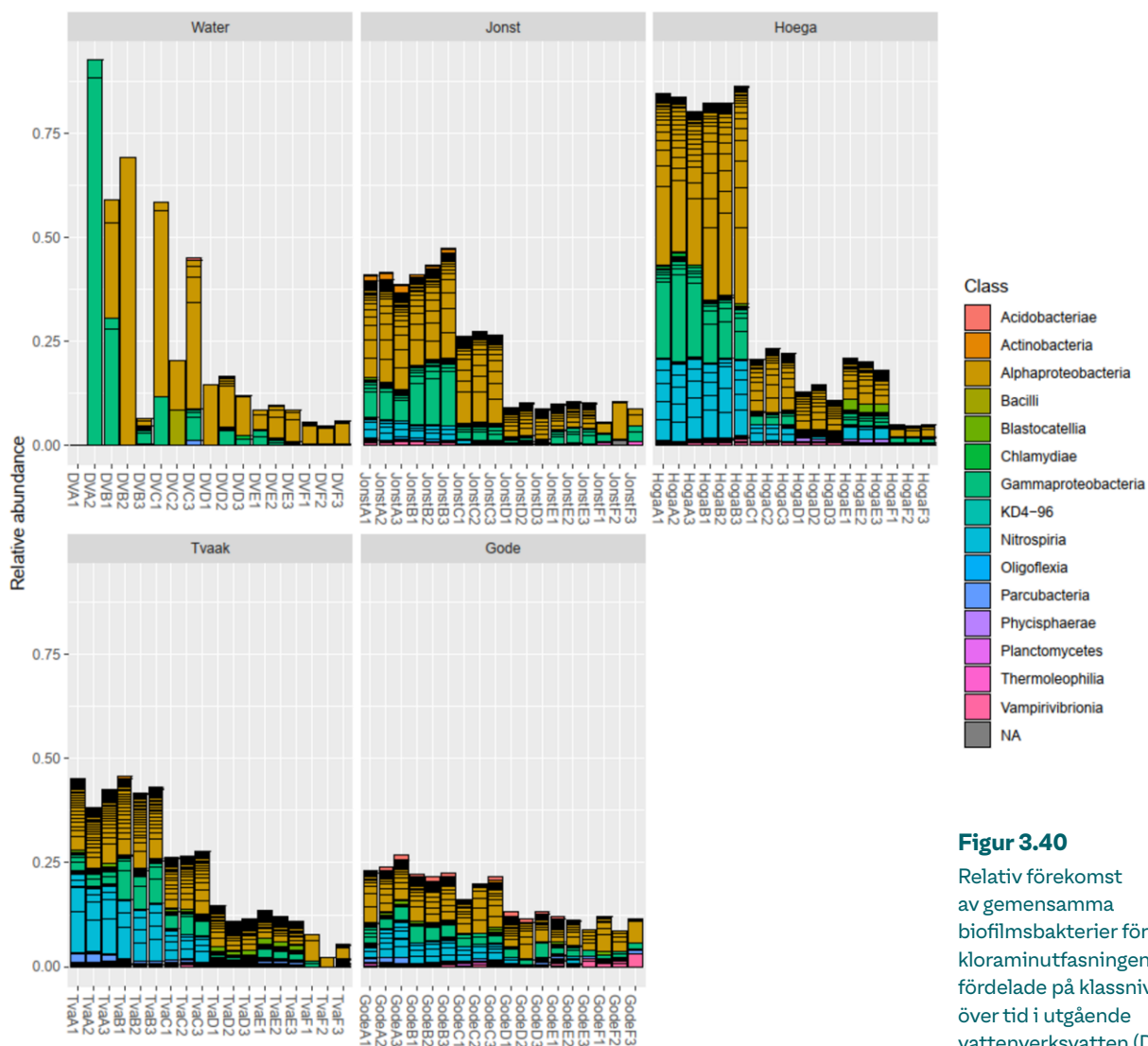
Figur 3.39 visar utvecklingen och sammansättningen av den nya gemensamma biofilmsfloran efter kloraminutfasningen. Förutom de fyra provtagningspunkterna i distributionsnätet visas utgående dricksvatten från vattenverket vilket har passerat de två lågreservoarerna. Totalt påvisades 12 bakterieklaser omfattande 55 specifika bakterievarianter (ASV) som var gemensamma i ledningsnätet vid provtagningen i februari 2021. ASV (amplicon sequence variant) avser en unik bakteriell sekvensvariant i dna-analysen (Callahan et al. 2017). Den taxonomiska analysen visade att merparten av ASV tillhörde *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* och *Parcubacteria*, tre klasser som successivt ökade i cellantal efter kloraminutfasningen (Figur 3.38). Den relativa förekomsten av gemensamma biofilmsbakterier, ASV, i dricksvattnet minskade från cirka 45 % i utgående vattenverkswatten till 10 % i Godst, vilket indikerar att artrikedomen ökar längre ut i ledningsnätet. Merparten av ASV tillhörde de tidigare nämnda bakteriegrupperna *Ellin6067*, *Methylothera*, *Parcubacteria*, *Rhizobiales Incertae Sedis*, men också familjen *Tra3-20*, en okänd grupp av *Gammaproteobacteria*. Tack vare metagenomisk dna-analys har man kunnat analysera och namnge ett växande antal icke odlingsbara *Parcubacteria* (Danczak et al. 2017). ASV-sekvenserna visade sig matcha 16 namngivna bakterier i dna-databasen (*Candidatus Adlerbacteria*, *Candidatus Azambacteria*, *Candidatus Campbellbacteria*, *Candidatus Colwellbacteria*, *Candidatus Giovannonibacteria*, *Candidatus Jorgensenbacteria*, *Candidatus Kaiserbacteria*, *Candidatus Liptonbacteria*, *Candidatus Lloydbacteria*, *Candidatus Moranbacteria*, *Candidatus Nomurabacteria*, *Candidatus Staskawiczbacteria*, *Candidatus Vogelbacteria*, *Candidatus Yanofskybacteria*, *Candidatus Zambryskibacteria* samt GWA2-38-13b).



Figur 3.39

Den relativa förekomsten av gemensamma biofilmsbakterier efter kloraminutfasningen fördelade på klassnivå över tid i utgående vattenverksvatten (DV), samt i Jonst, Hoega, Tvaak och Godst. Y-axel; relativ förekomst (0,5 = 50 %) av de bakterievarianter (55 st. ASV) som kunde påvisas i samtliga distributionsprover i februari 2021, dvs. de som ingick i den nya floran 1 år efter kloraminutfasningen. X-axel; provtagningsplats, provtidpunkt (A-E) och provreplikant (exv. A1, A2, A3). A = oktober 2019, B = december 2019, C = februari 2020, D = mars 2020, E = april 2020 och F = februari 2021.

Utfasningen av den gamla biofilmen var också uppenbar (Figur 3.40). Antalet gemensamma ASV (115 st.) var dubbelt så stort i oktober 2019 jämfört med februari 2021 (55 st. ASV), vilket tydliggör att det gamla distributionssystemet var mer heterogent pga. kloraminpåverkan i de centrala distributionsområdena. Antalet ASV ökade som förväntat med avstånd/vattenålder samtidigt som den relativa förekomsten av gemensamma biofilmsbakterier avtog över tiden, för att i februari 2021 slutligen utgöra knappt 10 % av den totala floran. Antalet ASV i utgående vattenverksvatten som passerat de två lågreservoarerna var däremot inte många, exempelvis påvisades endast två ASV i oktoberprovet benämnt DVA2.



Figur 3.40

Relativ förekomst av gemensamma biofilmsbakterier före kloraminutfasningen fördelade på klassnivå över tid i utgående vattenverksvatten (DV), Jonst, Hoega, Tvaak och Godst. Y-axel; relativ förekomst av alla bakterievarianter (115 st. ASV) som kunde påvisas i samtliga ledningsprover i oktober 2019. X-axel; provtagningsplats, provtidpunkt (A-E) och provreplik (exv. A1, A2, A3). A = oktober 2019, B = december 2019, C = februari 2020, D = mars 2020, E = april 2020 och F = februari 2021.

4 Diskussion

Med början i Lund diskuteras i denna rapport dricksvattnets biostabilitet i olika delar av distributionssystemet. Genom att kombinera mikrobiologisk metodik och hydraulik åskådliggörs distributionens påverkan på dricksvattenkvaliteten via låg- och högreservoarer till slutanvändaren i ett ytterområde i ledningsnätet. I Storstockholm belyses utmaningen att upprätthålla biostabiliteten och dricksvattenkvaliteten i hela ledningsnätet. I norra Storstockholm specialstuderades ett problematiskt vattentorn där en ny FCM-styrd drifrutin för ökad vattenomsättning togs fram. Även upptäckten att monokloramin har skapat distinkta biofilmszoner i ledningsnät och vattentorn diskuteras. Slutligen redovisas biofilmens anpassning till ett monokloraminfritt dricksvatten i Varberg åren 2020 och 2021. Resultaten jämfördes med åren 2018 och 2019 när monokloramin användes. Det nya dricksvattnets biostabilitet och säkerhet avhandlas.

4.1 Biostabiliteten i distribuerat dricksvatten

I projektet "bussresan" genomfördes olika undersökningar i syfte att undersöka vilka faktorer som påverkade biostabiliteten mest under 16 månader. Med tanke på att många av de intakta bakterierna, 13 % av TCC, som lämnar Ringsjöverket har irreversibla dna-skador pga. UV kan man anta att merparten av tillväxten i ledningsnätet härstammar från biofilmen (Pullerits et al. 2020a; Figur 3.2). De bakterier som har förmåga att reparera cellskadorna från UV samt överlevt hypoklorit-chocken kommer antingen gå in i en inaktiv överlevnadsform, s.k. VBNC (viable but non-culturable), eller behöva flera dagar innan de aktivt kan växa och påverka cellantalet och biostabiliteten i ledningsnätet (Li et al. 2014).

Vattenproven från Ringsjöverket uppvisade större variation under året i det flödescytometriskta fingeravtrycket, new-HNA, jämfört med prover tagna i distributionssystemet (Figur 3.3). Detta indikerar att säsongvariationen spelar störst roll för vattenverkets utgående vattenkvalitet och mindre roll när vattnet transporteras genom distributionsystemet. Fingeravtryckanalysen för de specifika provpunkterna i ledningsnätet visade inte heller någon tydlig säsongvariation som kunde tyda på en förändring av bakteriefloran, vilket också var fallet i Varberg ett år efter utfasningen av monokloramin (Figur 3.31). Sammantaget uppvisade Lund och Varberg ett dricksvatten som inte nämnvärt förändrades i sin bakteriella sammansättning i en specifik provtagningspunkt. Detta betyder att den säsongberoende tillväxt som uppmättes via ICC genom ledningsnätet och i reservoarerna i Lund (Figur 3.2) och i Varberg (Figur 3.32 och Figur 3.33) inte resulterade i en förändring av den bakteriella sammansättningen i en specifik provtagningspunkt, utan endast i en förändring av antalet bakterier. I Storstockholm förändrades dock även bakteriesammansättningen pga. högre vattentemperaturer (Figur 3.14 och Figur 3.22), större förändringar i råvattenkvaliteten (Figur 3.12 och Figur 3.20) och växlande monokloraminhalter (Figur B.6) vilket troligtvis bidrar till ökad biologisk instabilitet jämfört med Lund och Varberg. Sannolikt har även valet av mikrobiologiska säkerhetsbarriärer också stor betydelse för den slutliga biostabiliteten i ledningsnätet där vattenverken i Lund och Varberg effektivt avskiljer och/eller avdödar merparten av mikroorganismerna jämfört med Storstockholms vattenverk.

Noterbart minskade dock andelen new-HNA i Lund från cirka 80 % i Källby VV till knappt 60 % i Flyinge TS längst ut i distributionssystemet vilket antyder en betydande förändring av den bakteriella sammansättningen under transporten från Källby till Flyinge. En liknande minskning av HNA noterades även i Varbergs distributionssystem innan utfasningen av monokloramin (Figur 3.31; Schleich et al. 2019; Schleich et al. 2020). Emellertid dämpades HNA-minskningen under transporten till ytterområdena

efter utfasningen av monokloramin vilket indikerar ökad biofilmsresiliens (Figur 3.31).

Undantaget Lundavattnets biostabilitet var förändringen som upptäcktes för delsträcka 1, Ringsjöverket till Källby VV, i form av ökad new-HNA från 36 % i maj-november till 80 %. (Figur 3.5), medan L-LNA minskade från 42 % i maj-november till cirka 9.4 %. Den primära desinfektionen med hypoklorit förstör merparten av cellerna redan vid vattenverket, medan UV-behandling inte omgående påverkar cellernas membranintegritet (Pullerits et al. 2020a). Tidigare UV-studier på Ringsjöverket har visat att ICC- och HNA-nivåerna inte påverkas det första dygnet (Ekman 2018), dvs. UV inverkar inte på FCM-förändringen i delsträcka 1. Det har också visat sig att LNA-bakterier är känsligare för klor än vad man tidigare förmodat vilket överensstämmer med våra resultat (Mao et al. 2021). Däremot var säsongpåverkan på dricksvattnet nästan försumbar under transporten till Källby VV, vilket innebär att ett vatten med en liknande bakteriell sammansättning når Källby VV oberoende av säsong. Det ska dock påpekas att de lägre vattentemperaturerna under vintern också påverkar ICC-nivåerna (Figur 3.2).

Samtidigt identifierades skillnader i delsträcka 1 i den bakteriella sammansättningen hos vatten som tagits längs delsträcka 1 och vatten som förvarats i steril glasflaska på Ringsjöverket, utan kontakt med distributionssystemets biofilm (Figur 3.5). Intressant nog så är det inte endast effekten av hypoklorit som ligger till grund för ändringen, eftersom motsvarande prover från Ringsjöverket (förvarade i glasflaskor i 8 timmar) inte uppvisade samma förändringar. Även kontakten med biofilmen i ledningen och frisättningen av eventuella klorresistenta bakterier påverkar ökningen av new-HNA. Exempelvis ökade mängden viabla bakterier drygt 3 ggr i delsträckan i augusti (Figur 3.2). Dessutom visade det sig att redan efter 8 timmar har new-HNA förändrats i provpunkten Bramehem (Figur 3.5). Därför vore det av stort intresse att genomföra en framtida djupstudie av delsträcka 1 under en längre period där man taxonomiskt bestämmer biofloras sammansättning i huvudledningen kontra ytterområdena i ledningsnätet och jämför dem med de taxonomiska resultaten i Varberg och Storstockholm. Efter Källby VV förändrades bakteriesammansättningen framför allt efter reservoarerna i Fågelsång TR och Flyinge TS med ökad andel LNA-bakterier.

Det byte av vattenkälla som genomfördes under studieperioden (till följd av ett planerat ledningsarbete) gav en god möjlighet att följa hur dricksvattnets karaktär ändrades. Händelsen var fördelaktig att studera på så sätt att vatten från de båda vattenverken (Ringsjöverket respektive Vombverket) är så pass olika till sin karaktär att det går att följa inblandningen av ett vatten i ett system som vanligtvis får vatten från det andra vattenverket. Vi kunde se en direkt och fullkomlig förändring av dricksvattnet på Källby VV vid byte från Ringsjöverkets till Vombverkets dricksvatten (Figur 3.9). Skillnaden mellan "dricksvattensorterna" var mindre tydlig för resultaten från fingeravtryck och kemiska parametrar i Norra verket och i provtagningspunkter senare i systemet. Lika snabbt som förändringen kom, försvann den också igen vid återgång till Ringsjövatten. Vår slutsats är att systemet, inkluderande biofilmen i ledningarna, är så pass biologiskt stabilt att ett byte av vattenkälla under en veckas tid inte skapade bestående mikrobiella förändringar i systemet.

Inom Lundastudien – den mikrobiella "bussresan" – presenteras följande slutsatser gällande vattnets bakteriella innehåll och dess biostabilitet:

- Säsongvariationer och vattentemperatur påverkar bakteriernas tillväxtpotential mer än själva transporten från vattenverk till en specifik provtagningspunkt.
- Variationerna i bakteriell sammansättning uppvisade två faser. I den första fasen skedde en ökning av new-HNA genom delsträckan Ringsjöverket till Källby VV pga. hypokloritinducerad avdödning och selektion av klorresistent biofilmsflora. I den andra fasen skedde en kontinuerlig minskning av new-HNA i det resterande ledningsnätet genom Lund till Flyinge som en konsekvens av en ackumulativ frisättning av en klorbefriad biofilmsflora.

- Den tillväxt som uppmättes via ICC genom ledningsnätet och i reservoarerna resulterade inte i en tydlig förändring av den bakteriella sammansättningen vid en viss provtagningsplats, utan endast i en förändring av antalet bakterier i vattenprovet.
- Litteraturen har definierat ett biologiskt stabilt vatten som ett vatten som inte ändrar sin mikrobiologiska karaktär mellan vattenverket och kranen hos konsumenten (Prest et al. 2016). Vi vill genom vår studie lyfta diskussionen om hur biostabilitet också kan innebära att vattnet ändrar sin mikrobiologiska karaktär längs resan i ledningsnätet pga. bland annat biofilmsfrisättningen, men att detta sker på ett förutsägbart (stabilt) sätt.
- Stora driftförändringar under kort tid (byte av vattenkälla) orsakar inte instabilitet i ett biostabilt system. Vattenbytet i vår studie kunde tydligt följas med hjälp av FCM.

4.1.1 Ett distribuerat vattenpaket

Målet med Lundastudien var att öka kunskapen om hur vårt distributionssystem fungerar och hur hydrauliska förutsättningar påverkar dricksvattnets bakteriella sammansättning och biostabilitet. Delstudien försökte anamma tankesättet att vattnet ("bussen") är bärare av bakterier ("passagerare") längs en viss vattenresa, snarare än att titta isolerat på enskilda provpunkter. Detta är såklart en idealiserad bild – i verkligheten sker en uppblandning av vatten som tillförts systemet vid olika tidpunkter, inte minst i en reservoar. Därför ändrades tankesätt och definierade ett "vattenpaket" mellan två på varandra följande provtagningspunkter snarare än att utgå från ett och samma paket genom hela resan. Kunskapen om hur stor andel av ett vattenpaket som är intakt från en punkt till en annan kan hjälpa till att förklara de mikrobiologiska resultaten. Ett exempel är att andelen ICC var högre i provpunkt Norra verket än i den efterföljande provpunkten Fågelsång TR i juli, september och oktober 2020 (Figur 3.2). I den hydrauliska modellen kunde vi se att, innan vattenpaketet kommer fram till Fågelsång TR, sker en inblandning av ett "yngre" vatten som inte befunnit sig i reservoaren. Just skillnaden mellan Norra verket och Fågelsång är ett resultat som vi gärna nämner, som ett exempel på när givande diskussioner uppstod inom projektgruppen och vi lärde av varandra över våra yrkeskategorier.

En av de största förändringarna som detekterades kopplat till olika anläggningar i distributionssystemet var ökningen av ICC i reservoarerna (Norra verket och Östra Torn). Förhållandena för en vattendroppe är annorlunda i reservoarer jämfört med i en ledning (lägre eller ingen flödeshastighet, blandningsförhållanden och kontakt med biofilmen eller ej). Intressant vore att i framtiden studera vilken effekt reservoarer i form av både låg- och högreservoarer har på vattenkvaliteten.

Biostabilitet som koncept behöver ta hänsyn till distributionens egenskaper och förhållanden i hela systemet inklusive reservoarer. Vattnet kan inte vara helt opåverkat av en resa genom ett system med en mångfald av mikroorganismer som kan frodas i olika typer av reservoarer och ledningar, dock kan en förändring vara relativt konstant och stabil över tid i en specifik provtagningspunkt där ICC-nivåerna följer de naturliga årsvariationerna. För att fullt ut förstå de bakteriella resultaten är det viktigt att ha kunskap om själva systemet (har provet t.ex. tagits när reservoaren tömdes eller fylldes). Men likafullt kan de mikrobiologiska resultaten också bidra till en bättre förståelse av hur distributionssystemet fungerar.

4.1.2 FCM och HPC

Målet med Lundaprojektet var inte bara att bidra till ökad kunskap om biostabilitet och vattenkvaliteten utan också bidra till kunskap om hur FCM kan användas som komplement till de konventionella metoderna, för att upptäcka eller följa olika drifhändelser.

Det är svårt att göra en direkt jämförelse av metoderna FCM och HPC. Näringsämnen och temperatur bestämmer om och vilka HPC-arter som kan växa fram på laboratoriets odlingsplattor, och majoriteten av bakterier som vi kan mäta med FCM är inte

odlingsbara. Vattnet längs ”bussresan” innehåller mellan 140 000 och 250 000 bakterier per ml (TCC) och laboratoriets konventionella analyser visar ett maxantal på 70 cfu/ml eller 500 cfu/ml för odlingsbara mikroorganismer respektive långsamväxande bakterier. Skillnaderna i absoluta siffror är alltså stora men intressant är att se om trenderna i resultaten ändå är lika. Sådana sammanfallande trender mellan analysmetoderna kunde ses när det gäller säsongförändringar. Generellt var HPC-värdena lägre i den mest avlägsna distributionspunkten, Flyinge TS, jämfört med uppströmspunkterna Norra verket, Östra torn och Fågelsång TR (Bilaga A). ICC-värdena i Flyinge TS var däremot som förväntat de högsta i distributionssystemet med undantaget av ett prov från vattentornet Östra torn i juli 2020 (Figur 3.2). Att reservoarer kan generera högre HPC-värden noterades också i norra Storstockholm som en konsekvens av stagnation och höga vattentemperaturer (Figur 3.14). Dock är det intressant att notera att långa uppehållstider och höga cellnivåer inte orsakar HPC-tillväxt i Flyinge TS vilket också är ett tecken på biostabilitet. När vi tittade på specifika händelser eller provpunkter var det dock tydligt att alla förändringar som uppmättes med FCM inte genererade mikrobiell tillväxt hos de konventionella metoderna. På samma sätt påvisades ibland växt med de konventionella metoderna utan att vi såg en tydlig förändring i FCM-parametrarna. Dessa resultat bekräftas av Siebel et al. (2008) som har visat att HPC påvisar mindre än 1 % av TCC samt att korrelationen mellan metoderna är svag ($R^2=0.31$).

Troligtvis kommer HPC-analysen även i framtiden användas för att kvantitativt följa mikrobiell vattenkvalitet från vattentäkt till konsument (Bartram et al. 2003). Dock saknar HPC-metodiken många av FCM-metodens fördelar såsom; (i) online analys (ii) påvisar samtliga bakterier inklusive icke odlingsbara, (iii) genererar pålitliga kvantitativa data eftersom ett stort antal celler räknas per prov, (iv) enkla och robusta protokoll som lämpar sig väl för standardiserad provbehandling och analys, (v) mönsteranalys där cellfraktioner eller enskilda celler kan analyseras och värderas digitalt (Manickum 2020; Van Nevel et al. 2017). Nackdelen med båda metoderna är bristen på taxonomisk identifiering, dvs. att kunna påvisa förekomsten av patogener och fekala bakterier. Den stora fördelen med HPC-metodiken är att det är en allmänt accepterad referensmetod, en s.k. ”gold standard”. Dock kan man inte bortse från att HPC-analysen är; (i) tidskrävande (3-7 dagar), (ii) biased då endast 0.01 – 1 % av bakterierna påvisas med HPC, (iii) okänslig eftersom antalet HPC-kolonier oftast är för få, <30 cfu, för att kunna uppskatta antalet bakterier, (iv) varierande därför att protokoll och manuell hantering är olika mellan analyslaboratorierna (Šlapokas 2020).

Bytet av vattenkälla för Lunds stad från Ringsjövattnet till Vombvattnet var ett tydligt exempel på hur FCM kan vara ett sensibelt verktyg för att följa en viss drifthändelse. Dessa tydliga förändringar kunde inte detekteras med de konventionella mikrobiologiska metoderna. Denna observation understryker vikten av att skapa utrymme för nya analysmetoder, som kan ge viktigt stöd i t.ex. driftutredningar eller kontroll av driftprocesser.

Avseende användandet av FCM som analysmetod vill vi särskilt lyfta fram att:

- Alla förändringar som hittas med FCM kan ej ses med de konventionella metoderna. Alla förändringar som ses med de konventionella metoderna uppkommer inte i FCM-analysen. Trender såsom säsongsvariationer kan ses med båda metoderna.
- Två separata flödescytometrar kan leverera jämförbara resultat under förutsättning att samma protokoll och gatingstrategi används.
- FCM är en analysmetod som kan användas för driftutredningar, driftkontroll och för att övervaka distributionssystem och beredningsprocesser.

4.2 Cyklisk dricksvattenkvalitet

Att Storstockholms distributionssystem påverkas av Mälarens årliga vår- och höstomblandningar av råvattnet i Görvälnfjärden och Rödstensfjärden syns tydligt när man följer totalantalet bakterier, TCC, i färdigberett och distribuerat dricksvatten (Figur 3.12 och Figur 3.20). Omblandningen av botten- och ytvatten påverkar även den mikrobiologiska råvattenfloran då cirkuleringen gör att den undre vattenfloran blandas med den ytligare vattenfloran (Figur B.2 och Figur B.4). Tidigare FCM-studier på Görvälnverkets rå- och dricksvatten vintern 2017/18 visade att antalet intakta bakterier med stor dna-mängd/arvsmassa, dvs. HNA(ICC)-bakterier, minskade successivt från oktober till mitten av december för att därefter stiga till ett maximum i februari (Danielsson 2018). Det ska poängteras att råvattentemperaturerna brukar vara som lägst i februari och att de då beroende på väderförhållandena kan ligga relativt stabilt på cirka 1-2 °C. Vid denna tidpunkt är antalet bakterier, TCC och ICC, som lägst i Görvälnverkets rå- och dricksvatten (Figur 3.12 och Figur 3.13; Danielsson 2018) och i Norsborgs beredda dricksvatten (Figur 3.20 och Figur 3.21). Trots detta stiger antalet viabla HNA(ICC)-bakterier samtidigt till de högsta nivåerna, cirka 20 %, i Görvälnverkets dricksvatten (Figur 3.14) och till cirka 13 – 15 % i Norsborgs dricksvatten (Figur 3.22), vilket indikerar förekomst av en köldanpassad HNA-flora. Dock är merparten, > 80 %, av vattenfloran LNA-bakterier, vilket är typiskt för kalla yt- och grundvatten (Liu et al. 2018). LNA-bakterier har förutom en mindre mängd dna/arvsmassa även väsentligt mindre cellvolym vilket förklarar deras effektivare näringsupptag i kalla vatten med relativt begränsade mängder av essentiella näringsämnen. Deras metabolism är väl anpassad för tillväxt vid låga temperaturer och assimilering av diverse kolföreningar. Dessa bakterier kallas även ultramikrobakterier eller nanobakterier (Liu et al. 2018).

Råvattenintaget på 22 meters djup i Görvälnfjärden bedöms ha den bästa kemiska råvattenkvaliteten under större delen av året. När isen lagt sig på Görvälnfjärden tas dock råvattnet in på 4 meters djup istället för 22 meter. Anledningen till detta skifte är att isen förhindrar att vattenmassorna från västra och norra Mälaren blandas inne i Görvälnfjärden med hjälp av vindinducerade strömmar. Det humusrika vattnet från norra Mälaren som har en högre densitet skiftar då in sig under det lättare vattnet från västra Mälaren som har en bättre vattenkvalitet (Ejhed 2020). Skiftet från 22 meter till 4 meter påverkade dock endast marginellt antalet bakterier och florasammansättningen. Figurerna 3.12, 3.13 och 3.14 visar att TCC-, ICC- och %HNA(ICC)-värdena stabiliserades något när intagsdjupet var 4 meter den 11-25 februari 2021 för att därefter börja påverkas kraftigt av värcirkulationen i fjärden efter islossningen. Våren 2021 förstärktes värcirkulationen av annorlunda strömmar i Mälaren vilket genererade mycket höga ICC-värden (Figur 3.13). Vinden påskyndar även cirkulationen när varmare bottenvattnet stiger samtidigt som kallare ytvatten sjunker tills vattentemperaturen jämnas ut i vattenmagasinet ovan språngskiktet. Under sommaren förstärks temperaturskiktningen i den cirka 40-50 meter djupa Görvälnfjärden och i det ytligare vattnet tillväxer då även cyanobakterier och alger som når intaget på hösten (Figur B.4).

Görvälnverkets och Norsborgs beredningssteg avskiljer och avdödar merparten av den inkommande råvattenfloran. Den fördröjda cellförstörelsen pga. UV och monokloramin kan även påvisas i dricksvattendistributionen i form av minskande ICC-värden (Figur 3.13 och Figur 3.21). Stagnation och höga vattentemperaturer medförde dock problem med bakteriell återväxt i distributionssystemet. Detta kunde tydligast observeras nedströms det problematiska vattentornet på norra Storstockholms distributionssystem där förhöjda %HNA(ICC) och höga vattentemperaturer sammanföll med förhöjda HPC-värden (Figur 3.14). I södra Storstockholm observerades att höga vattentemperaturer i distributionszoner med växlande monokloraminpåverkan sammanföll med luktnärkningar och förhöjda HPC-värden (Figur 3.22).

4.2.1 Det problematiska vattentornet

Att den nya FCM-styrda drifrutinen med regelbundna reservoartömningar kunde återställa HPC-utfallet till några enstaka cfu per ml indikerar tillväxt i reservoar 433 (Figur 3.16 och Tabell B.1). Återkomsten av HPC redan två veckor efter en tömning tyder på att källan till problemet inte spolades ut ur tornet. Det kan antingen vara så att biofilmsfloran i reservoaren frisätter de oönskade HPC-bakterierna som därefter tillväxer och/eller att bakterierna följer med inkommande dricksvatten. Det finns även en teoretisk möjlighet att bakterierna kontaminerar reservoarvattnet via tornets luftintag. Att HPC-problemet är kopplad till perioden juli t.o.m. oktober, en period med höga vattentemperaturer, cirka 12 °C, tyder på en betydande tillväxt av de oönskade HPC-bakterierna i tornet.

Bakterieidentifieringen av åtta HPC-kolonier från olika delar av reservoarens bulkvatten (Figur 3.18), visade att alla åtta tillhörde det gram-negativa släktet *Polaromonas*, medan två HPC-kolonier från tornets ytfilm visade förekomst av *Microbacteriaceae*, gram-positiva jordbakterier. *Polaromonas* är en harmlös bakterie vars optimala tillväxttemperatur är 4–12 °C (Jang et al. 2019). Det är känt att *Polaromonas aquatica* isolerad från kranvatten i Sverige bildar glansiga, genomskinliga, beige-färgade kolonier med en diameter på cirka 2 mm på R2A-medium (Kämpfer et al. 2006) vilket överensstämmer med de isolerade HPC-koloniernas morfologi (Figur 3.19). *Polaromonas* är vanligt förekommande i kalla vatten och kan med hjälp av intracellulära gasvakuoler flyta i vattnet utan att sedimentera (Hwang et al. 2021). Genetiska studier visar att *Polaromonas* har förmåga reducera nitrat vid låga temperaturer vilket kan ha betydelse med tanke på att monokloramin stimulerar nitrifikationsprocessen och bildandet av nitrat (Pullerits et al. 2020b). Familjen *Microbacteriaceae* som återfanns specifikt i ytfilmen kan beroende på arttillhörighet tillväxa vid låga temperaturer samt infektera växter (Han et al. 2003).

Dna-analys av bulkvattnets bakterieflora i olika delar av reservoarens inre bassäng och utgående dricksvatten från tornet visade stor förekomst av *Polaromonas* men också större förekomst av *Sphingomonas* och *Flavobacterium* vilka även de kan bilda kolonier på jästextrakt medium (Figur 3.18). *Polaromonas* och *Sphingomonas* påvisades även i biofilmen på reservoarens väggar, men ej i utgående dricksvatten från Görvålverket. Den relativa förekomsten av *Polaromonas* i biofilmen var dock låg jämfört med *Sphingomonas*. Pullerits et al. (2020a) har visat att *Polaromonas* fanns i Görvålverkets vatten i mitten av mars 2018 i samband med Mälarens vårcirkulation samt att bakterien inte är UV-känslig. Detta innebär att bakterien kan förekomma i distribuerat dricksvatten och i så fall återkontaminera reservoaren efter t.ex. rengöring och desinfektion. Att de övriga två vattentornen, 450 och 459, inte har samma problem med höga HPC-halter kan bero på bättre omsättning och omblandning av reservoarvattnet i dessa reservoarer. Nordblom & Ljunggren (2007) har visat att undermålig omblandning av vattentornsvatten kan leda till temperaturskiktningar i dricksvattnet under sensommaren när inkommande vatten är 0,5–1,5 °C kallare än i reservoaren. Skiktningen gör att det nya inkommande färskvattnet inte blandas med tornets ytvatten. Det finns också en risk att mer av det tyngre mer kalkrika vattnet från norra Mälaren distribueras till vattentornen under sensommaren om språngskikt i Görvålnfjärden ligger ovan råvattenintaget på 22 meters djup. I så fall kommer vattenskiktningen i vattentornet att förstärkas ytterligare när det inkommande tyngre och kallare vattnet underifrån lyfter upp det lättare och varmare vattnet som finns i reservoaren. Det något varmare stagnanta toppvattnet leder till minskande klorhalter och ökad tillväxt av *Polaromonas*. Att *Polaromonas* tillväxer i hela bulken beror sannolikt på bakteriens gasvakuoler och rörlighet (Hwang et al. 2021). Troligtvis överlever *Polaromonas* vinterbetingelserna i vattentornet för att därefter återigen växa till på sensommaren när temperaturskiktningen leder till stagnant tornvatten. Alternativt finns bakterien i distribuerat dricksvatten och växer till i tornet i samband med stagnation i tornet. Att endast reservoar 433 drabbades av *Polaromonas* beror troligtvis på tornets utformning och vattenflöden som möjliggör temperaturskiktning i vattenmassorna.

4.2.2 Biofilmszoner i vattentorn

Ett tecken på dålig omblandning i reservoar 433:s ytvatten är den relativt höga förekomsten av *Flavobacterium* i ytfilmen (18 %) jämfört med i de övriga bulkvattenproverna från reservoaren (2,5 %). *Flavobacterium* påvisades också i utgående dricksvatten från Görvålverket (1,8 %), men fanns inte i reservoarens biofilm i några signifikanta mängder. Ett rimligt scenario är att bakterien via inkommande bulkvatten får fäste i ytfilmen där den tillväxer. *Flavobacterium* är en vanligt förekommande köldanpassad vattenbakterie som kan infektera gälarna på fiskar (Králóvá et al. 2021). Bakterien är strikt aerob och föredrar syrerikt vatten där den kan bilda biofilm på exempelvis mindre partiklar. Ytfilmen i vattentorn anses bestå av frömjöl, sporer och andra luftföroreningar. Dock hålls luftkontamineringen nere tack vare luftfilter. Troligtvis anrikas också biologiska fetter (fettsyror, fosfolipider, triglycerider, glykolipider etc.) i ytfilmen från cellrester som floterar, flyter upp, med inkommande dricksvatten. Ytfilmen är av allt att döma en gynnsam livsmiljö för *Flavobacterium* och *Microbacteriaceae* med de något högre vattentemperaturerna och tillgången till substrat, syre och partiklar för biofilmbildning. Att *Flavobacterium* och *Microbacteriaceae*, som båda bildar gula kolonier på R2A medium, inte påvisades i bulkvattnet och utgående reservoarvatten beror troligtvis på deras relativt låga förekomst i bulkvattnet. Rimligtvis bör en liten fraktion av påvisade HPC-kolonier även tillhöra dessa bakterier och andra arter, även om samtliga åtta valda kolonier var *Polaromonas*.

Förekomsten av nitrifikationsbakterierna *Nitrosomonas* och *Nitrospira* i reservoarens biofilm (Figur 3.18), visar att monokloramin påverkar biofilmens bakteriella sammansättning (Gomez-Alvarez et al. 2021; Pullerits et al. 2020b). *Nitrosomonas* använder ammonium som energikälla för att nyttja koldioxid som kolkälla istället för naturligt organiskt kol. Sönderfallet av monokloramin frisätter fritt ammonium i reservoaren som oxideras till nitrit av *Nitrosomonas*. Därefter kommer *Nitrospira* att använda nitrit som energikälla för att assimilera koldioxid eller naturligt organiskt kol som kolkälla beroende på vilken *Nitrospira* art som avses (Bayer et al. 2021). Att den relativa förekomsten av *Nitrospira* i biofilmen ökade från den övre delen på bassängväggen till de nedre kan bero på att flera arter är känsliga för högre syrehalter (Gomez-Alvarez et al. 2021). Den övre biofilmen på reservoarväggarna exponeras omväxlande för luft och vatten pga. dygnsomsättningen av reservoarvatten (Figur 3.15). Den nedre biofilmen på reservoarväggarna är vanligtvis vattentäckt och påverkad av bottensedimentet. Förekomsten av *Mycobacterium*, en strikt aerob bakterie som är vanligt förekommande i distributionsystem, var som störst i den övre delen av bassängen (Torvinen et al. 2004). De flesta arterna är ofarliga, men några kan orsaka infektioner hos immunokomprimerade, dvs. de är opportunistiska patogener (Davies et al. 2012; Tortoli 2014).

Studierna i Lund och norra Storstockholm visar att reservoarerna är en svag länk i dricksvattendistributionen. De mikrobiologiska processerna är påtagliga framför allt i samband med höga vattentemperaturer. Reservoar 433 visar också att vattentorn hårbärgerar minst fyra skilda typer av biofilmsmiljöer med distinkta livsbetingelser, nämligen ytfilmen, den övre väggbiofilmen och den nedre väggbiofilmen. Dessutom finns det en fjärde typ av biofilm i botten på reservoarerna som bildas när mikrober och partiklar sedimenterar och bildar ett bottensediment. Grengg et al. (2018) har visat att de anaeroba mikrobiella processerna i bottensedimentet kan förstärka betongvittring när det bildas frätande metaboliter/syror. Dock finns det betydande kunskapsluckor vad gäller de mikrobiologiska reservoarprocesserna samt hur man bör utforma hög- och lågreservoarer för att undvika undermålig dricksvattenkvalitet pga. önskad mikrobiell tillväxt. Den aktuella studien är förmodligen den första som beskriver olika typerna av reservoarbiofilmer i ett vattentorn.

Sammanfattningsvis, problemet med reservoar 433 åtgärdades med den nya FCM-styrda drifrutinen istället för en eventuell ombyggnation av vattentornet för att förbättra vattenomblandningen. Eftersom reservoar 433 hade två separata bassängar kunde man

säkerställa dricksvattenleveransen i samband med reservoartömningarna. De separata bassängttömningarna genomfördes genom att leverera dricksvattnet till distributionssystemet. Den konventionella HPC-analysen i ledningsnätet nedströms reservoaren visade inte några förhöjda värden i samband med tömningarna. Dna-analys visade enbart förekomst av harmlösa bakterier i reservoarvattnet, dvs. bassängttömningarna påverkade inte dricksvattnets säkerhet.

4.3 Utfasning av monokloramin i Varberg

Utfasningen av monokloramin ledde till en tämligen omgående och tydlig mikrobiell respons i Varbergs distributionssystem inklusive i vattenverkets två lågreservoarer (Figurerna 3.25, 3.27 och 3.30). Eftersom det ultrafiltrerade permeatvattnet i Kvarnagårdens vattenverk är praktiskt taget cellfritt, härstammar dricksvattnets mikroorganismer framför allt från biofilmen i reservoarer och ledningsrör (Chan et al., 2019; Pullerits et al. 2020b). Det bör framhållas att kloraminmängderna som användes i Varberg var låga (0,13 – 0,21 mg/l) och att klor inte kunde påvisas i ytterområdena i distributionssystemet innan utfasningen (Figur 3.23). Den första registreringen av ökade bakteriehalter enligt den automatiska FCM-mätningen på utgående vattenverksvatten var den 18 februari, dvs. en månad efter borttagandet av monokloramin (Figur 3.24). Ökningen observerades därefter i de manuella FCM-mätningarna från de centrala distributionsområdena samt i den norrgående ledningen mot Hoega, dvs. från områden som tidigare påverkats av kloramin (Figur 3.26). Förutom stigande bakteriehalter (TCC) så indikerade de ökade HNA-värdena i slutet av januari även en förändrad bakteriesammansättning i utgående dricksvatten (Figur 3.25). Dna-analysen verifierade en faktisk taxonomisk floraförändring i prover tagna den 18-20 februari (Figur 3.37), dvs. vid samma tidpunkt som man konstaterade en TCC-ökning på utgående vattenverksvatten. En närmare analys visade att flertalet bakterieklaser redan vid denna tidpunkt hade förändrats betydligt. Exempelvis sågs en ökning av klassen *Bacteroidia* i dricksvattnet och en minskning av bakterier tillhörande klasserna *Alphaproteobacteria* och *Nitrospira* (Figur 3.38). Med tanke på förändringarnas omfattning är det rimligt att anta att de initierades kort efter borttagandet av monokloramin den 20 januari. Den automatiska FCM-analysen på verkets utgående dricksvatten visade att den nedåtgående %HNA-trenden avbröts abrupt vid tiden för kloraminutfasningen för att därefter stiga från 65 % till 90 % (Figur 3.25). Sammantaget så är det troligt att biofilmsresponsen i reservoarer och ledningsrör initierades redan i januari.

4.3.1 Utfasning av nitrifikationsbakterier

Det är känt att monokloraminens ammoniumjoner är essentiella för nitrifikationsbakterier (Rittmann & Snoeyink 1984). Beredningen av monokloramin från ammoniumsulfat och natriumhypoklorit i verkets lågreservoarer frisätter fritt ammonium i dricksvattnet. Dessutom kan nedbrytningen av monokloramin till ammonium påskyndas av ammoniumoxiderande *Nitrosomonas* (Maestre et al. 2013). Ammoniumjonerna oxideras därefter till skadligt nitrit (gränsvärde 0,5 mg/l) av bakteriesläktet *Nitrosomonas*. Artidentifieringen visade förekomst av fyra *Nitrosomonas* arter (Tabell C.1), varav *N. sp. Is79* är känd för sin adaption till färskvatten med låga ammoniumkoncentrationer (Bollmann et al. 2013). Troligtvis finns det flera biozoner i Varbergs distributionssystem som gynnar *N. sp. Is79*. Slutligen oxideras nitrit till nitrat av släktet *Nitrospira* (Regan et al., 2003). Bland de fem *Nitrospira* arter som identifierats (Tabell C.1) kan *N. inopinata*, en s.k. comammox bakterie, på egen hand oxidera ammonium till nitrat (Daims et al. 2015). Nitrifikationsprocessen i Varbergs distributionssystem har tidigare beskrivits av Pullerits et al. (2020b). Ammonium och nitrit fungerar som metabola elektron donatorer, dvs. essentiella energikällor, för nitrifikationsbakterierna. Frånvaron av

ammoniumjoner och nitrit kommer att påverka bakteriernas energibildning (ATP- och NADH-syntes), vilket hämmar deras möjlighet att reproducera sig och på sikt överleva. Borttagandet av monokloramin ledde till en minskning/utfasning av *Nitrosomonas* och *Nitrospira*, men även *Hyphomicrobium* som föredrar fritt ammonium som kvävekälla (Brooke et al. 1987). *Hyphomicrobium* kan också metabolt denitrifiera nitrat till ammoniumjoner, vilket dock försämrar tillväxten (Brooke et al. 1987). Sammantaget så missgynnade borttagandet av ammonium och klor tidigare selekterade bakteriearter i biofilmen vilket gjorde att de minskade successivt i dricksvattnet, medan andra bakterier ökade i förekomst i dricksvattnet under perioden februari-juni 2020 (Bilaga C). Många av dessa bakterier har en dna-mängd som motsvarar typiska HNA-bakterier, vilket förklarar den initiala ökningen av HNA-bakterier i dricksvattnet efter kloraminutfasningen. Liu et al. (2018) har angett att en dna-mängd motsvarande ungefär tre miljoner baspar utgör gränsen mellan LNA- och HNA-bakterier. Bakteriearten *E. coli* har en genomsnittlig dna-mängd, genomstorlek, på 4.7 megabaspar (Mb). Många arter av *Nitrosomonas*, *Nitrospira* och *Hyphomicrobium* har en genomstorlek på cirka 4 Mb.

En annan grupp bakterier som minskade i dricksvattnet var de korrosions-associerade bakterierna *Dechlorosoma* och *Ferribacterium* (Achenbach et al. 2001). Båda fanns i påtagliga mängder i enbart Jonst vars ledningar uppströms består av segjärn. *Ferribacterium* (cirka 4.4 Mb) reducerar trevärt järn, Fe(III), till tvåvärt järn, Fe(II), medan *Dechlorosoma* (cirka 4.6 Mb) oxiderar Fe(II) till Fe(III). Tillsammans med syret i vattnet bildas då järn(II)oxid och järn(III)oxid dvs. gravrost respektive rödrost. Processerna är dock metabolt komplexa och de ovan nämnda men även andra mikroorganismer kan antingen påskynda eller hämma korrosion beroende på biofilmbildning och omgivande vattenmiljö (Zhu et al. 2014).

Den ökade frisättningen av biofilmbakterier noterades också med den automatiska ATP-analysatorn i mitten av mars, dvs. cirka 2 månader efter kloraminutfasningen (Figur 3.24). Anledningen till den fördröjda detektionen var troligtvis de initialt mycket låga ATP-halterna som låg under instrumentets kvantifieringsgräns. Det ska också nämnas att båda online instrumenten, ATP och FCM, genererade osäkra mätvärden under sommaren 2020 pga. påväxt i provtagnings- och instrumentledningar, vilket åtgärdades med nya ledningar samt med mer frekventa rengöringsprogram. Tack vare de manuella FCM-mätningarna var det trots detta möjligt att följa effekten av utsättningen av kloramin under sommaren 2020. TCC- och HNA-värdena i provtagningspunkterna närmast vattenverket, vilka tidigare haft mätbara klorkoncentrationer, följde samma mönster som utgående vattenverksvatten, dvs. snabbt ökande värden som först under sommaren 2020 började stabiliseras på nya TCC-nivåer som var upp till sex gånger högre än ursprungsvärdet (Figur 3.26 och Figur 3.27). I de centrala provtagningspunkterna kunde man också ana två HNA-toppar under våren 2020 (Figur 3.30), innan HNA-värdena började minska på samtliga platser i distributionssystemet.

4.3.2 Kumulativ biofilmsfrisättning

Den kumulativa frisättningen av *Bacteroidia* i februari-mars och *Bdellovibrionia* i mars-april sammanföll tidsmässigt med den första HNA-toppen (Figur 3.38). Förutom *Flavobacteriales* var det framför allt två bakteriefamiljer, *env.OPS17* och *KD3-93*, inom *Sphingobacteriales* samt *Ferruginibacter* tillhörande *Chitinophagales* som utgjorde merparten av *Bacteroidia* i dricksvattenproverna vid denna tid. *Flavobacteriales* bestod nästan uteslutande av släktet *Flavobacterium*, en känd fiskpatogen som i sällsynta fall kan infektera personer med ett försvagat immunförsvar (Penna et al. 2002). *Flavobacterium* som har en varierande genomstorlek från cirka 2.6 till 6.0 Mb beroende på art, är speciellt anpassad för att växa vid låga temperaturer och i näringsfattigt vatten såsom dricksvatten (Stine et al. 2017). Flertalet *Sphingobacteriales* och *Ferruginibacter* är svårödlade eller icke odlingsbara bakterier som är dåligt beskrivna i litteraturen.

Bdellovibrio (3-4 Mb) identifierades som *Bdellovibrio bacteriovorus* och *Bdellovibrio* ZAP7 (Tabell C.1), som båda tillhör den parasitiska bakteriegruppen BALOs (*Bdellovibrio* and like organisms) (Pasternak et al. 2014). BALOs parasiterar på andra gram-negativa bakterier inklusive *E. coli* och har en livscykel som består dels av en frimående kortlivad attackform och en parasitisk reproduktionsform som förtär andra gram-negativa bakterier. *Bdellovibrio* har på senare år uppmärksamats för sin positiva effekt på tarmfloran och har föreslagits som en framtida behandling av bakteriella infektioner (bioterapi), men även som ett agens som kan förhindra bildandet av ogynnsam biofilm (biokontroll) (Bratanis et al. 2020).

Bautista-de los Santos et al. (2016) har visat att *Bdellovibrio* kan påvisas i de flesta distributionssystem men att de är något vanligare i klorfria dricksvattensystem. Författarna som har analyserat publicerade sekvenseringsdata från olika distributionssystem i världen år 2012-2015 har även visat att artrikedomen (alfa-diversiteten) är större i klorfria distributionssystem vilket överensstämmer med våra resultat. Troligtvis reglerar BALOs naturliga biofilmssystem, och den frimående planktoniska attackformen av BALOs blir vanligare när tillgången på värd bakterier är större (Bratanis et al. 2020).

4.3.3 HPC-frisättning

Den ökade frisättningen av biofilmsbakterier gav också utslag på mängden odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier i perioden april-juni där gränsvärdet överskreds i några enstaka prover (Figur 3.34 och Figur 3.35). Den kortvarigt högre förekomsten av HPC kan kopplas till den ökade frisättningen/utfasningen av heterotrofa biofilmsbakterier såsom *Sphingomonas*, *Flavobacterium* och *Pseudomonas* (Bilaga C; Bartram et al. 2003), men temperaturökningen i ledningsnätet (Figur 3.26) samt den förstärkta tillväxten hos tidigare klorundertryckta bakterier hade också betydelse (Figur 3.32). Noterbart var att södra Storstockholm uppvisade ökad biologisk instabilitet med förhöjda HPC-värden i distributionszonerna B och C som växlade mellan klorfri varma sommarperioder och kallare monokloraminpåverkade perioder (Figur 3.22). Troligtvis orsakade det växlande selektionstrycket med och utan monokloramin instabilitet i den lokala biofilmen vars respons påminner om Varberg efter utfasningen av monokloramin.

Även *Polaromonas*, samma bakteriesläkte som påvisades i reservoar 433, ökade sin frisättning i Varberg i de distributionsområden som tidigare påverkats av monokloramin (se kapitel 3.2.4). Frånvaron av kloramin ökade även andelen viabla bakterier (%ICC) från i genomsnitt 55 % år 2019 till 80 % år 2021 (Figur 3.32). Frånvaron av klor ökade alltså generellt biofilmens tillväxtpotential och gav högre referensvärden för TCC i de centrala distributionsområdena. I juli återgick HPC till några enstaka cfu per ml vilket bekräftar att händelsen med högre HPC-förekomst var kopplad till biofilmsresponsen våren 2020 och inte till de nya högre TCC- och ICC-värdena. Tänkvärt är att det distributionsområde i södra Storstockholm som sakade monokloramin men som hade högst HNA-värden inte noterades för några anmärkningar på lukt och HPC (Figur 3.22). En hypotes är att långsamfiltreringen på Norsborgs vattenverk bidrar till ökad biostabilitet i de klorfria distributionsområdena på samma sätt som i Lund. Stenström och Szewzyk (2004) har visat att konstant flödesdrift av långsamfilter från Lovöns vattenverk effektivt utjämnar toppar av tillväxtbefrämjande AOC vilket bör stärka biostabiliteten.

4.3.4 Opportunistiska patogener

Inom *Flavobacterium*, *Mycobacterium*, *Legionella*, *Pseudomonas* och *Sphingomonas* finns arter/kloner som är opportunistiska patogener dvs. bakterier som kan infektera personer som på grund av exempelvis graviditet, ålder, sjukdom och/eller läkemedelsbehandling har ett försvagat immunsystem (Pavlov et al. 2004). Då vi tidigare påvisat *Mycobacterium* och *Legionella* i Varbergs distributionssystem (Pullerits et al. 2020b), samt att man konstaterat en ökande incidens av infektioner med icke tuberkulösa mykobakterier (NTM) i världen (To et al. 2020), var det angeläget att följa utvecklingen av

opportunistiska patogener efter utfasningen. Enligt de uppskattade koncentrationsbestämningarna minskade de redan låga nivåerna av *Mycobacterium* något efter kloraminutfasningen (Bilaga C). Denna observation stöds av den tidigare nämnda metaanalys-studien som visade en lägre förekomst av *Mycobacterium* i desinfektionsmedelsfria distributionssystem jämfört med klorerade system (Bautista-de los Santos et al. 2016). Vattentemperaturerna var dock något högre i slutet av året jämfört med de lägsta temperaturerna i februari vilket i sig påverkar bakterienivåerna i dricksvattnet.

Artidentifiering av mykobakterierna visade förekomst av sju arter inklusive den nyligen beskrivna *Mycobacterium angelicum* (Tabell C.1). Bakterierna är kända som lågvirulenta NTM som kan orsaka infektioner hos immunförsvagade individer (Davies et al. 2012; Tortoli 2014). Antalet rapporterade fall är dock mycket få, även om bakterierna kan påvisas i relativt höga nivåer i dricksvattensystem (Torvinen et al. 2004). Den minskade förekomsten av NTM kan också bero på mykobakteriernas biofilmsreglering. Enligt DePas et al. (2019) kontrolleras NTM-aggregering av C/N-kvoten, där höga ammoniumkoncentrationer gynnar planktoniska mykobakterier medan låga gynnar cellaggregering och biofilmbildning.

Dricksvattensystem innehåller också vanligtvis opportunistiskt patogena *Legionella* och rekommendationen enligt EWGLI (European Working Group for Legionella Infections) är att antalet *Legionella* inte bör överstiga 1000 cfu per l (Lesnik et al. 2016; Whiley 2016). Den relativa förekomsten av *Legionella* i Varberg var för låg för att uppskattas. Artidentifieringen påvisade ett 20-tal *Legionella* arter (se kapitel 3.3.7), varav några beroende på serogrupp/virulens kan vara opportunistiska patogener (Lesnik et al. 2016). För att avgöra om exempelvis *L. pneumophila* är patogen krävs ett odlingsisolat som karaktäriseras. Sammantaget visar våra undersökningar att nivåerna av opportunistiska patogener inte ökade i Varbergs dricksvatten efter borttagandet av monokloramin, utan snarare minskade, baserat på resultaten avseende *Flavobacterium*, *Legionella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* och *Sphingomonas*.

4.3.5 Biofilms ”microbial dark matter”

Utfasningen av monokloramin orsakade en genomgripande förändring av biofilmsfloran i de centrala distributionsområdena. Andelen LNA-bakterier ökade från 10 – 45 % till 35 – 55 % beroende på distributionspunkt (Figur 3.30). Den taxonomiska dna-analysen bekräftade att den gamla biofilmsfloran gradvis ersattes av en ny flora (Figur 3.39 och Figur 3.40). Merparten av den nya bakteriefloran tillhörde klasserna *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* och *Parcubacteria*. De två första vet man är vanligt förekommande i dricksvatten. *Parcubacteria* missas dock ofta pga. att de är så små, endast cirka 0.1 µm (Vigneron et al. 2020). Många av dessa s.k. ultramikrobakterier passerar även de membranfilter som används vid dna-analys, som har en porstorlek på 0.22 µm. I denna studie har större mängder dricksvatten filtrerats än vanligt för att säkra analysmaterialet med tanke på de låga TCC-halterna i de centrala områdena i Varberg samt möjligheten att analysera typiska LNA-bakterier. Den större provvolymen/cellhalten ökade markant igensättningen av membranfiltren, vilket uppenbarligen ledde till att även ultramikrobakterier fångades in. *Parcubacteria* och andra ultramikrobakterier brukar ibland kallas ”microbial dark matter” eftersom de sannolikt utgör en stor del av jordens biomassa och starkt bidrar till den biologiska mångfalden (Solden et al. 2016). Deras ekologiska och metabola betydelse börjar alltmer klarna tack vare de senaste årens metagenomiska studier (Nelson & Stegen 2015; Vigneron et al. 2020). Enligt dessa studier metaboliserar *Parcubacteria* troligtvis stora mängder organiskt kol för att täcka sitt energibehov, på samma sätt som mjölksyrabakterier. *Parcubacteria* och mjölksyrabakterier kompenserar sin dåliga förbränning av kolföreningar med att konsumera cirka 10 ggr. så mycket kol jämfört med respiratoriska organismer. Mycket talar för att deras fermentativa förmåga i olika vattenmiljöer, inklusive grundvatten, har en viktig biogeokemisk roll vid omsättningen av komplexa organiska ämnen. *Parcubacteria*

lever av allt att döma ofta i symbios med andra mikroorganismer. *Parcubacteria* får då tillgång till aminosyror och andra cellmetaboliter de själva inte kan syntetisera. De andra organismerna får tillgång till assimilerbart organiskt kol i form av det acetat som *Parcubacteria* producerar vid sin fermentation av mer komplexa kolföreningar. Vår studie styrker tidigare föreslag om att *Parcubacteria* skulle kunna etablera sig i dricksvattenbiofilmer (Bruno et al. 2018).

Förutom *Parcubacteria* så bestod den nya biofilmen av bakteriesläktet *Methylothermobacter* och de icke odlingsbara bakteriefamiljerna Tra3-20 och *Rhizobiales Incertae Sedis*. *Methylothermobacter* kan oxidera växthusgasen metan och andra enkols-föreningar i närvaro av nitrat. Van Grinsven et al. (2021) har nyligen visat att denna kolomsättning försämras i närvaro av ammonium, vilket delvis skulle kunna förklara tillväxten i Varbergs distributionssystem.

Sammanfattningsvis så fann vi att populationen bakterier som konsumerar organiskt kol för att få energi, s.k. heterotrofer, förändrades vid borttagandet av monokloramin. Kända och okända dricksvattenbakterier såsom *Flavobacterium*, *Hyphomicrobium*, *Mycobacterium*, *Pedomicrobium*, *Polaromonas*, *Pseudomonas* och *Sphingomonas* minskade i förekomst och floran utökades med en annan grupp heterotrofer som inte kan påvisas med traditionell odlingsmetodik, till exempel BALOs, *Methylothermobacter* och *Parcubacteria* samt de dåligt beskrivna bakteriegrupperna Ellin6067, *Rhizobiales Incertae Sedis* och Tra3-20.

4.4 Summering och slutsatser

De aktuella studierna i Lund, Storstockholm och Varberg visar hur konventionella odlingsmetoder och dagens moderna analysmetoder, speciellt FCM och dna-sekvensering, kan komplettera varandra för att ge en mer detaljerad och nyanserad bild av biofloras status och komplexitet vid beredning och distribution jämfört med idag. Indikatorbakterier kan i många avseenden i sig vara ”harmlösa” men förekomsten av dem antas i gällande lagstiftning vara ett tecken på en förhöjd risk för samtidig förekomst av sjukdomsframkallande bakterier eller ”tekniska problem” i infrastrukturen (läckage, nedsmutsning av ledningar och anslutningar etc.). Efter borttagandet av ”transport-skyddet” monokloramin noterades i Varberg avvikande och delvis ovanligt höga halter av HPC under en övergångsperiod, som ett resultat av biofilmens adaptation till den nya miljön. I ett drifttekniskt perspektiv återspeglar de periodvis förhöjda halterna av indikatorbakterier någon form av teknisk förändring av det befintliga dricksvattensystemet. De kompletterande dna-resultaten visade dock att detta inte nödvändigtvis behöver betyda att dricksvattenkvaliteten blev sämre. Att de förhöjda HPC-värdena i det problematiska vattentorn i norra Storstockholm visade sig vara orsakade av en harmlös vattenbakterie tydliggör också vikten av att identifiera de agens som ger upphov till bedömningen ”tjänligt med anmärkning”. Det ska framhållas att inget vattenprov i Lund, Storstockholm och Varberg har bedömts otjänligt med avseende på mikroorganismer eller kemikalier under projektets gång.

Idag finns möjligheten för enskilda dricksvattenproducenter att med hjälp av användarvänliga handinstrument dna-sekvensera vattenprover och identifiera mikroorganismer från odlingsplattor (<https://nanoporetech.com/products/minion>). Baserat på våra resultat rekommenderar vi att man som dricksvattenproducent inte bara identifierar mikroorganismer som överskrider lagstiftarens gränsvärden utan också tolkar mängden mikroorganismer (indikatorbakterier, ICC, HNA(ICC) etc.) i flera strategiskt givna prover utifrån trender och historiska referensvärden, istället för att som idag begränsas av enstaka absoluta gränsvärden. Våra studier visar också att det finns nackdelar med att på ett konstgjort sätt selektera fram en kloresistent dricksvattenflora som övergöds med ammonium närmare bestämt; (i) selektion av kloresistenta patogener, (ii) selektion av

bakterier som bildar skadligt nitrit samt (iii) att den naturliga harmlösa biofloran undertrycks och avdödas. Sammantaget motverkas etableringen av ett resilient mikrobiellt ekosystem som kan hantera distributionens utmaningar utan att dricksvattenkvaliteten försämras. Studierna i Varberg tydliggör att den artfattiga monokloraminselektade biofilmen kan ersättas med en rikare mer naturlig biofilm som bl.a. består av ultramikrobakterier om man upphör med sekundär desinfektion. Ultramikrobakterier eller LNA-bakterier (Liu et al. 2018), brukar ibland kallas "microbial dark matter" eftersom de sannolikt utgör en stor del av jordens biomassa och starkt bidrar till den biologiska mångfalden (Solden et al. 2016). Länder såsom Nederländerna, Tyskland, Schweiz och Österrike har visat att man kan distribuera ett biologiskt stabilt och säkert dricksvatten utan klortillsats om det kombineras med en effektiv vattenrening och modern mikrobiell övervakning (Rosario-Ortiz et al., 2016). Studierna i Lund visar också att ett traditionellt cellrikt dricksvatten som bereds med långsamfilter kan vara förvånansvärt biostabilt och motstå kvalitetsförändringar på utgående dricksvatten från vattenverket vilket också antyds i södra Storstockholm. Rittmann och Snoeyink (1984) har visat och föreslagit att aktiva biofilter effektivt reducerar mikrobiella energi- och substratmolekyler vilket bidrar till ökad biostabilitet. Dessutom har flera studier lyft fram att biofilter frisätter biofilmsfrämjande bakterier samt att långsamfilter selektivt avdödar oönskade mikroorganismer såsom koliformer vilket också stärker dricksvattnets biostabilitet (Chan 2018; Prest et al. 2016). Dock kan distributionszoner som alternerar mellan klorfri perioder och klörpåverkan orsaka biologisk instabilitet med förhöjda HPC-värden och luktanmärkningar. Framtida studier får utröna om biofilmsfloran i Lunds och södra Storstockholms distributionssystem har en speciell sammansättning på grund av långsamfiltrens frisättning av bland annat biofilmsbildande LNA-bakterier.

Slutligen vill vi lyfta fram några slutsatser som vi bedömer att de kommunala VA-organisationerna kan ha praktisk nytta av:

- Dna-baserad FCM-analys kan användas för att följa dricksvattnets biostabilitet, övervaka råvatten och kontrollera beredningsprocessen. Dock krävs att man följer relevanta relativa FCM-förändringar såsom %HNA(ICC) i ett antal strategiska provpunkter för att fastställa normalvärden och avvikelser.
- Taxonomisk dna-analys kan kombineras med FCM för att kvantifiera specifika bakteriegrupper.
- Online ATP- och partikelmätare har inte den känslighet som krävs för att följa förändringar i bakteriella fraktioner.
- Långsamfilter kan bidra till ökad biostabilitet vid konventionell beredning av ytvatten.
- Om beredningen omfattar multipla barriärer kommer merparten av den biologiska aktiviteten och tillväxten i distributionssystemet vara kopplad till biofilmen.
- Den mikrobiella dynamiken i ytvattentäkter bör kartläggas för att förstå och säkra dricksvattenkvaliteten vid vattenrening.
- Kallt vatten motverkar oönskad mikrobiell tillväxt och underlättar etableringen av en icke-problematisk, "god" biofilm.
- Distributionszoner som växlar mellan klorfrihet och klörpåverkan kan orsaka biologisk instabilitet.
- Förbättrad omsättning i reservoarer kan motverka oönskad tillväxt i distributionssystemet.
- Väl fungerande avskiljande mikrobiella säkerhetsbarriärer ger förutsättningar för att fasa ut sekundär desinfektion med monokloramin.

Litteraturförteckning

Achenbach, L.A., Michaelidou, U., Bruce, R.A., Fryman, J. & Coates, J.D. (2001). *Dechloromonas agitata* gen. nov., sp. nov. and *Dechlorosoma suillum* gen. nov., sp. nov., two novel environmentally dominant (per)chlorate-reducing bacteria and their phylogenetic position. *Int J Syst Evol Microbiol*, 51:527-533. doi:10.1099/00207713-51-2-527

Anonymous (1934) *The bacteriological examination of water supplies*, 1st edn. Reports on Public Health and Medical Subjects No. 71, HMSO, London. [http://standingcommitteeofanalysts.co.uk/Archive/Full%20numbered%20set%20of%20books/66.%20The%20bacteriological%20examination%20of%20drinking%20water%20supplies%201982%20\(Rreport%2071\).pdf](http://standingcommitteeofanalysts.co.uk/Archive/Full%20numbered%20set%20of%20books/66.%20The%20bacteriological%20examination%20of%20drinking%20water%20supplies%201982%20(Rreport%2071).pdf)

Bartram, J., Cotruvo, J.A., Exner, M., Fricker, C., Glasmacher, A. et al. (2003). *Heterotrophic plate counts and drinking-water safety: the significance of HPCs for water quality and human health* / J. Bartram ... et al.] . World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42612>

Bautista-de los Santos, Q., Schroeder, J.L., Sevillano-Rivera, M.C., Sungthong, R., Ljaz, U.Z., Sloan, W.T. & Pinto, A.J. (2016). Emerging investigators series: microbial communities in full-scale drinking water distribution systems—a meta-analysis. *Environ Sci Water Res Technol*, 2:631–644. doi.org/10.1039/C6EW00030D

Bayer, B., Saito, M.A., McIlvin, M.R., Lückner, S., Moran, D.M., Lankiewicz, T.S., Dupont, C.L. & Santoro, A.E. (2021). Metabolic versatility of the nitrite-oxidizing bacterium *Nitrospira marina* and its proteomic response to oxygen-limited conditions. *ISME J*, 15:1025–1039. doi.org/10.1038/s41396-020-00828-3

Bollmann, A., Sedlacek, C.J., Norton, J. et al. (2013). Complete genome sequence of *Nitrosomonas* sp. Is79, an ammonia oxidizing bacterium adapted to low ammonium concentrations. *Stand in Genomic Sci*, 7:469–482 (2013). <https://doi.org/10.4056/sigs.3517166>

Bratanis, E., Andersson, T., Lood, R., & Bukowska-Faniband, E. (2020). Biotechnological potential of *Bdellovibrio* and like organisms and their secreted enzymes. *Front Microbiol*, 11:662. doi.org/10.3389/fmicb.2020.00662

Brooke, A.G., Duchars, M.G. & Attwood, M.M. (1987). Nitrogen assimilation in the facultative methylotroph *Hyphomicrobium* X, *FEMS Microbiol Lett*, 41(1):41–45. doi.org/10.1111/j.1574-6968.1987.tb02138.x

Brown-Elliott, B.A., Wallace Jr, R.J., Tichindelean, C., Sarria, J.C., McNulty, S., Vasireddy, R., Bridge, L., Mayhall, C.G., Turenne, C. & Loeffelholz, M. (2011) Five-year outbreak of community- and hospital-acquired *Mycobacterium porcinum* infections related to public water supplies. *J Clin Microbiol*, 49(12):4231-8. doi:10.1128/JCM.05122-11

Bruno, A., Sandionigi, A., Bernasconi, M., Panio, A., Labra, M., & Casiraghi, M. (2018). Changes in the drinking water microbiome: Effects of water treatments along the flow of two drinking water treatment plants in a urbanized area, Milan (Italy). *Front Microbiol*, 9:2557. doi.org/10.3389/fmicb.2018.02557

Buysschaert, B., Vermijs, L., Naka, A., Boon, N. & De Gussemé, B. (2018). Online flow cytometric monitoring of microbial water quality in a full-scale water treatment plant. *npj Clean Water*, 1:16. doi.org/10.1038/s41545-018-0017-7

Callahan, B.J., McMurdie, P.J. & Holmes, S.P. (2017). Exact sequence variants should replace operational taxonomic units in marker-gene data analysis. *The ISME Journal*, 11(12):2639–2643. doi.org/10.1038/ismej.2017.119

Chan, S. (2018). *Processes governing the drinking water microbiome*. Doctoral Thesis. Applied Microbiology, Lund University, Lund. <https://lup.lub.lu.se/record/2doe8fbf-e1e5-432e-b4a4-ea6c92caaccf>

Chan, S., Pullerits, K., Keucken, A., Persson, K.M., Paul, C.J. & Rådström, P. (2019). Bacterial release from pipe biofilm in a full-scale drinking water distribution system. *npj Biofilms Microbiomes*, 5(1):9. doi:10.1038/s41522-019-0082-9

Chan, S., Pullerits, K., Riechelmann, J., Persson, K.M., Rådström, P. & Paul, C.J. (2018). Monitoring biofilm function in new and matured full-scale slow sand filters using flow cytometric histogram image comparison (CHIC). *Water Res*, 138:27-36. doi:10.1016/j.watres.2018.03.032

Cruz, M.C., Woo, Y., Flemming, H.C. & Wuertz, S. (2020). Nitrifying niche differentiation in biofilms from full-scale chloraminated drinking water distribution system. *Water Res*, 176:115738. doi:10.1016/j.watres.2020.115738

Daims, H., Lebedeva, E.V., Pjevac, P., et al. (2015). Complete nitrification by Nitrospira bacteria. *Nature*, 528(7583):504-9. doi:10.1038/nature16461

Danczak, R.E., Johnston, M.D., Kenah, C., Slattey, M., Wrighton, K.C. & Wilkins, M.J. (2017). Members of the Candidate Phyla Radiation are functionally differentiated by carbon- and nitrogen-cycling capabilities. *Microbiome*, 5:112. doi.org/10.1186/s40168-017-0331-1

Danielsson, M. (2018). Mapping of bacteria with flow cytometry – before, during and after treatment of drinking water. Master's thesis in Molecular Biology. Lund University. <http://lup.lub.lu.se/student-papers/record/8958877>

Davies, E., Wieboldt, J., Stanley, T., Maeda, Y., Smyth, M., Stanley, S., McClean, M., Evans, W., Funston, C., Millar, B.C., Goldsmith, C.E. & Moore, J.E. (2012). Isolation and identification of 'Mycobacterium angelicum' from a patient with type II respiratory failure: suggested reporting guidelines to molecular clinical laboratories. *Br J Biomed Sci*, 69(3):134-6. doi.org/10.1080/09674845.2012.12069140

DePas, W.H., Bergkessel, M. & Newman, D.K. (2019). Aggregation of nontuberculous mycobacteria is regulated by carbon-nitrogen balance. *mBio*, 10(4):e01715-19. doi:10.1128/mBio.01715-19

Donohue, M.J., Vesper, S., Mistry, J. & Donohue, J.M. (2019). Impact of chlorine and chloramine on the detection and quantification of Legionella pneumophila and Mycobacterium Species. *Appl Environ Microbiol*, 85(24):e01942-19. doi:10.1128/AEM.01942-19

Ejhed, H. (2020). *Mälarens framtida vattenkvalitet*. NV Rapport 2020-02. Kommunalförbundet Norrvatten. Solna. <https://www.norrvatten.se/contentassets/39ef7aefe9cc4e1ba0c526e609b3c910/2020-02-malarens-framtida-vattenkvalitet.pdf>

Ekman, S. (2018). Exploration of how UV disinfection affects the microbial community in drinking water. Master's thesis in Applied Microbiology. Lund University <https://lup.lub.lu.se/student-papers/search/publication/8938992>

Favere, J., Barbosa, R.G., Sleutels, T., Verstraete, W., De Gussem, B. & Boon N. (2021). Safeguarding the microbial water quality from source to tap. *npj Clean Water*, 4:28. doi.org/10.1038/s41545-021-00118-1

Flemming, H.C. (2002). Biofouling in water systems-cases, causes and countermeasures. , 59(6):629–640. doi:10.1007/s00253-002-1066-9

- Folkhälsomyndigheten. (2015). *Ett kapitel i kunskapssammanställningen. Legionella i miljön – hantering av smittrisker*. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/contentassets/cfb528effdf4326a2956f85beeb71a4/inledning.pdf>
- Gao, Y., Wang, M., Wei, J., Kong, L., Xu, H., Shi, W. & Zhu, L. (2021). Enhanced sediment denitrification for nitrogen removal by manipulating water level in the lakeshore zone. *Water*, 13(23):3323. doi.org/10.3390/w13233323
- Goldford, J.E., Lu, N., Bajić, D., Estrela, S., Tikhonov, M., Sanchez-Gorostiaga, A., Segrè, D., Mehta, P. & Sanchez, A. (2018). Emergent simplicity in microbial community assembly. *Science*, 361:469-474. doi:10.1126/science.aat1168
- Gomez-Alvarez, V., Liu, H., Pressman, J.G. & Wahman, D.G. (2021). Metagenomic profile of microbial communities in a drinking water storage tank sediment after sequential exposure to monochloramine, free chlorine, and monochloramine. *ACS ES&T Water*, 1(5):1283-1294. doi:10.1021/acsestwater.1c00016
- Grengg, C., Mittermayr, F., Ukrainczyk, N., Koenders, E., Koraimann, G., Kienesberger, S. & Dietzel, M. (2018). Microbial induced acid corrosion from a field perspective - Advances in process understanding and construction material development. *MATEC Web of Conferences*, 199:02002. doi.org/10.1051/mateconf/201819902002
- Han, S.K., Nedashkovskaya, O.I., Mikhailov, V.V., Kim, S.B. & Bae, K.S. (2003). *Salinibacterium amurskyense* gen. nov., sp. nov., a novel genus of the family *Microbacteriaceae* from the marine environment. *Int J Syst Evol Microbiol*, 53:2061-6. doi:10.1099/ijs.0.02627-0
- Hwang, K., Choe, H., Nasir, A. & Kim, K.M. (2021). Complete genome of *Polaromonas vacuolata* KCTC 22033T isolated from beneath Antarctic Sea ice. *Mar Genomics*, 55:100790. doi:10.1016/j.margen.2020.100790
- Jang, J., Anderson, E.L., Venterea, R.T., Sadowsky, M.J., Rosen, C.J., Feyereisen, G.W. & Ishii, S. (2019). Denitrifying bacteria active in woodchip bioreactors at low-temperature conditions. *Front Microbiol*, 10:635. doi:10.3389/fmicb.2019.00635
- Jefferson, K.K. (2004). What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol Lett*, 236(2):163-173. doi.org/10.1111/j.1574-6968.2004.tb09643.x
- Jie, L., Zhipeng, Z., Cuihong, C., Peilin, C. & Yingying, W. (2017). In-situ features of LNA and HNA bacteria in branch ends of drinking water distribution systems. *J Water Supply: Res Technol-AQUA*, 66(5):300-307. doi.org/10.2166/aqua.2017.108
- Knutsson, D. (2020). *The effect of water filtration on cholera mortality*. IFN Working Paper No. 1346. Stockholm: Research Institute of Industrial Economics (IFN). <https://www.ifn.se/media/tadpqmft/wp1346.pdf>
- Králová, S., Busse, H.J., Bezdiček, M., Sandoval-Powers, M., Nykrýnová, M., Staňková, E., Krsek, D. & Sedláček, I. (2021). *Flavobacterium flabelliforme* sp. nov. and *Flavobacterium geliluteum* sp. nov., two multidrug-resistant psychrotrophic species isolated from antarctica. *Front Microbiol*, 12:729977. doi:10.3389/fmicb.2021.729977
- Kämpfer, P., Busse, H-J. & Falsen, E. (2006). *Polaromonas aquatica* sp. nov., isolated from tap water. *Int J Syst Evol Microbiol*, 56:605-8. doi:10.1099/ijs.0.63963-0.
- Lavonen, E., Bodlund, I., Dahlberg, K., Eriksson, U., Andersson, A., Bertilsson, S., Frösegård, C., Franke, V., Golovko, O. & Ahrens, L. (2018). *Dricksvattenberedning med nya reningstekniker – en pilotstudie*. SVU-rapport 2018-07. Stockholm: Svenskt Vatten. https://www.svensktvatten.se/contentassets/5d03d31c9b3a-4d9591e27636f6c2c949/svur_2018-07a.pdf
- LeChevallier, M.W., Au, K.K. & World Health Organization. Water, Sanitation and Health Team. (2004). *Water treatment and pathogen control: process efficiency in achieving safe drinking water* / Mark W. LeChevallier, Kwok-Keung Au. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42796>

-
- Lesnik, R., Brettar, I. & Höfle, M. (2016). Legionella species diversity and dynamics from surface reservoir to tap water: from cold adaptation to thermophily. *ISME J*, 10:1064–1080. doi.org/10.1038/ismej.2015.199
- Li, L., Mendis, N., Trigui, H., Oliver, J.D. & Faucher, S.P. (2014). The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Front Microbiol*, 5:258. doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258
- Liu, G., Bakker, G.L., Li, S., Vreeburg, J.H.G., Verberk, J.Q.J.C., Medema, G.J., Liu, W.T. & Dijk, J.C.V. (2014). Pyrosequencing reveals bacterial communities in unchlorinated drinking water distribution system: an integral study of bulk water, suspended solids, loose deposits, and pipe wall biofilm. *Environmental Science & Technology*, 48:5467–5476. [doi:10.1021/es5009467](https://doi.org/10.1021/es5009467)
- Liu, J., Zhao, R., Zhang, J., Zhang, G., Yu, K., Li, X., & Li, B. (2018). Occurrence and fate of ultramicrobacteria in a full-scale drinking water treatment plant. *Front Microbiol*, 9:2922. doi.org/10.3389/fmicb.2018.02922
- Lührig, K. (2017). Bacterial communities in drinking water biofilms. SVU-rapport 2017-02. Stockholm. Svenskt Vatten. https://www.svensktvatten.se/contentassets/02aac8860122419ca355586172497c74/svu-rapport_2017-02.pdf
- Maestre, J.P., Wahman, D.G. & Speitel, G.E. Jr. (2013). Monochloramine cometabolism by *Nitrosomonas europaea* under drinking water conditions. *Water Res*, 47(13):4701–9. [doi:10.1016/j.watres.2013.05.019](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.05.019)
- Manickum, T. (2020). Total colony counts (TCC) by flow cytometry (FCM) should replace the heterotrophic plate count (HPC) test for bacteriological enumeration of water - some recent developments in flow cytometry: A review. *Hydrol Current Res*, 11:3. [doi:10.37421/2157-7587.11.2.319](https://doi.org/10.37421/2157-7587.11.2.319)
- Mao, G., Wang, Y. & Hammes, F. (2021). Automated flow cytometry as a flexible tool for comparing disinfection characteristics of indigenous bacterial communities and pure cultures. *Ecotoxicol Environ Saf*, 225:112799. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112799
- Nelson W.C. & Stegen J.C. (2015). The reduced genomes of Parcubacteria (OD1) contain signatures of a symbiotic lifestyle. *Front Microbiol*, 6:713. [doi:10.3389/fmicb.2015.00713](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00713)
- Van Nevel, S., Koetzsch, S., Proctor, C.R., Besmer, M.D., Prest, E.I., Vrouwenvelder, J.S., Knezev, A., Boon, N. & Hammes, F. (2017). Flow cytometric bacterial cell counts challenge conventional heterotrophic plate counts for routine microbiological drinking water monitoring. *Water Res*, 113:191–206. [doi:10.1016/j.watres.2017.01.065](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.065)
- Nordblom, O. & Ljunggren, O. (2007). *Blandning och omsättning i dricksvatten-reservoarer*. SVU-rapport nr. 2007-15. Stockholm. Svenskt Vatten. http://vav.griffel.net/filer/Rapport_2007-15.pdf
- Pasternak, Z., Njagi, M., Shani, Y., Chanyi, R., Rotem, O., Lurie-Weinberger, M.N., Koval, S., Petrokovski, S., Gophna U. & Jurkevitch E. (2014). In and out: an analysis of epibiotic vs periplasmic bacterial predators. *ISME J*, 8:625–635. doi.org/10.1038/ismej.2013.164
- Pavlov, D., de Wet, C.M., Grabow, W.O. & Ehlers, M.M. (2004). Potentially pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria isolated from treated and untreated drinking water. *Int J Food Microbiol*, 92(3):275–87. [doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2003.08.018](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.08.018)
- Penna, V.T.C., Martins, S.A.M. & Mazzola, P.G. (2002). Identification of bacteria in drinking and purified water during the monitoring of a typical water purification system. *BMC Public Health*, 2:13. doi.org/10.1186/1471-2458-2-13
-

-
- Pick, F.C., Fish, K.E., Biggs, C.A., Moses, J.P., Moore, G. & Boxall, J.B. (2019). Application of enhanced assimilable organic carbon method across operational drinking water systems. *PLOS ONE*, 14(12):e0225477. doi.org/10.1371/journal.pone.0225477
- Potgieter, S.C., Dai, Z., Venter, S.N., Sigudu, M. & Pinto A.J. (2020). Microbial nitrogen metabolism in chloraminated drinking water reservoirs. *mSphere*, 5:e00274-20. doi.org/10.1128/mSphere.00274-20
- Prest, E.I., Hammes, F., van Loosdrecht, M.C.M. & Vrouwenvelder, J.S. (2016). Biological stability of drinking water: controlling factors, methods, and challenges. *Front. Microbiol.*, 7:45. doi:10.3389/fmicb.2016.00045
- Prest, E.I., Hammes, F., Köttsch, S., van Loosdrecht, M.C. & Vrouwenvelder, J.S. (2013). Monitoring microbiological changes in drinking water systems using a fast and reproducible flow cytometric method. *Water Res*, 47(19):7131-42. doi:10.1016/j.watres.2013.07.051
- Props, R., Kerckhof, F.M., Rubbens, P., De Vrieze, J., Hernandez Sanabria, E., Waegeman, W., Monsieurs, P., Hammes, F. & Boon, N. (2017). Absolute quantification of microbial taxon abundances. *ISME J*, 11:584–587. doi.org/10.1038/ismej.2016.117
- Pullerits, K., Ahlinder, J., Holmer, L., Salomonsson, E., Öhrman, C., Jacobsson, K., Dryselius, R., Forsman, M., Paul, C.J. & Rådström, P. (2020a). Impact of UV irradiation at full scale on bacterial communities in drinking water. *npj Clean Water*, 3:11. doi.org/10.1038/s41545-020-0057-7
- Pullerits, K., Chan, S., Ahlinder, J., Keucken, A., Rådström P. & Paul, C.J. (2020b). Impact of coagulation–ultrafiltration on long-term pipe biofilm dynamics in a full-scale chloraminated drinking water distribution system. *Environ Sci: Water Res Technol*, 6:3044-3056. doi.org/10.1039/DoEW00622J
- Reasoner, D.J. & Geldreich, E.E. (1985). A new medium for the enumeration and subculture of bacteria from potable water. *Appl Environ Microbiol*, 49(1):1-7. doi:10.1128/aem.49.1.1-7.1985
- Regan, J. M., Harrington, G. W., Baribeau, H., Leon, R. De, & Noguera, D. R. (2003). Diversity of nitrifying bacteria in full-scale chloraminated distribution systems. *Water Res*, 37(1):197-205. doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00237-3
- Rittmann, B.E. & Snoeyink, V.L. (1984). Achieving biologically stable drinking water. *J - Am Water Works Assoc*, 76:106-114. doi.org/10.1002/j.1551-8833.1984.tb05427.x
- Rosario-Ortiz, F., Rose, J., Speight, V., von Gunten, U. & Schnoor, J. (2016). How do you like your tap water? *Science*, 351(6276):912-4. doi:10.1126/science.aaf0953
- Schleich, C., Chan, S., Pullerits, K., Besmer, M.D., Paul, C.J., Rådström, P. & Keucken, A. (2019). Mapping dynamics of bacterial communities in a full-scale drinking water distribution system using flow cytometry. *Water*, 11(10):2137. doi.org/10.3390/w11102137
- Schleich, C., Chan, S., Pullerits, K., Habagil, M., Lindgren, J., Paul, C.J., Keucken, A. & Rådström, P. (2020) *Biofilmens funktion och korrelation med dricksvattnets kvalitet*. SVU-rapport 2020-2. Stockholm: Svenskt Vatten. http://vav.griffel.net/db.pl?template_file=db_link_pdf.html&link=a&pdf=svu-rapport-2020-02.pdf
- Siebel, E., Wang, Y., Egli, T. & Hammes, F. (2008). Correlations between total cell concentration, total adenosine tri-phosphate concentration and heterotrophic plate counts during microbial monitoring of drinking water. *Drink Water Eng Sci*, 1:1-6. doi.org/10.5194/dwes-1-1-2008
-

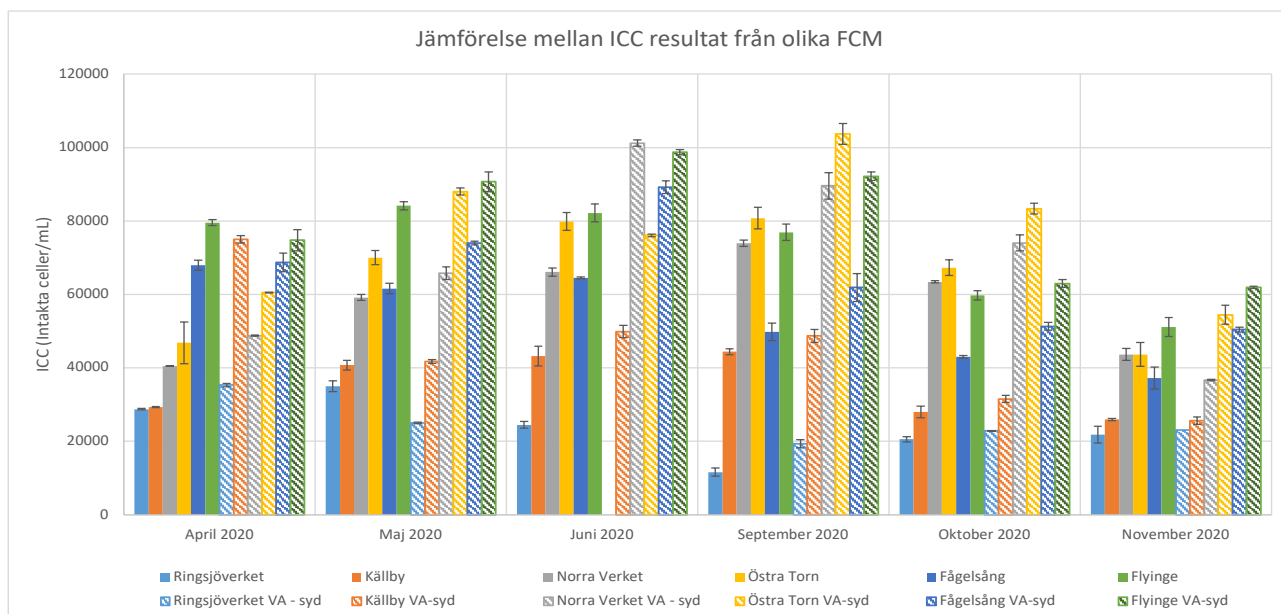
-
- Šlapokas, T. (2020). *Kompetensprovning Mikrobiologi – Dricksvatten Mars 2020*. Livsmedelsverket. <https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/publikationsdatabas/rapporter/2020/2020-kompetensprovning-av-laboratorier-mikrobiologi-rapport-dricksvatten-mars-2020.pdf>
- SLVFS 2001:30. *Livsmedelsverkets föreskrifter om dricksvatten*. Uppsala: Livsmedelsverket. <https://www.livsmedelsverket.se/om-oss/lagstiftning1/gallande-lagstiftning/slvfs-200130>
- Solden, L., Lloyd, K. & Wrighton, K. (2016). The bright side of microbial dark matter: lessons learned from the uncultivated majority. *Curr Opin Microbiol*, 31:217-226. doi:10.1016/j.mib.2016.04.020
- Stenström, T.A. & Szewzyk, U. (2004) Mikrobiell tillväxt från råvatten till kran i dricksvattensystem. VA-Forsk rapport 2004-07. Stockholm. Svenskt Vatten. http://vav.griffel.net/filer/VA-Forsk_2004-07.pdf
- Stine, C.B., Li, C., Crosby, T.C., Hasbrouck, N.R., Lam, C. & Tadesse, D.A. (2017). Draft whole-genome sequences of 18 *Flavobacterium* spp. *Genome Announc*, 5(46):e00865-17. doi:10.1128/genomeA.00865-17
- Svenskt Vatten (2020). *Resultatrapport för VASS drift 2019. Tillståndet i VA-Sverige*. Rapport R2020-03. Stockholm: Svenskt Vatten. <https://www.svensktvatten.se/globalassets/organisation-och-juridik/vass/drift/2020-03-sv-resultatrapport-vass-drift2019.pdf>
- Svensson, K. (2014). *Risikkaraktisering av exponering för nitrosodimetylamin (NMDA) från kloramin använd vid dricksvattenberedning*. Livsmedelsverkets rapportserie nr 12/2014. https://www.livsmedelsverket.se/globalassets/publikationsdatabas/rapporter/2014/2014_livsmedelsverket_12_risikkaraktisering_nitrosodimetylamin.pdf
- To, K., Cao, R., Yegiazaryan, A., Owens, J. & Venketaraman, V. (2020). General overview of nontuberculous mycobacteria opportunistic pathogens: *Mycobacterium avium* and *Mycobacterium abscessus*. *J Clin Med*, 9(8):2541. doi:10.3390/jcm9082541
- Tortoli, E. (2014) Microbiological features and clinical relevance of new species of the genus *Mycobacterium*. *Clin Microbiol Rev*, 27(4):727-752. doi:10.1128/CMR.00035-14
- Torvinen, E., Suomalainen, S., Lehtola, M.J., Miettinen, I.T., Zacheus, O., Paulin, L., Katila, M.L. & Martikainen, P.J. (2004). Mycobacteria in water and loose deposits of drinking water distribution systems in Finland. *Appl Environ Microbiol*, 70(4):1973-81. doi:10.1128/AEM.70.4.1973-1981.2004
- van Grinsven, S., Sinninghe Damsté, J.S., Harrison, J., Polerecky, L. & Villanueva, L. (2021). Nitrate promotes the transfer of methane-derived carbon from the methanotroph *Methylobacter* sp. to the methylotroph *Methylotenera* sp. in eutrophic lake water. *Limnol Oceanogr*, 66:878-891. doi.org/10.1002/lno.11648
- Vigneron, A., Cruaud, P., Langlois, V., Lovejoy, C., Culley, A.I., & Vincent, W.F. (2020). Ultrasmall and abundant: Candidate phyla radiation bacteria are potential catalysts of carbon transformation in a thermokarst lake ecosystem. *Limnol Oceanogr Lett*, 5(2):212-220. doi.org/10.1002/lol2.10132
- Vreeburg, J.H. & Boxall, J.B. (2006). Discolouration in potable water distribution systems: a review. *Water Res*, 41(3):519-29. doi:10.1016/j.watres.2006.09.028
- Waak, M.B., Lapara, T.M., Hallé, C., & Hozalski, R.M. (2019). Nontuberculous mycobacteria in two drinking water distribution systems and the role of residual disinfection. *Environ Sci Technol*, 53(15):8563–8573. doi.org/10.1021/acs.est.9b01945
-

Whiley, H. (2016). *Legionella* risk management and control in potable water systems: argument for the abolishment of routine testing. *Int J Environ Res Public Health*, 14(1):12. doi:10.3390/ijerph14010012

Zhu, Y., Wang, H., Li, X., Hu, C., Yang, M. & Qu, J. (2014). Characterization of biofilm and corrosion of cast iron pipes in drinking water distribution system with UV/Cl₂ disinfection. *Water Res*, 60:174-181. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.04.035>

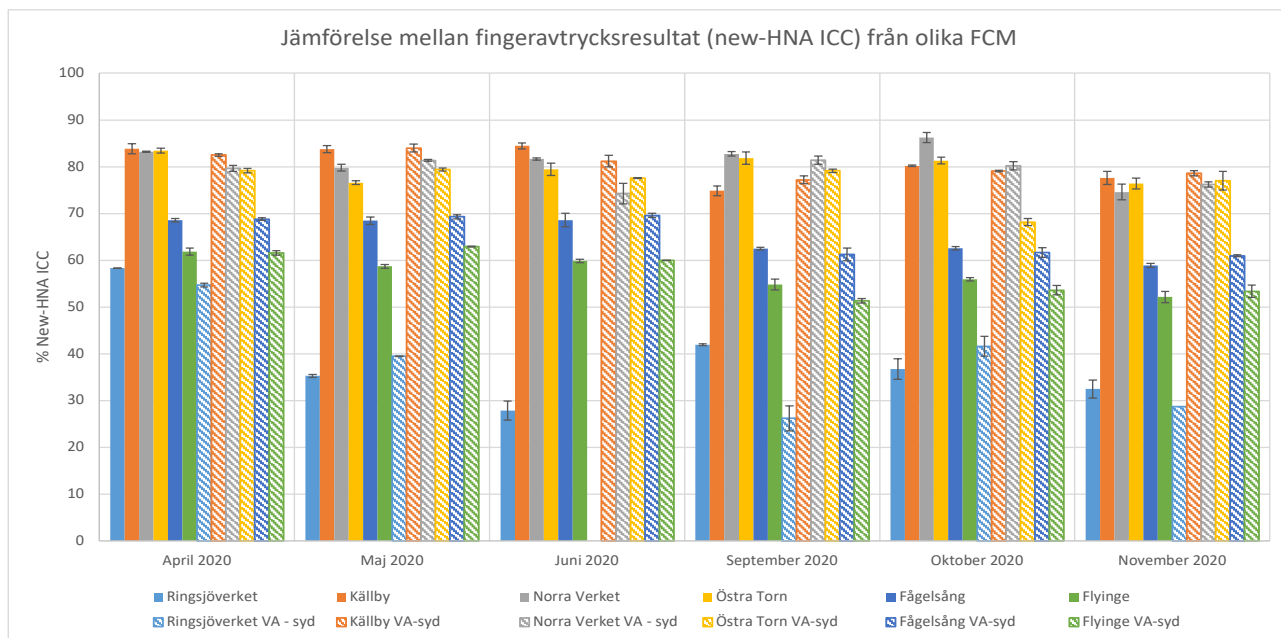
Bilagor

Bilaga A Lundastudien



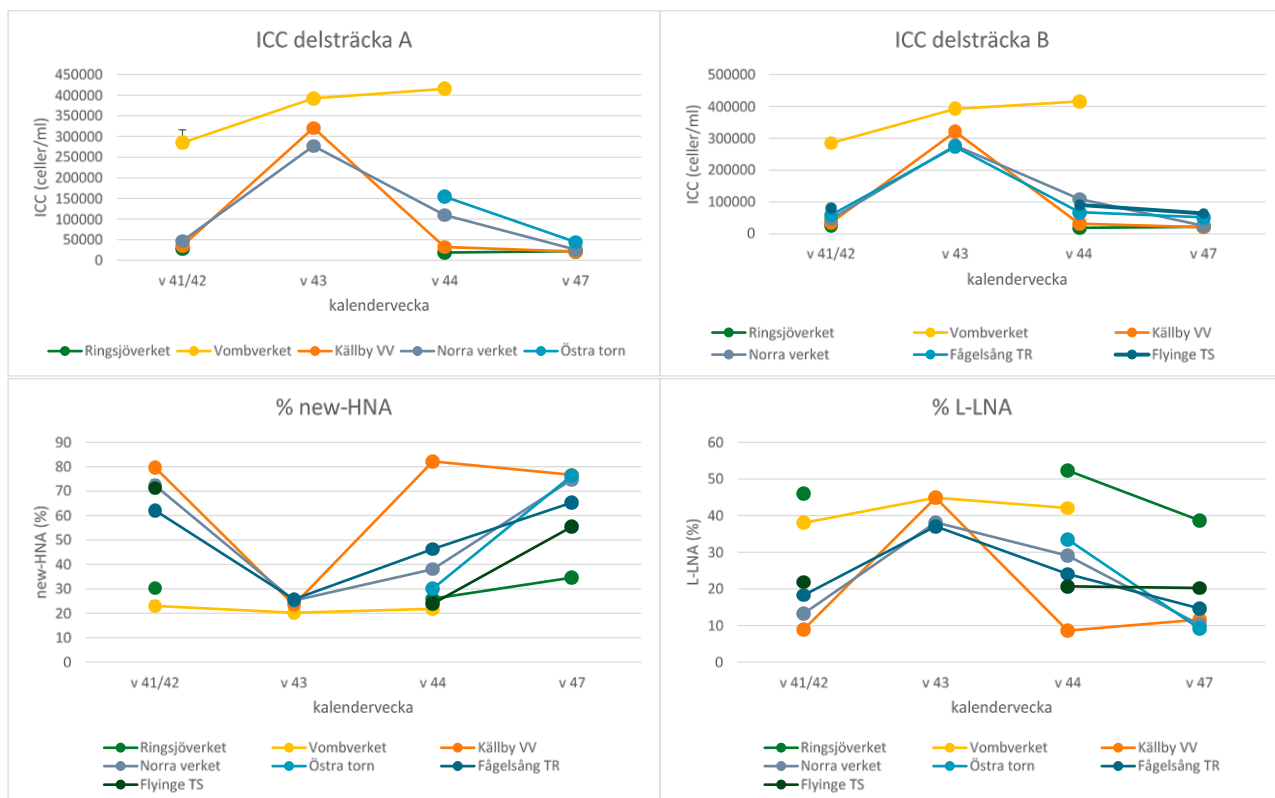
Figur A.1

Jämförelse mellan ICC resultaten från olika BD Accuri C6 + som är lokaliserat på Ringsjöverket respektive VA SYDs Bulltoftalaboratoriet. Two-sampled Student's t-test visade ingen signifikant skillnad emellan medelvärden av Sydvatten och VA SYD resultat vid sex olika provtagningstillfällen ($p > 0,1$).



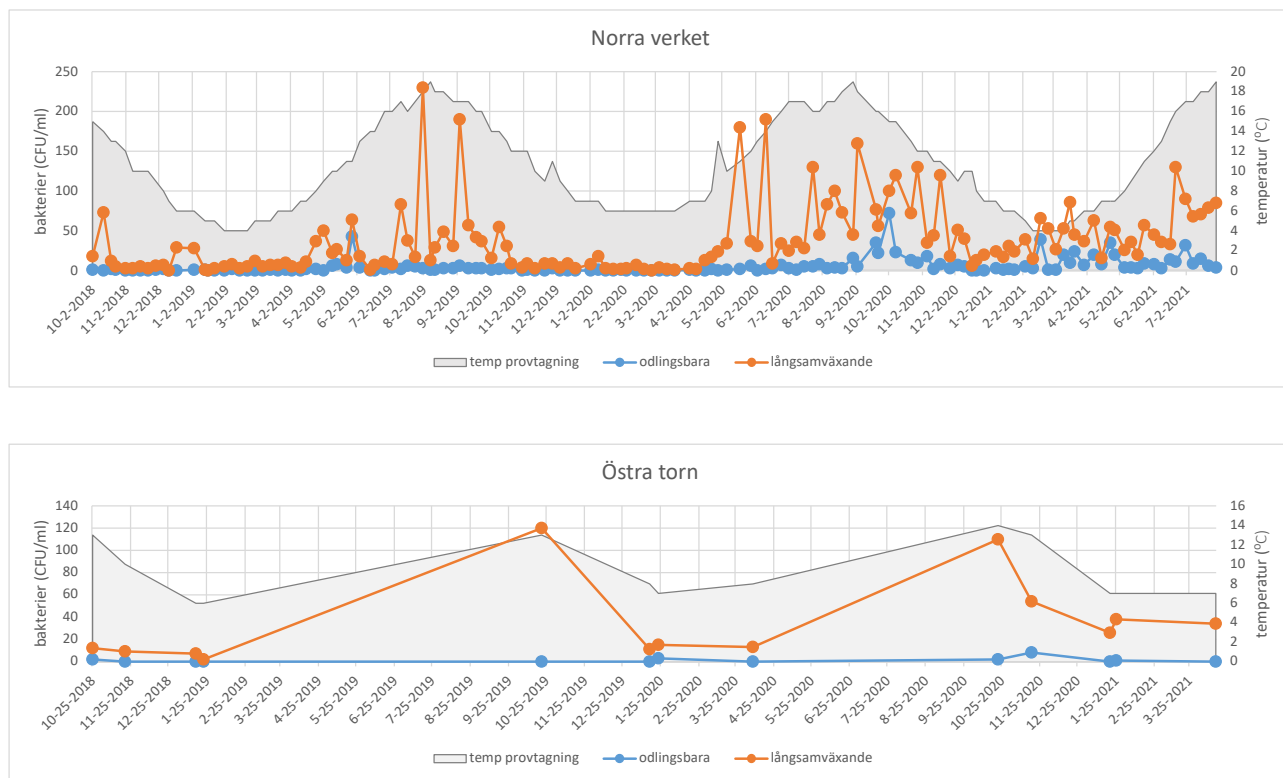
Figur A.2

Jämförelse mellan fingeravtryck (new-HNA ICC) från olika BD Accuri C6 + som är lokaliserat på Ringsjöverket respektive VA SYDs Bulltoftalaboratoriet. Two-sampled Student's t-test visade ingen signifikant skillnad emellan medelvärden av Sydvatten och VA SYD resultat vid sex olika provtagningstillfällen ($p > 0,1$).



Figur A.3

ICC population under byte av vattenverk och råvattentäkt i Lund, ht 2021. (A) Delsträcka A, (B) delsträcka B, (C) översikt av andel new-HNA och (D) översikt av andel L-LNA på alla provtagningspunkter.



Figur A.4

Historiska data för odlingsbara mikroorganismer och långsamväxande bakterier på Norra verket och Östra torn.

Tabell A.1 Resultat av konventionella kemiska och mikrobiologiska analyser februari 2020 till februari 2021. Analyser utfördes på VA SYDs Bulltoftalaboratoriet.

Datum		Feb 2020						Mar 2020					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	<1	1	12	1	<1	<1	<1	<1	7	3
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	<1	2	40	14	28	2	<1	3	23	29	14	4
<i>E. coli</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Koliforma	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	1	2	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	4	<1	<1	8	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Färg	mg/l Pt	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	0,12	0,14	0,17	0,14	0,15	0,14	0,11	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	0,13
pH vid 25 °C		8,3	8,3	8,3	8,2	8,4	8,3	8,2	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3
Konduktivitet	mS/m	18	18	18	18	18	18	18	18	19	19	19	19
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	<0,03	<0,03	<0,03	0,04	<0,03	0,05	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03
Ammonium	mg/l	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013
Nitrit	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Kalcium	mg/l	22	22	22	22	23	22	21	21	22	22	22	22
Koppar	mg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Järn	mg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Magnesium	mg/l	1,7	1,6	1,7	1,7	1,7	1,7	1,7	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7
Mangan	mg/l	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l	11	11	11	11	12	12	13	13	13	13	14	14
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,5	3,4	3,5	3,5	3,6	3,5	3,3	3,3	3,4	3,4	3,5	3,5
Lukt, Styrka vid 20 °C		Mkt svag	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Mkt svag	Ingen	Ingen
Lukt, Art vid 20 °C		Obestämd	-	-	-	-	-	-	-	-	unken	-	-
Smak, Styrka vid 20 °C		Svag	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen
Smak, Art vid 20 °C		Obestämd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vattentemperatur provtagning	°C	4	6	6	9	6	9	4	6	7	6	7	6
Vattentemperatur mottagning	°C	11	17	8	8	9	9	8	12	7	8	12	12

Datum		Apr 2020						Maj 2020					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	<1	1	4	4	<1	<1	2	1	5	<1
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	1	9	6	28	31	7	<1	1	15	17	52	21
<i>E. coli</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Koliforma	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	1	<1	2	<1	1	<1	1	1	1
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	<1	<1	<1	4
Färg	mg/l Pt	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	0,12	0,11	0,11	0,13	0,1	0,12	0,13	0,1	0,1	0,11	0,11	0,12
pH vid 25 °C		8,3	8,3	8,3	8,2	8,2	8,2	8,3	8,3	8,4	8,3	8,3	8,3
Konduktivitet	mS/m	19	19	19	19	20	20	19	19	19	19	20	20
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,05	<0,03	0,03	<0,03	0,03	<0,03	0,05	0,03	0,03	<0,03	0,03	0,03
Ammonium	mg/l	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013
Nitrit	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Kalcium	mg/l	23	23	23	23	23	23	23	23	23	23	24	23
Koppar	mg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Järn	mg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Magnesium	mg/l	1,6	1,6	1,6	1,6	1,7	1,7	1,6	1,5	1,6	1,5	1,6	1,7
Mangan	mg/l	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13	13
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,6	3,7	3,6
Lukt, Styrka vid 20 °C		Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen
Lukt, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Smak, Styrka vid 20 °C		Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen	Ingen
Smak, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vattentemperatur provtagning	°C	8	9	11	9	9	10	10	11	13	12	11	12
Vattentemperatur mottagning	°C	8	8	8	9	11	12	10	8	8	9	12	12

Datum		Jun 2020						Jul 2020					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	7	6	2	12	<1	2	10	3	9	20
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	<1	6	15	35	64	27	<1	26	79	90	31	43
<i>E. coli</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Koliforma	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	3	2	<1	3	4	12	1	1	1	4	1	40
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	9	<1	<1	7	<1	<1	<1	<1	<1	8
Färg	mg/l Pt	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	0,12	0,15	0,14	0,13	0,2	0,39	0,12	0,13	0,11	0,13	0,11	0,35
pH vid 25 °C		8,4	8,4	8,2	8,3	8,3	8,3	8,4	8,4	8,3	8,3	8,4	8,3
Konduktivitet	mS/m	20	19	19	19	20	20	19	19	20	20	20	20
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	<0,03	<0,03	<0,03	0,03	<0,03	0,05	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Ammonium	mg/l	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,004	<0,004
Nitrit	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,013	<0,013
Kalcium	mg/l	24	23	22	23	23	23	23	23	23	23	24	24
Koppar	mg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	N/A	N/A	N/A	N/A
Järn	mg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	0,021	0,052	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	0,048
Magnesium	mg/l	1,6	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,5	1,4	1,4	1,5	1,5	1,5
Mangan	mg/l	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l	14	14	13	13	14	14	12	12	12	12	13	13
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,7	3,6	3,4	3,6	3,6	3,6	3,6	3,5	3,5	3,6	3,7	3,7
Lukt, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Lukt, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Smak, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Smak, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vattentemperatur provtagning	°C	14	15	17	15	15	15	16	17	18	17	17	16
Vattentemperatur mottagning	°C	14	13	9	9	14	14	17	13	8	9	15	16

Datum		Aug 2020						Sep 2020					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	2	2	22	4	3	1	<1	<1	3	2
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	18	37	250	150	180	150	4	27	10	3	45	95
<i>E. coli</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Koliiforma	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	1	5	1	<1	2	2	<1	<1	1	<1	1	<1
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	1	15	<1	<1	<1	1	<1	1
Färg	mg/l Pt	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	0,11	0,14	0,11	0,11	0,11	0,12	0,13	0,14	0,11	0,12	0,14	0,15
pH vid 25 °C		8,5	8,4	8,5	8,4	8,4	8,4	8,5	8,5	8,4	8,4	8,4	8,3
Konduktivitet	mS/m	20	20	20	20	20	20	18	18	18	18	18	18
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,07	0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,06	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Ammonium	mg/l	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013
Nitrit	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Kalcium	mg/l	23	23	23	23	23	23	22	22	23	22	23	23
Koppar	mg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Järn	mg/l	<0,02	<0,02	0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Magnesium	mg/l	1,5	1,5	1,4	1,4	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6
Mangan	mg/l	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l	13	13	12	12	13	13	11	11	11	11	11	11
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,6	3,6	3,5	3,5	3,6	3,6	3,4	3,4	3,6	3,4	3,6	3,6
Lukt, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Lukt, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Smak, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Smak, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vattentemperatur provtagning	°C	18	18	18	20	18	17	14	15	15	17	15	15
Vattentemperatur mottagning	°C	9	10	12	10	16	17	8	19	17	17	16	16

		Okt 2020						Nov 2020					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	2	1	27	6	4	1	<1	4	3	1	1	<1
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	1	27	510	310	58	82	<1	30	30	51	25	30
<i>E. coli</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Koliiforma	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	1	1	<1	<1	2	<1	<1	2
Färg	mg/l Pt	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	0,11	0,1	0,13	0,14	0,12	0,12	<0,1
pH vid 25 °C		8,4	8,4	8,4	8,3	8,4	8,4	8,4	8,3	8,3	8,3	8,3	8,3
Konduktivitet	mS/m	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	19	19
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	0,03	<0,03	<0,03	0,03	<0,03	0,05	0,03	0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Ammonium	mg/l	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013
Nitrit	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Kalcium	mg/l	22	22	22	22	21	22	21	22	21	22	22	22
Koppar	mg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Järn	mg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Magnesium	mg/l	1,5	1,5	1,4	1,4	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6
Mangan	mg/l	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l	10	10	10	9,9	10	10	10	11	11	11	11	11
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,4	3,4	3,4	3,4	3,3	3,4	3,3	3,4	3,3	3,4	3,4	3,4
Lukt, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Lukt, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Smak, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Smak, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vattentemperatur provtagning	°C	10	12	12	14	13	13	8	10	10	12	11	11
Vattentemperatur mottagning	°C	9	19	18	19	14	15	9	9	13	12	13	13

Analys		Dec 2020						Feb 2021					
		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	3	4	<1	5	1	<1	4	8	<1	61	2
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	2	16	21	16	23	9	<1	32	47	38	87	36
<i>E. coli</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Koliiforma	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
<i>C. perfringens</i>	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	1	<1	<1	<1	<1	1	<1
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	6	<1	<1	<1	<1	<1	2
Färg	mg/l Pt	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	0,1	0,12	0,11	0,11	0,11	0,11	0,21	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
pH vid 25 °C		8,5	8,3	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,5	8,5	8,5	8,4	8,4
Konduktivitet	mS/m	17	18	18	18	18	18	19	19	19	19	19	19
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,05	0,03	0,03	<0,03	<0,03	<0,03	0,07	0,03	0,04	0,03	0,04	0,03
Ammonium	mg/l	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013
Nitrit	mg/l	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Kalcium	mg/l	21	22	22	22	22	22	22	23	22	22	23	22
Koppar	mg/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	NA	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Järn	mg/l	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Magnesium	mg/l	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,6	1,4	1,5	1,5	1,5	1,6	1,6
Mangan	mg/l	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l	9,6	9,6	9,7	9,7	10	10	9,7	10	9,7	10	10	11
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,3	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,4	3,6	3,4	3,4	3,6	3,4
Lukt, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Lukt, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Smak, Styrka vid 20 °C		ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen	ingen
Smak, Art vid 20 °C		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Vattentemperatur provtagning	°C	6	8	8	9	8	9	2	4	4	7	4	6
Vattentemperatur mottagning	°C	4	12	9	8	12	12	5	16	6	5	10	9

Tabell A.2 Resultat till konventionella kemiska och mikrobiologiska analyser mars 2021 – juli 2021 som utfördes på VA SYDs Bulltoftalaboratoriet.

Datum		Mar 2021						Apr 2021					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	0	0	27	1	7	0	0	0	0	0	38	1
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	1	60	190	337	120	81	3	48	12	14	74	47
Jästsvamp	cfu/100ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mögelsvamp	cfu/100ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aktinomyceter	cfu/100ml	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Turbiditet	FNU	0,1	0,11	0,11	0,11	0,1	0,11	0,12	0,15	<0,1	<0,1	0,11	0,11
pH vid 25 °C		8,3	8,5	8,5	8,4	8,5	8,5	8,4	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	0,04	0,03	<0,03	0,04	0,03	0,06	0,07	0,04	0,03	0,04	<0,03
Vattentemperatur provtagning	°C	3				5	6	4			6	6	7
Vattentemperatur mottagning	°C	7	8	11	10	8	10	6	6	12	12	7	8

Datum		Maj 2021						Jun 2021					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	0	0	0	0	7	0	4	4	0	0	0	0
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	0	2	29	17	41	25	43	15	0	0	27	35
Jästsvamp	cfu/100ml	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mögelsvamp	cfu/100ml	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
Aktinomyceter	cfu/100ml	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Turbiditet	FNU	0,12	0,14	0,16	0,11	0,11	0,12	0,11	0,3	0,14	0,11	0,23	0,12
pH vid 25 °C		8,3	8,5	8,5	8,6	8,5	8,4	8,5	8,4	8,4	8,5	8,5	8,5
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	0,05	0,04	0,03	0,03	<0,03	0,03	0,03	0,06	0,06	0,04	<0,03
Vattentemperatur provtagning	°C	9	8	8	9	9	10	9	9	14	13	13	14
Vattentemperatur mottagning	°C	13	12	11	11	10	8	10	10	12	13	10	13

Datum		Jul 2021					
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	0	2	15	1	3	6
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	150	34	45	63	34	23
Jästsvamp	cfu/100ml	0	0	0	0	1	0
Mögelsvamp	cfu/100ml	1	0	0	0	1	0
Aktinomyceter	cfu/100ml	0	0	0	0	0	2
Turbiditet	FNU	0,14	0,13	0,12	0,13	0,12	0,12
pH vid 25 °C		8,5	8,6	8,6	8,5	8,5	8,5
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,08	0,03	0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Vattentemperatur provtagning	°C	17	17	17	18	16	16
Vattentemperatur mottagning	°C	9	10	8	17	13	15

Tabell A.3 Fördjupande studie av sträcka 1 med provtagningspunkter Bramehem och Fjelie.

Datum		April 2021				Maj 2021			
Analys		Ringsjöverket	Bramehem	Fjelie	Källby VV	Ringsjöverket	Bramehem	Fjelie	Källby VV
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	3	48	12	14	<1	2	29	17
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mögelsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Turbiditet	FNU	0,12	0,15	<0,1	<0,1	0,12	0,14	0,16	0,11
pH vid 25 °C		8,4	8,5	8,5	8,5	8,3	8,5	8,5	8,6
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	0,07	0,04	0,03	0,04	<0,03	0,04	0,03
Vattentemperatur provtagning	°C	4	6	6	6	9	8	8	9
Vattentemperatur mottagning	°C	6	6	12	12	13	12	11	11

Datum		Jun 2021			
Analys		Ringsjöverket	Bramehem	Fjelie	Källby VV
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	<1	<1
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	<1	<1	27	35
Jästsvamp	cfu/100ml				
Mögelsvamp	cfu/100ml				
Aktinomyceter	cfu/100ml				
Turbiditet	FNU	0,14	0,11	0,23	0,12
pH vid 25 °C		8,4	8,5	8,5	8,5
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor, total	mg/l	0,06	0,06	0,04	<0,03
Vattentemperatur provtagning	°C	14	13	13	14
Vattentemperatur mottagning	°C	12	13	10	13

Tabell A.4 Byte av vattenverk och råvattentäkt.

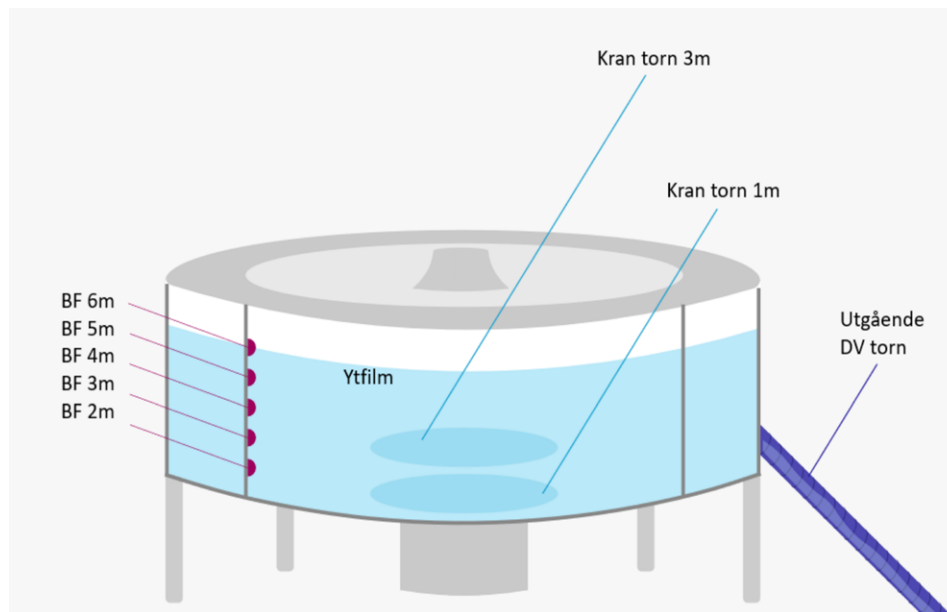
Analys		Vecka 41						Vecka 42	
		Vombverket 1	Vombverket 2	Källby vv	Norra verket	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Norra verket
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	1	<1	6	3	5	16	<1	1
Långsamväxande bakterier	cfu/ml	3	1	74	110	73	140	<1	52
E. coli	cfu/100ml			<1	<1				<1
Koliforma bakterier	cfu/100ml			<1	<1				<1
Clostridium perfringens	cfu/100ml			<1	<1				
Jästsvamp	cfu/100ml			<1	<1				
Mögelsvamp	cfu/100ml			<1	<1				
Aktinomyceter	cfu/100ml			<1	<1				
Färg	mg/l Pt			<5	<5				
Turbiditet	FNU			0,17	0,22				
pH vid 25 °C				8,5	8,5			8,4	
Alkalinitet	mg/l	150	150	-	-			45	
Konduktivitet	mS/m			19	19			18	
Klor, fritt	mg/l			<0,03	<0,03			0,04	
Klor total	mg/l			0,05	0,04			0,12	
Ammonium	mg/l			<0,013	<0,013				
Nitrit	mg/l			<0,004	<0,004				
Kalcium	mg/l			22	22				
Koppar	mg/l			<0,05	<0,05				
Järn	mg/l			<0,02	<0,02			3,3	
Magnesium	mg/l			1,5	1,5				
Mangan	mg/l			<0,01	<0,01				
Natrium	mg/l								
Totalhårdhet, beräknad	°dH								
Vattentemperatur provtagning	°C	13	13	13	14	14	14	11	13
Vattentemperatur mottagning	°C	15	15	10	13	15	15	10	12

Prover inom VA SYDs egenkontrollprogram, används med godkännande av uppdragsgivaren.

		Vecka 43						Vecka 44						
Analys		Vombverket 1	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS	Ringsjöverket	Vombverket 1	Källby vv	Norra verket	Östra torn	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	2	<1	3	1	<1	2	<1	2	1	2	0	6	7
Långsamväxande mikroorganismer	cfu/ml	7	4	260	290	48	27	1	6	13	28	110	72	31
E. coli	cfu/100ml		<1	<1	<1	<1	<1			<1	<1	<1	<1	<1
Koliforma bakterier	cfu/100ml		<1	<1	<1	<1	<1			<1	<1	<1	<1	<1
Clostridium perfringens	cfu/100ml		<1	<1	<1	<1	<1			<1	<1	<1	<1	<1
Jästsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	<1							
Mögelsvamp	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	1							
Aktinomyceter	cfu/100ml	<1	<1	<1	<1	<1	45							
Färg	mg/l Pt		5,2	<5	<5	<5	<5			<5	<5	<5	<5	<5
Turbiditet	FNU	0,15	0,41	0,15	0,19	0,13	0,28	0,17	0,15	0,2	0,14	0,14	0,14	0,16
pH vid 25 °C		8,3	8,3	8,3	8,4	8,3	8,4	8,3	8,4	8,5	8,4	8,3	8,4	8,3
Alkalinitet	mg/l	150	150	130	100	140	120	44	150	45	81	110	63	88
Konduktivitet	mS/m	36	36	33	29	35	32	19	36	18	25	30	22	26
Klor, fritt	mg/l	0,27	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor total	mg/l	<0,03	0,06	0,03	<0,03	0,03	<0,03	0,05	0,27	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Ammonium	mg/l		0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013			<0,013	<0,013	<0,013	<0,013	<0,013
Nitrit	mg/l		0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004			<0,004	<0,004	<0,004	<0,004	<0,004
Kalcium	mg/l	33	33	31	28	33	30	22	33	22	24	28	23	26
Koppar	mg/l		<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05			<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Järn	mg/l		0,038	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02			<0,02	<0,02	<0,02	<0,02	<0,02
Magnesium	mg/l	6,1	6	5,1	4	5,6	4,7	1,5	5,7	1,5	3	4,3	2,3	3,4
Mangan	mg/l		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01			<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Natrium	mg/l		35	31	25	35	29			11	19	27	16	21
Totalhårdhet, beräknad	°dH		6	5,5	4,8	5,9	5,3	3,4	5,9	3,4	4,1	4,9	3,8	4,4
Vattentemperatur provtagning	°C		6	5,5	4,8	5,9	5,3	3,4	5,9	3,4	4,1	4,9	3,8	4,4
Vattentemperatur mottagning	°C	14	14	14	13	13	13		14	12	13	14	13	12

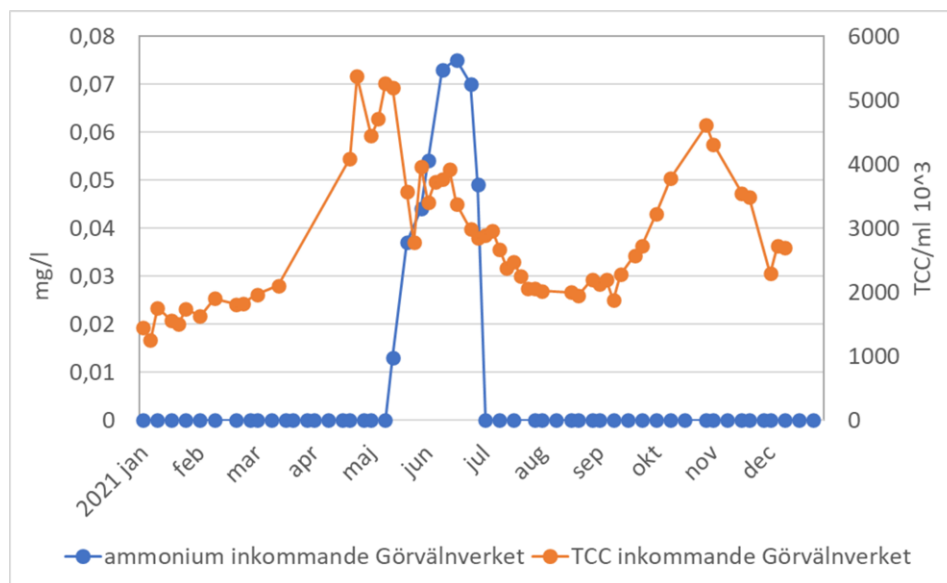
Vecka 47						
Analys		Ringsjöverket	Källby vv	Norra verket	Fågelsång TR	Flyinge TS
Odlingsbara mikroorganismer	cfu/ml	<1	<1	8	<1	4
Långsamväxande mikroorganismer	cfu/ml	<1	25	64	210	100
E. coli	cfu/100ml	-	-	-	-	-
Koliiforma bakterier	cfu/100ml	-	-	-	-	-
Clostridium perfringens	cfu/100ml	-	-	-	-	-
Jästsvamp	cfu/100ml	-	-	-	-	-
Mögelsvamp	cfu/100ml	-	-	-	-	-
Aktinomyceter	cfu/100ml	-	-	-	-	-
Färg	mg/l Pt	-	-	-	-	-
Turbiditet	FNU	0,11	0,16	0,11	0,11	0,15
pH vid 25 °C		8,3	8,5	8,4	8,3	8,4
Alkalinitet	mg/l	41	41	42	41	44
Konduktivitet	mS/m	18				
Klor, fritt	mg/l	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03	<0,03
Klor total	mg/l	0,06	0,05	0,03	<0,03	0,03
Ammonium	mg/l	-	-	-	-	-
Nitrit	mg/l	-	-	-	-	-
Kalcium	mg/l	20	21	20	20	20
Koppar	mg/l	-	-	-	-	-
Järn	mg/l	-	-	-	-	-
Magnesium	mg/l	1,5	1,5	2,5	1,5	1,5
Mangan	mg/l	-	-	-	-	-
Natrium	mg/l	-	-	-	-	-
Totalhårdhet, beräknad	°dH	3,1	3,3	3,1	3,1	3,1
Vattentemperatur provtagning	°C	13	13	14	14	14
Vattentemperatur mottagning	°C	15	10	13	15	15

Bilaga B Storstockholmsstudien



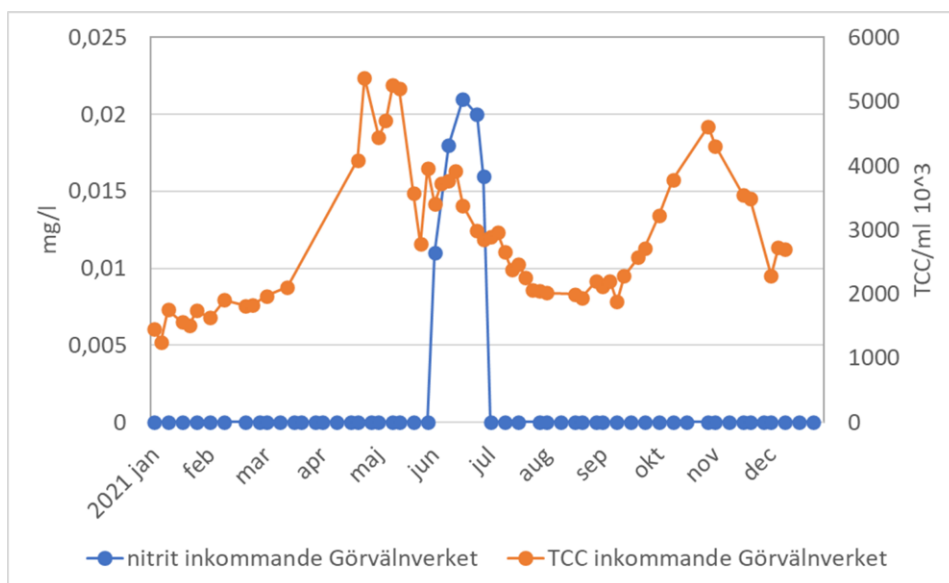
Figur B.1

Reservoar 433 med utmärkta provtagningsplatser för dna-analys. BF2m, BF3m, etc. är biofilmsprover tagna från bassängväggen på 2, 3, 4, 5 och 6 meters höjd från bassängbotten. Kran torn 1m och kran torn 3m är bulkvattenprover tagna via permanenta tappkranar på 1 m respektive 3 m höjd från bassängbotten. Utgående DV torn är utgående vattentornsvatten. Ytfilm är flytslam taget från ytvattnet i bassängen.



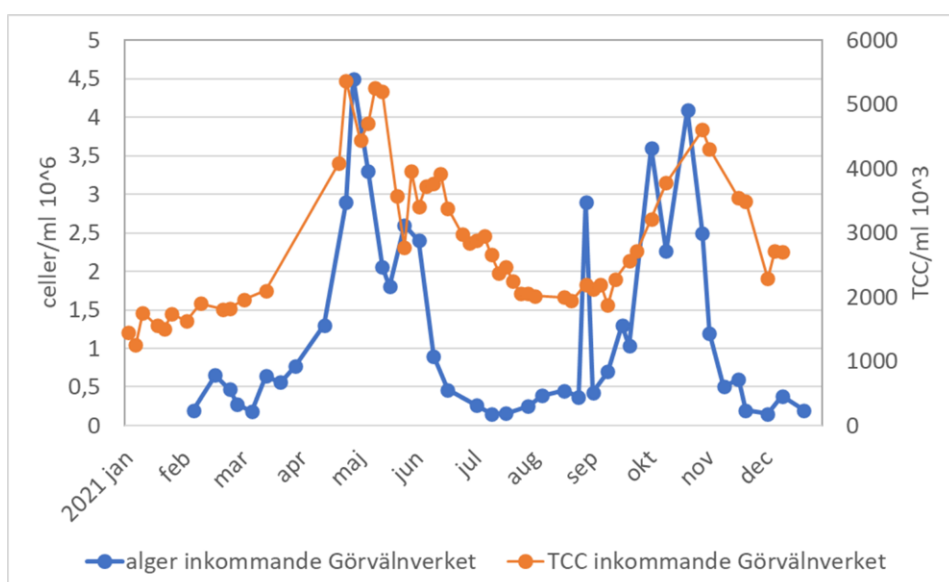
Figur B.2

Halten bakterier (TCC per ml) och ammonium (mg per l) i Görvälnverkets råvatten 2021.



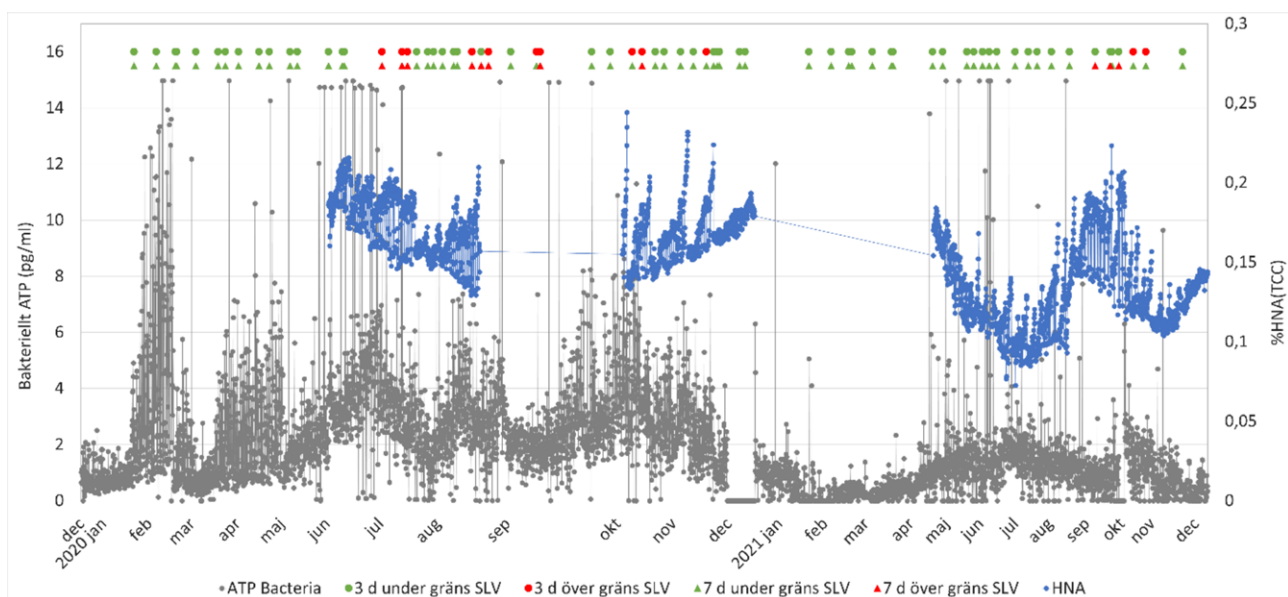
Figur B.3

Halten bakterier (TCC per ml) och nitrit (mg per l) i Görvålverkets råvatten 2021.



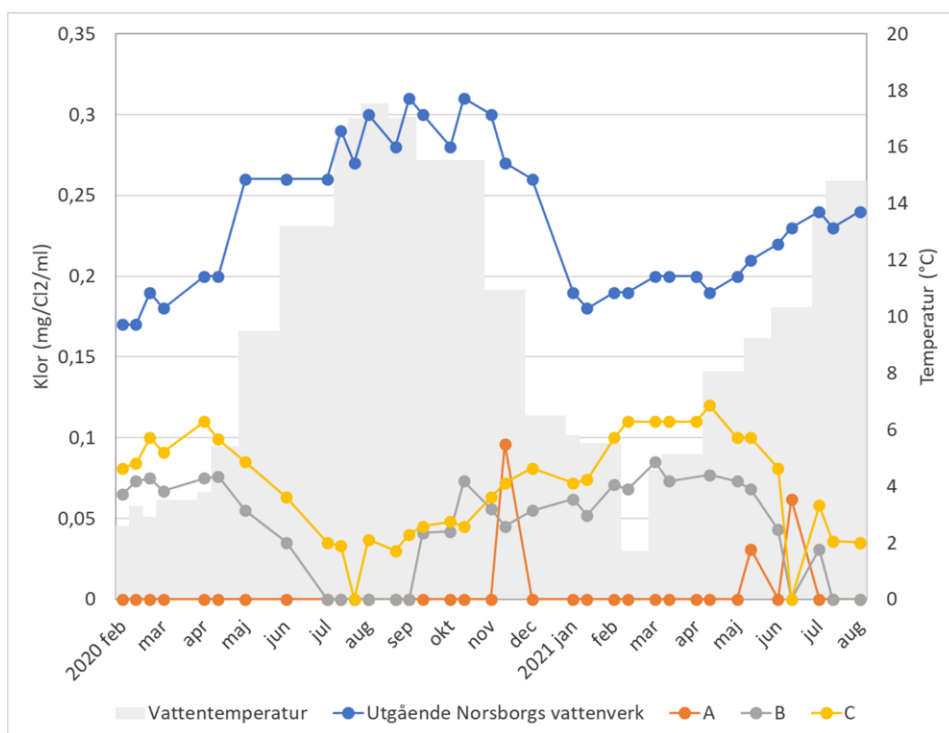
Figur B.4

Halten bakterier (TCC per ml) och alger (celler per ml) i Görvålverkets råvatten 2021.



↑ **Figur B.5**

Förändringen av bakteriellt ATP (pg per ml) från november 2019 t.o.m. december 2021 i reservoar 433. Blå linje visar tre %HNA(TCC)-perioder. Cirkelar visar odlingsbara mikroorganismer och trianglar långsamväxande bakterier. Gröna cirkelar/trianglar är godkända odlingsresultat medan rött redovisar prover som översteg gränsvärdet för mikrobiologiska analyser enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30). Tabell B.1 redovisar odlingsresultaten i cfu per ml.



← **Figur B.6**

Kloröverskott (mg/Cl₂/ml) från februari 2020 t.o.m. augusti 2021 i utgående dricksvatten från Norsborgs vattenverk och tre provtagningspunkter (A, B och C) på södra Storstockholms yttre distributionsområde. Vattentemperaturen är medelvärden på provtagnings-temperaturerna.

Tabell B.1

Prover tagna i reservoar 433:s inre bassäng år 2020 till år 2021. Rödmarkerad data översteg gränsvärdet för mikrobiologiska analyser enligt Livsmedelsverkets föreskrifter (SLVFS 2001:30).

Prov taget	Temperatur, provtagning (°C)	Temperatur, ankomst laboratorium (°C)	Odlingsbara mikro-organismer, (cfu/ml)	Långsamväxande bakterier, (cfu/ml)	Kloröverskott, totalt (mg Cl ₂ /l)
2020-02-06	3,5	5,4	6	140	0,069
2020-02-20	3	3,8	<1	2	0,049
2020-03-04	2,9	2,6	<1	34	0,047
2020-03-19	3,3	3,4	<1	2	0,081
2020-04-02	3,6	5,6	3	11	0,076
2020-04-23	4,6	6,2	<1	8	0,066
2020-05-07	6,6	6,4	1	31	0,075
2020-06-02	-	8,1	<1	53	<0,03
2020-06-11	9,3	8,4	<1	6	0,081
2020-07-02	10,4	8,2	1900	5200	0,041
2020-07-16	10,4	10,4	890	13 000	0,049
2020-07-30	10,7	9,6	<1	35	0,1
2020-08-12	11,1	10	13	3300	0,071
2020-08-27	11,5	10,2	350	11 000	0,052
2020-09-24	11,3	10,2	20	66	0,092
2020-10-08	11,7	9,6	140	2600	0,046
2020-10-22	11,1	7,4	8	200	0,087
2020-11-12	10	7,6	82	890	0,056
2020-11-26	8,7	7	3	30	0,11
2020-12-10	7,5	5	<1	400	0,063
2021-01-21	4	3,2	2	11	0,09
2021-02-04	3	2	<1	73	0,051
2021-02-18	1,8	2	<1	7	0,055
2021-03-04	2,6	2	<1	4	0,073
2021-03-18	2,4	1	1	1	0,057
2021-04-14	4,2	4	1	7	0,051
2021-04-28	5,1	3	1	11	0,095
2021-05-20	6,9	7	2	33	0,091
2021-06-03	8	7	1	9	0,044
2021-06-16	9	9	1	10	0,036
2021-07-13	9,8	11	<1	16	0,084
2021-08-03	10,2	10	<1	4100	0,032
2021-09-08	9,8	9	5	6000	0,039
2021-09-20	-	9	2	8700	0,032
2021-09-22	14,4	9	50	3100	
2021-09-28	-	-	5	19 000	<0,03
2021-10-13	10,9	8	180	560	0,085
2021-10-27	9,9	7	110	3200	0,055
2021-11-04	9,6	5	4	99	0,098
2021-11-24	7,5	6	<1	140	0,066

Bilaga C Varbergsstudien

Tabell C.1

Signifikant ($p < 0.01$) förändrade bakteriesläkten efter kloraminutfasningen i provpunkt Jonst baserat på "absolut abundance" enligt Props et al (2017). Från vänster till höger redovisas släktnamnet, släktens uppskattade koncentration före och efter monokloraminutfasningen, kvoten av de två koncentrationerna samt p-värdet (beräknat genom Mann-Whitney U-test).

* = artidentifiering enligt fullängssekvensering av 16S rRNA genen.

Bakteriesläkte	Celler/ml enligt "absolut abundance" med monokloramin	Celler/ml enligt "absolut abundance" utan monokloramin	Kvot mellan koncentration med och utan monokloramin	P-värde
Simplicispira	17.1	0.2	85.5	0.000262
Fimbrioglobus	0.894	0.0169	53	0.0024
Ottowia	5.79	0.138	41.9	0.00122
Geothrix	4.2	0.13	32.3	0.000802
Rhodoplanes	1.52	0.0521	29.2	0.00179
Leifsonia	2.57	0.1	25.5	0.00339
Gemmata	11.2	0.528	21.3	0.000503
Dyella	1.96	0.128	15.3	0.00399
Candidatus Obscuribacter	2.03	0.17	12	0.000833
Pseudorhodoplanes	27.8	2.6	10.7	0.000382
DSSD61	19.7	2.03	9.67	0.000503
Roseomonas	3.81	0.398	9.57	0.0028
Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia	7.07	0.756	9.35	0.00115
Luteitalea	6.54	0.702	9.31	0.000382
Rhodopseudomonas	52.2	5.76	9.06	0.000614
Nitrosomonas	638	70.5	9.05	0.000863
<i>*N. ls79, *N. AL212, *N. eutropha, *N. ureae</i>				
Silvanigrella	23.8	2.67	8.9	0.000863
Neochlamydia	13.5	1.73	7.79	0.000503
P3OB-42	3.67	0.487	7.54	0.0055
Methylibium	11	1.48	7.42	0.00162
Chryseolinea	60.6	8.54	7.1	0.000863
Methyloversatilis	37.9	5.48	6.92	0.00123
Nitrospira	259	42.4	6.1	0.000879
<i>*N. lenta, *N. moscoviensis, *N. japonica, *N. inopinata, *N. defluvii</i>				
Ferribacterium	278	58.1	4.78	0.000863
Nordella	21.1	4.88	4.32	0.000831
Dechlorosoma	214	50	4.28	0.000754
Planctopirus	8.47	1.99	4.26	0.00362
Sphingomonas	539	142	3.79	0.000879
Tabrizicola	52.8	15	3.52	0.00548
Sideroxydans	30.7	10.7	2.87	0.00109
Mycobacterium	96.2	34.7	2.77	0.000879
<i>*M. paragordoniae, *M. YC-RL4, *M. ELW1, *M. aquiterrae, *M. angelicum, *M. barrassiae, *M. PYR15</i>				
Leptospira	5.34	1.97	2.72	0.00316
Sulfuricella	8.18	3.45	2.37	0.00563
MND1	14.8	7.85	1.89	0.00489
SM1A02	32.3	18.6	1.74	0.00757
Bryobacter	82.2	77.2	1.06	0.0057
Bdellovibrio	9.46	699	0.0135	0.00323
<i>*B. bacteriovorus, B. ZAP7</i>				

Tabell C.2

Signifikant ($p < 0.01$) förändrade bakteriesläkten efter kloraminutfasningen i provpunkt Godst baserat på "absolut abundance" enligt Props et al (2017). Från vänster till höger redovisas släktnamnet, släktens uppskattade koncentration före och efter monokloraminutfasningen, kvoten av de två koncentrationerna samt p-värdet (beräknat genom Mann-Whitney U-test).

Bakteriesläkte	Celler/ml enligt "absolut abundance" med monokloramin	Celler/ml enligt "absolut abundance" utan monokloramin	Kvot mellan koncentration med och utan monokloramin	P-värde
Clostridium sensu stricto 1	75.7	0	75.7	7.49e-05
Conexibacter	61.1	0	61.1	7.49e-05
Tundrisphaera	93.7	1.81	51.8	0.000359
Ga0074140	27.2	1.21	22.4	0.00179
Nocardia	18.5	0	18.5	0.00251
Clostridium sensu stricto 3	243	15.1	16.2	0.000792
Rickettsiella	67.5	4.78	14.1	0.00259
Gaiella	915	72.1	12.7	0.000998
Duganella	12.1	0	12.1	0.00251
Shewanella	11.2	0	11.2	0.000471
Methyloglobulus	31.4	2.87	10.9	0.000792
Nitrosomonas	331	32.7	10.1	0.00596
Candidatus Omnitrophus	126	13.2	9.53	0.00227
Fimbriglobus	71.2	8.26	8.63	0.00171
Mycobacterium	256	32.9	7.78	0.00316
Galbitalea	671	94.6	7.1	0.00871
Plot4-2H12	77.9	11.1	6.99	0.00167
Clostridium sensu stricto 13	129	18.5	6.98	0.00116
Silvanigrella	37	5.57	6.64	0.00906
Rhodoplanes	6.4	0	6.4	0.000471
Stella	6.08	0	6.08	0.00251
Ellin517	17.4	3.16	5.51	0.00529
CL500-29 marine group	700	141	4.96	0.00548
Nitrospira	15100	3050	4.93	0.000431
Dongia	82.4	18.1	4.55	0.00704
Rhizorhapis	1720	386	4.46	0.00563
Phreatobacter	46.8	10.9	4.29	0.00339
UTCFX1	61.4	14.4	4.25	0.00469
Roseococcus	35.3	8.54	4.13	0.00529
Rhodopirellula	3.91	0	3.91	0.000471
Pedomicrobium	3950	1020	3.88	0.000431
Bryobacter	1680	511	3.3	0.00167
Blastopirellula	152	46.9	3.23	0.00655
CL500-3	9.74	3.29	2.96	0.00742
Bauldia	33.7	14	2.4	0.00742
Neochlamydia	36.9	16.8	2.2	0.00339
Hyphomicrobium	4830	2220	2.17	0.0069
mle1-7	10.8	6.86	1.58	0.00742
C1-B045	26.8	18.8	1.43	0.00742
Tabrizicola	40.4	40.1	1.01	0.00742
Lacibacter	16.5	48.3	0.342	0.00742

Tabell C.3

Signifikant ($p < 0.01$) förändrade bakteriesläkten efter kloraminutfasningen i provpunkt Hoega baserat på "absolut abundance" enligt Props et al (2017). Från vänster till höger redovisas släktnamnet, släktens uppskattade koncentration före och efter monokloraminutfasningen, kvoten av de två koncentrationerna samt p-värdet (beräknat genom Mann-Whitney U-test).

Bakteriesläkte	Celler/ml enligt "absolut abundance" med monokloramin	Celler/ml enligt "absolut abundance" utan monokloramin	Kvot mellan koncentration med och utan monokloramin	P-värde
Mycobacterium	7.85	0.077	102	0.000156
Nocardia	2.21	0.0506	43.8	0.000238
Neochlamydia	12.8	1.13	11.3	0.000614
Nitrosomonas	765	77.4	9.88	0.000108
Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia	8.41	0	8.41	7.49e-05
Bosea	9.97	1.46	6.81	0.0021
Sphingomonas	1140	180	6.32	0.000108
Nitrospira	1140	239	4.76	0.000108
Candidatus Megaira	64.8	15.9	4.07	0.000108
Candidatus Paracaedibacter	64.7	16.1	4.03	0.00205
Rickettsia	3.02	0.8	3.78	0.00593
Micrococcus	3.24	0	3.24	0.00251
Sphingopyxis	48	16.9	2.84	0.00474
Rhodoglobus	1.67	0	1.67	0.00251
Dyella	1.41	0	1.41	0.000471
Bradyrhizobium	1.13	0	1.13	0.00251
Rhizobacter	5.21	77.3	0.0674	0.00232
Candidatus Ovatusbacter	0.81	12.4	0.0655	0.0012
Stenotrophobacter	3.58	108	0.0332	0.000215
Cavicella	2.1	80.6	0.026	0.0057
Curvibacter	1.16	75.9	0.0153	0.00633
Aquabacterium	3.11	229	0.0136	0.00323
Cellvibrio	0	86.9	0.0115	0.000708
Peredibacter	2.65	258	0.0103	0.000108
Hydrogenophaga	0.814	177	0.00461	0.00287
Fluviicola	0.34	112	0.00303	0.000831
Flavobacterium	0	1220	0.000819	0.00384

Tabell C.4

Signifikant ($p < 0.01$) förändrade bakteriesläkten efter kloraminutfasningen i provpunkt Tvaak baserat på "absolut abundance" enligt Props et al (2017). Från vänster till höger redovisas släktnamnet, släktens uppskattade koncentration före och efter monokloraminutfasningen, kvoten av de två koncentrationerna samt p-värdet (beräknat genom Mann-Whitney U-test).

Bakteriesläkte	Celler/ml enligt "absolut abundance" med monokloramin	Celler/ml enligt "absolut abundance" utan monokloramin	Kvot mellan koncentration med och utan monokloramin	P-värde
Lysinimonas	9.83	0.404	24.3	0.00765
Ga0074140	13	0.871	14.9	0.00399
Neochlamydia	27.3	2.14	12.8	0.00202
Plot4-2H12	26.6	4.05	6.56	0.00699
Immundisolibacter	34.5	5.37	6.42	0.00139
Nitrosomonas	418	68.8	6.07	0.000879
Candidatus Paracaedibacter	270	48.1	5.6	0.000863
Nitrospira	3710	707	5.25	0.000863
Pseudomonas	4.19	0	4.19	0.00251
Candidatus Megaira	177	48.2	3.68	0.000879
Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia	17.8	4.89	3.64	0.00384
Mycobacterium	117	36.3	3.21	0.00409
Candidatus Omniphilus	193	64.5	2.99	0.00311
Sphingomonas	1090	371	2.95	0.00997
Amphiplicatus	132	54.8	2.41	0.00167
Aliidongia	1.05	0	1.05	0.00251

Svenskt Vatten

UTVECKLING

Svenskt Vatten Utveckling
Svenskt Vatten AB

POSTADRESS BOX 14057, 167 14 Bromma

BESÖKSADRESS Gustavslundsvägen 12, 167 51 Bromma

TELEFON 08-506 002 00

E-MAIL svensktvatten@svensktvatten.se

www.svensktvatten.se