Kansanterveyslaitos
Folkhälsoinstitutet
National Public Health Institute

Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B 18/2004

LK Korhonen • MH Kontro • MJ Lehtola • MTT Lipponen • PJ Martikainen
IT Miettinen • TK Nissinen • EK Torvinen • TK Vartiainen • OM Zacheus

VESIJOHTOVERKOSTON PUHDISTUKSEN VAIKUTUS TALOUSVEDEN LAATUUN

Kuopio 2004

YHTEYSTIEDOT

Kansanterveyslaitos
Ympäristöterveys
PL 95
70701 Kuopio
Puh. (017)201211
Fax (017)201155
E-mail: leena.korhonen@ktl.fi

JULKAISIJA-UTGIVARE-PUBLISHER

Kansanterveyslaitos (KTL)
Mannerheimintie 166
00300 Helsinki
Puh. vaihde (09) 47441, fax (09) 47448408

Folkhälsoinstitutet
Mannerheimvägen 166
00300 Helsingfors, Finland
Tel. växel (09) 47441, telefax (09) 47448408

National Public Health Institute (KTL)
Mannerheimintie 166
FIN-00300 Helsinki
Phone: +358-9-47441, fax: +358-9-47448408

B18/2004
ISSN: 0359-3576
ISBN: 951-740-482-4
ISBN: 951-740-483-2 (PDF)
Kuopio 2004

Kansikuvat (Merja Kontro):
Ylhäällä: Puhdistettavan vesijohtolinjan ulostulopää. Näytteenottoa puhdistuksen yhteydessä.
Alhaalla: Käytettyjä puhdistuselementtejä (“possuja”) sekä putkistosta näytteeksi saatua saostumaa

Kansanterveyslaitoksen julkaisuja
KTL B18/2004

Vesijohtoverkoston puhdistuksen vaikutus talousveden laatuun

LK Korhonen[1], , MH Kontro[1,] MJ Lehtola[1], MTT Lipponen[1], PJ Martikainen[1,3], IT Miettinen[1], TK Nissinen[2], EK Torvinen[1] TK Vartiainen[2,4] ja OM Zacheus[1]

[1] Kansanterveyslaitos, ympäristömikrobiologian laboratorio, Kuopio
[2] Kansanterveyslaitos, kemian laboratorio, Kuopio
[3] Kuopion yliopisto, ympäristötieteiden laitos
[4] Kuopion yliopisto, kemian laitos

Kansanterveyslaitos
Ympäristöterveys
Kuopio 2004

ESIPUHE

Korkealaatuinen juomavesi ei saa sisältää terveydelle haitallisia kemikaaleja tai mikrobeja. Kuluttajille jaettavan juomaveden laatu riippuu paitsi vesilaitostekniikasta myös jakeluverkoston kunnosta, sillä verkostossa voi tapahtua merkittävää veden laadun heikkenemistä. Keskeisenä verkosto-ongelmana on mikrobien kasvu putkimateriaalien pinnoilla (biofilmit ja saostumat). Vesijohtoverkostoihin liittyvä tutkimustyö on vaativaa verkostojen kompleksisuuden takia. Ongelmakentän tutkiminen edellyttääkin yhteistyötä vesilaitosten, tutkimusorganisaatioiden ja vesilaitosverkostotekniikan hallitsevien yritysten kesken. Raportti esittelee tuloksia konsortiosta, jossa tutkittiin vuosina 1996-1998 vesijohto-verkostojen saostumiin ja biofilmeihin liittyviä kemiallisia ja mikrobiologisia ongelmia. Julkaisu on osa konsortion loppuraportointia. Kansanterveyslaitos oli päävastuullinen verkostojen kemialliseen ja mikrobiologiseen laatuun liittyvässä tutkimuksessa. Tässä raportissa esitettyjä tuloksia on jo julkaistu vesialan tieteellisissä aikakauslehdissä (kts. erillinen luettelo).

Toteutettu projekti oli ensimmäinen saostumiin liittyvä kansallinen hanke. Tämä pioneerihanke loi hyvän pohjan jatkotutkimuksille. Tutkimusryhmä toivoo, että hankkeessa tuotettu materiaali on hyödynnettävissä verkostojen ylläpidossa.

Kansanterveyslaitoksen ja Kuopion yliopiston tutkimusryhmä kiittää yhteistyöstä Espoon, Helsingin, Jyväskylän, Kempeleen, Oulun, Tampereen, Vaasan ja Vantaan vesilaitoksia, Suunnittelukeskus Oy:tä, Suomen Pipe Cleaning Oy:tä, Allwatec Oy:tä ,Tampereen teknillistä yliopistoa sekä Vesi- ja viemärilaitosyhdistystä Tutkimusta rahoittivat TEKES, sosiaali- ja terveysministeriö, tutkimukseen osallistuneet vesilaitokset, Suomen Akatemia, Kansanterveyslaitos ja Kuopion yliopisto.

Kuopio, 15.12.2004

Prof. Pertti Martikainen
Kuopion yliopisto
Ympäristötieteiden laitos

Prof. Terttu Vartiainen
Kansanterveyslaitos
Ympäristöterveyden osasto, Kuopio

LYHENTEET

AOC	=	Mikrobeille käyttökelpoinen hiili
AODC	=	Bakteerien kokonaislukumäärä, määritetty mikroskooppi-suoralaskennalla akridiinioranssiväriäyksen jälkeen
AOX	=	Absorboituvat organiset klooriyhdisteet
ATP	=	Adenosiinitrifosfaatti, pitoisuus kertoo aktiivisten mikrobien lukumäärän
BrCl	=	Bromikloorietikkahappo
cfu	=	Pesäkkeen muodostava yksikkö
DBA	=	Dibromietikkahappo
DCA	=	Dikloorietikkahappo
HAAs	=	Halogenoidut etikkahapot
M.	=	*Mycobacterium*
MBA	=	Monobromietikkahappo
MCA	=	Monokloorietikkahappo
MPN	=	Bakteerien todennäköinen lukumäärä (most probable number)
n	=	Havaintojen lukumäärä
NPOC	=	Haihtumattoman orgaanisen hiilen kokonaismäärä
p	=	Tilastollinen merkitsevyys
		* = jokseenkin merkitsevä $0.05 > p \geq 0.01$
		** = merkitsevä $0.01 > p \geq 0.001$
		*** = erittäin merkitsevä $0.001 > p$
PLFA	=	Fosfolipidien rasvahapot
r	=	Korrelaatiokerroin
R2A-luku	=	Heterotrofisten bakteerien lukumäärä määritettynä R2A-alustalla
TCA	=	Trikloorietikkahappo
TH-luku	=	Heterotrofisten bakteerien lukumäärä määritettynä tryptoni-hiivauute-alustalla (SFS-standardi)
THM	=	Trihalometaanit

TIETEELLISET JULKAISUT - PUBLICATIONS

Tutkimuksen tuloksia on aiemmin julkaistu seuraavasti:
The results of this study have been previously published in:

Artikkelit tieteellisissä aikakausijulkaisuissa
Articles in peer review- publications:

Keinänen MM, Korhonen LK, Martikainen PJ, Vartiainen T, Miettinen IT, Lehtola MJ, Nenonen K, Pajunen H & Kontro-Suutari MH. 2001. Gas chromatographic - mass spectrometric detection of 2- and 3- hydroxy fatty acids as methyl esters from soil, sediment and biofilm. Journal of Chromatography B, 783:443-451.

Keinänen M, Korhonen L, Lehtola M, Miettinen I, Martikainen PJ, Vartiainen T & Suutari M. 2002. The microbial community structure of drinking water biofilms can be affected by phosphorus availability. Applied and Environmental Microbiology 68, 434-439.

Keinänen MM, Korhonen LK, Martikainen PJ & Suutari MH. 2003. Microbial Community Structure in Biofilms and Water of a Drinking Water Distribution Network Determined by Lipid Biomarkers. Water Science and Technology 47:5:143-147.

Keinänen MM., Martikainen PJ. & Kontro MH. 2004. Microbial community structure and biomass in developing drinking water biofilms. *Canadian Journal of Microbiology,* 50, 183-191.

Lipponen MTT, Suutari MH & Martikainen PJ. 2002. Occurrence of nitrifying bacteria and nitrification in Finnish drinking water distribution systems. Water Research 36:4319-4329.

Lipponen MTT, Martikainen P, Vasara RE, Servomaa K, Zacheus O. & Kontro MH. 2004. Occurrence of nitrifiers and diversity of ammonium-oxidizing bacteria in developing drinking water biofilms. Water Research 38, 4424-4434.

Miettinen I, Iivanainen E, Vartiainen T & Martikainen PJ. 1998. Mikrobien jälkikasvu suomalaisissa verkostovesissä vuonna 1995. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B4/1998. Kuopio 1998.

Torvinen E, Suomalainen S, Lehtola M, Miettinen I, Zacheus O, Paulin L, Katila M-L & Martikainen P. 2004. Mycobacteria in water and loose deposits of drinking water distribution systems in Finland. Appl. Environ. Microbiol. 70:1973-1981.

Zacheus OM, Lehtola MJ, Korhonen LK & Martikainen PJ 2001. Loose deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. Water Research 35:7:1757-1765.

Opinnäytetyöt
M.Sc thesis

Lipponen M. Nitrifikaatiobakteerit vesijohtoverkossa. Pro gradu -tutkielma Kuopion yliopisto, 28.6.1999.

Esitykset tieteellisissä kokouksissa:
Presentations in scientific meetings:

Iivanainen E, Katila M-L & Martikainen PJ. Mycobacteria in drinking water networks; occurrence in water and loose deposits, formation of biofilms. 20th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology. 4.-7.7.1999. Lucerne, Switzerland.

Keinänen M, Korhonen L, Lehtola M, Miettinen IT, Martikainen PJ, Vartiainen T & Suutari M. 2000. Phospholipid fatty acid (PLFA) and lipopolysaccharide (LPS) 3-hydroxy fatty acid analyses of microbial community structure in water and biofilms. *The Fourth Valamo Conference on Environmental Health and Risk Assessment. Microbes: water, food and environment.* September 13-16, 2000. Valamo, Finland.

Keinänen MM, Korhonen LK, Martikainen PJ & Suutari MH. 2001. Lipid biomarkers in characterizing microbial communities in drinking water biofilms. 2nd World Water Congress, IWA, 15-19.10.2001 Berlin, Germany

Keinänen MM, Korhonen LK, Martikainen PJ & Suutari MH. Microbial community structure in biofilms and water of a drinking water distribution network determined by lipid biomarkers. International Specialised Conference on Biofilm Monitoring, IWA Specialist Group, Porto, Portugal, 18.-20.3.2002

Keinänen MM, Martikainen PJ & Kontro MH. 2003. Microbial communities and biomass of biofilms in two Finnish full-scale drinking water distribution systems. Biofilms in Industry, medicine and Environmental Biotechnology. Galway, Ireland, August 9-14, 2003.

Korhonen LK, Martikainen PJ, Miettinen IT, Vartiainen T & Suutari M. 2000. Effects of potable water nutrients on the microbial phospholipid fatty acid (PLFA) profiles of pipeline sediments. 1st World Water Congress, IWA, June 3.-6. 2000, Paris, France.

Korhonen LK, Martikainen PJ, Miettinen IT, Vartiainen T. & Suutari M. 2000. The effects of potable water nutrients on the microbial community structure of pipeline sedments, as studied by phospholipid fatty acid (PLFA) analysis. *The Fourth Valamo Conference on Environmental Health and Risk Assessment. Microbes: water, food and environment.* September 13-16, 2000. Valamo, Finland.

Lehtola MJ, Miettinen IT, Vartiainen T & Martikainen P. 2000. Contents of assimilable organic carbon (AOC) in pipeline network – Effect of pipe cleaning on AOC concentrations. Proceedings of Fourth International

Conference on Water Supply and Water Quality, Krakow, Poland, 11-13 September 2000. Ed. Sozanski M. M. pp. 1191-1194.

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Regina K, Kangasjärvi J, Tuomainen J, Servomaa K, Vasara R & Suutari MH. 1998. Nitrifying bacteria and nitrification in drinking water pipelines. *8th International Symposium on Microbial Ecology.* August 9-14, 1998. Halifax, Canada. Abstract book, p. 2

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Regina K, Kangasjärvi J, Tuomainen J, Servomaa K, Vasara R & Suutari MH. 1999. Nitrifying bacteria and nitrification in drinking water pipelines. *4th Finnish Conference of Environmental Sciences.* May 21-22, 1999. Kuusisto, S., Isoaho, S. and Puhakka, J. (Eds.). Proceedings, Fourth Finnish Conference of Environmental Sciences p. 78-79.

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Vasara R, Servomaa K. & Suutari M. 2000. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria in enrichment cultures from finnish drinking water distribution systems. *American Society for Microbiology, 100th General Meeting*, May 21-25, 2000, Los Angeles, California.

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Vasara R, Servomaa K & Suutari MH. 2000. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria in enrichment cultures from Finnish drinking water distribution systems. *The Fourth Valamo Conference on Environmental Health and Risk Assessment. Microbes: water, food and environment.* September 13-16, 2000. Valamo, Finland.

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Vasara R, Servomaa K & Suutari M. 2000. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria in enrichment cultures from finnish drinking water distribution systems. *American Society for Microbiology, 100th General Meeting*, May 21-25, 2000, Los Angeles, California.

Lipponen MTT, Vasara RE, Martikainen PJ, Murtoniemi T, Servomaa K & Suutari MH. 2001. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria in sediments of Finnish drinking water distribution pipelines. *9th International Symposium on Microbial Ecology (ISME-9),* August 26-31, 2001. Amsterdam, The Netherlands, Abstract book, p 306.

Lipponen MTT, Vasara R, Martikainen PJ, Murtoniemi T, Servomaa . & Suutari MH. 2001. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria in pipeline sediments of Finnish drinking water distribution systems. *5th Finnish Conference of Environmental Sciences.* Turku, May 18-19, 2001. Lehtonen T, Salminen J-P & Pihlaja K. (Eds.). Proceedings, Sixth Finnish Conference of Environmental Sciences Finnish Society for Environmental Sciences, p. 159-161.

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Vasara R E, Servomaa K & Kontro M. H. 2003 The Diversity of Ammonia-oxidizing Bacteria in Drinking Water Pipeline Biofilms. Sixth Finnish Conference of Environmental Sciences, Joensuu, May 8-9, 2003 Joensuu, May 8-9, 2003 Honkanen JO & Koponen PS, Eds. Proceedings, Sixth Finnish Conference of Environmental Sciences pp. 315-317. Finnish Society for Environmental Sciences, Joensuu.

Lipponen MTT, Martikainen PJ, Vasara RE, Servomaa K & Suutari MH. 2002. The diversity of ammonia-oxidizing bacteria in drinking water pipeline biofilms. *The World of Microbes.* Paris, July 27-August 1, 2002.

Suutari M, Suojanen P, Korhonen L, Vartiainen T & Martikainen P 1997. Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis as a tool to describe microbial community structure in drinking water distribution networks. In International Symposium Environmental Biotechnology, 21-23.4.1997. Verachtert, H. & Verstraete, W. (eds). Technological Institute, Belgium, ISBN 90-5304-031-1, Vol. 3. 20-23.

Suutari MH, Korhonen L, Pellikka P, Vartiainen . & Martikainen PJ 1998. Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis of microbial community structure in drinkable water distribution networks. 8th International Congress on Microbial Ecology ISME-8, Halifax, Canada, 9-14.8.1998.

Suutari MH, Korhonen LK, Vartiainen T, Pellikka P. & Martikainen P. 1999. Microbial community structure and inorganic ion composition of sediments in tap water distribution networks. Natural waters and water technology: Chemical speciation and bioavailability. Castelvecchio Pascoli, Lucca, Italy, 15-20.10.1999.

Muut julkaisut:
Other publications:

Lipponen M, Suutai, M & Martikainen P. 1999. Nitrifikaatiobakteerit vedessä.. *Kansanterveys*. 2/1999 (in Finnish).

SISÄLLYSLUETTELO

LYHENTEET 3

TIETEELLISET JULKAISUT - PUBLICATIONS 4

TIIVISTELMÄ 8

SAMMANDRAG 9

SUMMARY 10

1 JOHDANTO 11

2 TUTKIMUSKOHTEET, VERKOSTOJEN PUHDISTUS JA NÄYTTEENOTTO 12

3 DESINFIOINNIN SIVUTUOTTEET 14
- **3.1 Trihalometaanit** 14
  - 3.1.1 Raja-arvot 14
  - 3.1.2 Näytteet ja määritysmenetelmä 14
  - 3.1.3 Tulokset ja tulosten tarkastelu 15
- **3.2 Halogenoidut etikkahapot** 16
  - 3.2.1 Raja-arvot 16
  - 3.2.2 Menetelmät 17
  - 3.2.3 Tulokset ja tulosten tarkastelu 17
- **3.3 Adsorboituvat orgaaniset klooriyhdisteet** 20
  - 3.3.1 Tulokset 20
- **3.4 Mutageenisuus** 21
  - 3.4.1 Menetelmä 21
  - 3.4.2 Tulokset 22
- **3.5 Korrelaatiot** 23
- **3.6 Yhteenveto** 26

4 SAOSTUMIEN KEMIALLISET OMINAISUUDET 26

5 ORGAANINEN HIILI TALOUSVESISSÄ 27
- **5.1 Menetelmät** 28
  - 5.1.1 NPOC 28
  - 5.1.2 AOC 28
- **5.2 Tulokset** 29
  - 5.2.1 NPOC 29

5.2.2 AOC....29

6 MIKROBIOLOGISET TUTKIMUKSET 31
6.1 Mikrobien kokonaislukumäärät ja aktiivisuudet sekä biofilmin muodostuminen 31
6.1.1 Johdanto 31
6.1.2 Menetelmät....32
6.1.3 Tulokset 33
6.1.4 Tulosten tarkastelua....46
6.2 Nitrifikaatiobakteerit....48
6.2.1 Johdanto 48
6.2.2 Menetelmät....48
6.2.3 Tulokset 49
6.2.4 Tulosten tarkastelu 61
6.3 Mykobakteerit....62
6.3.1 Johdanto 62
6.3.2 Menetelmät....63
6.3.3 Tulokset 63
6.3.4 Tulosten tarkastelu 67
6.4 Mikrobiyhteisön rakenne 69
6.4.1 Johdanto 69
6.4.2 Materiaalit ja menetelmät....69
6.4.3 Tulokset 70
6.4.4 Tulosten tarkastelu 70

7 YHTEENVETO MIKROBIOLOGISISTA JA KEMIALLISISTA TUTKIMUKSISTA....71

KIRJALLISUUS 74

TIIVISTELMÄ

Tutkimuksessa selvitettiin vesijohtoverkoston saostumien ja runkolinjojen puhdistuksen (mekaaninen puhdistus, huuhtelu tai juoksutus) vaikutusta talousveden laatuun. Tutkimus tehtiin 8 paikkakunnalla 16 eri verkostoalueella. Verkoston mekaaninen puhdistus toistettiin joissakin kohteissa vuoden kuluttua biofilmin/saostuman muodostumisen selvittämiseksi.

Mikrobeille käyttökelpoisen hiilen (AOC) pitoisuus laski verkostossa veden ikääntyessä. Orgaanisen hiilen kokonaismäärä (NPOC) sitä vastoin ei muuttunut verkostossa. AOC-pitoisuuden lasku johtui verkoston mikrobiologisen toiminnan aiheuttamasta AOC-kulutuksesta. Saostumien poisto vähensi AOC-pitoisuuden laskua verkostossa, mikä johtui verkoston alentuneesta mikrobiologisesta aktiivisuudesta.

Saostumien todettiin olevan mikrobien kasvun ydinpaikka verkostossa. Eri mikrobiryhmien esiintymiset sakoissa korreloivat keskenään. Koliformisia bakteereita löytyi vain sakoista, ei virtaavasta vedestä. Myös ympäristömykobakteerien pitoisuudet olivat saostumissa suuret. Saostumiin sisältyy merkittävä hygieeninen riski, koska biofilmeissä mikrobit ovat suojassa desinfektiokemikaalien vaikutuksilta. Saostumien poistaminen paransi verkostoveden yleistä mikrobiologista laatua ainakin vuodeksi puhdistustoimista. Eri mikrobiryhmien pitoisuudet ja mikrobiaktiivisuudet nousivat vedessä klooritasojen laskiessa veden ikääntyessä verkostossa. Samoin biofilmien muodostus oli nopeampaa verkoston ääripäissä. Verkostoon asennetuilla biofilmikeräimillä todettiin biofilmin bakteerien saavuttavan maksimimääränsä jopa kuukaudessa.

Tutkimuksen yhtenä tarkoituksena oli saada perustietoa mikrobiologisesta nitrifikaatiosta vesijohtoverkostossa. Epätäydellinen nitrifikaatioprosessi voi johtaa esim. klooriamiini-desinfektion yhteydessä nitriitin kertymiseen verkostoveteen. Saostumien nitrifikaatio-bakteeripitoisuudet olivat joissakin verkostoissa yllättävän suuria. Puhdistuksen vaikutus nitrifikaatiobakteereihin jäi tässä tutkimuksessa epäselväksi.

Mikrobiyhteisön rakenteen tutkimista varten kehitettiin ns. fosfolipidianalytiikkaa. Tällä menetelmällä pystytään tutkimaan mikrobiyhteisön rakennetta ilman, että kaikkia mikrobeja tarvitsee ensin eristää, mikä nykytekniikoilla olisikin mahdotonta. Mikrobiyhteisön biodiversiteetin havaittiin olevan suurempi vanhoissa saostumissa kuin vuoden aikana kertyneissä saostumissa. Veden AOC-tason noustessa Gram-negatiivisten bakteerien osuus saostumissa lisääntyi. Tähän mikrobiryhmään kuuluu myös potentiaalisesti patogeenisia lajeja, kuten *Aeromonas* ja *Pseudomonas*. Tutkimuksen tulokset osoittivat, että mikrobipitoisuus korreloi hyvin veden sameuden kanssa. Sameuden monitorointi antaa siten lisätietoa veden mikrobiologisen laadun arviointiin.

Trihalometaanien pitoisuus määritettiin vesilaitoksilta lähtevästä vedestä ja verkostovesistä sekä ennen saostumien poistoa että poiston jälkeen. Trihalometaanien terveysperusteiset raja-arvot eivät missään näytteessä ylittyneet. Verkostoissa trihalometaanipitoisuuksien havaittiin laskevan.

Jatkotutkimuksissa on tarkasteltu perusteellisemmin niitä tekijöitä, jotka vaikuttavat mikrobien kasvuun ja biofilmien muodostumiseen verkostossa. Jatkotutkimuksissa selvitettiin biofilmien/saostumien muodostuksen vähentämismahdollisuuksia vesilaitosteknisin keinoin (biologisesti stabiilin veden tuotto) ja vedenjakeluverkostoon kohdistuvin (mm. puhdistus) toimenpitein.

SAMMANDRAG

I denna undersökning studerade vi påverkningar av avsättningar i vattenledningsnätet och reningen av stamnätverket (mekanisk rengöring, spolning och avtappning) på hushållsvattnets kvalitet. Undersökningarna gjordes på 8 orter på 16 separata nätverksområden. I några nätverk upprepades den mekaniska rengörningen av nätverket efter ett år för att undersöka uppbyggningen av biofilm/avsättningar.

Halten av mikrobiellt användbart kol (AOC) i nätverket sjönk när vattnet åldrades. Halten av totalt organiskt kol (NPOC) ändrades däremot inte i nätverket. Minskningen av AOC-halten berodde på mikrobiell aktivitet i nätverket, som förorsakade förbruk av AOC. Borttagningen av avsättningar minskade sänkningen av AOC-halten, vilket berodde på minskad mikrobiell aktivitet i nätverket.

Avsättningarna konstaterades vara kärnpunken för mikrobiell växt i nätverket. Förekomsten av olika mikrobgrupper korrelerade med varandra. Koliforma bakterier förekom endast i avsättningar, inte i flytande vatten. Också halterna av miljömykobakterier var höga i avsättningarna. Avsättningarna bildar en väsentlig hygienisk risk, eftersom mikrober i biofilmer är skyddade mot påverkan av desinfektionskemikalier. Borttagningen av avsättningar förbättrade den allmänna mikrobiologiska kvaliteten av ledningsvatten för åtminstone ett år från rengörningsåtgärderna.

Halterna av olika mikrobgrupper och mikrobaktiviteter höjdes i vatten efter klorhalterna gick ned när vattnet åldrades i nätverket. På samma sätt var uppbildningen av biofilmer snabbare i de periferiska delarna av nätverket. Med hjälp av i nätverk installerade biofilmsamlare kunde man konstatera, att den maximala mängden av biofilmbakterier uppnåddes rent av i en månad.

Ett syfte av undersökningen var att få grundinformation om mikrobiologisk nitrifikation i vattenledningsnätet. En ofullkomlig nitrifikationsprosess kan leda t.ex. vid desinfektion med kloramin till ackumulation av nitrit i ledningsvatten. Halten av nitrifikationsbakterier var i några nätverk överraskande hög. Påverkan av rengöring på nitrifikationsbakterier förblev oavklarad i denna undersökning.

För att undersöka strukturen av mikrobkollektiv utvecklade man s.k. fosfolipidanalytik. Med denna metod kan man undersöka strukturen av ett mikrobkollektiv utan att först behöva isolera alla mikrobarter, vilket med nuvarande teknik också vore omöjligt. Biodiversiteten hos mikrobkollektiv konstaterades vara större i gamla avsättningar än i dessa som hade samlats under ett års tid. När vattnets AOC-nivå höjdes, ökade proportionen av Gram-negativa bakterier i avsättningarna. Till denna mikrobgrupp hör också potentiellt patogena arter, såsom *Aeromonas* och *Pseudomonas*. Resultaten av undersökningen visade, att mikrobhalten korrelerar väl med vattnets grumlikhet. Monitoringen av grumlighet ger alltså tilläggsinformation för uppvärdering av vattnets mikrobiologiska kvalitet.

Halten av trihalometaner i från vattenverk avgående vatten och i nätverksvatten bestämdes både före och efter borttagningen av avsättningar. Hälsobaserade gränsvärden för trihalometaner översteg inte i något prov. Man kunde konstatera, att halten av trihalometaner sjönk i nätverken.

Vid fortsatta undersökningar har vi grundligare betraktat de faktorer som påverkar mikrobiell växt och bildandet av biofilmer i nätverken. I fortsatta studier har vi undersökt möjligheter att minska bildandet av biofilmer/avsättningar genom vattenverkstekniska medel (produktion av biologiskt stabilt vatten) och genom åtgärden i distributionsnätverk (rening osv.).

SUMMARY

In this project we studied the effects of potable water pipeline sediments and of mains distribution line cleaning (mechanical, flushing or running) on the quality of drinking water. The sampling was carried out at 8 communities in 15 different distribution network areas. The sampling was repeated at some sites after one year, to elucidate the effects of water quality on biofilm formation in pipelines.

During the study it was found out that the concentration of microbially available organic carbon (AOC) decreased in network during the aging of water. However, the concentration of total organic carbon (NPOC) did not change. The decrease of AOC concentration was caused by microbial activity in network due to microbial nutrient consumption. Removal of sediments from network diminished the decrease of AOC –concentration in network beacause of lowered mircrobial activity in the network.

One aim of the project was to acquire basic data about possible nitrification processes in distribution networks. Nitrification in networks may e.g. in connection with chloramine desinfection cause accumulation of nitrite in pipelines. In some networks the concentrations of nitrifying bacteria in sediment were surprisingly high. The effects of pipeline cleaning remained unclear because concentrations of nitrifiers diminished both in cleaned and uncleaned parts of networks.

Pipeline sediments were found to be the key site for microbial growth. The occurrences of different microbial groups correlated with each other. Coliforms were isolated only from sediments, not from free running water. The numbers of environmental mycobacteria were also high in the sediments. Sediments form a clear hygienic risk, because microbes in biofilms are effectively protected against disinfectants. Removal of sediments improved the genera microbiological quality of water for at least one year from cleaning operations.

The concentration of different microbes and microbial activities increased in water, as chlorine levels decreases during the aging of water in networks. Also the formation of biofilms was more rapid at the distal ends of networks. In biofilm collectors installed in networks it was found that the bacterial counts in biofilms reached maximum as soon as in one month.

Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis was applied to characterize the structure of microbial communities in sediments. By this method it is possible to study the microbial communities without having to isolate and culture all microbes, which is impossible by current techniques, anyhow. Biodiversity of microbial communities was found to be greater in old sediments than in those accumulated during one year. As AOC level in water increased, the proportion of Gram-negative bacteria also increased. To this group belong also potentially pathogenic species, like *Aeromonas* and *Pseudomonas*.

The concentration of trihalomethanes was analyzed in water leaving waterworks and in network samples both before and after sediment removal. Health-related guideline values were never exceeded. In networks the concentrations of trihalomethanes decreased. (lisää Tarja 24.3.1999)

In further research we have more profoundly been studying the factors affecting microbial growth and biofilm formation in pipelines. Ongoing studies will elucidate how the formation of biofilms/sediments could be prevented by waterworks techniques (production of biologically stable water) and by operations on distribution networks (e.g. cleaning).

1 JOHDANTO

Vesilaitokselta lähtevä talousvesi sisältää erilaisia liuenneita orgaanisia ja epäorgaanisia aineita, jotka voivat saostua putkistoon. Osa veteen liuenneista aineista on peräisin vesijohtoverkostojen materiaaleista. Vedessä esiintyvät mikrobit kykenevät käyttämään veteen liuenneita aineita ravinteinaan. Mikrobitoiminta voi aiheuttaa putkiston seinämien korroosiota, ja täten liuennut materiaali voi myöhemmin uudelleen saostua ja jopa tukkia putkiston. Lisääntyessään vesijohtoverkostossa mikrobit muodostavat putkien sisäpinnoille biofilmin. Biofilmi suojaa verkostoon mahdollisesti päässeitä patogeeneja mikrobeja jälkidesinfiointiaineiden vaikutuksilta. Täten biofilmi yhdessä saostuneen epäorgaanisen materiaalin kanssa heikentää verkostosta saatavan veden laatua. Mikrobien aineenvaihdunnan tuotteina voi veteen myös kertyä haitallisia aineita, kuten nitriittiä tai desinfektioaineiden sivutuotteita.

Muuttuneiden kulutustottumusten ja uusien, vettä säästävien vesikalusteiden yleistymisen myötä on talousveden kulutus henkeä kohti jatkuvasti vähentynyt. Veden jakeluverkosto on kuitenkin yleensä suunniteltu ja mitoitettu kasvavan kulutuksen mukaisesti. Kun veden kulutus vähenee, kasvaa veden viipymä verkostossa. Tämä taas vaikuttaa kuluttajien saaman veden laatuun. Vaikka vesi olisikin laadultaan moitteetonta vesilaitokselta lähtiessään, se ei enää välttämättä ole yhtä hyvälaatuista kuluttajan käyttöpisteessä. Viipymän aikana verkostossa voi tapahtua erilaisia kemiallisia ja mikrobiologisia prosesseja, jotka huonontavat käyttöpisteestä saatavan veden laatua.

Tässä tutkimuksessa pyrittiin selvittämään vesijohtoverkostossa tehtävien puhdistus-toimenpiteiden vaikutusta veden laatuun. Verkostoveden laadun parantamiseksi vettä juoksutettiin, verkostoa huuhdeltiin tai sitä puhdistettiin mekaanisesti ns. possupuhdistuksen avulla. Tämän puhdistusmenetelmän vaikutusta veden mikrobiologiseen laatuun ei ole aikaisemmin selvitetty. Joissakin kohteissa puhdistus toistettiin vuoden kuluttua. Tällöin voitiin verrata tuoreiden biofilmien sekä vanhojen, vuosien kuluessa kertyneiden saostumien kemiallista ja mikrobiologista koostumusta. Eräisiin kohteisiin asennettiin lisäksi erityiset biofilmikeräimet biofilmin muodostuksen lähempää tutkimista varten.

2 TUTKIMUSKOHTEET, VERKOSTOJEN PUHDISTUS JA NÄYTTEENOTTO

Tutkimuksessa oli mukana 16 verkostoaluetta kahdeksasta eri kaupungista. Yhdessä kohteessa tehtiin ensin huuhtelu, sitten possupuhdistus. Kolmessa kohteessa putkistoa puhdistettiin huuhtelemalla ja yhdessä kohteessa vettä juoksuttamalla. Kaikissa muissa kohteissa puhdistusmenetelmänä oli mekaaninen puhdistus eli possupuhdistus. Vuonna 1996 otettiin kustakin kohteesta vesinäytteet muutama viikko ennen puhdistusta (esivesi) ja puhdistuksen jälkeen (jälkivesi).

Vuonna 1996 otettiin possupuhdistuksen yhteydessä näytteeksi jokaisen possun edellä tuleva sakka. Vuonna 1997 otettiin näytteeksi vain ensimmäisen possun edellä tuleva sakka, koska edellisen vuoden tuloksista oli havaittu, että valtaosa orgaanista ainetta tulee putkistosta ulos puhdistuksen tässä vaiheessa. Tutkimuskohteet on esitelty taulukossa 4.1. Vuonna 1997 asennettiin puhdistuksen yhteydessä kaupunkien 1, 2, 7 ja 8 vesilaitoksille ja verkostoon biofilmikeräimet, jotta voitiin tutkia uuden biofilmin muodostumista PVC-putken pinnalle.

Taulukko 2.1. Tutkimuskohteiden vesityypit, putkiston materiaali, veden maksimiviipymä putkistossa sekä putkiston puhdistusmenetelmä

Kaupunki/ Alue	Vuosi	Raakavesityyppi	Putkimateriaali	Maksimi-viipymä (t)*	Putkiston puhdistus-menetelmä
Kaupunki 1/A	1996	Pintavesi	PEH	82	Possupuhdistus
Kaupunki 1/B	1996	Pintavesi	PEH	141	Possupuhdistus
Kaupunki 1/B	1997	Pintavesi	PEH	141	Possupuhdistus
Kaupunki 2/A	1996	Pinta/pohjavesi	Valurauta	13.5	Possupuhdistus
Kaupunki 2/B	1996	Pinta/pohjavesi	Valurauta	13.5	Possupuhdistus
Kaupunki 2/B	1997	Pinta/pohjavesi	Valurauta	13.5	Possupuhdistus
Kaupunki 2/C	1996	Pintavesi	Valurauta	10.5	Huuhtelu ja possupuhdistus
Kaupunki 3/A	1996	Pohjavesi	Valurauta	6.5	Possupuhdistus
Kaupunki 3/B	1996	Pohjavesi	Valurauta	6.5	Possupuhdistus
Kaupunki 3/C	1997	Pintavesi	Valurauta	34.5	Huuhtelu
Kaupunki 4/A	1996	Pintavesi	PEH	18	Possupuhdistus
Kaupunki 4/A	1997	Pintavesi	PEH	18	Possupuhdistus
Kaupunki 4/B	1997	Pintavesi	PEH	28.5	Huuhtelu
Kaupunki 5/A	1996	Pintavesi	Valurauta	76.5	Huuhtelu
Kaupunki 5/B	1997	Pintavesi	Valurauta	32.5	Possupuhdistus
Kaupunki 6	1996	Pintavesi	Valurauta	39	Possupuhdistus
Kaupunki 7	1996	Pintavesi	Valurauta	38	Juoksutus
Kaupunki 8/A	1996	Pohjavesi	PEH	4	Possupuhdistus
Kaupunki 8/B	1996	Pohjavesi	PEH	5	Possupuhdistus
Kaupunki 8/B	1998	Pohjavesi	PEH	5	Possupuhdistus

*maksimiviipymä = veden suurin viipymä puhdistetulla verkostonosalla

3 DESINFIOINNIN SIVUTUOTTEET

3.1 Trihalometaanit

3.1.1 Raja-arvot

Trihalometaanit (THM) ovat tunnetuimpia desinfioinnin sivutuotteita. Niitä muodostuu pääasiassa silloin, kun talousvettä desinfioidaan vapaalla kloorilla. Trihalometaanit löydettiin klooratuista talousvesistä jo 70-luvun alussa, jonka jälkeen niiden tutkimus lisääntyi (Rook 1974 ja Bellar ym. 1974). Trihalometaaneihin kuuluu neljä eri yhdistettä: kloroformi ($CHCl_3$), bromidikloorimetaani ($CHBrCl_2$), dibromikloorimetaani ($CHBr_2Cl$) ja bromoformi ($CHBr_3$). Kloroformi ja bromidikloorimetaani ovat ihmiselle mahdollisesti karsinogeenisia, eli syöpää aiheuttavia yhdisteitä (IARC 1991). Maailman terveysjärjestö on antanut raja-arvot kloroformille 200 µg/l (WHO 1998), bromoformille 100 µg/l ja dibromikloorimetaanille 100 µg/l (WHO 1996). Suomessa trihalometaanipitoisuuteen sovelletaan vuonna 1998 voimaan tulleen EU-direktiivin vaatimusta, jonka mukaan THM-kokonaispitoisuus saa talousvedessä olla enintään 100 µg/l.

3.1.2 Näytteet ja määritysmenetelmä

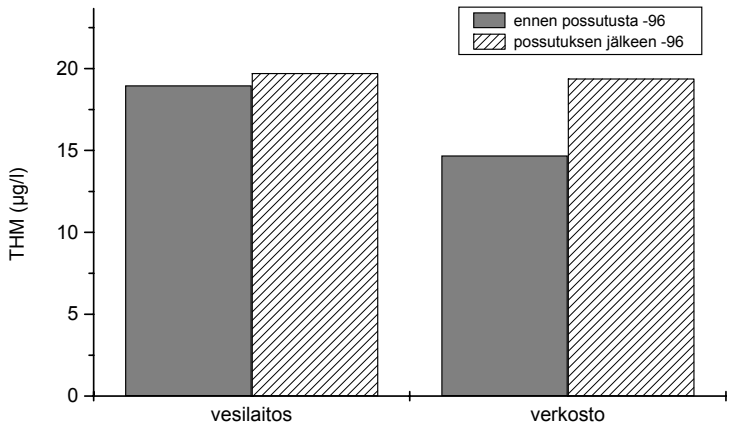
Tutkimuksessa trihalometaanit määritettiin vuonna 1996 sekä vesilaitosten puhdistamista vesistä että useista verkostopisteistä. Määritykset tehtiin ennen ja jälkeen verkoston puhdistuksen. Desinfiointia käyttävät vesilaitokset olivat kaupungit 1, 2, 4 ja 5. Kaupunki 1 desinfioi klooridioksidilla ja klooriamiinilla, kaupungit 2 ja 4 hypokloriitilla sekä kaupunki 5 klooriamiinilla. Verkostoveden THM-pitoisuudet määritettiin kaupungin 1 A-alueelta, kaupungin 2 C-alueelta, kaupungin 4 A-alueelta, kaupungin 5 B-alueelta, kaupungista 6 ja kaupungin 7 juoksutusalueelta. THM:t määritettiin myös B-alueilta kaupungeista 3 ja 8 sekä vedenottamoilta että verkostoista. Molemmat vedenottamot ovat pohjavedenottamoita, eikä niissä ole käytössä desinfiointia.

Trihalometaanit määritettiin mukaellen standardiehdotusta (Water quality - Determination of highly volatile halogenated hydrocarbons - Gas-chromatographic method ISO/DIS 10301:1994). Vesinäytteet uutettiin ensin heksaaniin ja analysoitiin kaasukromatografisesti elektroninsieppausilmaisimella (Hewlett-Packard 5890II). Kvantitointi suoritettiin sisäisen standardin (1,2-dibromimetaani) avulla. Dikloorimetaanin kvantitointiraja on 20 µg/l, kloroformin 1 µg/l ja muiden yhdisteiden 0,05 µg/l.

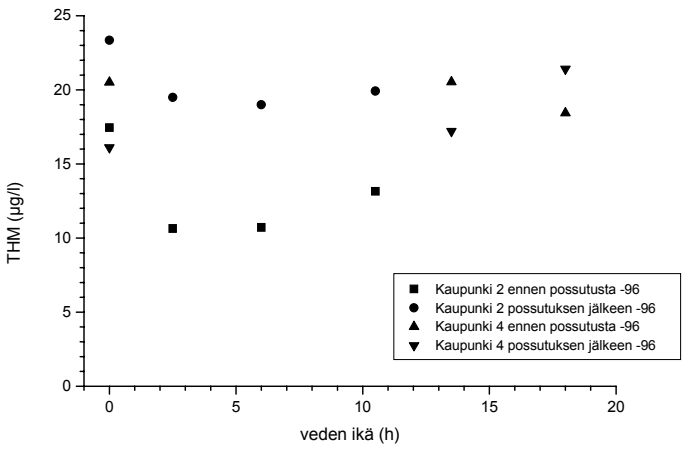
3.1.3 Tulokset ja tulosten tarkastelu

Kaupunkien 3 ja 8 B-alueiden pohjavesilaitosten vesistä ja verkostovesistä ei löytynyt THM:ja, sillä laitoksilla ei käytetä minkäänlaista desinfiointia. Kaupungin 5 vesilaitosten vesien pitoisuudet olivat alle määritysrajojen. Myöskään verkostoista kaupungin 5 A-alueelta, tai kaupungeista 6 ja 7 ei löytynyt mitattavia pitoisuuksia THM:ja. Kaupunkien 1 ja 5 vesilaitokset käyttävät desinfiointiin klooriamiinia, jonka tiedetään estävän kloori-sivutuotteiden muodostumisen. Ammoniakki sitoo vapaan kloorin klooriamiineiksi, joka ei reagoi orgaanisen aineen kanssa. Kaupunki 1:n vesilaitoksen puhdistamassa vedessä THM:n keskiarvo oli < 1 µg/l. Kaupungin 1 A-alueen verkostovesistä mitattujen pitoisuuksien keskiarvo oli < 0.2 µg/l. Kaupungin 1 vesilaitos käyttää klooriamiinin lisäksi klooridioksidia, joka ei myöskään muodosta orgaanisia klooriyhdisteitä.

Korkeimmat THM-pitoisuudet mitattiin kaupunkien 2 ja 4 vesilaitosten puhdistamista vesistä. Molemmat vesilaitokset desinfioivat vuonna 1996 hypokloriitilla. Vapaan kloorin pitoisuudet vaihtelivat kaupungissa 2 0,2 - 0,5 mg/l ja kaupungissa 4 0,53 - 0,61 mg/l. Vapaata klooria löytyi lähes kaikista verkostopisteistä. Verkostovesien THM-pitoisuudet olivat samaa suuruusluokkaa kuin vesilaitoksilla. Kuvassa 3.1 on esitetty kaupungin 2 ja kaupungin 4 vesilaitosten ja verkostovesien THM:n keskiarvopitoisuudet sekä ennen verkoston possupuhdistusta että verkoston possupuhdistuksen jälkeen. Kuvasta nähdään, että ennen verkoston possupuhdistusta THM-pitoisuudet laskivat verkostossa hieman, mutta possupuhdistuksen jälkeen pitoisuudet olivat samat sekä vesilaitoksilla että verkostoissa. Verkoston suurimmat THM-pitoisuudet mitattiin possupuhdistetun alueen lopussa olevista näytteenottopisteistä.



Kuva 3.1. THM-keskiarvopitoisuudet kaupunkien 2 ja 4 vesilaitoksilla (n=2) ja kaupungin 2 C- sekä kaupungin 4 A- tutkimusalueiden verkostoissa (n=5) ennen verkoston possupuhdistusta ja possupuhdistuksen jälkeen.



Kuva 3.2. Veden iän vaikutus THM-pitoisuuksiin kaupunki 2:n C- ja kaupunki 4: A-tutkimusalueilla.

Kuvassa 3.2 on esitetty veden iän vaikutus THM-pitoisuuksiin kaupungin 2 C- ja kaupungin 4 A-tutkimusalueilla. THM-pitoisuus laski verkostossa kaupungissa 2. Pitoisuus laski voimakkaammin ennen verkoston possupuhdistusta. Kaupunki 4ssa taas pitoisuus pysyi verkostossa samana kuin vesilaitoksella ennen possupuhdistusta. Puhdistuksen jälkeen pitoisuus kasvoi verkostossa vesilaitoksen pitoisuutta korkeammaksi. Pitoisuuden lasku kaupungin 2 verkostossa johtuu näytteenottotavasta. Näytteissä ollutta vapaata klooria ei sammutettu näytteenoton yhteydessä. Vesilaitokselta otetuissa näytteissä vapaata klooria oli eniten, joten THM:n muodostuminen on voinut jatkua pullossa näytteenoton jälkeen.

Kaupunkien 2 ja 4 tuloksista laskettiin yksittäisten yhdisteiden osuudet kokonais-THM-pitoisuudesta. Kloroformin osuus oli suurin (87%). Seuraavaksi eniten löytyi bromidikloorimetaania (11%). Bromoformin osuus oli alle 0.1% sekä dibromikloorimetaanin osuus 1%.

3.2 Halogenoidut etikkahapot

3.2.1 Raja-arvot

Halogenoidut etikkahapot (HAAs) muodostavat trihalometaaneiden jälkeen toiseksi yleisimmän desinfioinnin sivutuoteryhmän. Halogenoituja etikkahappoja muodostuu samoin kuin trihalometaaneita talousveden klooraukseessa. Yhdisteet löydettiin trihalometaaneiden jälkeen vuonna 1983 (Miller & Uden, Christman ym. 1983). Klooria ja/tai bromia sisältäviä halogenoituja etikkahappoja on kaikkiaan yhdeksän eri yhdistettä: monokloori- (MCA), dikloori- (DCA), trikloori- (TCA), monobromi- (MBA), dibromi- (DBA), tribromi-, bromikloori-

(BrCl), bromidikloori- ja dibromikloorietikkahapot. Jos vedessä on bromidia, niin klooraus ja otsoni voivat muodostaa myös bromattuja happoja. Maailman terveysjärjestö WHO on antanut raja-arvot kahdelle kloorietikkahapolle niiden mahdollisen syöpävaarallisuuden vuoksi. Dikloorietikkahapon raja-arvo on 50 µg/l ja trikloorietikkahapon 100 µg/l (WHO 1996). Yhdysvalloissa on käytössä raja-arvo 60 µg/l viiden halogenoidun etikkahapon summalle (EPA 1998).

3.2.2 Menetelmät

Halogenoidut etikkahapot määritettiin kaikkien desinfiointia käyttävien vesilaitosten lähtevästä vedestä ja useista verkostopisteistä ennen verkoston puhdistusta ja puhdistuksen jälkeen vuonna 1996 ja myös verkoston puhdistuksen jälkeen vuonna 1997. Yhdeksästä eri yhdisteestä voitiin määrittä kuusi (MCA, DCA, TCA, MBA, DBA ja BrCl), sillä näille yhdisteille oli malliaineet. Nämä kuusi määritettävissä olevaa yhdistettä lyhennetään HAAs6. Määritykset suoritettiin siten, että vesinäytteet uutettiin ensin dietyylieetteriin, metyloitiin diatsometaanilla ja analysoitiin kaasukromatografisesti (Hewlett Packard 5890) massaselektiivisellä detektorilla (WG Masslab mass spectrometry). Tulokset kvantitoitiin sisäisen standardin (2,2-diklooripropionihappo) avulla.

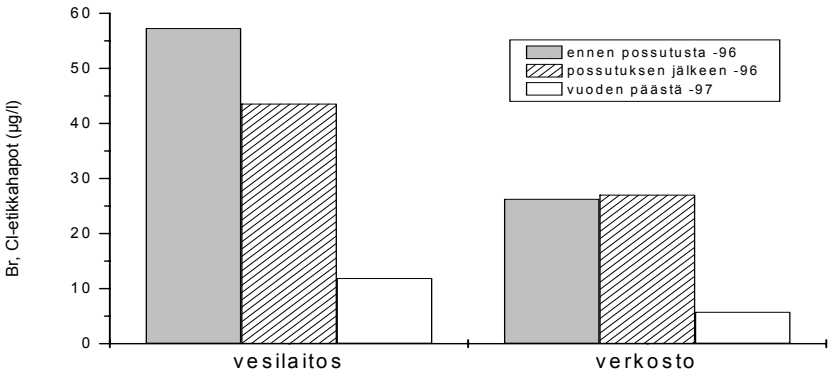
3.2.3 Tulokset ja tulosten tarkastelu

HAAs6-kokonaispitoisuus vaihteli vesilaitosten lähtevissä vesissä välillä 7,6 – 125 µg/l. Korkein pitoisuus mitattiin kaupungin 4 vesilaitoksen lähtevästä vedestä esitutkimuksessa. Yhdysvaltojen raja-arvo 60 µg/l (EPA 1998) ylittyi osassa kaupunkien 2, 3 ja 4 näytteistä ja kaupungin 2 verkostossa. Matalimmat pitoisuudet mitattiin kaupungin 5 vesilaitosten vesistä. Yleensä pitoisuudet olivat korkeampia vesilaitoksilla kuin verkostoissa. Kuitenkin kaupungin 1 A-alueen sekä kaupunkien 6 ja 7 verkostoista mitattiin korkeampia pitoisuuksia kuin vesilaitoksilta.

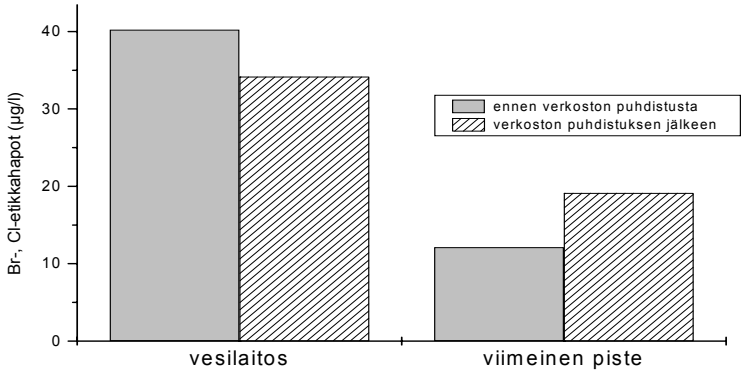
Yksittäisten yhdisteiden osuudet kokonaispitoisuudesta olivat seuraavat: MCA 3.6%, DCA 44%, TCA 44%, MBA 0,4%, DBA 4% ja BrCl 4%. Osuudet on laskettu koko aineistosta, jossa on mukana sekä vesilaitos- että verkostopisteet (n=76). Valtaosan halogenoitujen etikkahappojen kokonaispitoisuudesta muodostivat DCA ja TCA. Kuitenkaan näiden yhdisteiden raja-arvot eivät ylittyneet missään näytteessä. Bromia sisältävien etikkahappojen osuus kokonaispitoisuudesta oli vain 8%. Korkeimmat Br-etikkahappopitoisuudet mitattiin kaupunki 1:n vesilaitokselta, jonka talousveden DBA-pitoisuus oli korkeimmillaan 6 µg/l ja

BrCl-pitoisuus 5.3 µg/l. Kuvassa 3.3 on esitetty possutuksen vaikutus HAAs6-keskiarvopitoisuuksiin kaupungeissa 2, 4, 5 ja 6. Verkostonäytteet on mitattu aina samoista kuudesta verkostopisteestä. Vuoden 1997 vesilaitoksen keskiarvopitoisuus oli huomattavasti matalampi kuin vuonna 1996. Tätä selittää osaltaan se, että kaupungin 4 vesilaitoksella käytettiin vuonna 1997 desinfiointiin klooriamiinia, kun taas vuonna 1996 käytössä oli vapaa kloori. Klooriamiinidesinfioinnin tiedetään vähentävän sivutuotteiden muodostumista. Myös muiden vesilaitosten -97 pitoisuudet laskivat alle puoleen vuoden -96 pitoisuuksista. HAAs6-pitoisuus laski aina verkostossa verrattuna vesilaitokselta lähtevän veden pitoisuuteen. Possutuksen jälkeen pitoisuuden lasku ei ollut kuitenkaan yhtä voimakas kuin ennen possutusta. Tämä ilmiö näkyi selvemmin, kun verrattiin verkoston viimeisen pisteen pitoisuuksia ennen ja jälkeen possutuksen.

HAAs6-pitoisuus laski verkostossa myös, kun verrataan vesilaitoksen pitoisuutta tutkimusalueen viimeisen pisteen pitoisuuteen ja kun otetaan huomioon kaikki verkoston puhdistustavat. Pitoisuus laski verkostossa alle puoleen verrattuna vesilaitoksen pitoisuuteen. Pitoisuuden lasku oli voimakkaampi ennen verkoston puhdistusta kuin verkoston puhdistuksen jälkeen (Kuva 3.4). Myös muissa tutkimuksissa on havaittu, että DCA-pitoisuus on laskenut verkostossa sitä enemmän mitä kauemmaksi vesilaitokselta on menty. Tämä on saattanut johtua DCA:n hajoamisesta joko kemiallisesti tai mikrobiologisesti (Williams ym. 1994 & LeBel ym. 1997).

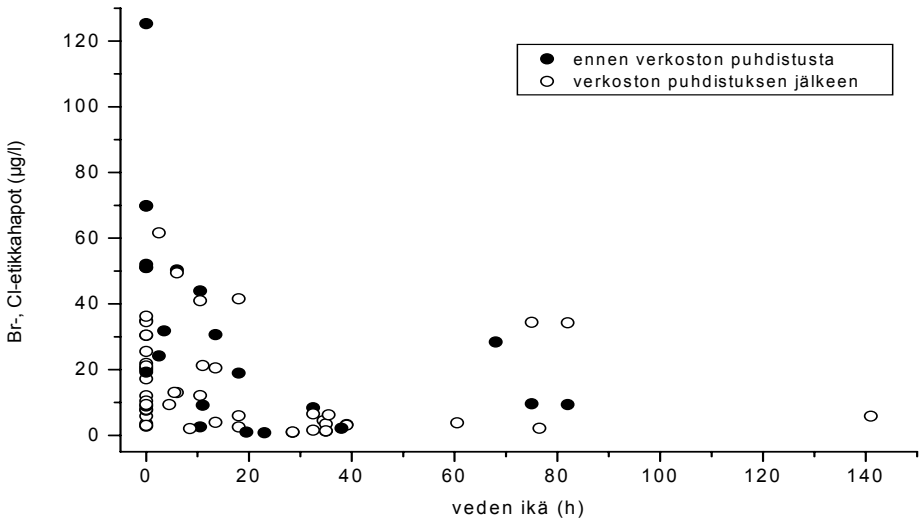


Kuva 3.3. Kuuden halogenoidun etikkahapon (HAAs6) keskiarvopitoisuudet kaupungin 2 C-alueen, kaupungin 4 A-alueen, kaupungin 5 B-alueen ja kaupungin 6 vesilaitoksilla ja verkostoissa (n=6) ennen ja jälkeen possutuksen 1996 sekä vuoden päästä 1997.

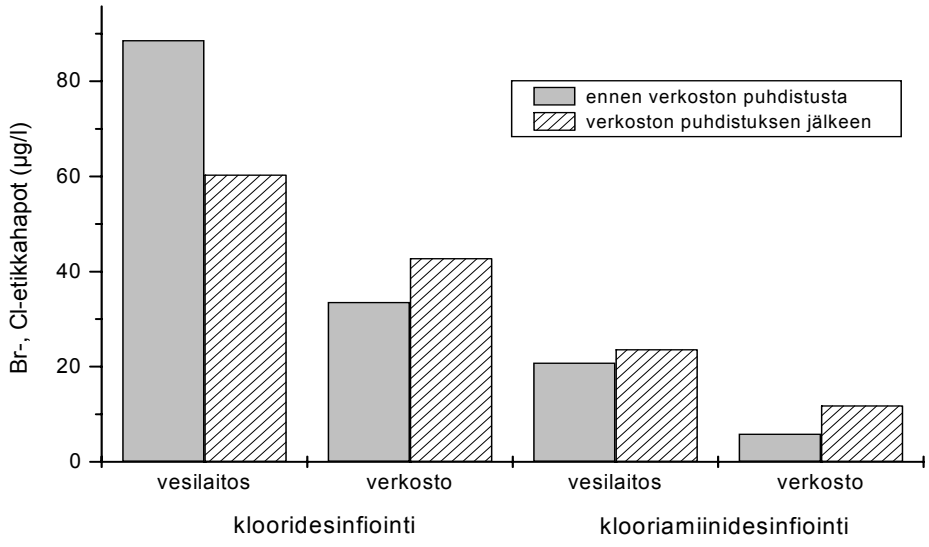


Kuva 3.4. Kuuden halogenoidun etikkahapon (HAAs6) keskiarvopitoisuudet kaupungin 1 A-alueen, kaupungin 2 C-alueen, kaupungin 4 A- ja B-alueiden, kaupungin 5 B-alueen sekä kaupunkien 6 ja 7 vesilaitoksilla ja verkoston viimeisessä pisteessä (n=7) ennen verkoston puhdistusta (possutus, huuhtelu tai juoksutus) ja verkoston puhdistuksen jälkeen.

Veden ikä korreloi negatiivisesti HAAs6-pitoisuuden kanssa (Kuva 3.5 ja Taulukko 3.2), eli mitä vanhempaa vesi oli sitä matalampi oli HAAs6-pitoisuus. HAAs6-pitoisuudet olivat korkeimmat kloorausta käyttävillä laitoksilla ja verkostoissa. Klooriamiinia käyttävien laitosten pitoisuudet olivat 61-76 % ja verkoston 72-82 % pienemmät verrattuna klooraukseen (Kuva 3.6). Keskiarvojen laskennassa on käytetty samoja verkostopisteitä sekä ennen puhdistusta että puhdistuksen jälkeen, jotta tuloksia voitaisiin verrata keskenään.



Kuva 3.5. Veden iän vaikutus kuuden halogenoidun etikkahapon pitoisuuksiin koko aineistossa



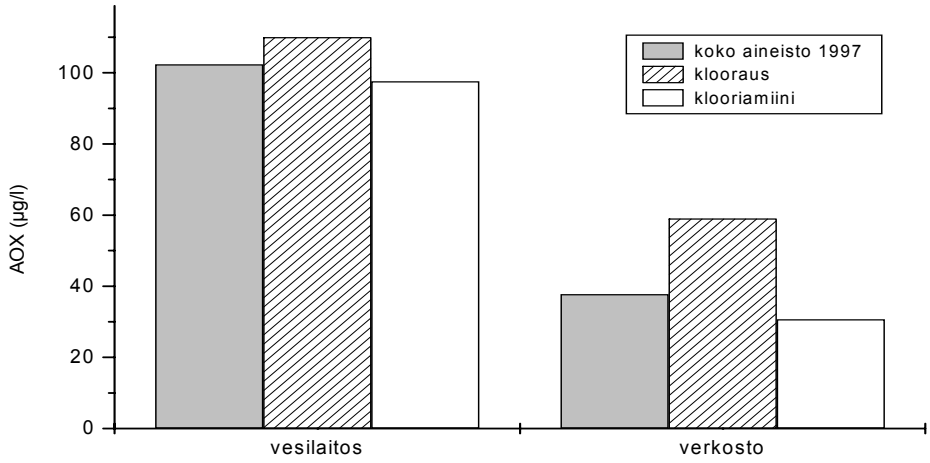
Kuva 3.6. Eri desinfiointitapojen vaikutus kuuden halogenoidun etikkahapon (HAAs6) pitoisuuksiin kloorausta (verkostopisteitä 5) ja klooriamiinia (verkostopisteitä 10) käyttävillä vesilaitoksilla ja verkostoissa.

3.3 Adsorboituvat orgaaniset klooriyhdisteet

Adsorboituvat orgaaniset klooriyhdisteet (AOX) kuvaa haihtumattomien orgaanisten klooriyhdisteiden kokonaispitoisuutta. AOX määritettiin vuonna 1997 kaupunkien 1-6 vesilaitos- ja verkostovesistä. Määritys suoritettiin laboratorion akkreditoidulla menetelmällä, joka pohjautuu soveltuvin osin standardiin ISO 9562 (Water quality - Determination of adsorbable organic halogens AOX). Menetelmän kvantitointiraja on 20 µg/l.

3.3.1 Tulokset

AOX-pitoisuus vaihteli vesilaitosten lähtevissä vesissä välillä 57 µg/l - 197 µg/l keskiarvopitoisuuden ollessa 102 µg/l. Verkostovesien keskiarvopitoisuus oli 38 µg/l ja vaihteluväli <20 µg/l - 128 µg/l. Pitoisuudet laskivat yhtä poikkeusta lukuunottamatta aina verkostossa. Korkeimmat pitoisuudet mitattiin hypokloriittia käyttävien vesilaitosten talousvesistä (Taulukko 3.1). Talousvesien keskiarvopitoisuus oli 110 µg/l ja verkostovesien 59 µg/l. Vastaavat keskiarvot klooriamiinia käyttävillä laitoksilla olivat 98 µg/l (talousvesi) ja 31 µg/l (verkostovesi) (Kuva 3.7). Kuvasta nähdään, että klooraustavasta riippumatta AOX-pitoisuus oli vesilaitoksilla samaa suuruusluokkaa. Klooridesinfioinnin ero tuli näkyviin selvimmin verkoston tuloksissa. AOX-pitoisuus oli kaksinkertainen kloorausta käyttävissä verkostoissa verrattuna klooriamiinia käyttäviin.



Kuva 3.7. Eri desinfiointitapojen vaikutus adsorboituvien orgaanisten klooriyhdisteiden pitoisuuksiin.

3.4 Mutageenisuus

Talousveden mutageenisuus kuvaa vedessä olevien genotoksisten yhdisteiden aktiivisuutta. Genotoksinen yhdiste voi aiheuttaa vaurion DNA:ssa joko suoraan tai epäsuorasti. Talousveden mutageenisuus sisältää useiden yhdisteiden genotoksisen aktiivisuuden. Mutageeninen yhdiste aiheuttaa mutaatioita perimässä, eli DNA:ssa ja tiedetään, että monet mutageeniset yhdisteet ovat myös syöpävaarallisia. Talousveden mutageenisuus ei kuitenkaan välttämättä tarkoita, että vedessä olisi syöpävaarallisia yhdisteitä. Mutageenisia yhdisteitä muodostuu talousveden klooridesinfioinnissa. Tietoja klooratun talousveden mutageenisuudesta julkaistiin ensimmäisen kerran 70-luvun lopussa (Loper ym. 1978) ja sen jälkeen tietoisuus asiasta on lisääntynyt.

3.4.1 Menetelmä

Vesinäytteissä olevat orgaaniset epäpuhtaudet adsorboitiin pylväskromatografisesti XAD-7 hartsiin. Adsorboituneet yhdisteet eluoitiin hartsista etyyliasetaatilla. Mutageenisuustesti tehtiin Amesin bakteeritestillä käyttäen (Ames 1974) *Salmonella typhimurium*in kantaa TA100 ilman entsymaattista aktivointia. Menetelmän toteamisraja on 50 nettorev./l.

3.4.2 Tulokset

Kaikkien klooridesinfiointia käyttävien vesilaitosten talousvesien mutageenisuus testattiin kertaalleen vuonna 1997. Mutageenisuus vaihteli välillä 250 - 1700 nettorev./l. Alhaisin mutageenisuus oli kaupungin 2 pohjavesilaitoksella. Korkein mutageenisuus (1700 nettorev./l) mitattiin kaupungin 3 vesilaitokselta jossa käytetään pintavettä ja kaksivaiheista kloorausta kloorikaasulla. Kaikkien talousvesien mutageenisuustulokset on esitetty taulukossa 3.1.

Taulukko 3.1. Kloorisivutuotteiden ja mutageenisuuden vaihteluvälit vesilaitoksilla ja verkostovesissä sekä näytemäärät.

Kaupunki	**Vesilaitos/**	**THM**		**HAAs6**		**AOX**		**Mutag.**		**Vapaa Cl_2**	
	Verkosto	µg/l	*n*	µg/l	*n*	µg/l	*n*	Net rev/l	*n*	mg/l	*n*
Kaupunki 1	Vesilaitos 1	0.1 - 1.3	*2*	22 – 30	*3*	115	*1*	700	*1*	0	*1*
	Verkosto	0.1 - 0.2	*4*	5.8 – 34	*5*	33	*1*	ei		0	*1*
Kaupunki 2	Vesilaitos 1	18 – 23	*2*	12 – 70	*4*	82 - 85	*2*	530	*1*	0.2 – 0.5	*4*
	Vesilaitos 2	ei		3.6	*1*	33	*1*	250	*1*	0,13	*1*
	Verkosto	11 – 20	*6*	6.0 – 62	*9*	48	*2*	ei		0 - 0.17	*9*
Kaupunki 3	Vesilaitos	ei		17 – 70	*3*	97 - 197	*3*	1700	*1*	0.16 – 0.19	*2*
	Verkosto	ei		4.5 – 28	*3*	87 - 95	*2*	ei		0 - 0.07	*5*
Kaupunki 4	Vesilaitos 1	16 – 21	*2*	11 – 125	*3*	87	*1*	940	*1*	0.03 – 0.61	*3*
	Vesilaitos 2	ei		2.8 - 7.2	*3*	57 - 75	*3*	520	*1*	0	*2*
	Verkosto	17 – 21	*4*	0.8 – 42	*10*	5.0 - 29	*6*	ei		0 - 0.08	*10*
Kaupunki 5	Vesilaitos 1	0	*2*	7.9 – 35	*3*	128	*1*	720	*1*	0 - 0.09	*2*
	Vesilaitos 2	0	*2*	7.6 – 51	*3*	135	*1*	960	*1*	0.05 – 0.08	*3*
	Verkosto	0	*4*	1.6 – 13	*7*	22 - 65	*3*	ei		0.06 – 0.07	*4*
Kaupunki 6	Vesilaitos	0	*2*	8.9 – 21	*3*	120	*1*	ei		0	*3*
	Verkosto	0 - 0.1	*6*	1.3 – 21	*8*	10 - 128	*2*	ei		0	*8*
Kaupunki 7	Vesilaitos	0	*3*	19 – 36	*2*	ei		ei		0 - 0.06	*3*
	Verkosto	0	*5*	2.1 – 32	*5*	ei		ei		0	*5*

ei = ei analysoitu, 0 = alle määritysrajan

3.5 Korrelaatiot

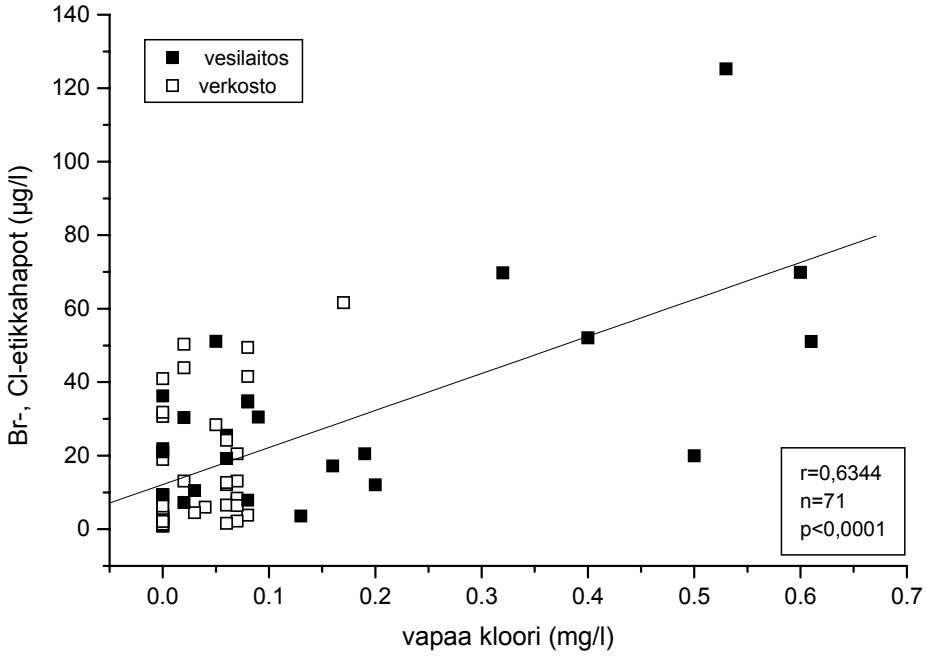
Taulukko 3.2. Kloorisivutuotteiden ja niihin vaikuttavien tekijöiden välisiä korrelaatioita (r).

		THM	HAAs6	AOX	Mutag.	vapaa kloori	kok. Kloori
THM	r	1	**0.65 *****	¤	¤	**0.51****	-0,17
	n	44	43			40	40
HAAs6	r	**0.65*****	1	**0.71*****	**0.86****	**0.63*****	**0.43*****
	n	43	75	30	8	71	71
AOX	r	¤	**0.71*****	1	**0.91****	**0.51****	**0.83*****
	n		30	30	8	30	30
mutag.	r	¤	**0.86****	**0.91****	1	**0.72***	**0.76***
	n		8	8	8	8	8
vapaa kloori	r	**0.51****	**0.63*****	**0.51****	**0.72***	1	**0.44*****
	n	40	71	30	8	72	72
kok. Kloori	r	-0,17	**0.43*****	**0.83*****	**0.76***	**0.44*****	1
	n	40	71	30	8	72	72
KMnO4	r	**0.59*****	**0.44****	¤	¤	0,30	-0,08
	n	38	39			40	40
TOC	r	**-0.33***	0,14	0,35	0,75	-0,002	**0.28***
	n	44	70	25	6	67	67
veden ikä	r	-0,30	**-0.28***	**-0.37***	¤¤	**-0.24***	**-0.51*****
	n	42	73	30		70	70
kok-N	r	**-0.97*****	-0,13	**-**	¤	-0,32	**0.45****
	n	19	32	-		33	33
NH4-N	r	**-0.90*****	-0,27	**-**	0,27	-0,26	**0.56****
	n	18	32	-	4	33	33

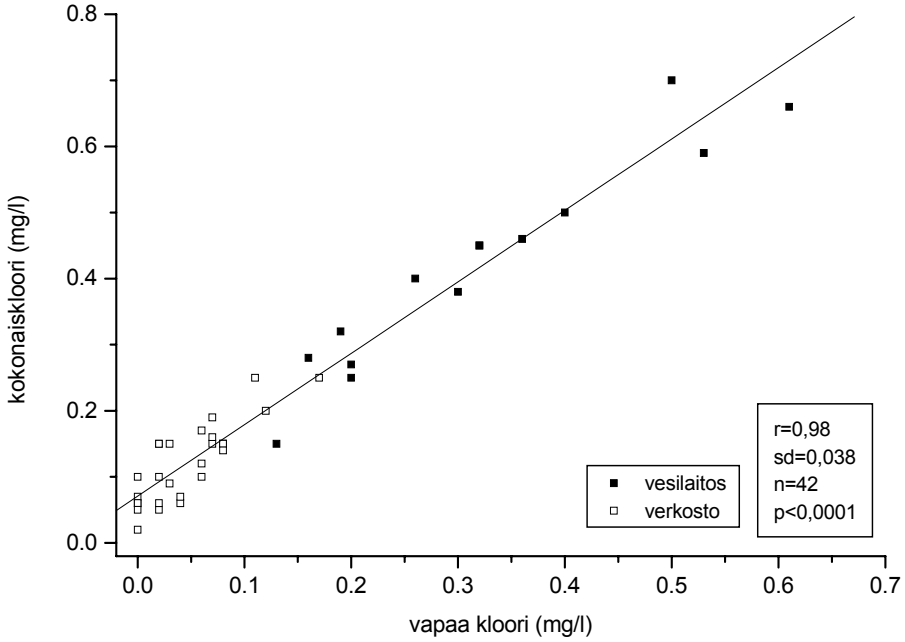
n havaintojen lukumäärä
¤ ei korrelaatiota, sillä ei riittävästi samanaikaisia mittauksia
¤¤ ei korrelaatiota, sillä veden ikä on nolla
- ei määritetty

Desinfioinnin sivutuotteet ja mutageenisuus korreloivat positiivisesti vapaan kloorin kanssa, eli mitä suurempi oli vapaan kloorin määrä vedessä, sitä korkeammat olivat sivutuotteiden pitoisuudet (Taulukko 3.2). Trihalometaaneilla oli voimakas negatiivinen korrelaatio kokonaistypen ja ammoniumtypen kanssa. Ammoniumtypen pitoisuus kuvastaa veden kykyä sitoa vapaana oleva kloori klooriamiiniksi. Klooriamiinidesinfioinnin jälkeen THM:ta ei juurikaan muodostunut, joten negatiivinen korrelaatio tukee hyvin tätä tulosta. Kuvassa 6.8 on esitetty vapaan kloorin ja HAAs6 välinen korrelaatio koko aineistossa. Kuvassa 3.9 on esitetty vapaan kloorin ja kokonaiskloorin välinen korrelaatio kloorausta käyttävillä vesilaitoksilla ja verkostoissa. Vesilaitosten lähtevän veden klooripitoisuudet olivat huomattavasti korkeampia kuin verkostovesien ja mitä suurempi oli kokonaiskloorin pitoisuus, sitä korkeampia ovat myös

vapaan kloorin pitoisuudet. Klooriamiinidesinfioinnissa ei muodostunut vastaavaa yhteyttä vapaan ja kokonaiskloorin välille, koska vapaan kloorin pitoisuutta säädellään ammoniakilla.



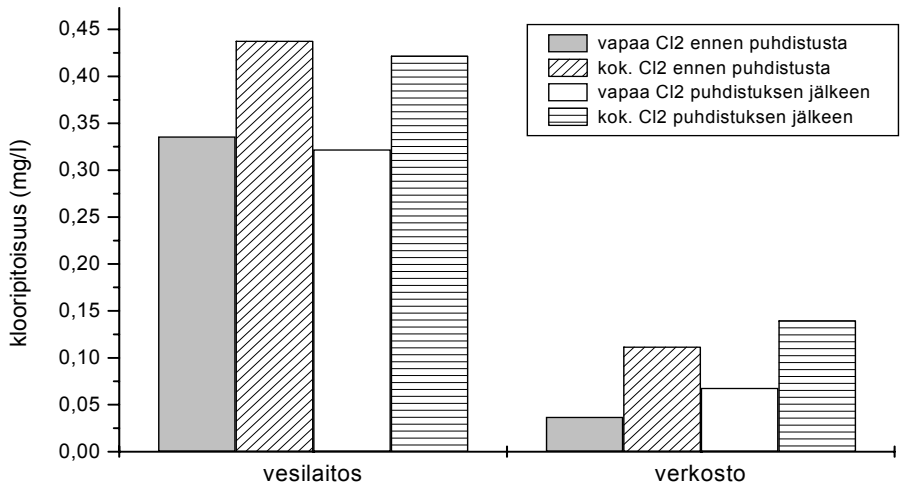
Kuva 3.8. Vapaan kloorin sekä kuuden halogenoidun etikkahapon (HAAs6) välinen korrelaatio.



Kuva 3.9. Vapaa kloori ja kokonaiskloori kloorausta käyttävillä vesilaitoksilla ja verkostoissa.

Kuvassa 3.10 on esitetty vapaan kloorin ja kokonaiskloorin keskiarvopitoisuudet klooridesinfiointia käyttävillä vesilaitoksilla ja verkostoissa ennen ja jälkeen verkoston puhdistuksen. Keskiarvoissa on mukana kaupungin 2 (vesilaitokset 1 ja 2/ alueet B ja C), kaupungin 4 (alue B) ja kaupungin 3 (alue C) tutkimuskohteet. Vesilaitostuloksia on jokaisessa pylväsryhmässä 5 ja verkostotuloksia vastaavasti 10. Kokonaiskloorin pitoisuus oli aina suurempi kuin vapaan kloorin. Klooripitoisuudet laskivat verkostossa. Verkoston puhdistuksen jälkeen klooripitoisuus oli verkostossa hieman korkeampi kuin ennen puhdistusta.

Kloorisivutuotteet korreloivat keskenään positiivisesti. Jos yhden sivutuoteryhmän pitoisuus oli korkea, niin oletettavasti muidenkin sivutuotteiden pitoisuudet olivat korkeat. Mutageenisuus korreloi positiivisesti HAAs6:n ja AOX:n kanssa. THM:ta ei määritetty samoista näytteistä mutageenisuuden ja AOX:n kanssa, joten niiden korrelaatioita ei voitu laskea. THM:t ja HAAs6 korreloivat positiivisesti $KMnO_4$-luvun kanssa mutta eivät TOC:n kanssa. Veden ikä korreloi negatiivisesti HAAs6 (Kuva 3.5) ja AOX:n kanssa, mikä tarkoittaa sitä, että verkostossa veden vanhetessa HAAs6- ja AOX-pitoisuudet laskivat. THM ei korreloinut merkittävästi veden iän kanssa, eikä THM-pitoisuus laskenutkaan verkostossa selvästi. Veden ikä korreloi myös merkittävästi vapaan ja kokonaiskloorin kanssa, eli veden vanhetessa kloorin määrä verkostossa väheni.



Kuva 3.10. Vapaan ja kokonaiskloorin keskiarvopitoisuudet kloorausta käyttävillä vesilaitoksilla ja verkostoissa ennen ja jälkeen verkoston puhdistuksen.

3.6 Yhteenveto

THM-pitoisuudet olivat alhaiset kaikissa vesilaitoksissa, eikä vesilaitoksen ja verkoston pitoisuuksissa ollut suurta eroa. THM-pitoisuudet eivät ylittäneet terveysperusteisia raja-arvoja. Kolmen vesilaitoksen vesistä mitattiin Yhdysvaltojen raja-arvon ylittäviä HAAs6 pitoisuuksia, mutta WHO:n terveysperusteiset raja-arvot dikloori- ja trikloorietikkahapoille eivät ylittyneet. Desinfioinnin sivutuotteiden pitoisuudet olivat korkeimmat kloorausta käyttävillä vesilaitoksilla, joilla myös vapaan kloorin pitoisuudet olivat korkeimmat. Klooriamiinia käyttävillä laitoksilla THM- ja HAAs6-pitoisuudet olivat alhaiset. Possupuhdistuksen jälkeen verkostovesistä mitattiin hieman korkeampia THM-pitoisuuksia kuin ennen puhdistusta. HAAs6-pitoisuus laski lähes aina verkostossa. Pitoisuus laski voimakkaammin ennen verkoston puhdistusta kuin puhdistuksen jälkeen. Eri puhdistustapojen vaikutusta sivutuotteiden pitoisuuksiin verkostossa oli vaikea arvioida, sillä aineisto oli hajanainen. Sivutuotteiden tarkastelussa on muistettava klooridesinfioinnin merkitys veden mikrobiologisen laadun takaajana verkostossa. Desinfiointia tarvitaan turvaamaan veden hygieeninen laatu verkostossa.

4 SAOSTUMIEN KEMIALLISET OMINAISUUDET

Vuonna 1996 possupuhdistettuja verkostoalueita oli 11. Osa näistä possupuhdistettiin uudestaan v. -97 tai -98. Neljällä alueella possupuhdistettiin täsmälleen sama verkoston osa molempina vuosina, jotta voitiin verrata uuden ja vanhan saostuman koostumusta. Näiden saostumien keskimääräinen kemiallinen koostumus on esitetty taulukossa 4.1.

Epäorgaanisen aineksen pitoisuus vaihteli sakoissa, vanhojen ja uusien saostumien välillä ei ollut selkeää systemaattista eroa. Sakkojen orgaanisen materian hiili-typpisuhde oli varsin matala osoittaen sakkojen sisältävän pitkälle hajonnutta orgaanista ainesta. Hiili-typpisuhde oli jokseenkin sama vanhoissa ja uusissa sakoissa. Orgaaninen aines on akkumuloitunut saostumiin vedestä osaksi fysikaalis-kemiallisilla prosesseilla, osittain materiaali koostuu mikrobibiomassasta ja sen hajoamistuotteista. Sakan C/N oli korkeampi kuin mikrobisoluissa (Brady 1984, Harris 1988) osoittaen veden orgaanisen aineksen merkitystä sakoissa.

Taulukko 4.1. Saostumien kemiallinen koostumus. Tähdellä (*) merkityissä tutkimuksissa n=4, muissa tutkimuksissa n=3.

Muuttuja	Vanha saostuma (1996)		Uusi saostuma (1997)	
	Keskiarvo	Min – Max	Keskiarvo	Min – Max
Kuivapaino (g/l)*	8.6	0.5 – 23	0.57	0.18 - 0.82
C (%)*	9.8	6.9 – 17	4.9	1.1 - 7.1
N (%)*	0.83	0.40 - 1.0	0.31	0.06 - 0.54
C/N*	16.3	6.9 -42	17.7	9.2 - 24
S (%)	0.78	0.16 - 1.8	1.3	0.53 - 2.73
Fe (%)	18	5.5 – 28	31	14 – 47
Mn (%)	3.7	0.72 - 8.5	0.58	0.31 - 0.77
Al (%)	4.5	1.4 - 8.7	1.0	0.55 - 1.4
Na (%)	0.30	0.02 - 0.78	0.48	0.28 - 0.81
K (%)	0.09	< 0.03 - 0.22	0.19	0.09 - 0.34
Mg (%)	0.44	0.21 - 0.86	0.53	0.29 - 0.85
Ca (%)	3.0	1.5 - 5.7	5.4	2.0 - 11
P (mg/kg)	660	< 100 – 1000	1300	880 – 1600
Cd (mg/kg)	3.9	3.0 - 4.6	1.5	< 0.5 - 3.7
Co (mg/kg)	360	10 – 980	78	28 – 160
Cu (mg/kg)	64	< 10 – 140	110	58 – 150
Cr (mg/kg)	< 30	< 30	59	47 – 81
Ni (mg/kg)	707	110 – 1700	180	71 – 340
Pb (mg/kg)	< 50	< 50 – 70	43	< 10 – 85
Zn (mg/kg)	1000	370 – 1700	560	450 – 680
Sr (mg/kg)	85	80 – 88	253	62 – 490
Ti (mg/kg)	150	51 – 250	230	120 – 350
V (mg/kg)	4	< 50 – 12	29	23 – 37

5 ORGAANINEN HIILI TALOUSVESISSÄ

Talousveden orgaanisen hiilen määrän mittaaminen tuli tärkeäksi parametriksi siinä vaiheessa, kun huomattiin desinfiointiin käytettävien klooriyhdisteiden muodostavan mutageenisia sivutuotteita veden orgaanisen aineen kanssa (Bellar ym. 1974, Rook ym.

1977). Osan orgaanisesta aineesta on todettu olevan mikrobeille käyttökelpoista ja siten voivan osaltaan aiheuttaa mikrobikasvua verkostossa (van der Kooij ym. 1982 ja 1992). Mitattaessa hiiliyhdisteiden kokonaispitoisuutta vedestä, tarkoitetaan yleensä juuri haihtumattoman orgaanisen hiilen pitoisuutta vedessä, josta käytetään myös lyhennettä NPOC (non purgeable organic carbon).

Orgaanisen hiilen mikrobeille käyttökelpoinen osa voidaan jakaa hiileen, joka on mikrobisekapopulaation mineralisoitavissa (biohajoava orgaaninen hiili, BDOC) tai hiileen, joka on käytettävissä mikrobien biomassan kasvuun ja energianlähteenä (assimiloitavissa oleva orgaaninen hiili, AOC). Ensimmäiset tutkimukset AOC:sta julkaisi D. van der Kooij vuonna 1982 (van der Kooij ym. 1982), tämän jälkeen kansainvälinen kiinnostus AOC:ta kohtaan on kasvanut vuosi vuodelta ja aiheeseen liittyviä tutkimuksia on julkaistu lukuisia. Varsinkin Keski-Euroopassa AOC:ta pidetään tärkeänä veden mikrobiologisen stabiilisuuden mittana vesijohtoverkostoissa, joissakin tutkimuksissa on jopa annettu mikrobiologisesti stabiilille vedelle raja-arvo 10 μg AOC-C/l. Tähän raja-arvoon suomalaisissa humuspitoisissa vesissä päästään vain harvoin (Miettinen ym. 1997a). Toisaalta uusimmissa suomalaisissa tutkimuksissa on todettu, että useimmissa tapauksissa Suomessa mikrobikasvua talousvedessä rajoittaakin fosfori. Tämä johtuu siitä, että fosforia on vedessä suhteellisesti vähemmän kuin mikrobeille käyttökelpoista hiiltä (Miettinen ym. 1996 ja 1997b).

5.1 Menetelmät

5.1.1 NPOC

Veden orgaanisen hiilen kokonaismäärä analysoitiin osittain vesilaitosten omissa valvontatutkimuksissa ja osittain Kansanterveyslaitoksen laboratoriossa Kuopiossa. Orgaaninen hiili analysoitiin haihtumattomana orgaanisena hiilenä (NPOC). Kansanterveyslaitoksella orgaanisen hiilen kokonaismäärä analysoitiin Shimadzu 5000/5050 laitteistolla, jossa veden sisältämä orgaaninen hiili poltetaan 680 °C lämpötilassa platinakatalyytin läsnäollessa, jonka jälkeen mitataan syntyneen hiilidioksidin määrä.

5.1.2 AOC

Mikrobeille käyttökelpoisen hiilen (AOC) pitoisuus määritettiin soveltaen D. van der Kooij:n kehittämää biotestiä (van der Kooij ym. 1982). Testi perustuu kahden mikrobipuhdaskannan (*Pseudomonas fluorescens P17* ja *Aquaspirillum NOX*) kasvuun steriloidussa vesinäytteessä, johon on lisätty epäorgaanisia ravinteita. Mikrobien maksimaalinen kasvu muunnetaan vastaavaksi hiilen määräksi siten, että *Pseudomonas* muunnetaan vastaamaan asetaattihiilen

ja *NOX* oksalaattihiilen aikaansaamaa kasvua. Eri kannoilla saatujen hiilen määrien summa ilmoitetaan vastaavana AOC-pitoisuutena µg AOC-C/l.

5.2 Tulokset

5.2.1 NPOC

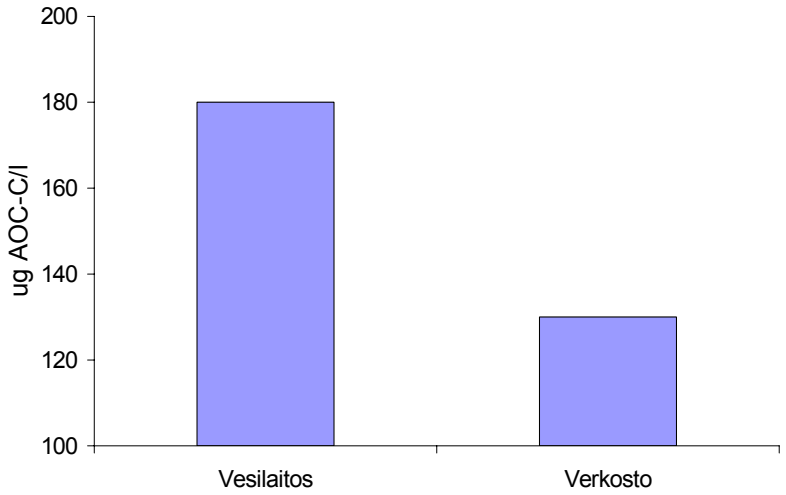
Veden orgaanisen hiilen kokonaispitoisuus ei muuttunut merkittävästi verkostossa veden ikääntyessä. Vesilaitokselta lähtevän veden NPOC-pitoisuus oli esitutkimuksessa keskimäärin 2.3 mg/l (min. 0.5 mg/l ja maks. 3.6 mg/l). Pitoisuus vesilaitoksilla ei juurikaan vaihdellut eri näytteenottokerroilla. Pienimmät NPOC-arvot löytyivät pohjavettä käyttäviltä vesilaitoksilta (<1 mg/l).

Verkostossa muutokset NPOC-pitoisuudessa olivat hyvin vähäisiä, sillä verkoston viimeisessä mitatussa pisteessä NPOC-pitoisuus oli keskimäärin sama kuin vesilaitokselta lähtevässä vedessä. Myöskään puhdistustoimenpiteillä ei ollut vaikutusta NPOC-pitoisuuteen verkostossa.

5.2.2 AOC

AOC-pitoisuus vaihteli suuresti eri vesilaitoksilta lähtevissä vesissä (min. 23 µg AOC-C/l, maks. 668 µg AOC-C/l). Myös keskimääräinen vesilaitoksilta lähtevän veden AOC-pitoisuus vaihteli eri tutkimusajankohtina. Esitutkimuksen aikana vuonna 1996 vesilaitokselta lähtevän veden AOC-pitoisuus oli keskimäärin 180 µg AOC-C/l, kun taas toisen jälkitutkimuksen aikana 1997 oli vesilaitokselta lähtevän veden keskimääräinen AOC-pitoisuus laskenut 117µg AOC-C/l:aan (Kuva 5.1). Koko tutkimuksen aikana vesilaitokselta lähtevän veden keskimääräinen AOC-pitoisuus oli 159 µg AOC-C/l.

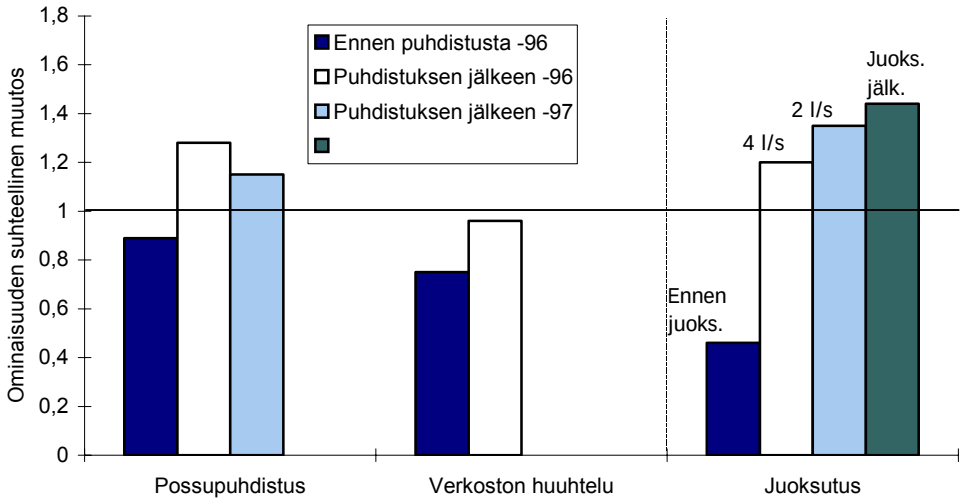
Kun vesilaitokselta lähtevän veden AOC-pitoisuutta verrattiin verkoston viimeisen pisteen AOC-pitoisuuteen, huomattiin, että AOC-pitoisuus laski verkostossa (Kuva 5.1). Kuvassa on yhdistetty esitutkimuksen aikana analysoidut possutus- ja huuhtelutulokset. Koko aineistossa AOC-pitoisuus korreloi negatiivisesti mikrobiologisiin tekijöihin (Taulukko 5.1), tämä johtui lähinnä siitä että mikrobiologiset arvot kasvoivat verkostossa, kun taas AOC-pitoisuus pääasiallisesti laski. Kemiallisista muuttujista AOC korreloi lievästi positiivisesti orgaanisen hiilen kokonaismäärään (r=0.28**). AOC korreloi myös negatiivisesti nitraattiin (r=-0.42***) ja kokonaisfosforiin (r=-0.37**).



Kuva 5.1. Keskimääräinen AOC-pitoisuus vesilaitokselta lähtevässä vedessä ja verkoston viimeisessä pisteessä.

Taulukko 5.1. AOC:n korrelaatio mikrobiologisiin muuttujiin (Spearmanin järjestys-korrelaatio).

		ATP	R2A, 7 vrk	Bakteerien kokonaislukumäärä	Mikrobibiomassan tuotanto
AOC	r	-0.40	-0.27	-0.21	-0.17
	N	145	155	154	147
	p	***	**	**	*



Kuva 5.2. AOC-pitoisuuden muutos verkostossa verrattaessa puhdistettua aluetta puhdista-mattomaan. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus puhdistetulla alueella on yhtä suuri kuin puhdistamattomalla alueella.

Kuvassa 5.2 AOC-pitoisuuden muutos verkostossa on laskettu vertaamalla verkostopistettä puhdistetulla alueella puhdistamattomaan pisteeseen, joka on mahdollisimman lähellä puhdistusaluetta. Näin on voitu laskea suhdeluku, joka kuvaa muutosta verkostossa. Kuvasta nähdään, että AOC:n vähenemä verkostossa muuttuu possupuhdistuksen jälkeen pitoisuuden kasvuksi verkostossa. Huuhtelualueilla AOC-pitoisuus edelleen vähenee verkostossa, mutta väheneminen ei ole enää yhtä voimakasta kuin ennen puhdistusta. Myös juoksutusalueella AOC-pitoisuus ennen puhdistusta laskee verkostossa. Juoksutuksen aikana ja sen jälkeen pitoisuudet muuttuvat kasvaviksi samalla verkoston osalla.

Veden orgaanista hiiltä koskeva tulosten tarkasteltu on esitetty seuraavassa luvussa mikrobiologisten tulosten yhteydessä.

6 MIKROBIOLOGISET TUTKIMUKSET

6.1 Mikrobien kokonaislukumäärät ja aktiivisuudet sekä biofilmin muodostuminen

6.1.1 Johdanto

Heterotrofisten bakteerien pitoisuus kuvaa talousveden yleistä mikrobiologista laatua. Talousvesiasetuksessa 461/2000 pesäkeluvulle on asetettu laatusuositus: ei epätavallisia muutoksia. Eri laitosten jakamalla vedellä on oma normaali heterotrofinen pesäkelukutasonsa, jonka perusteella voidaan arvioida vedenkäsittelyn riittävyyttä tai verkostotoimenpiteiden tarpeellisuutta. Pesäkeluvun kasvaminen saattaa aiheutua riittämättömästä desinfioinnista tai häiriöistä puhdistusprosesseissa, varastoinnissa tai jakelussa.

Veden bakteeripitoisuuden tiedetään kasvavan vesijohtoverkostossa. Bakteerikasvuun vaikuttaa mm. talousveden lämpötila, desinfiointiainepitoisuus, veden viipymä ja orgaanisen aineen pitoisuus (Maul ym. 1985, LeChevallier ym. 1991, 1996, Payment ym. 1988). Bakteerit, jotka selviävät desinfiointiainekäsittelyistä, ovat myös jatkossa kestävämpiä desinfiointiaineiden vaikutuksille (Ridgway & Olson 1982, Pernitsky ym. 1995).

Sieniä löytyy yleisesti vesilaitosten käyttämästä raakavedestä ja vesijohtoverkostosta (Niemi ym. 1982, Lahti 1993, Ormerod 1987). Sienten määrää voidaan kuitenkin tehokkaasti vähentää perinteisillä vedenpuhdistustekniikoilla (Rosenzweig & Pipes 1989). Sienet saattavat aiheuttaa veteen makua ja hajua ja niiden esiintymiseen vaikuttaa veden seisominen ja lämpeneminen (Burman 1965).

Vesijohtoverkostossa mikrobit kolonisoivat putkien ja kalusteiden seinämät muodostaen biofilmiä (Block 1992, Block ym. 1993, Keevil ym. 1995, Lund & Ormerod 1995). Biofilmi on aktiivinen kerrostuma mikrobeja ja niiden aineenvaihduntatuotteita sekä seinämälle tarttunutta epäorgaanista ja orgaanista materiaalia. Biofilmin mikrobit kestävät hyvin vähäravinteisia olosuhteita, sillä ne pystyvät sitomaan ravinteita tehokkaammin kuin veden mukana kulkeutuvat bakteerit. Biofilmi on monimuotoinen, ravintovaatimuksiltaan erilaisista bakteereista, sienistä ja alkueläimistä koostunut yhteisö. Biofilmi saattaa tarjota elinmahdollisuudet myös patogeenimikrobeille ja korkeammille eliöille. Irrotessaan putkien seinämiltä, biofilmin mikrobit huonontavat veden hygieenistä laatua. Jotkut biofilmissä kasvavat mikrobit saattavat aiheuttaa veteen hajua tai makua. Biofilmi suojaa sen sisällä kasvavia mikrobeja desinfiointiaineiden vaikutuksilta ja on osallisena putkimateriaalien korroosioon. Biofilmin muodostumiseen vaikuttaa putken laadun ja rakenteen lisäksi mm. veden mikrobiologinen ja fysikaalis-kemiallinen laatu, desinfiointiaineiden määrä ja verkoston hydrauliset olosuhteet.

6.1.2 Menetelmät

Mikrobien lukumäärä

Heterotrofisten bakteerien pesäkeluku määritettiin tryptoni-hiivauute- (TH) ja R2A-alustoilla sekä kolmen että seitsemän vuorokauden inkubaatioajan jälkeen. Sienet määritettiin mallasuutealustalla membraanisuodatusmenetelmää käyttäen. Sienipitoisuutta laskettaessa huomioitiin sekä hiiva- että homepesäkkeet. Vesi- ja saostumanäytteistä eristetyt sienikannat tunnistettiin niiden itiörakenteen perusteella. Tyypilliset, rihmamaiset sädesienet määritettiin näytteen konsentroinnin jälkeen tärkkelys-kaseiinialustalla. Mikrobien kokonaismäärä analysoitiin suoran mikroskooppilaskennan avulla akridiinioranssivärjäyksen jälkeen. Mikroskooppimenetelmällä määritettiin lisäksi mikrobien koko ja laskennallisesti mikrobipitoisuuden ja koon avulla mikrobibiomassan määrä. Koliformibakteerien ja legionellan esiintyvyys tutkittiin saostumanäytteistä selektiiviviljelyin.

Mikrobiaktiivisuus

Mikrobiaktiivisuus vesinäytteistä määritettiin kahdella eri menetelmällä, ATP-pitoisuutena ja mikrobibiomassan tuotantona. Saostumanäytteistä määritettiin vain mikrobibiomassan tuotanto. ATP-pitoisuuteen vaikuttaa sekä mikrobien lukumäärä että niiden fysiologinen aktiivisuus ja siksi ATP-pitoisuutta pidetään aktiivisten mikrobien mittana. ATP-pitoisuus määritettiin lusiini/lusiferaasi-entsyymien tuottamana valon määränä Bio Orbit 1251 luminometrillä 200 kertaisesta näytekonsentraatista. Mikrobibiomassan tuotanto kertoo aktiivisesti jakautuvien solujen lukumäärän näytteessä. Se mitattiin radioleimatun tymidiinin

sitoutumisena solujen DNA:han niiden jakaantumisvaiheessa. Tulos ilmoitetaan sidotun hiilen määränä tiettyä näytetilavuutta ja aikaa kohti.

6.1.3 Tulokset

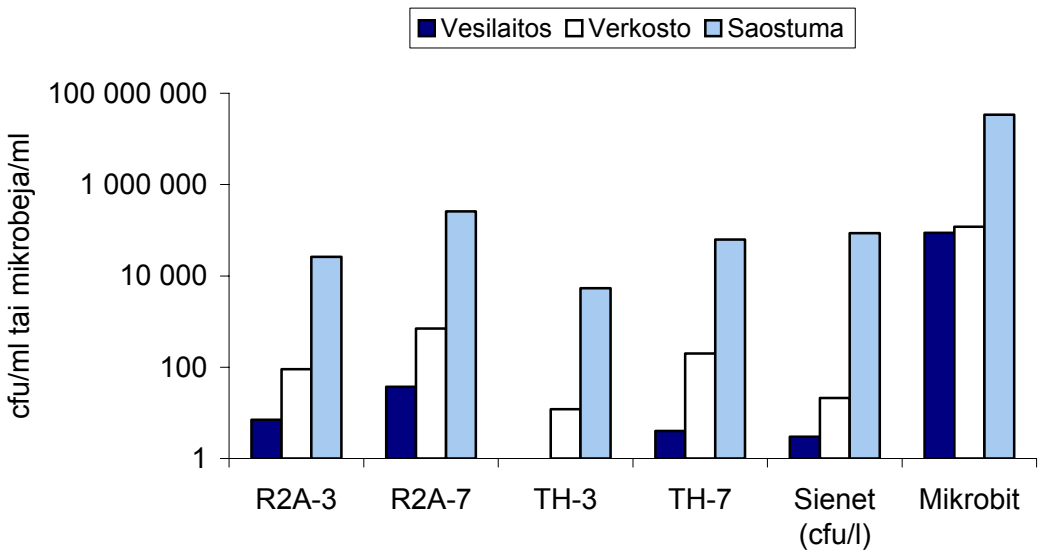
Vesilaitokselta lähtevän veden ja verkostoveden mikrobiologinen laatu

Esitutkimuksen aikana vesilaitokselta lähtevän veden keskimääräinen heterotrofisten bakteerien pitoisuus kolmen vuorokauden jälkeen TH-alustalla oli 1 cfu/ml ja R2A-alustalla 7 cfu/ml (Kuva 6.1.1). TH-alustan bakteeripitoisuus oli enimmillään 160 cfu/ml ja R2A-alustan 760 cfu/ml. Vuotta myöhemmin, 1997 jälkitutkimuksen aikana, heterotrofisten bakteerien keskimääräinen pitoisuus oli pysynyt samana: TH-alustalla pitoisuus oli 2 cfu/ml (maks. 55 cfu/ml) ja R2A-alustalla 6 cfu/ml (maks. 580 cfu/ml).

Vuoden 1996 esitutkimuksen aikana verkostoveden (puhdistusalueella) heterotrofisten bakteerien keskimääräinen pitoisuus TH-alustalla (3 vrk) oli 12 cfu/ml ja R2A-alustalla 90 cfu/ml (Kuva 6.1.1). Bakteeripitoisuus TH-alustalla oli enimmillään 240 cfu/ml ja R2A-alustalla 740 cfu/ml. Inkubointiajan pidentäminen kolmesta vuorokaudesta seitsemään vuorokauteen näkyi molemmilla elatusalustoilla bakteeripitoisuuksien selvänä kasvuna. Heterotrofisten bakteerien määrä oli kaikissa tapauksissa (vesilaitos ja verkosto, 3 ja 7 vrk) korkeampi R2A-alustalla kuin TH-alustalla.

Sieniä löydettiin jokaisesta tutkitusta verkostosta. Vesilaitokselta lähtevän veden keskimääräinen sienipitoisuus oli 3 cfu/l ja verkostoveden sienipitoisuus 21 cfu/l (Kuva 6.1.1). Esitutkimuksen aikana vesilaitokselta lähtevän veden sienipitoisuus oli enimmillään 80 cfu/l ja verkostoveden sienipitoisuus 340 cfu/l. Vedestä tunnistettiin *Acremonium-* ja *Phialophora*–sukuihin kuuluvia sieniä. Tyypillisiä, rihmamaisia sädesieniä esiintyi vain yhdessä näytteessä, 250 cfu/l.

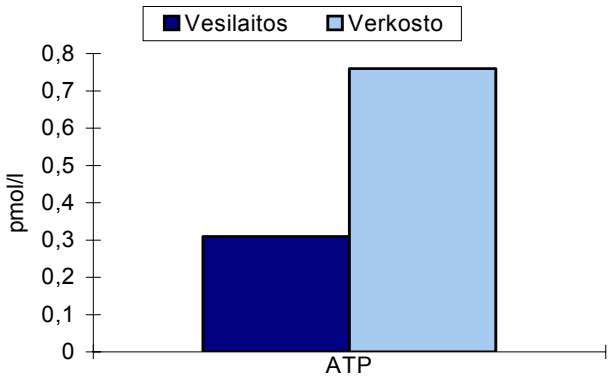
Mikrobien kokonaismäärässä ei havaittu selviä muutoksia vesilaitokselta lähtevän veden ja verkostoveden välillä. Vesilaitokselta lähtevässä vedessä oli keskimäärin 8.8×10^4 mikrobia /ml ja verkostovedessä 1.2×10^5 mikrobia/ml (Kuva 6.1.1).



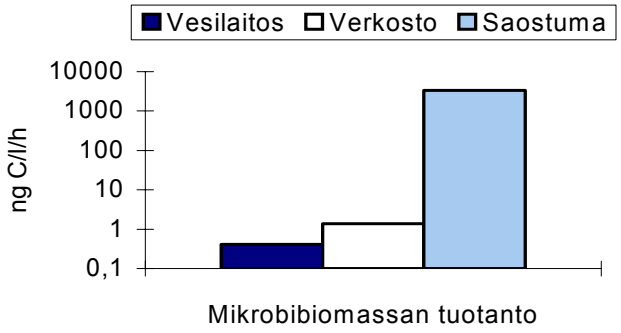
Kuva 6.1.1. Heterotrofisten bakteerien (R2A- ja TH-alustat, 3 ja 7 vrk) ja sienten keskimääräiset pitoisuudet sekä mikrobien kokonaismäärä vesilaitokselta lähtevässä vedessä, verkostovedessä ja saostumassa.

ATP-pitoisuus vesilaitokselta lähtevässä talousvedessä oli esitutkimuksessa keskimäärin 0.31 pmol/l, pienin mitattu arvo oli 0.085 pmol/l ja suurin 138 pmol/l (Kaupunki 8). Verkostossa ATP-pitoisuudet kasvoivat siten, että esitutkimuksessa keskimääräinen ATP-pitoisuus verkostossa oli 0.76 pmol/l (Kuva 6.1.2). Lasketuissa keskiarvoissa ei ole mukana kaupungin 8 näytteet, koska sen tulokset olivat jopa yli 1000 kertaisia muihin kaupunkeihin nähden.

Esitutkimuksessa määritetty mikrobibiomassan keskimääräinen tuotanto kasvoi verkostossa arvosta 0.41 ng C/l/h arvoon 1.37 ng C/l/h (Kuva 6.1.3). Huomattavaa oli, että useissa tapauksissa vesilaitoksilta lähtevän veden mikrobibiomassan tuotanto oli alle määritysrajan.



Kuva 6.1.2. Keskimääräinen ATP-pitoisuus vesilaitokselta lähtevässä vedessä ja verkostovedessä esitutkimuksen aikana.



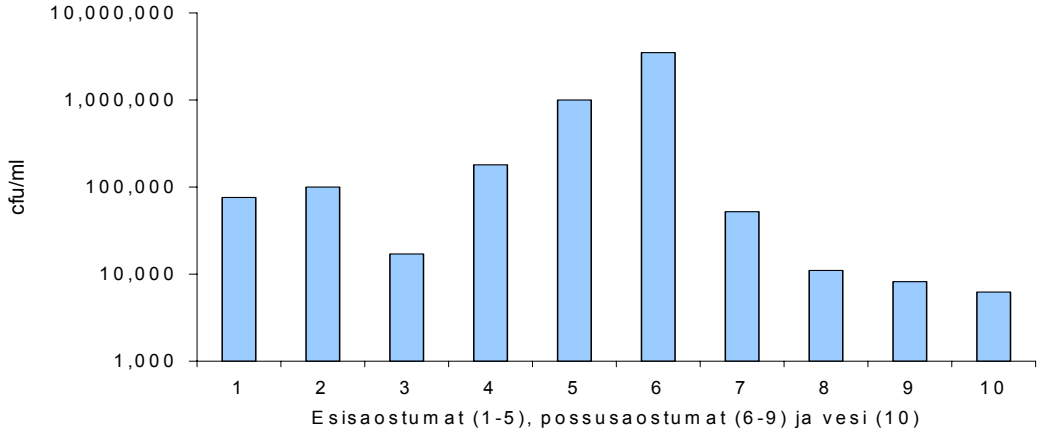
Kuva 6.1.3. Keskimääräinen mikrobibiomassan tuotanto vesilaitokselta lähtevässä vedessä, verkostovedessä ja saostumassa esitutkimuksen aikana.

Saostuman mikrobiologinen laatu

Saostumassa bakteeri- ja sienipitoisuudet sekä mikrobien kokonaismäärä olivat useita kertaluokkia suuremmat kuin vedessä (Kuva 6.1.1). Saostuman heterotrofisten bakteerien keskimääräiset pitoisuudet vaihtelivat välillä 5.4 x 10^3 ja 2.7 x 10^5 cfu/ml elatusalustasta ja inkubointiajasta riippuen. Yksittäisen saostuman bakteerimäärä oli suurimmillaan 1.3 x 10^7 cfu/ml (R2A, 7 vrk). Myös sieniä esiintyi yleisesti saostumanäytteissä. Sienipitoisuus vaihteli välillä 1.5 x 10^3 ja 5.0 x 10^6 cfu/l (Kuva 6.1.1). Saostumista ja saostumanäytteitä edeltävistä näytteistä löydettiin *Penicillium-, Phialophra-, Cladosporium-* ja *Acremonium*-sukuihin kuuluvia sieniä. Rihmamaisia sädesieniä löydettiin varsin yleisesti saostumanäytteistä. Saostumien sädesienipitoisuudet vaihtelivat välillä 83 ja 4.4 x 10^5 cfu/l.

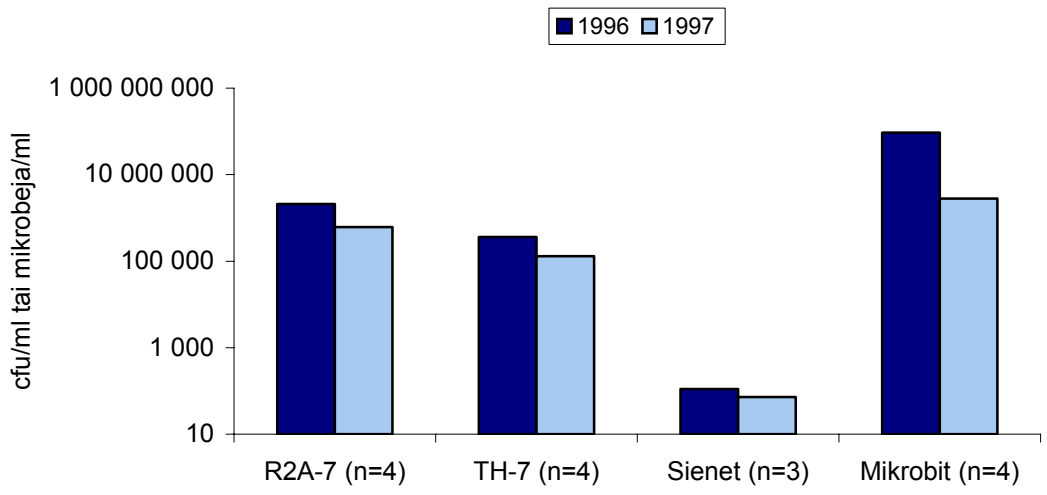
Joistakin saostumanäyteistä löydettiin kvalitatiivisilla testeillä koliformibakteereja. Legionelloja ei sen sijaan löydetty yhdestäkään saostumanäytteestä.

Possupuhdistuksessa suurimmat heterotrofisten bakteerien pitoisuudet olivat ensimmäisten possujen mukanaan tuomissa saostumissa (Kuva 6.1.4). Näissä näytteissä myös kuivapainon osuus oli suurin. Possupuhdistuksen edetessä saostumien bakteeripitoisuudet ja kuivapaino laskivat. Saostumien jälkeisen veden bakteeripitoisuudet olivat useimmiten pienempiä kuin puhdistuksen alussa. Saostumanäytteiden sienipitoisuudet ja mikrobien kokonaismäärä noudattivat vastaavanlaista jakaumaa kuin heterotrofiset bakteerit kuvassa 6.1.4.

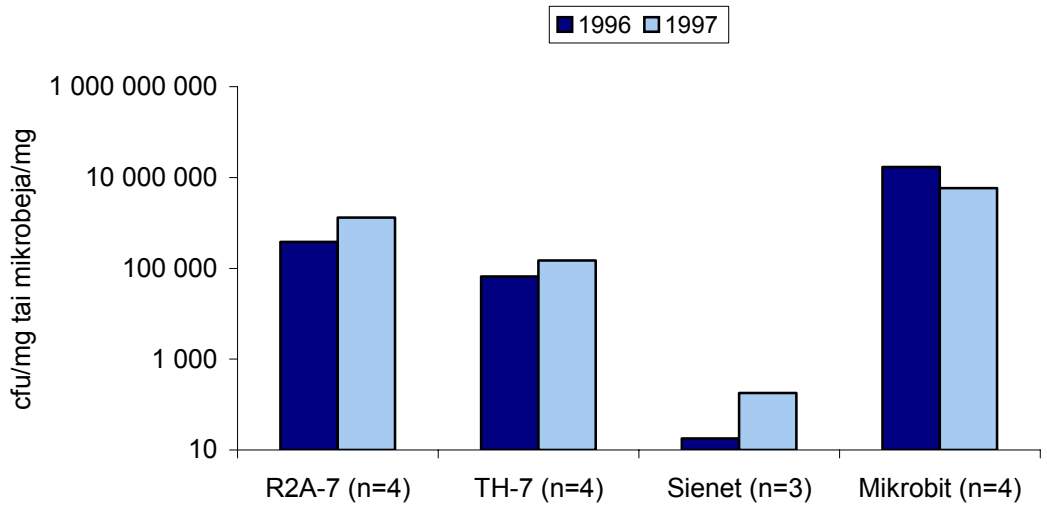


Kuva 6.1.4. Heterotrofisten bakteerien pitoisuus (R2A, 7 vrk) erään possupuhdistuksen yhteydessä otetuissa vesi- ja saostumanäytteissä.

Saostumanäytteitä kerättiin yhdentoista possupuhdistuksen yhteydessä vuoden 1996 tutkimusjakson aikana. Useimmat linjat possupuhdistettiin vain kerran, mutta kaupungeissa 1, 2, 4 ja 8 sama verkoston osa possupuhdistettiin sekä vuonna 1996 että vuonna 1997. Possupuhdistuksen yhteydessä otettujen saostumanäytteiden mikrobiologista laatua on tarkasteltu saostuman tilavuutta (ml) ja painoa (mg) kohti (Kuvat 6.1.5 ja 6.1.6). Toisen vuoden saostumassa sekä bakteerien että sienien määrä tilavuusyksikköä kohti laskettuna oli hieman pienempi kuin ensimmäisen vuoden saostumassa (Kuva 6.1.5). Toisena vuonna saostuman kuivapaino oli huomattavasti pienempi kuin ensimmäisenä vuonna. Tämän vuoksi bakteerien ja sienten määrä saostuman painoyksikköä kohti laskettuna oli toisena vuonna ensimmäisen vuoden tuloksia suurempi (Kuva 6.1.6). Ainoastaan toisen vuoden mikrobien kokonaismäärä oli myös painoyksikköä kohti laskettuna ensimmäisen vuoden tulosta pienempi.



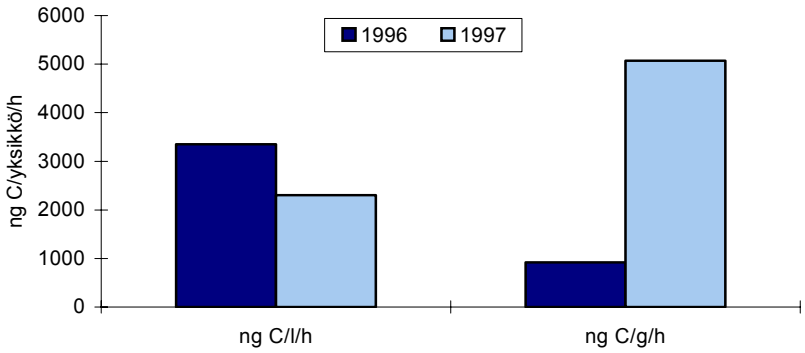
Kuva 6.1.5. Vesi-saostuma-seoksen mikrobiologinen laatu vuosina 1996 ja 1997.



Kuva 6.1.6. Kuivan sakan mikrobiologinen laatu vuosina 1996 ja 1997.

Mikrobibiomassan tuotanto oli saostumissa monituhatkertainen vesinäytteiden tuotantoaktiivisuuksiin verrattuna, ensimmäisellä kierroksella otettujen alkuperäisten saostumien keskimääräinen tuotanto oli 3 300 ng C/l/h (Kuva 6.1.3). Saostumanäytteet otettiin neljällä paikkakunnalla uudestaan vuoden kuluttua ensimmäisistä näytteistä, jolloin verrattiin sakkojen koostumusta ensimmäisiin sakkanäytteisiin. Mikrobibiomassan aktiivisuus määritettiin sekä vesi-sakkaseoksen tilavuutta kohti että sakan kuivapainoa kohti. Vesi-sakkaseoksen tilavuutta kohti määritettynä toisen vuoden saostumassa mikrobibiomassan tuotanto oli laskenut n. 30 %. Kun tilannetta tarkasteltiin biomassan tuotantona saostuman

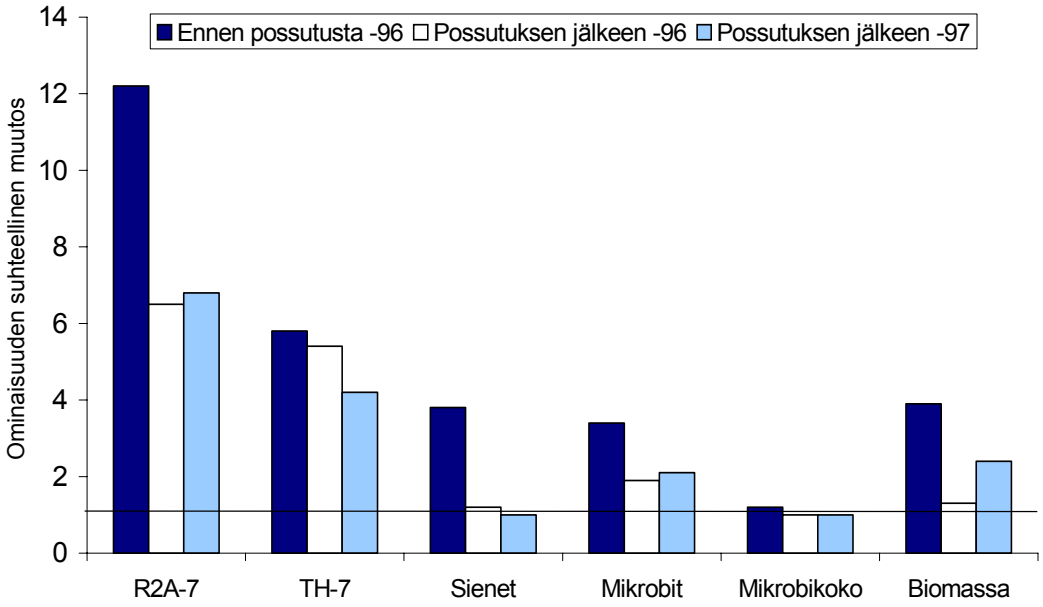
kuivapainoa kohti, muuttui tilanne täysin päinvastaiseksi, mikrobibiomassan tuotanto oli kasvanut 5.5 kertaiseksi kuivapainoa kohti. Siis vuoden vanha tuore saostuma oli kuivapainopitoisuudeltaan pienempi mutta toisaalta määräänsä nähden aktiivisempi kuin vanha sakka (Kuva 6.1.7).



Kuva 6.1.7. Saostuman mikrobibiomassan tuotanto vesi-saostuma-seoksen tilavuutta ja kuivapainoa kohti.

Possupuhdistuksen, huuhtelun ja juoksutuksen vaikutus verkostoveden mikrobiologiseen laatuun

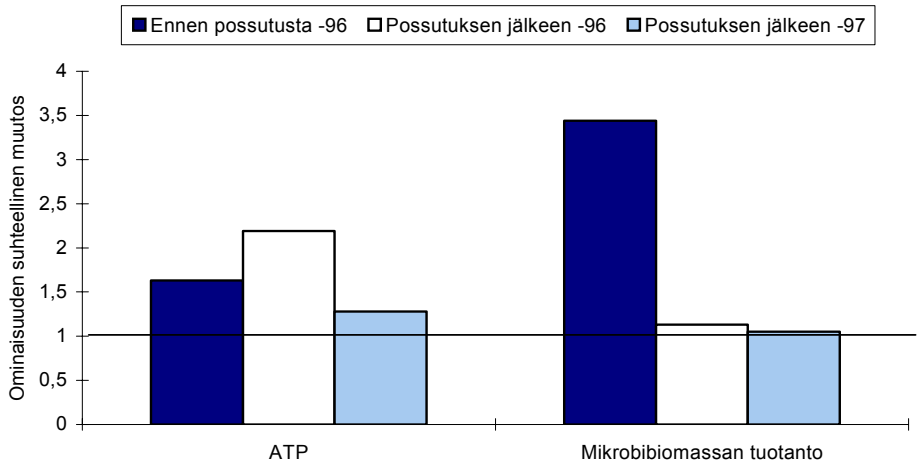
Verkostoveden mikrobiologista laatua seurattiin eri puolilta verkostoa otetuin näyttein ennen possupuhdistusta ja puhdistuksen jälkeen. Kuvassa 6.1.8 on verrattu possutetun alueen verkostoveden mikrobiologista laatua saman linjan possuttamattoman alueen mikrobiologiseen laatuun. Ennen possupuhdistusta verkostoveden heterotrofisten bakteerien pitoisuus R2A-alustalla oli verkoston loppuosassa keskimäärin 12 kertaa suurempi kuin saman linjan edellisessä pisteessä. Puhdistuksen jälkeen possutetun alueen bakteeripitoisuus laski suhteessa possuttamattoman alueen bakteeripitoisuuteen, toisin sanoen possutuksen jälkeen bakteeripitoisuuden kasvu tutkimusalueella oli puolet pienempää kuin ennen possutusta (12-kertainen kasvu vs. 6-kertainen kasvu). Toimenpiteen vaikutus näkyi vielä vuoden kuluttua, jolloin possutetun alueen bakteerikasvu oli säilynyt samansuuruisena linjan possuttamattomaan alueeseen verrattuna. Possupuhdistus laski myös sienten määrää ja mikrobien kokonaismäärää. Possutuksen jälkeen sienipitoisuuksissa ei havaittu kasvua verkoston loppuosaan mentäessä (kasvun muutos ≈ 1). Mikrobien kokoon possu-puhdistuksella ei ollut vaikutusta.



Kuva 6.1.8. Possupuhdistuksen (n = 4–8) vaikutus verkostoveden bakteeri- ja sieni-pitoisuuksien, mikrobien kokonaismäärän, mikrobikoon ja biomassan kasvuun verkostossa. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus ja mikrobikoko possutetulla alueella on yhtä suuri kuin possuttamattomalla alueella.

ATP-pitoisuuden osalta possupuhdistuksen tulos ei ollut aivan selvä. Possutuksen jälkeen ATP-pitoisuus verkostossa nousi enemmän kuin ennen possutusta samalla verkoston osuudella, vuoden päästä tehdyssä seurannassa ATP-pitoisuuden kasvu verkostossa taas oli laskenut alhaisemmalle tasolle kuin ennen possutusta (Kuva 6.1.9).

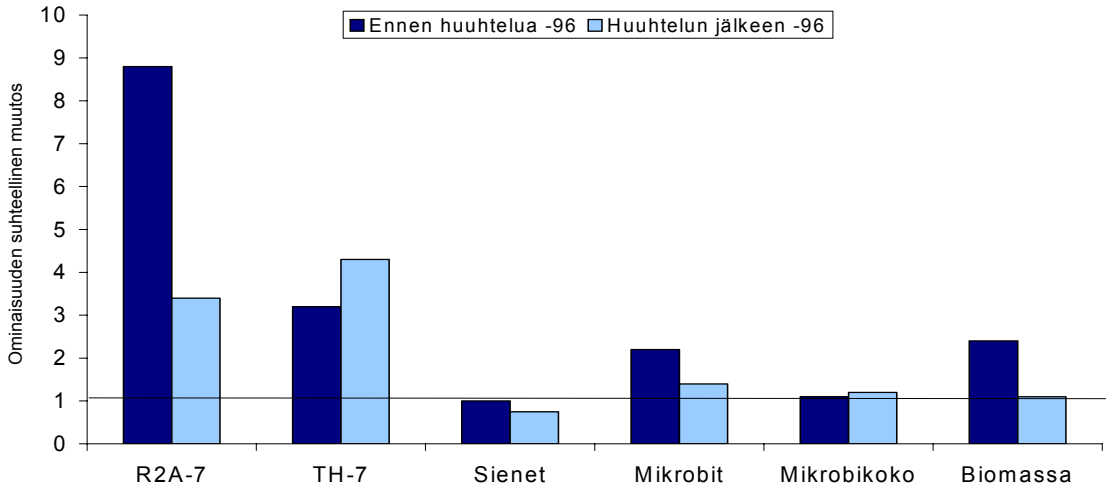
Possupuhdistuksen vaikutus mikrobibiomassan tuotantoon oli yhteneväinen muiden mikrobiologisten muuttujien kanssa. Ennen puhdistusta mikrobibiomassan tuotanto kasvoi verkoston loppuosassa keskimäärin 2.3 kertaa suuremmaksi possutusalueella verrattuna linjan edelliseen pisteeseen. Possutuksen jälkeen kasvu oli enää 1.1 kertainen, vuoden päästä puhdistuksesta oli tilanne pysynyt suunnilleen samana kuin heti possutuksen jälkeen (Kuva 6.1.9).



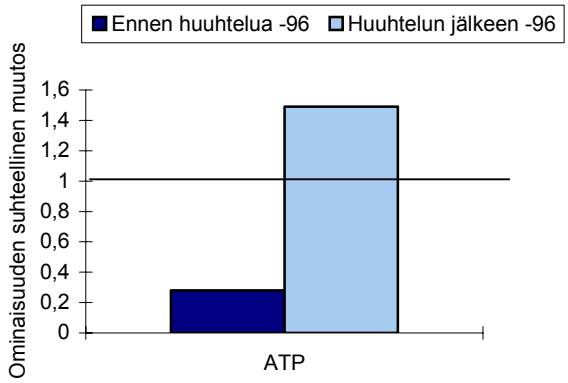
Kuva 6.1.9. Possupuhdistuksen vaikutus verkostoveden ATP-pitoisuuden ja mikrobi-biomassan tuotannon kasvuun verkostossa. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus possutetulla alueella on yhtä suuri kuin possuttamattomalla alueella.

Huuhtelun vaikutuksia seurattiin neljässä tutkimuskohteessa. Huuhtelu laski selvimmin verkoston bakteeripitoisuuksia (R2A-alusta) (Kuva 6.1.10). Ennen huuhtelua verkoston loppupään bakteeripitoisuus kasvoi yhdeksänkertaiseksi mutta huuhtelun jälkeen kolminkertaiseksi. Myös mikrobien kokonaismäärä ja biomassa laskivat huuhtelun seurauksena. Muissa muuttujissa ei havaittu yhtä selvää, huuhtelun vaikutuksesta aiheutunutta muutosta.

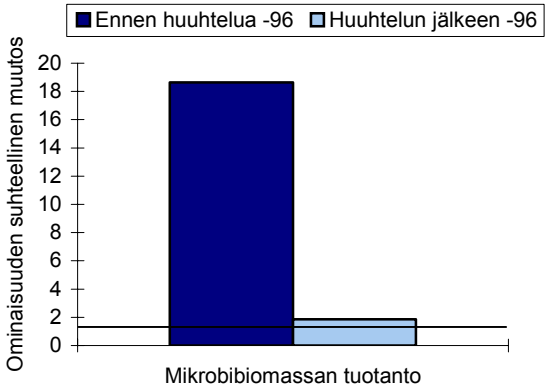
Huuhtelu ei laskenut ATP-pitoisuutta. Huuhtelun jälkeen ATP-pitoisuus verkostossa kasvoi enemmän kuin ennen huuhtelua (Kuva 6.1.11). Tämä tulos on yhteneväinen possupuhdistuksen vaikutuksen kanssa. Verkoston huuhtelun jälkeen mikrobit muuttuivat aktiivisemmiksi, ne tuottivat enemmän ATP:ta solua kohti kuin ennen huuhtelua. Tällainen spesifinen aktiivisuuden kasvu ei ollut yhtä selkeätä possupuhdistuksen jälkeen. Mikrobibiomassan tuotannon osalta huuhtelu oli tehokas, biomassan tuotannon kasvu ei ollut enää läheskään yhtä suurta huuhtelun jälkeen kuin ennen sitä (Kuva 6.1.12).



Kuva 6.1.10. Huuhtelun (n = 2-4) vaikutus verkostoveden bakteeri- ja sienipitoisuuksien, mikrobien kokonaismäärän, mikrobikoon ja biomassan kasvuun verkostossa. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus huuhtelualueella on yhtä suuri kuin huuhtelemattomalla alueella.

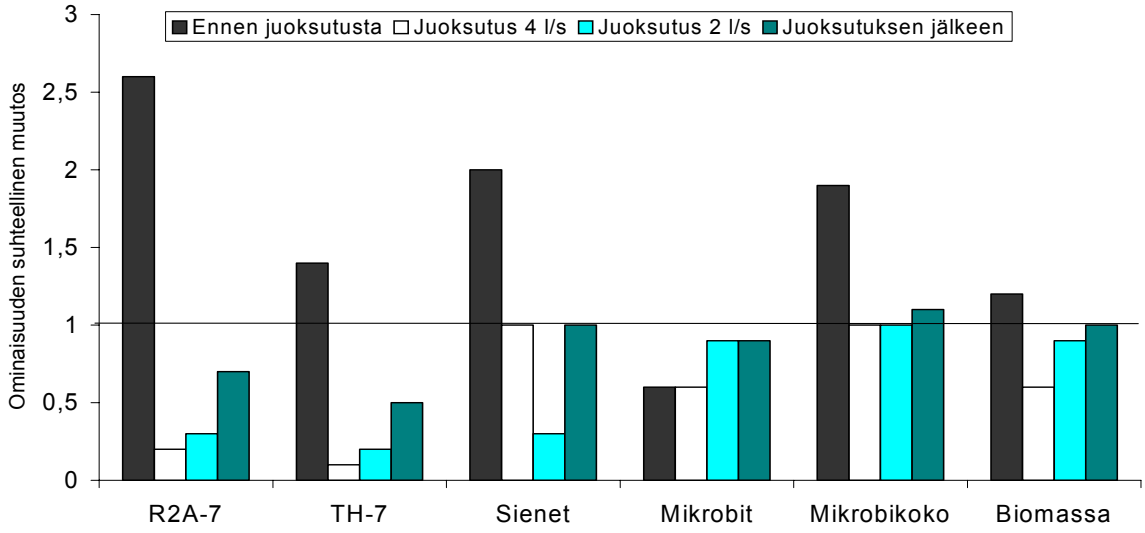


Kuva 6.1.11. Huuhtelun vaikutus verkostoveden ATP-pitoisuuteen. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus huuhtelualueella on yhtä suuri kuin huuhtelemattomalla alueella.



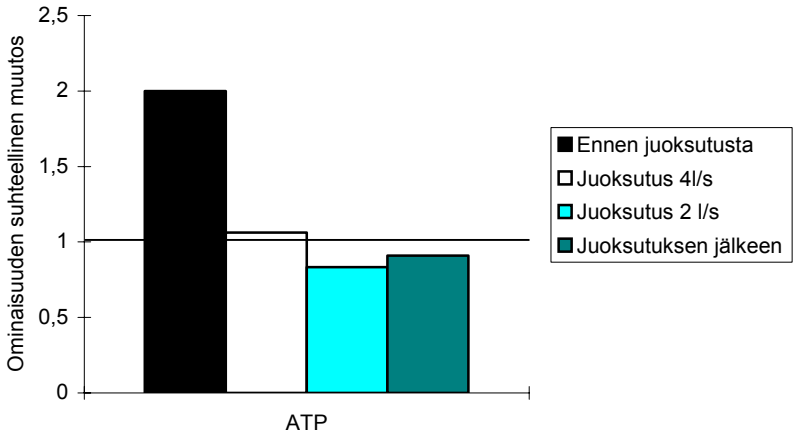
Kuva 6.1.12. Huuhtelun vaikutus verkostoveden mikrobibiomassan tuotantoon. Viiva kuvaa tason, jossa biomassan tuotanto huuhtelualueella on yhtä suuri kuin huuhtelemattomalla alueella.

Veden juoksutusta selvitettiin yhden kaupungin vesijohtoverkostossa. Juoksutus laski selvimmin tutkimusalueen bakteeripitoisuuksia (Kuva 6.1.13). Juoksutetun veden määrän laskeminen neljästä kahteen l/s kohotti lievästi verkostoveden bakteeripitoisuutta, mikrobien kokonaismäärää ja biomassan määrää. Juoksutuksen aikana ja heti sen jälkeen alueen bakteeripitoisuudet olivat kuitenkin alhaisemmat (kasvu < 1) kuin saman linjan juoksuttamattomalla alueella. Juoksutuksen jälkeen bakteeri- ja sienipitoisuudet alkoivat jälleen kohota.

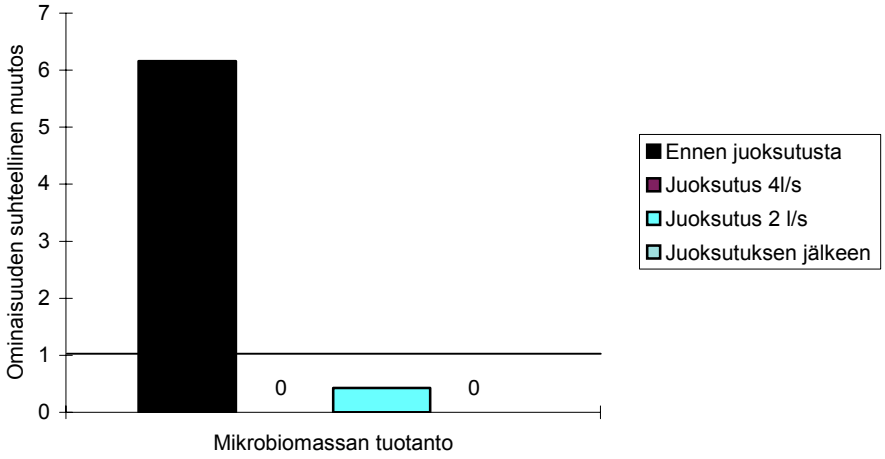


Kuva 6.1.13. Juoksutuksen (n = 1) vaikutus verkostoveden bakteeri- ja sienipitoisuuksien, mikrobien kokonaismäärän, mikrobikoon ja biomassan kasvuun verkostossa. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus juoksutusalueella on yhtä suuri kuin juoksuttamattomalla alueella.

Myös ATP-pitoisuus ja mikrobibiomassan tuotanto laskivat vettä juoksutettaessa, pitoisuuden ja tuotannon lasku jatkuivat vähennettäessä juoksutettavan veden määrää ja tilanne jäi alhaisemmaksi alkutilanteeseen nähden juoksutuksen loputtuakin (Kuvat 6.1.14 ja 6.1.15).



Kuva 6.1.14. Juoksutuksen (n = 1) vaikutus verkostoveden ATP-pitoisuuteen. Viiva kuvaa tason, jossa pitoisuus juoksutusalueella on yhtä suuri kuin juoksuttamattomalla alueella.

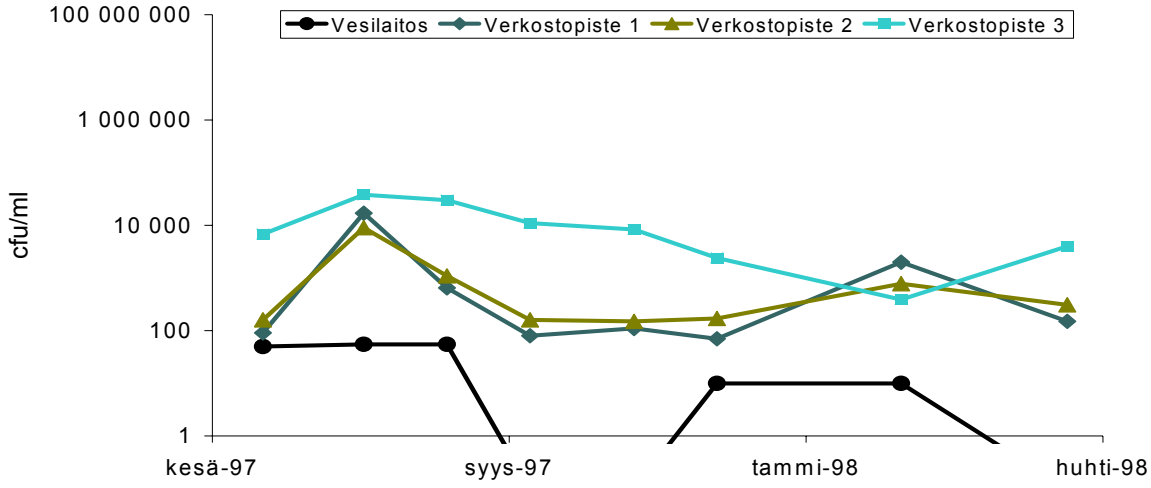


Kuva 6.1.15. Juoksutuksen (n = 1) vaikutus verkostovedenmikrobibiomassan tuotantoon. Viiva kuvaa tason, jossa biomassan tuotanto juoksutusalueella on yhtä suuri kuin juoksuttamattomalla alueella.

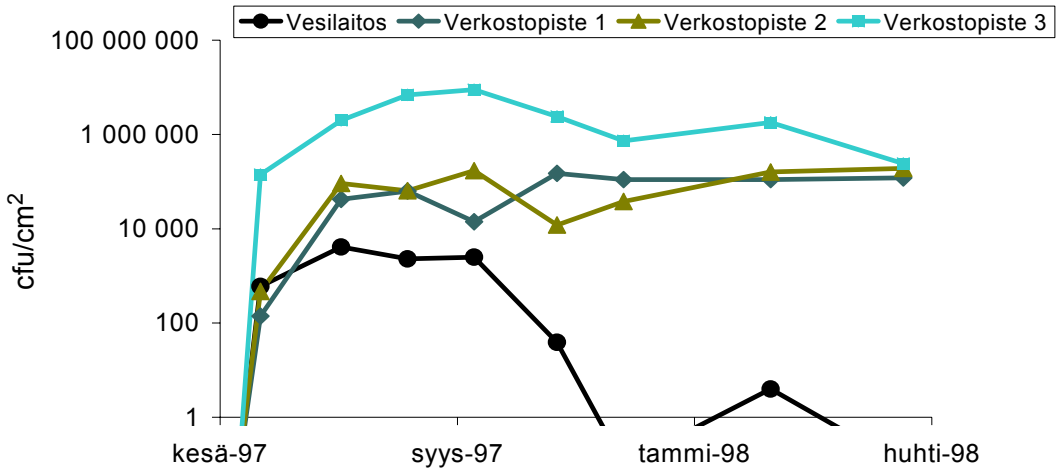
Biofilmin muodostuminen

Biofilmin muodostumista uuden PVC-putken pinnalle tutkittiin kaupunkien 1, 2, 7 ja 8 vesijohtoverkostoissa. Samalla seurattiin tutkimuspisteiden veden laatua. Pääsääntöisesti verkostoveden bakteeripitoisuudet kasvoivat veden iän kasvaessa (Kuva 6.1.16).

Biofilmin kehittyminen putken pinnalle oli nopeaa. Esimerkkitapauksessa biofilmin korkein bakteeritaso saavutettiin noin kuukauden kuluttua tutkimuksen käynnistymisestä (Kuva 6.1.17). Vesilaitoksella biofilmin bakteeritaso oli enimmillään 10^3 cfu/cm^2. Vesilaitoksella biofilmin bakteeripitoisuus väheni loppusyksyllä mutta verkoston biofilmibakteerien määrä pysyi samalla tasolla, johon se oli kehittynyt ensimmäisten kuukausien aikana tutkimuksen käynnistymisestä. Muissakin tutkimuskohteissa biofilmi kehittyi erittäin nopeasti putken seinämälle. Enimmillään biofilmin bakteeripitoisuus kohosi tasolle 10^7 cfu/cm^2. Biofilmikohteissa veden lämpötila vaihteli välillä 3.5 ja 22.5 ^{o}C.



Kuva 6.1.16. Kaupungin 1B vesilaitokselta lähtevän veden ja verkostoveden bakteeripitoisuus (R2A, 7 vrk) eri tutkimuspisteissä kesäkuun 1997 ja maaliskuun 1998 välisenä aikana.



Kuva 6.1.17. Biofilmin kehittyminen (R2A, 7 vrk) PVC-putkien pinnalle kaupungin 1B vesilaitoksella ja verkoston eri tutkimuspisteissä kesäkuun 1997 ja maaliskuun 1998 välisenä aikana.

Kaupungeissa 1, 2 ja 7 sieniä tavattiin harvoin vesilaitokselta lähtevässä vedessä. Verkostossa sen sijaan sieniä tavattiin useammin ja pitoisuudet olivat suurempia kuin vesilaitoksella. Sieniä esiintyi useammin vedessä kuin saman kohteen biofilminäytteessä. Suurin sienipitoisuus vedessä oli 8,0 x 10^3 cfu/l ja biofilmissä 310 cfu/cm^2. Poikkeuksen muodosti kaupunki 8, jossa sieniä löydettiin toistuvasti sekä vesilaitoksen että verkoston vesi- ja biofilminäytteistä.

Kaupungissa 1 rihmamaisia sädesieniä löydettiin yhdestä vesi- (10 cfu/l) ja biofilminäytteestä (4 cfu/cm^2). Kaupunkien 2 ja 7 tutkimuspisteistä sädesieniä ei löydetty lainkaan, mutta sen sijaan toistuvasti kaupungin 8B biofilminäytteistä. Näiden biofilminäytteiden suurin sädesienipitoisuus oli 3,9 x 10^3 cfu/cm^2.

Talousveden laadun vaikutus mikrobikasvuun ja biofilmin muodostumiseen

Verkostoveden ikä korreloi positiivisesti bakteeripitoisuuksien kanssa: mitä vanhempaa vettä, sen korkeampi bakteeripitoisuus (Taulukko 6.1.1). Veden ikääntyessä myös sen sameus ja rautapitoisuus kohosivat. Sameuden ja rautapitoisuuden ja veden bakteeripitoisuuden välillä olikin positiivinen korrelaatio. Myös sienipitoisuus korreloi positiivisesti veden sameuden kanssa. Veden bakteeri- ja sienipitoisuudet nousivat veden mangaanipitoisuuden kohotessa.

Veden bakteeri- ja sienipitoisuudet korreloivat negatiivisesti veden klooripitoisuuden, AOC:n ja happipitoisuuden kanssa. Merkittävä korrelaatio löytyi myös veden kokonaisfosforin ja mikrobiologisten muuttujien välille (ATP r=0.67***, R2A 3 vrk r=0.51***, TH 3 vrk r=0.36**, bakteerien kokonaislukumäärä r=0.49*** ja biomassa r=0.44**). Veden sisältämällä orgaanisen hiilen kokonaismäärällä ja lämpötilalla ei ollut selvää vaikutusta mikrobipitoisuuksiin. Veden bakteeri- ja sienipitoisuudet korreloivat positiivisesti keskenään sekä myös muiden mikrobiologisten muuttujien kanssa.

Taulukko 6.1.1. Veden mikrobiologisten ja fysikaalis-kemiallisten tekijöiden väliset korrelaatiot (Spearmanin järjestyskorrelaatio).

	R2A-7	TH-7	Sienet
R2A-7	-	0.75 ***	0.36 ***
TH-7	0.75 ***	-	0.27 ***
Sienet	0.36 ***	0.27 ***	-
Veden ikä	0.47 ***	0.47 ***	0.09
Sameus	0.40 ***	0.30 ***	0.30 ***
Rautapitoisuus	0.45 ***	0.53 ***	0.06
Mangaanipitoisuus	0.46 ***	0.33 **	0.36 ***
Kokonaisfosfori	0.35 **	0.16	0.48 ***
Klooripitoisuus	-0.72 ***	-0.50 ***	-0.40 ***
Happipitoisuus	-0.20 *	-0.02	-0.35 ***
AOC	-0.27 **	-0.06	-0.41 ***
NPOC	0.08	0.07	0.05
Lämpötila	0.03	-0.05	-0.17 *

6.1.4 Tulosten tarkastelua

Veden iällä on suuri merkitys mikrobipitoisuuksiin vesijohtoverkostossa. Veden ikääntyessä sen klooripitoisuus laskee, mikä johtaa mikrobien jälkikasvuun verkostossa. Mikrobikasvun voimistuminen näkyi varsinkin vesijohtoverkoston loppuosissa, joissa veden klooripitoisuus oli laskenut alhaiselle tasolle. Viljeltäviin bakteereihin, mikrobibiomassan tuotantoon ja sieniin klooripitoisuudella on vaikutusta, mutta mikrobien kokonaismäärässä kloorin vaikutus ei näy. Tämä johtuu siitä, että mikrobien kokonaismäärä kuvaa sekä elävien että vaurioituneiden ja kuolleiden mikrobien määrän. Joissakin verkostoissa veden lämpötila nousi yli 15°C:n, minkä on katsottu merkittävästi kiihdyttävän bakteerikasvua (LeChevallier ym. 1991, 1996). Tässä tutkimuksessa verkostoveden bakteeri- ja sienipitoisuudet olivat keskimäärin 10-100-kertaiset vesilaitokselta lähtevän veden pitoisuuksiin verrattuna. Aikaisemmissa tutkimuksissa

pitoisuuksien on raportoitu kasvavan jopa 100-1000-kertaiseksi verkostossa (Payment ym. 1988, Reasoner ym. 1989).

Ravinteilla on tärkeä merkitys mikrobikasvuun. Useimmissa kansainvälisissä tutkimuksissa on todettu hyödynnettävissä olevan hiilen (AOC) merkitys mikrobikasvuun. Tässä tutkimuksessa mikrobipitoisuudet ja AOC korreloivat negatiivisesti. Verkoston mikrobipitoisuuksien kasvaessa AOC:n määrä väheni eli mikrobit käyttivät AOC:n omaan kasvuunsa. Myös aikaisemmissa tutkimuksissa on todettu AOC:n vähenemisen verkostossa liittyvän mikrobien aiheuttamaan kulutukseen (van der Kooij ym. 1992). Verkoston puhdistuksen jälkeinen AOC-hiilen kulutuksen lasku verkostossa johtui vähentyneestä mikrobiologisesta toiminnasta. Joillakin paikkakunnilla havaittu puhdistusten jälkeinen AOC-pitoisuuden kasvu verkostossa taas johtui todennäköisesti puhdistusten yhteydessä saostumista vapautuneista orgaanisista yhdisteistä. Veden kokonaisfosforipitoisuus sen sijaan korreloi positiivisesti lähes kaikkien mikrobiologisten muuttujien kanssa. Tämä kertoo siitä, että myös fosforipitoisuus vaikuttaa mikrobipitoisuuksiin verkostossa.

Putkien seinämille kehittyi nopeasti aktiivinen biofilmikerros. Tämä havainto todettiin sekä vanhojen putkien possupuhdistusten yhteydessä että uusissa biofilmikeräimissä. Biofilmi voi olla hyvä suojapaikka patogeeneille, joita normaalisti ei vedestä löydetä. Tässäkin tutkimuksessa löydettiin muutamista saostumanäytteistä koliformisia bakteereita, vaikka vesinäytteistä ei näitä bakteereita löydettykään. Biofilmin mikrobit sietävät korkeampia desinfiointiainepitoisuuksia kuin vapaan veden mikrobit (LeChevallier ym. 1988a). Biofilmin torjumiseen vaaditaankin moninkertaiset desinfiointiainepitoisuudet vapaan veden bakteeritorjuntaan verrattuna. On todettu, että vapaa kloori tehoaa hyvin veden mikrobeihin, kun taas klooriamiini tunkeutuu paremmin biofilmeihin (LeChevallier ym. 1988b).

Verkostoveden sienipitoisuudet ovat rinnastettavissa aikaisempiin verkostotutkimuksiin (Rosenzweig ym. 1986, Ormerod 1987, Augoustinos 1995). Myös vedestä ja saostumista identifioituja sienisukuja on aiemmin tavattu talousvesistä (Nagy & Olson 1982, Rosenzweig ym. 1986, Augoustinos 1995). Tässä tutkimuksessa käytettyjen desinfiointiainepitoisuuksien todettiin korreloivan negatiivisesti sienipitoisuuksien kanssa. Sieni-itiöt sietävät kuitenkin kohtalaisia desinfiointiainepitoisuuksia (Rosenzweig ym. 1983). Sieniä on löydetty biofilmeistä, joissa home- ja hiivasienten pitoisuudet ovat olleet enimmillään 20 cfu/cm^2 ja 560 cfu/cm^2 ja veden klooripitoisuus välillä 0.1 ja 0.9 mg/l (Nagy & Olson 1985).

Kaikilla testatuilla toimenpiteillä (possupuhdistus, huuhtelu, juoksutus) näytti olevan verkoston mikrobipitoisuuksia alentava vaikutus. Possupuhdistus oli ainoa toimenpide, jonka vaikutuksia seurattiin myös seuraavana vuonna. Todennäköisesti huuhtelun ja juoksutuksen vaikutukset

ovat possupuhdistusta lyhytaikaisempia eivätkä olisi enää näkyneet toisena vuonna. Possupuhdistus poistaa verkostoon kertyneet, helposti irtoavat saostumat. Tutkimuksen mukaan jo vuoden aikana putkien seinämille kertyy kuitenkin lähes yhtä runsas ja aktiivinen biofilmikerros. Tämä ei kuitenkaan vielä silloin välttämättä näy veden laadun heikkenemisenä. Tuore biofilmi on todennäköisesti varsin tiivis, joten siitä ei irtoa veteen mikrobeja niin paljon kuin vanhemmasta ja paksummasta biofilmistä.

6.2 Nitrifikaatiobakteerit

6.2.1 Johdanto

Nitrifikaatiobakteereiden tutkiminen vesijohtoverkostosta sai alkunsa siitä, että joillakin yksittäisillä vesilaitoksilla oli esiintynyt nitriitin kertymistä juomaveteen. Nitriitin aiheuttamat terveysriskit kohdistuvat imeväisikäisiin lapsiin, joilla nitriitti voi aiheuttaa häiriötä veren punasolujen happiaineenvaihduntaan, ns. methemo-globinemian. Lisäksi nitriitti voi muodostaa reagoidessaan sekundääriamiinien kanssa nitrosoamiineita, jotka puolestaan ovat karsinogeenisia, syöpää aiheuttavia yhdisteitä (Wolfe ym. 1988). Nitriittiä voi kertyä vesijohtoverkostoon mikrobiologisesti epätäydellisessä nitrifikaatioprosessissa tai nitraattipitoisen veden pelkistyessä hapettomissa olosuhteissa. Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää perustiedot mahdollisesta nitrifikaatioprosessista vesijohtoverkostossa.

Nitrifikaatio on mikrobiologinen prosessi, jossa ammonium hapettuu nitriitin kautta nitraatiksi (Belser 1979, Focht & Verstraete 1977):

$$NH_4^+ \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$$

Nitrifikaatioon osallistuu kahdenlaisia bakteereita, ammoniumin (NH_4^+) hapettajia ja nitriitin (NO_2^-) hapettajia. Nitrifikaatiobakteerit ovat aerobisia kemolitotrofisia bakteereita, jotka saavat energiansa epäorgaanisten yhdisteiden hapetuksesta ja tarvitsemansa hiilen hiilidioksidista kasvien tavoin. Nitrifikaatiolla on keskeinen osa luonnon typen kiertokulussa ja se on välttämätön ravinnekiertojen ja ilman typpikehän ylläpitämisessä. Nitrifikaatioon liittyy kuitenkin myös merkittäviä ympäristöongelmia.

6.2.2 Menetelmät

Nitrifikaatiobakteereiden lukumäärä määritettiin vesi-, saostuma- ja biofilminäytteistä most probable number (MPN) –tekniikalla. Lukumäärän lisäksi selvitettiin bakteereiden

toimintakykyä eli aktiivisuutta. Nitrifikaatioaktiivisuus määritettiin saostumanäytteistä kasvatuskokeilla, joissa ammoniumin hapettajien kasvatuksista mitattiin nitriitin ja nitraatin muodostumista ja nitriitin hapettajien kasvatuksista nitriitin kulumista alustasta. Sekä lukumäärä- että nitrifikaatioaktiivisuusmäärityksissä oli molemmille bakteereille omat erikoisalustansa.

6.2.3 Tulokset

Nitrifikaatiobakteerit vesilaitos- ja verkostovedessä

Nitrifikaatiobakteereiden pitoisuuksien tarkastelussa vesilaitos- ja verkostovedessä on aineisto jaettu ryhmiin klooraukseen mukaan. Klooraus-sarakkeessa käsittelemätön tarkoittaa klooraamatonta vettä, kloorattu kloorikaasulla/hypokloriitilla desinfioitua vettä ja klooriamiini klooriamiinilla desinfioitua vettä. Veden käsittelyssä on myös voinut olla aktiivihiilisuodatusta ja/tai otsonointia mukana.

Kun tarkasteltiin nitrifikaatiobakteereiden pitoisuuksia vesilaitos- ja verkostovedessä ennen mitään puhdistustoimia, havaittiin, että klooraus vaikutti nitrifikaatiobakteereiden pitoisuuksiin vesilaitokselta lähtevässä vedessä. Yhtä poikkeusta lukuun ottamatta klooratut lähtevät vedet eivät sisältäneet nitrifikaatiobakteereita. Sen sijaan verkostossa viimeisessä tutkitussa pisteessä oli nitrifikaatiobakteereiden pitoisuudet yleensä nousseet ja niitä löytyi lähes kaikilta tutkituilta alueilta. Korkeimmat ammoniumin hapettajien pitoisuudet tavattiin klooriamiinidesinfioidusta pintavedestä ja vastaavasti nitriitin hapettajien pitoisuudet käsittelemättömästä pohjavedestä (Taulukko 6.2.1).

Taulukko 6.2.1. Nitrifikaatiobakteereiden pitoisuus vesijohtoverkostovedessä ennen puhdistustoimia.

Klooraus	Raakavesi	Tutkimuskohde	Ammoniumin hapettajien Pitoisuus verkostovedessä (MPN/l)		Nitriitin hapettajien pitoisuus verkostovedessä (MPN/l)	
			Vesilaitos	Verkosto	Vesilaitos	Verkosto
Käsittelemätön	Tekopohja	Kaupunki 3/A	9 800	2 700	87 000	110 000
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 3/B	850	0	0	2 700
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 8/A	7 600	7 500	93 000	300 000
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 8/B	39 000	42 000	7 400	8 800
Klooraus	Pinta	Kaupunki 2/A	0	0	0	0
Klooraus	Pinta	Kaupunki 2/B	0	17 000	0	0
Klooraus	Pinta	Kaupunki 3/C	0	0	0	3 800
Klooraus	Pinta	Kaupunki 4/A	-	1 800	-	1 800
Klooraus	Pinta	Kaupunki 4/B	850	19 000	0	16 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 1/A	0	0	0	0
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 1/B	0	32 000	0	17 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 5/A	0	22 000	0	6 400
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 5/B	0	170 000	0	24 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 6	0	390 000	0	13 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 7	0	28 000	0	11 000

Jotta saataisiin yleiskuva, miten nitrifikaatiobakteerit liittyvät muihin veden kemiallisiin ja mikrobiologisiin ominaisuuksiin, laskettiin muuttujien välille Spearmanin järjestys-korrelaatiokertoimet.

Nitrifikaatiobakteerit korreloivat yleensä positiivisesti vesinäytteiden muiden mikrobiologisten muuttujien kanssa. Tärkeä taustatekijä näissä korrelaatiossa onkin veden ikä. Sekä ammoniumin hapettajat että nitriitin hapettajat korreloivat positiivisesti nitriitti- ja nitraattitypen kanssa. Negatiivinen korrelaatio nitrifikaatiobakteereiden pitoisuuteen oli mm. vapaalla ja kokonais-Cl_2:lla sekä pH:lla (Taulukot 6.2.2 ja 6.2.3).

Taulukko 6.2.2. Ammoniumin hapettajien pitoisuuden korrelaatio muihin muuttujiin vesinäytteissä.

Ammoniumin hapettajien pitoisuuden korrelaatio	n	p	r
Heterotrofiset bakteerit (R2A 7 vrk)	136	***	0.63
Nitriitin hapettajat	126	***	0.58
Fe	96	***	0.57
NO_2-N	70	***	0.52
Mykobakteerit	133	***	0.48
Sameus	123	***	0.40
Bakteerituotanto	125	***	0.38
Veden ikä	128	***	0.38
NO_3-N	56	**	0.41
Mn	43	**	0.41
Biomassa	133	**	0.27
Kokonais-N	68	*	0.24
Sienet	136	*	0.20
AODC	135	*	0.19
Kokonais-Cl_2	100	***	-0.51
Vapaa Cl_2	99	***	-0.40
pH	123	***	-0.39
Lämpötila	117	**	-0.28

Taulukko 6.2.3. Nitriitin hapettajien pitoisuuden korrelaatio muihin muuttujiin vesinäytteissä.

Nitriitin hapettajien pitoisuuden korrelaatio	n	p	r
Heterotrofiset bakteerit (R2A 7 vrk)	126	***	0.65
Ammoniumin hapettajat	126	***	0.58
Sameus	113	***	0.44
Fe	86	***	0.43
Sienet	126	***	0.43
Mykobakteerit	123	***	0.40
Veden ikä	118	***	0.37
Mn	33	**	0.49
NO_2-N	60	**	0.38
Bakteerituotanto	115	**	0.28
AODC	125	**	0.25
Biomassa	123	**	0.25
Kokonais-P	38	*	0.34
N_3-N	49	*	0.34
CO_2	71	*	0.26
ATP	120	*	0.19
Kokonais-Cl_2	99	***	-0.61
Vapaa Cl_2	98	***	-0.37
AOC	123	***	-0.36
pH	113	***	-0.32
NH_4-N	52	**	-0.45
Alkaliteetti	113	*	-0.20

Saostumien nitrifikaatiobakteeripitoisuus

Saostumien nitrifikaatiobakteeripitoisuuksia tarkastellaan klooraukseen mukaan kuten edellä vesinäytteissä. Tulokset on laskettu saostuman kuivapainoa sekä tilavuutta kohden.

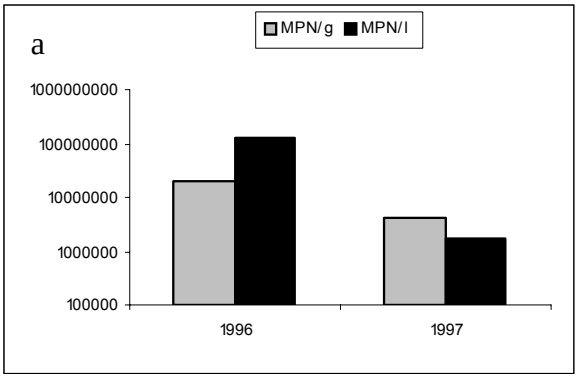
Nitrifikaatiobakteereiden lukumäärä määritettiin 10 saostumanäytteestä vuonna 1996 ja neljästä vuonna 1997. Saostumien nitrifikaatiobakteeripitoisuudet olivat jopa suurempia kuin mitä on aiemmin saatu typpilannoitetusta metsämaasta (Martikainen 1985). Nitrifikaatiobakteereiden pitoisuudet olivat suurempia saostumissa kuin vesinäytteissä, joten nitrifikaatiobakteereiden voidaankin olettaa kasvavan juuri saostumissa. Vuonna 1996 possupuhdistuksissa kerätyissä saostumissa suurimmat ammoniumin hapettajien pitoisuudet saatiin kahdelta klooriamiinidesinfiointia käyttävältä, yhdeltä klooraavalta ja yhdeltä

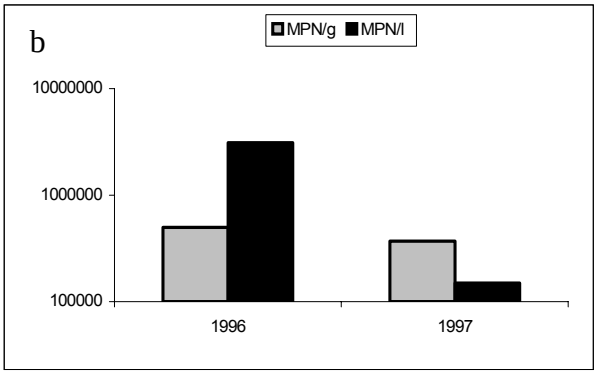
klooraamattomalta vesilaitokselta. Suurimmat nitriitin hapettajien pitoisuudet saatiin käsittelemättömästä pohjavedestä (Taulukko 6.2.4).

Nitrifikaatiobakteereita esiintyi myös kaikissa neljässä vuoden ikäisessä saostumassa, jotka kerättiin vuonna 1997. Nitrifikaatiobakteereiden pitoisuudet sekä painoa että tilavuutta kohti geometrisinä keskiarvoina laskettuina olivat hieman pienempiä nuorissa saostumissa kuin vastaavissa vanhoissa saostumissa (Kuva 6.2.1).

Taulukko 6.2.4. Nitrifikaatiobakteereiden pitoisuus possupuhdistuksissa saaduissa saostumanäytteissä vuonna 1996.

Klooraus	Raakavesi	Tutkimus-kohde	Ammoniumin hapettajien pitoisuus saostumassa		Nitriitin hapettajien pitoisuus saostumassa	
			(MPN/g)	(MPN/l)	(MPN/g)	(MPN/l)
Käsittelemätön	Tekopohja	Kaupunki 3/A	42 000	310 000	230 000 000	1 700 000 000
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 3/B	53 000	7 700 000	1 800	270 000
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 8/A	340 000	1 200 000	77 000 000	280 000 000
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 8/B	22 000 000	510 000 000	4 500 000	100 000 000
Klooraus	Pinta	Kaupunki 2A	89 000	100 000	50 000	59 000
Klooraus	Pinta	Kaupunki 4/A	10 000 000	210 000 000	92 000	1 900 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 1/A	55 000	150 000	4 300	11 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 1/B	36 000 000	19 000 000	310 000	160 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 5/B	2 800 000	3 200 000	160 000	180 000
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 6	110 000 000	15 000 000	620 000	87 000





Kuva 6.2.1. Ammoniumin hapettajien (a) ja nitriitin hapettajien (b) pitoisuus vanhoissa (v. 1996) ja vuoden ikäisissä (v. 1997) saostumissa (n = 3).

Saadaksemme yleiskuvan, miten nitrifikaatiobakteerit liittyvät muihin saostuman kemiallisiin ja mikrobiologisiin ominaisuuksiin, laskettiin muuttujien välille Spearmanin järjestys-

korrelaatiokertoimet. Nitrifikaatiobakteereiden pitoisuus korreloi positiivisesti mm. AODC:n ja biomassan kanssa (Taulukot 6.2.5 ja 6.2.6). Nitriitin hapettajilla oli voimakas positiivinen korrelaatio sienten kanssa.

Taulukko 6.2.5. Ammoniumin hapettajien pitoisuuden korrelaatio muihin muuttujiin saostumanäytteissä.

Ammoniumin hapettajien pitoisuuden korrelaatio	n	p	r
Yksikkö/g:			
Ca	13	*	0.67
Heterotrofiset bakteerit (R2A 7vrk)	14	*	0.60
Ammoniumin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuus	10	*	0.63
AODC	14	0	0.53
Biomassa	14	0	0.51
Yksikkö/l:			
	14	*	0.60
Nitriitin hapettajat			
AODC	14	0	0.52
Biomassa	14	0	0.51

0 = tulos on suuntaa antava, $0.05 \leq p < 0.10$

Taulukko 6.2.6. Nitriitin hapettajien pitoisuuden korrelaatio muihin muuttujiin saostumanäytteissä.

Nitriitin hapettajien pitoisuuden korrelaatio	n	p	r
Yksikkö/g:			
Sienet	14	**	0.68
Nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuus	10	*	0.76
P	13	*	0.65
Ammoniumin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuus	10	0	0.59
AODC	14	0	0.51
Biomassa	14	0	0.48
Yksikkö/l:			
Sienet	14	***	0.81
Biomassa	14	**	0.67
AODC	14	*	0.64
Ammoniumin hapettajat	14	*	0.60

0 = tulos on suuntaa antava, $0.05 \leq p < 0.10$

Saostumien nitrifikaatioaktiivisuus

Nitrifikaatiobakteerien toimintakyvyn kuvaamiseksi määritettiin sekä ammoniumin hapettajille että nitriitin hapettajille nitrifikaatioaktiivisuudet. Tässä mitattu nitrifikaatioaktiivisuus kuvasti maksimaalista hapetusaktiivisuutta kasvatuskokeessa, jossa energian lähde (NH_4^+ tai NO_2^-) ei rajoita kasvua. Tämä aktiivisuus kuvaa eri kohteiden suhteellisia eroja, ei verkoston todellista nitrifikaatioaktiivisuutta.

Saostumien nitrifikaatioaktiivisuuksia tarkastellaan klooraukseen mukaan kuten edellä vesinäytteissä. Tulokset on laskettu saostuman kuivapainoa kohden.

Määritykset tehtiin ainoastaan vuonna 1996 possupuhdistuksissa saaduista saostumista. Nitrifikaatioaktiivisuuden yksikkönä on käytetty mg/g/vrk, jolloin arvo kuvaa keskimääräistä hapetuskykyä kymmenen ensimmäisen vuorokauden aikana (Taulukko 6.2.7). Ammoniumin hapettajien tapauksessa nitrifikaatioaktiivisuus kuvasi ammoniumin hapettumista nitriitiksi ja nitraatiksi. Nitriitin hapettajia tutkittaessa seurattiin nitriitin kulumista alustasta.

Taulukosta 6.2.7 nähdään, että klooriamiinidesinfiointi on lisännyt mahdollisuutta voimakkaaseen ammoniumin hapetukseen. Suurimmat ammoniumin hapetusnopeudet havaittiin kolmessa klooriamiinilaitoksessa.

Taulukko 6.2.7. Nitrifikaatioaktiivisuudet possupuhdistuksissa saaduissa saostumanäytteissä vuonna 1996.

Klooraus	Raakavesi	Tutkimuskohde	Saostuman nitrifikaatioaktiivisuus	
			Ammoniumin hapetus (NO_2^--N + NO_3^--N mg/g/vrk)	Nitriitin hapetus (NO_2^--N mg/g/vrk)
Käsittelemätön	Tekopohja	Kaupunki 3/A	0.51	0.65
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 3/B	0.00	-0.03
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 8/A	1.3	1.2
Käsittelemätön	Pohja	Kaupunki 8/B	0.23	0.15
Klooraus	Pinta	Kaupunki 2/A	0.04	-0.13
Klooraus	Pinta	Kaupunki 4/A	0.23	0.15
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 1/A	0.04	-0.39
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 1/B	8.3	0.04
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 5/B	1.9	0.89
Klooriamiini	Pinta	Kaupunki 6	17	3.6

Nitrifikaatioaktiivisuus-kuvasarja (Kuva 6.2.2) esittelee graafisesti kolmen eri tutkimuskohteen sekä ammoniumin että nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuudet ajan suhteen. Nitriitin kertyminen voi johtua siitä, että ammoniumin hapettajien aktiivisuus hapettaa ammoniumista nitriittiä on paljon tehokkaampaa kuin nitriitin hapettajien aktiivisuus hapettaa nitriitistä nitraattia.

Kaupungin 3 A-tutkimusalueella käytettiin raakavetenä tekopohjavettä, jota ei kloorattu ollenkaan. Kuvasta nähdään, että sekä ammoniumin hapetus että nitriitin hapetus lähtivät hyvin pienellä viiveellä käyntiin ts. prosessien käynnistymiseen kulunut aika oli lyhyt. Itse asiassa nitriitin hapetus näyttäisi lähteneen välittömästi käyntiin, joten todennäköisesti se on pystynyt vastaamaan ammoniumin hapettajien toimintaan, joten nitriitin kertyminen oli epätodennäköistä. Epäsuhtatilanne ammoniumin hapettajien ja nitriitin hapettajien pitoisuuksien välillä saattoi johtua siitä, että ammoniumin hapettajien pitoisuus aliarvioitiin tai nitriitin hapettajia olisi ruokkinut nitraatin pelkistyminen takaisin nitriitiksi.

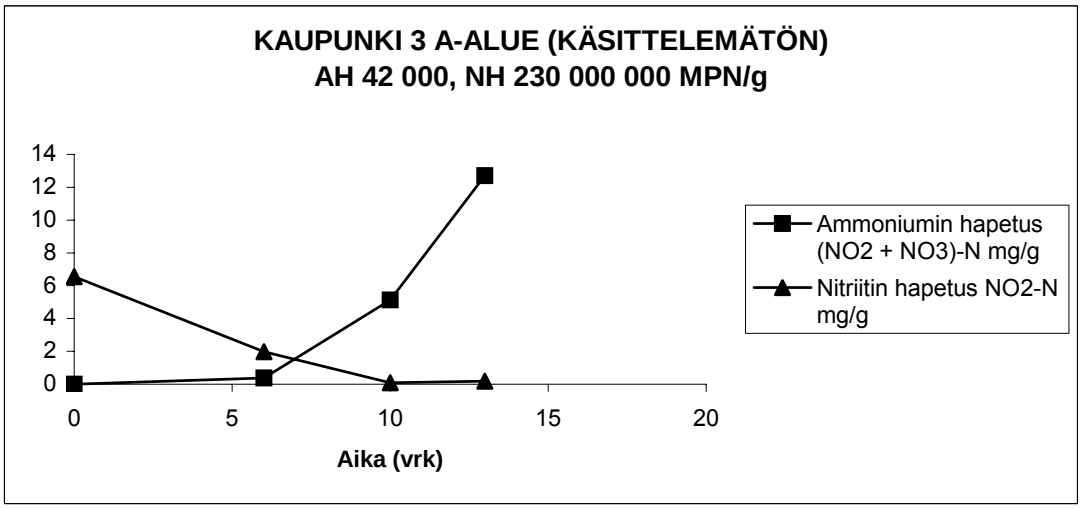
Kaupungin 2 A-tutkimusalueella käytettiin pintavettä raakavetenä ja vesi kloorattiin. Molemmat sekä ammoniumin että nitriitin hapetus olivat ensimmäisten 15 vuorokauden ajan estyneet jonkin tekijän vaikutuksesta. Sen jälkeen tämä estävä tekijä oli hävinnyt ja ammoniumin hapetus oli lähtenyt selvään nousuun. Nitriitin hapetus oli sen jälkeenkin kohtalaisen hidasta.

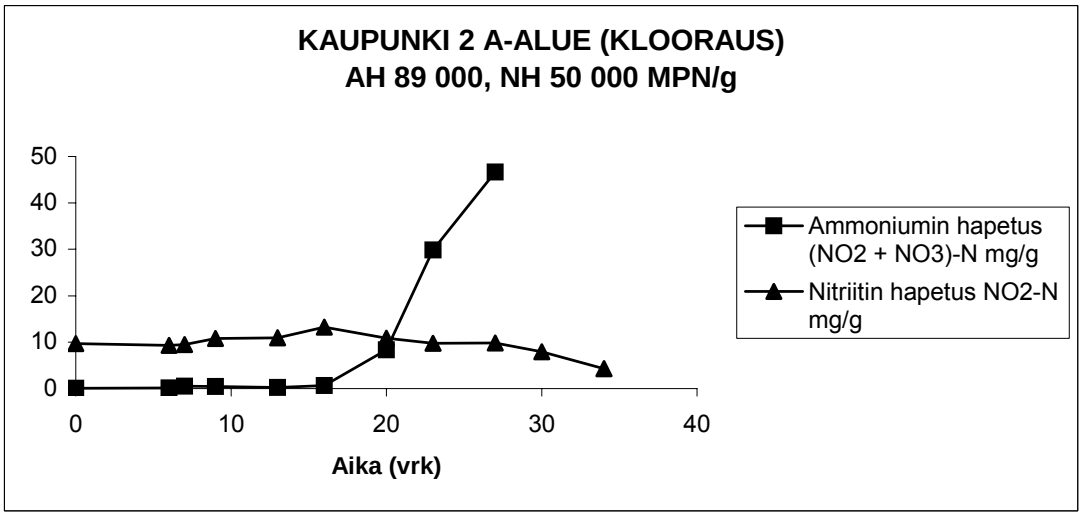
Tässä tapauksessa syntynyt viiveaika molempien hapetusten käynnistymisvaiheessa oli sen verran pitkä ja estävän tekijän vaikutus suuri, ettei nitriitin kertymistä todennäköisesti luonnonoloissa tapahtunut.

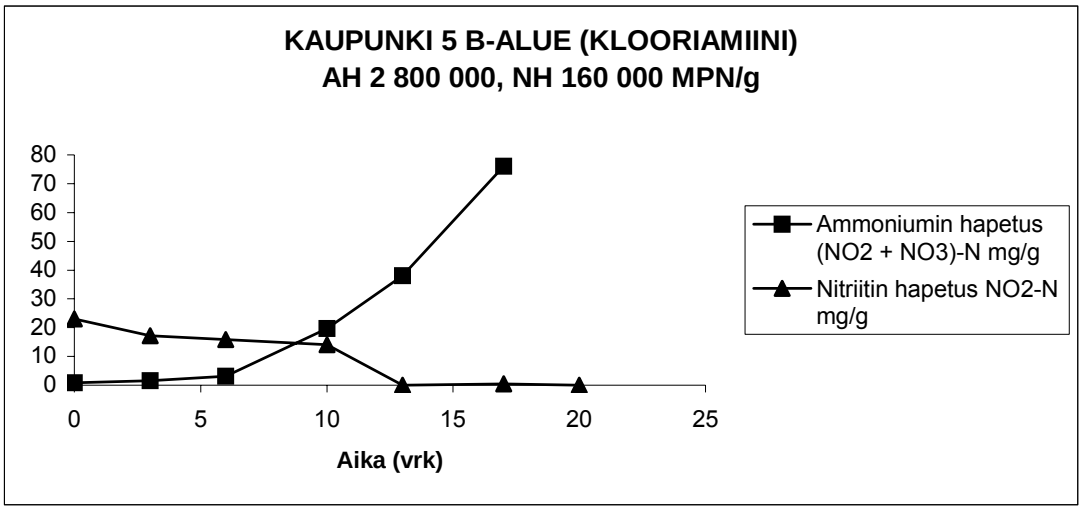
Kaupungin 5 B-tutkimusalueella käytettiin myös pintavettä raakavetenä ja vesi desinfioitiin klooriamiinilla. Ammoniumin hapetus lähti hyvin pienen viiveen jälkeen käyntiin ja hapetustehokkuus oli suurempi kuin esimerkiksi kaupungin 3 A-alueella (vrt. asteikko). Nitriitin hapetus oli sen sijaan hidasta. Viiveaika oli useita vuorokausia pitempi kuin ammoniumin hapettajilla ja tämä saattoi mahdollistaa nitriitin kertymisen. Jos viiveaika oli pitkä, syynä saattoi olla nitrifikaatiobakteereiden vähäinen määrä alkutilanteessa ja/tai kasvatuskokeessa saostuman mukana tullut jokin tekijä on saattanut estää nitrifikaatiobakteeripopulaation aktiivisuuden.

Jotta saataisiin yleiskuva, miten nitrifikaatioaktiivisuudet liittyvät muihin saostuman kemiallisiin ja mikrobiologisiin ominaisuuksiin, laskettiin muuttujien välille Spearmanin järjestyskorrelaatiokertoimet.

Ammoniumin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuus korreloi positiivisesti nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuuden sekä ammoniumin ja nitriitin hapettajien pitoisuuksien kanssa (Taulukko 6.2.8). Myös nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuuden ja nitriitin hapettajien pitoisuuden välillä oli positiivinen korrelaatio (Taulukko 6.2.9). Nämä olivatkin odotettuja tuloksia; jos ammoniumin hapettajia on paljon, niiden nitrifikaatioaktiivisuuskin voi olla suuri ja sitä enemmän nitriittiä voi muodostua nitriitin hapettajien hyödynnettäväksi.







Kuva 6.2.2. Kolmen eri tutkimuskohteen nitrifikaatioaktiivisuudet ajan suhteen.

Taulukko 6.2.8. Ammoniumin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuuden korrelaatio muihin muuttujiin saostumanäytteissä.

Ammoniumin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuuden korrelaatio	n	p	r
Nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuus	10	*	0.75
Heterotrofiset bakteerit (R2A 7 vrk)	10	*	0.75
AODC	10	*	0.72
Biomassa	10	*	0.69
Na	10	*	0.65
Ammoniumin hapettajat	10	*	0.63
Bakteerituotanto	8	0	0.68
Mykobakteerit	10	0	0.61
Nitriitin hapettajat	10	0	0.59
Mn	10	0	-0.60

0 = tulos on suuntaa antava, $0.05 \leq p < 0.10$

Taulukko 6.2.9. Nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuuden korrelaatio muihin muuttujiin saostumanäytteissä.

Nitriitin hapettajien nitrifikaatioaktiivisuuden korrelaatio	n	p	r
Nitriitin hapettajat	10	*	0.76
Bakteerituotanto	8	*	0.76
Ammoniumin hapettajien Nitrifikaatioaktiivisuus	10	*	0.75
Ni	10	0	-0.58

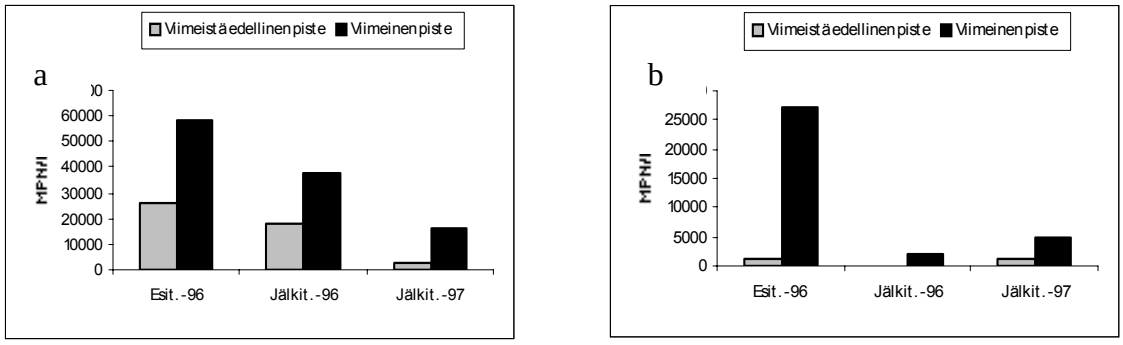
0 = tulos on suuntaa antava, $0.05 \leq p < 0.10$

Puhdistusten vaikutus veden nitrifikaatiobakteeripitoisuuksiin

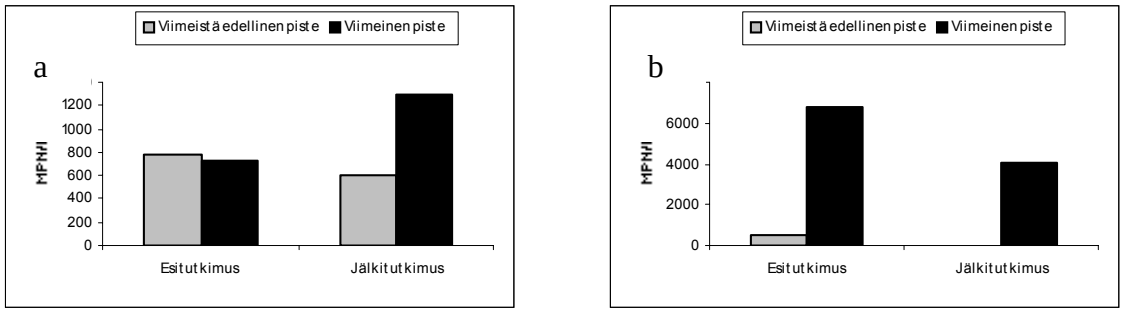
Erilaisten puhdistusten vaikutusta nitrifikaatiobakteeripitoisuuksiin selvitettiin vertaamalla puhdistetulla alueella sijaitsevan pisteen (viimeinen piste) pitoisuuksia saman linjan puhdistamattoman alueen (viimeistä edellinen piste) pitoisuuksiin ennen puhdistusta (esitutkimus) ja puhdistuksen jälkeen (jälkitutkimus). Vertailuissa käytettiin geometrisiä keskiarvoja.

Kun tarkasteltiin possupuhdistuksen vaikutusta ammoniumin ja nitriitin hapettajien pitoisuuksiin, havaittiin, että nitrifikaatiobakteeripitoisuudet possupuhdistetulla alueella eivät vähentyneet possupuhdistamattomaan alueeseen verrattuna (Kuva 6.2.3). Esitutkimuksen

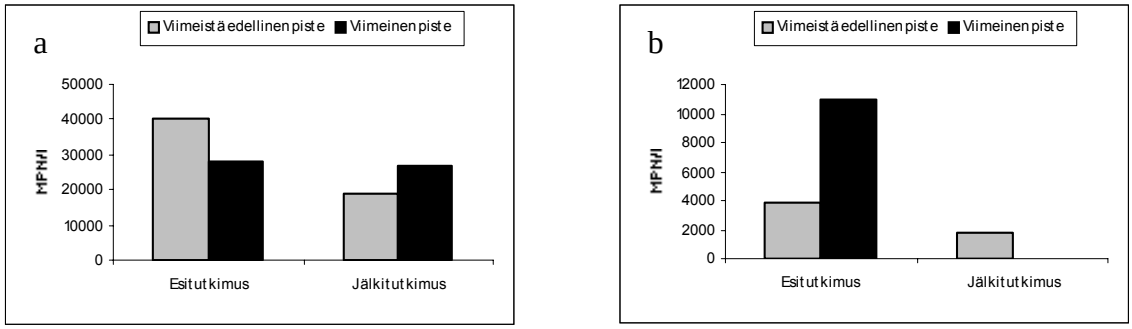
jälkeen nitrifikaatiobakteeripitoisuudet olivat laskeneet myös puhdistamattomalla verkoston osalla. Näin ollen possupuhdistuksella ei olisi ollut vaikutusta. Myöskään huuhtelulla ei näyttäisi olleen selvää vähentävää vaikutusta huuhdellun alueen nitrifikaatio-bakteeripitoisuuksiin (Kuva 6.2.4). Juoksutuksen vaikutus jäi epäselväksi, sillä tutkittavia kohteita oli ainoastaan yksi (Kuva 6.2.5).



Kuva 6.2.3. Ammoniumin hapettajien (a) ja nitriitin hapettajien (b) pitoisuus puhdista-mattomalla ja possupuhdistetulla alueella (MPN/l) (n = 5).

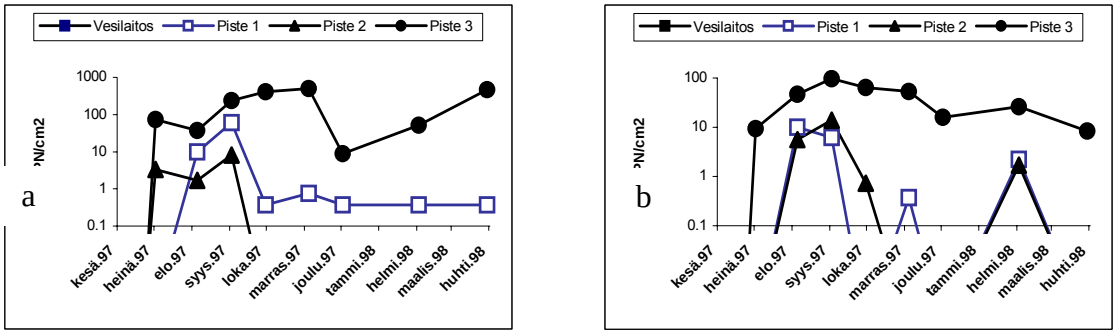


Kuva 6.2.4. Ammoniumin hapettajien (a) ja nitriitin hapettajien (b) pitoisuus huuhtelemat-tomalla ja huuhdellulla alueella (MPN/l) (n = 3).



Kuva 6.2.5. Ammoniumin hapettajien (a) ja nitriitin hapettajien (b) pitoisuus juoksuttamat-tomalla ja juoksutetulla alueella (MPN/l) (n = 1).

Nitrifikaatiobakteereiden esiintymistä kehittyvässä biofilmissä tutkittiin Kaupunki 1B:n vesilaitoksella ja verkostossa. Nitrifikaatiobakteereiden ilmaantuminen PVC-putken pinnalle oli nopeinta ja pitoisuudet olivat suurimpia verkoston ääriosissa (Kuva 6.2.6). Vesilaitoksella olleissa keräimissä ei havaittu nitrifikaatiobakteereita koko seuranta-ajan aikana. Veden lämpötila vaihteli tutkimuksen aikana 11.2 – 22.5 ^{o}C:een.



Kuva 6.2.6. Ammoniumin hapettajien (a) ja nitriitin hapettajien (b) pitoisuus kehittyvässä biofilmissä (MPN/cm^2).

6.2.4 Tulosten tarkastelu

Tutkimustulosten perusteella nitrifikaatiobakteereita esiintyy yleisesti verkostovesissä ja putken pinnalle ajan kuluessa kertyneissä saostumissa. Vesijohtoverkostossa on siis olemassa edellytykset mikrobiologiselle nitrifikaatiolle.

Vesilaitokselta lähtevässä vedessä yleensä ainoastaan klooraamattomassa tekopohja- ja pohjavedessä kasvoi nitrifikaatiobakteereita. Kaikilla alueilla, sekä klooraamattomissa että klooratuissa vesissä, esiintyminen ja pitoisuudet kasvoivat verkoston ääripäässä, missä kloorin määrä oli vähäinen. Nitrifikaatiobakteereita esiintyi eniten vesissä, joissa muitakin mikrobeja oli paljon. Nitrifikaatiobakteerit korreloivat positiivisesti veden iän ja sen mukana seuraavien muuttujien kanssa. Negatiivinen vaikutus nitrifikaatiobakteereiden pitoisuuteen oli mm. vapaalla ja kokonais-Cl_2:lla.

Nitrifikaatiobakteereiden esiintymisestä vesijohtoverkostossa on hyvin vähän tietoa. Pitoisuudet sekä vesissä että saostumissa olivat yllättäen korkeita. On hämmästyttävää, miten niin karu ympäristö, kuin vesijohtoverkko on, voi tarjota näinkin hyvän kasvualustan nitrifikaatiobakteereille. Saostumista saadut pitoisuudet saattoivat olla suurempia kuin mitä typpilannoitetusta metsämaasta on aiemmin saatu (Martikainen 1985).

Klooriamiinin käyttö ei ole välttämättä kovin hyvä asia nitrifikaation kannalta (Wolfe ym. 1988, 1990, Cunliffe 1991, Wilczak ym. 1996). Ammoniumin hapetus voi kiihtyä lisääntyneen energian saannin vuoksi (vrt. Taulukko 6.2.7) ja tarjota siten mahdollisuuden nitriitin kertymiselle. Nitriitin kertyminen on mahdollista, jos ammoniumin hapettajien hapetustehokkuus ylittää nitriitin hapettajien kapasiteetin hapettaa nitriittiä.

Tiedetään, että ammoniumin ja nitriitin hapettajien toiminta estyy eräillä kemikaaleilla. On mahdollista, että esim. nitriitin hapettajien toiminta estyy tietyillä kemikaaleilla enemmän kuin ammoniumin hapettajien. Nitriitin hapettajat ovat herkkiä kloriiteille ja kloraateille ja ammoniumin hapettajat kloriiteille (Belser & Mays 1980, Hynes & Knowles 1983). Ei tiedetä, voiko desinfioinnissa syntyä nitrifikaatiota estäviä yhdisteitä, jotka voisivat olla syynä nitriitin kertymiseen.

Nitrifikaatiobakteerit seurasivat heterotrofisia bakteereita uuden biofilmin muodostamisessa (vrt. Kuva 6.1.15). Niiden kolonisoitumisnopeus oli samanlainen kuin mykobakteereilla, jotka nitrifikaatiobakteereiden tapaan ovat hidaskasvuisia (Kuva 6.3.5). Nitrifikaatio-bakteeripitoisuuden kasvaminen verkoston ääripäässä oli suhteellisen nopeaa. Pitoisuudet olivat alhaisempia kuin vastaavat heterotrofisten bakteerien pitoisuudet. Nitrifikaatiobakteerit kuuluvat kuitenkin olennaisena osana vesijohtoverkoston mikrobikoostumukseen.

6.3 Mykobakteerit

6.3.1 Johdanto

Ympäristömykobakteerit ovat tuberkuloosibasillin sukuisia, maaperässä ja vesissä esiintyviä bakteereja, joista osa on ihmispatogeeneja. Ne voivat aiheuttaa tuberkuloosin kaltaista, mutta vaikeammin hoidettavaa keuhkotautia sekä imusolmuke- ja pehmytkudosinfektioita (Falkinham 1996). Erityisen riskiryhmän muodostavat henkilöt, joiden soluvälitteinen immuniteetti on alentunut. Tällaisia ovat esim. syöpälääkitystä saavat ja HIV-infektoituneet ja heille ympäristömykobakteerit voivat aiheuttaa kuolemaan johtavan yleistaudin (Falkinham 1996). Mykobakteerien kliininen merkitys on lisääntymässä, osittain immuunipuutospotilaiden

määrän kasvaessa, osittain tuntemattomista syistä.

Ympäristömykobakteerien aiheuttama tauti ei tartu ihmisestä toiseen vaan tartunta saadaan suoraan mykobakteereita sisältävästä ympäristöstä hengitysteitse, ruoansulatuskanavan kautta tai bakteerien päästessä kudoksiin esim. haavojen tai hoitovälineiden kautta. Järjestelmävesiin tartuntalähteenä on alettu kiinnittää huomiota immuunipuutospotilaiden määrän lisääntyessä, ja sairaaloiden käyttövesi onkin eräissä tapauksissa voitu osoittaa immuunipuutospotilaiden mykobakteeri-infektioiden tartunta-lähteeksi (von Reyn ym. 1994, Kauppinen ym. 1999). Mykobakteerit pääsevät luonnosta verkostovesiin, sillä ne sietävät hyvin desinfektioon käytettyä klooria (Carson ym. 1978, Taylor ym. 2000, Le Dantec ym. 2002) ja voivat siten säilyä elävänä läpi vesilaitoskäsittelyn (Miettinen ym. 1995). Useiden muiden heterotrofisten mikrobien tapaan mykobakteerien kasvupaikkana verkostossa pidetään seinämien biofilmiä, mutta asiaa on tutkittu vasta hyvin vähän (Schulze-Röbbecke ym. 1992, Hall-Stoodley ym. 1998, Falkinham ym. 2001).

6.3.2 Menetelmät

Mykobakteerit viljeltiin vesistä ja saostumista munaelatusaineille muiden mikrobien tuhoamiseksi tarvittavan esikäsittelyn jälkeen ja kasvatettiin 30 °C:ssa ja 35 °C:ssa 3 kk (Torvinen ym. 2004). Mykobakteeripitoisuus laskettiin 30 °C:n kasvatuksista ja mykobakteerilajistoa tutkittiin 35 °C:n kasvatuksista. 35 °C:ssa kasvaneiden mykobakteerien tunnistamiseksi analysoitiin kantojen rasvahappo- ja alkoholikoostumus kaasukromatografialla, tutkittiin kantojen kasvu- ja biokemiallisia ominaisuuksia ja sekvensoitiin kannat 16S rDNA:n alueelta. Vesinäytteet (1 l) konsentroitiin suodattamalla ennen viljelyä.

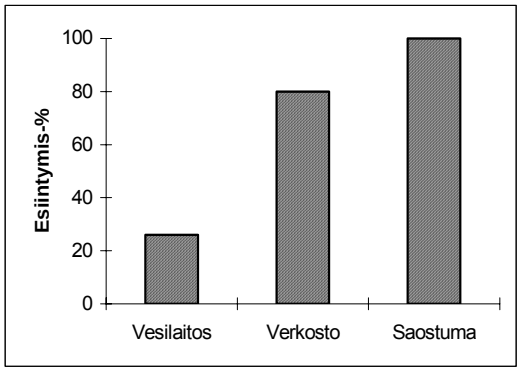
6.3.3 Tulokset

Mykobakteerit vesilaitos- ja verkostovedessä

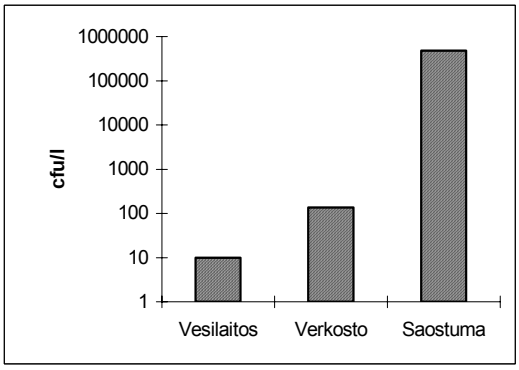
Mykobakteerien esiintymistiheys vesilaitokselta lähtevässä vedessä vaihteli esitutkimuksen 35 %:sta toisen jälkitutkimuksen 8 %:iin. Keskimäärin mykobakteereita esiintyi 26%:ssa vesilaitoksilta kerättyjä vesinäytteitä (Kuva 6.3.1a). Esiintyminen kasvoi verkoston ääripäähän mentäessä, ja se oli esitutkimuksen aikana kohteiden viimeisissä pisteissä 80 %. Mykobakteeripitoisuudet näitä bakteereita sisältävissä näytteissä kasvoivat vesilaitokselta ääripäähän noin kertaluokan. Pitoisuuksien mediaani oli vesilaitoksilla 15 cfu/l (10 - 30 cfu/l) ja esitutkimuksen aikana verkoston viimeisessä pisteessä 140 cfu/l (10 - 3500 cfu/l) (Kuva 6.3.1b). Kaiken kaikkiaan 14 tutkituista 15 verkostosta sisälsi vesinäytteissään

mykobakteereita.

a)



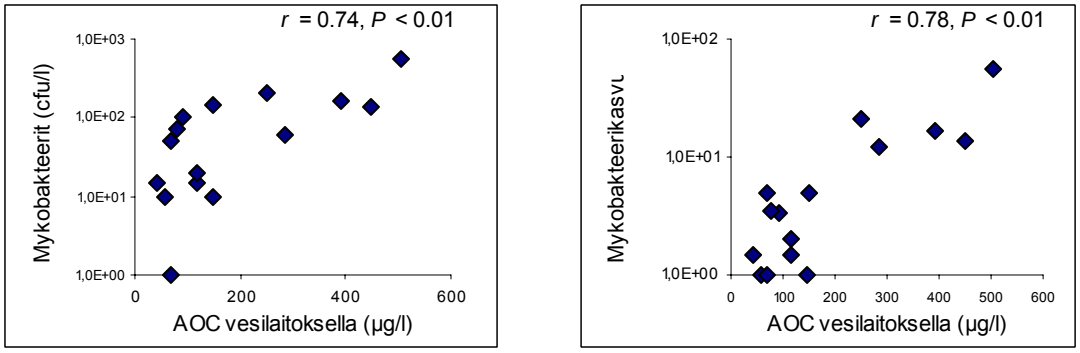
b)



Kuva 6.3.1. Mykobakteerien esiintyminen (a) ja pitoisuus (b) vesilaitokselta lähtevässä vedessä, verkoston viimeisen pisteen vedessä (esitutkimus) ja vanhoissa saostumissa.

Suurimmat mykobakteeripitoisuudet havaittiin verkostoissa, jotka jakoivat otsonoitua pintavettä (pitoisuudet 110, 15, ja 10 cfu/l otsonoitua pintavettä, otsonoimatonta pintavettä, ja pohja- tai sekavettä jakavissa verkostoissa, $P < 0,01$). Mykobakteeripitoisuus ja mykobakteerien kasvu verkostossa lisääntyivät vesilaitokselta lähtevän veden AOC-pitoisuuden kasvaessa (Kuva 6.3.2). Mykobakteeripitoisuus kasvoi myös muiden heterotrofimikrobien pitoisuuden (r = o,47**), veden iän (r = 0,35*) ja rautapitoisuuden (r = 0,60***) kasvaessa ja aktiivisen vapaan kloorin pitoisuuden (r = -0,36*) vähentyessä.

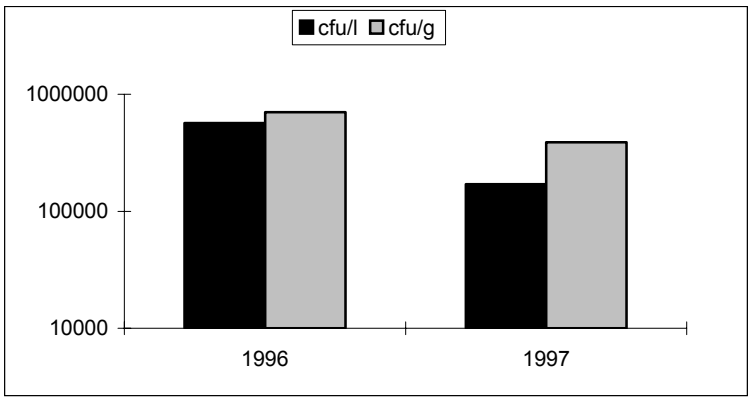
a) b)



Kuva 6.3.2. Mykobakteeripitoisuuden (a) ja mykobakteerikasvun (b) korrelaatio vesilaitokselta lähtevän veden AOC:n kanssa.

Mykobakteerit saostumissa

Mykobakteereita eristettiin kaikista 11 saostumanäytteestä, jotka kerättiin v. -96 (Kuva 6.3.1a). Pitoisuudet vaihtelivat 5.6 x 10^3 - 2.8 x 10^7 cfu/l (mediaani 4.8 x 10^5 cfu/l). Kuivapainoa kohti laskettuna pitoisuudet olivat 4.9 x 10^2 - 4.2 x 10^6 cfu/g (mediaani 1.8 x 10^5 cfu/g). Mykobakteereita löydettiin myös kaikista neljästä vuoden ikäisestä saostumasta, jotka kerättiin v. -97. Pitoisuudet sekä tilavuutta että painoa kohti laskettuna olivat hieman pienempiä kuin vastaavissa vanhoissa saostumissa (Kuva 6.3.3).



Kuva 6.3.3. Mykobakteeripitoisuus vanhoissa (v. 1996) ja vuoden ikäisissä (v. 1997) saostumissa (n = 4).

Kuten vesinäytteissä, mykobakteeripitoisuudet saostumissa olivat suurimmat verkostoissa, jotka jakoivat otsonoitua pintavettä (pitoisuudet 1,4x 10^6, 7,3 x 10^5 ja 5,1 x 10^4 cfu/g otsonoitua pintavettä, otsonoimatonta pintavettä, ja pohja- tai sekavettä jakavissa verkostoissa, P < 0,05). Saostumien mykobakteeripitoisuudet korreloivat positiivisesti muiden heterotrofisten bakteerien pitoisuuden (R2A, 7 vrk, r = 0,64*) ja negatiivisesti mangaani- (r = -0,64*) ja

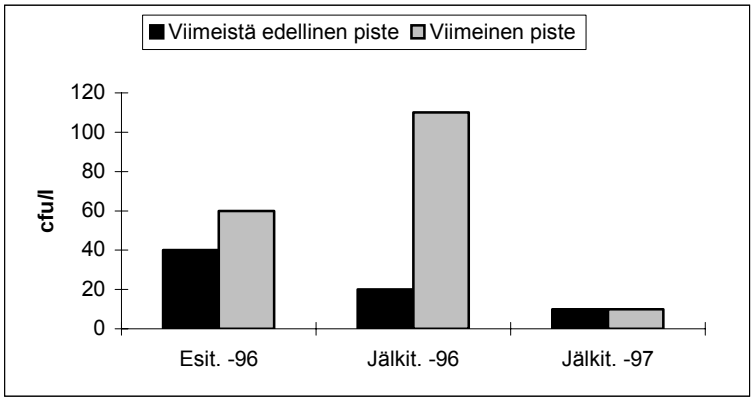
strontium- (r = -0,71*) pitoisuuden kanssa.

Vesistä ja saostumista eristetyistä 351 mykobakteerikannasta 225 (64 %) kuului kolmeen tunnettuun lajiin, *Mycobacterium lentiflavum* (55 %), *M. tusciae* (6 %) ja *M. gordonae* (3 %). Lopuista kannoista 25 (7 %) oli tuntemattomia nopea- tai hidaskasvuisia mykobakteereita ja 101 (29 %) muodostivat homogeenisen hidaskasvuisten mykobakteerien ryhmän, joka ei muistuttanut mitään tunnettua lajia, vaan on todennäköisesti jokin uusi mykobakteerilaji.

Puhdistusten vaikutus veden mykobakteeripitoisuuteen

Puhdistusten vaikutusta mykobakteeripitoisuuksiin selvitettiin vertaamalla puhdistetulla alueella sijaitsevan pisteen (= viimeinen piste) pitoisuuksien mediaania saman linjan puhdistamattoman alueen (= viimeistä edellinen piste) pitoisuuksien mediaaniin ennen puhdistusta (= esit.) ja puhdistuksen jälkeen (= jälkit.).

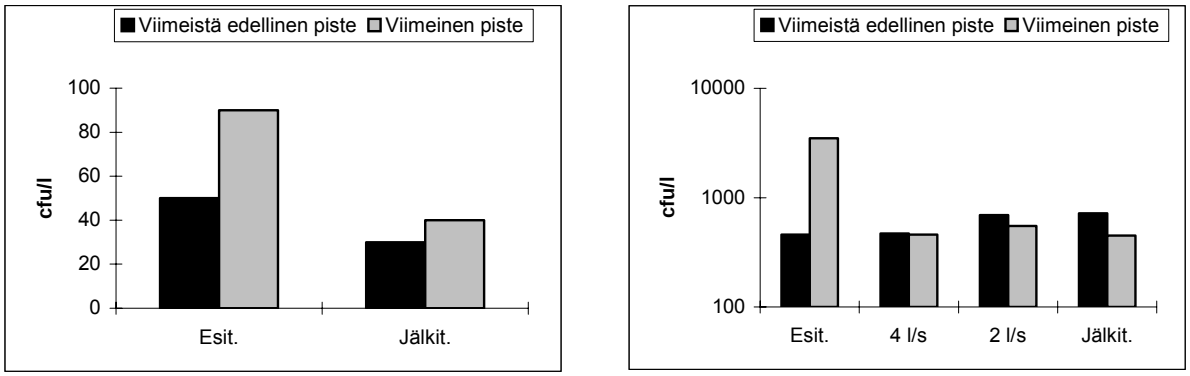
Possupuhdistuksen jälkeen mykobakteeripitoisuus puhdistusalueella ei vähentynyt puhdistamattomaan alueeseen verrattuna (Kuva 6.3.4). Vuoden päästä kerätyissä näytteissä (jälkit. -97) pitoisuus oli puhdistusalueen pisteissä yhtä suuri kuin puhdistamattomissa pisteissä.



Kuva 6.3.4. Keskimääräinen mykobakeeripitoisuus puhdistamattomalla ja puhdistetulla verkostoalueella.

Huuhtelun jälkeen huuhtelualueen mykobakteeripitoisuus väheni edelliseen pisteeseen verrattuna (Kuva 6.3.5a). Juoksutusalueella pitoisuuden vähenemä oli suurempi (Kuva 6.3.5b) ja tapahtui lähinnä suurimman juoksutusnopeuden (4 l/s) aikana.

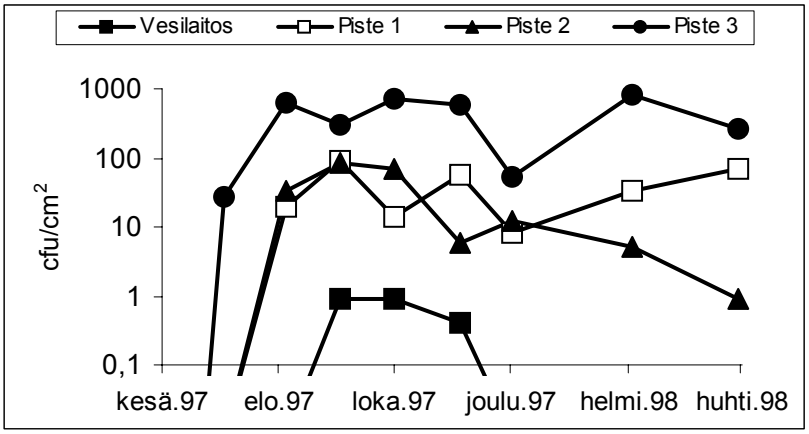
a) b)



Kuva 6.3.5. Mykobakteeripitoisuudet huuhtelualueiden (a, n = 3) (a) ja juoksutusalueen (b) vesissä.

Mykobakteerit muodostuvassa biofilmissä

Mykobakteerien esiintymistä kehittyvässä biofilmissä tutkittiin kaupunki 1:n vesilaitoksella ja verkostossa, joissa veden lämpötilat vaihtelivat tutkimusjakson aikana 11.2 – 22.5°C. Mykobakteerien ilmaantuminen biofilmiin oli nopeinta ja pitoisuudet olivat suurimmat verkoston ääriosissa (Kuva 6.3.6). Suurimmillaan pitoisuudet olivat n. 800 cfu/cm^2.



Kuva 6.3.6. Mykobakteerien esiintyminen PVC-putkiin muodostuneessa biofilmissä kesäkuun 1997 ja maaliskuun 1998 välisenä aikana.

6.3.4 Tulosten tarkastelu

Tulosten mukaan ympäristömykobakteereita esiintyy yleisesti verkostovesissä. Lähes 30 %

vesilaitoksilta kerätyistä vesinäytteistä kasvoi mykobakteereita, mutta esiintyminen kasvoi kolminkertaisesti verkoston ääripäässä. Samoin mykobakteeripitoisuudet kasvoivat vesilaitokselta verkoston ääripäähän mentäessä kertaluokan. Saatuja mykobakteeripitoisuuksia on vaikea verrata muualla maailmassa saatuihin pitoisuuksiin mm. menetelmien erilaisuuden vuoksi. Pitoisuuksien ja esiintymisprosentin kasvu on kuitenkin havaittu yhteneväisesti aiemminkin (Falkinham ym. 2001). Mykobakteereita esiintyi eniten vesissä ja saostumissa niissä verkostoissa, jotka jakoivat otsonoitua pintavettä. Otsonin tiedetään pilkkovan orgaanista ainetta mikrobeille käyttökelpoiseen muotoon lisäten siten AOC:tä ja yleistä mikrobikasvua (van der Kooij ja Hijnen 1984, Miettinen ym. 1998). Mykobakteerien pitoisuus ja kasvu verkostossa korreloivat voimakkaasti vesilaitokselta lähtevän AOC:n kanssa ja myös mykobakteeri- ja muiden heterotrofisten mikrobien pitoisuuksien välillä oli positiivinen korrelaatio. Nämä tulokset viittaavat siihen, että mykobakteerien kasvua verkostossa säätelevät yleistä mikrobikasvua säätelevät tekijät, kuten ravinteiden saatavuus. Muiden mikrobien tapaan (ks. luvut 6.1 ja 6.2) mykobakteerien esiintyminen korreloi myös veden iän ja siihen liittyvien tekijöiden, kuten rautapitoisuuden kanssa. Mykobakteerien esiintymisestä vesijohtoverkostojen saostumissa on vasta vähän tietoa (Schulze-Röbbecke ym. 1992, Falkinham ym. 2001). Pitoisuudet sekä vanhoissa että uusissa saostumissa olivat yllättävän suuria, samaa tasoa kuin suomalaisten metsämaiden orgaanisessa kerroksessa (Iivanainen ym. 1997). Biofilmikokeet osoittivatkin mykobakteerien ilmaantuvan uusiin biofilmeihin varsin nopeasti, noin kuukauden kuluessa putken asentamisesta. Mykobakteerit saavuttivat kuitenkin huippupitoisuutensa biofilmeissä kuukautta myöhemmin kuin muut heterotrofiset bakteerit (ks. luku 6.1), mikä voi johtua mykobakteerien muita heterotrofisia bakteereita hitaammasta kasvunopeudesta. Mykobakteerien biofilminmuodostukykyä juomavesissä on aiemmin tutkittu niukasti, mutta julkaistut pitoisuudet biofilmeissä ovat olleet samansuuruisia kuin tässä tutkimuksessa (Schulze-Röbbecke ym. 1992, Falkinham 2001). Toisin kuin muihin mikrobeihin (ks. luku 6.1) possupuhdistuksella ei ollut puhdistusvaikutusta mykobakteereihin. Verkoston huuhtelu ja juoksutus sen sijaan näyttivät vähentävän mykobakteerikasvua. Tässä tutkimuksessa mykobakteerilajistoa tutkittiin 35 °C:n kasvatuksista, koska oletettiin, että 35 °C:ssa kasvaneet mykobakteerit kuvastaisivat niitä lajeja, jotka pystyvät infektoimaan ihmistä. Eristetyistä tunnetuista lajeista yleisimmät, *M. lentiflavum* ja *M. tusciae*, on kuvattu uusiksi lajeiksi vasta 1990-luvun loppupuolella, eikä niistä ole ehtinyt vielä kertyä kovin paljon tietoa. Molemmat lajit on kuitenkin jo eristetty verkostovedestä ja osoitettu taudinaiheuttajiksi ihmisellä (Springer ym. 1996, Haase ym. 1997, Tortoli ym. 1999, Ngo Niobe ym. 2001). Järjestelmävesiä pidetään nykytiedon mukaan niiden todennäköisenä tartuntalähteenä. Suomessa yleisintä ympäristömykobakteeritaudinaiheuttajalajia *M. aviumia* ei tässä tutkimuksessa juomavesistä tai saostumista löydetty. Aikaisempien tutkimusten mukaan sitä kuitenkin saattaa esiintyä suomalaisissa juomavesissä, etenkin suurten kiinteistöjen juomavesijärjestelmissä (von Reyn

ym. 1993). Raja potentiaalisti patogeenien ja ihmiselle vaarattomien mykobakteerien välillä on liukuva, ja riippuu ihmisen puolustuskyvystä. Esim. tässäkin tutkimuksessa eristetty *M. gordonae*, jota yleensä pidetään ihmiselle vaarattomana lajina, on eräissä poikkeustapauksissa aiheuttanut infektioita (Weinberger ym. 1992). Mykobakteerien yleisyys päälinjojen vesissä ja saostumissa osoittaa, että mykobakteerit kuuluvat verkostojen normaalimikrobistoon ja että niissä on mahdollisuudet mykobakteerikasvulle. Löydetty lajisto viittaa siihen, että juomavedet voivat olla 1990-luvulla kuvattujen, uusien mykobakteerilajien tartuntalähteitä.

6.4 Mikrobiyhteisön rakenne

6.4.1 Johdanto

Useimmat mikrobiologiassa yleisesti käytetyistä menetelmistä, kuten kasvatuskokeet erilaisilla alustoilla, mikrobien kokonaislukumäärän laskenta epifluoresenssi-mikroskoopilla ja tymidiini-inkorporaatio eivät anna kuvaa mikrobiyhteisön rakenteesta. Mikrobiryhmien eristysmenetelmät jättävät myös huomattavia mikrobimääriä eristämättä. Määrittämällä mikrobien membraanien fosfolipidien rasvahapot (PLFA) saadaan tietoa mikrobiyhteisön rakenteesta, koska päämikrobiryhmillä, kuten gram-negatiivisilla ja gram-positiivisilla bakteereilla, mykobakteereilla, sekä homeilla ja hiivoilla on vain näille ryhmille tyypillisiä rasvahappoja. Samalla PLFA antavat tietoa solujen fysiologisesta tilasta, sillä mikro-organismit muuttavat membraanien lipidikoostumusta adaptoituakseen erilaisiin kasvuolosuhteisiin (Suutari & Laakso 1994). PLFA-analyysillä on aikaisemmin määritetty mikrobiyhteisön rakenne mm. maasta (Frostegård ym.1991; White ym.1979) ja vesisäiliöstä (Herb ym. 1996). Tässä työssä menetelmää käytettiin vesijohtoverkoston saostumien mikrobiyhteisön määrittämiseksi vanhoista sakoista ja samojen verkostojen sakoista vuoden kuluttua.

6.4.2 Materiaalit ja menetelmät

Vesijohtoverkostojen saostumanäytteet kerättiin fosfolipidien rasvahappoanalyysiin seitsemän kaupungin 9 vesilaitokselta (kaupungit 1A ja 1B, 2A, 3A ja 3B, 4, 5B, 6 ja 8B). Neljä verkostoaluetta (kaupungit 1B, 2A, 4 ja 8B) possupuhdistettiin uudestaan vuoden kuluttua. Vesijohtoverkoston sedimenttien saostumanäytteet kerättiin possupuhdistuksen yhteydessä ennen ensimmäistä possua, ja ensimmäisen, toisen, kolmannen ja neljännen possun ulostulon aikana tulleista sakoista. Sakat suodatettiin ja kylmäkuivattiin. Kylmäkuivatut sedimenttinäytteet (4-10 g) uutettiin kloroformi : metanoli : 0.15 M sitraatti-puskuri pH 4 (1 : 2 : 0.8, v/v/v) seoksella ravistelemalla ainakin 2 h tai yön yli huoneenlämmössä (Bligh & Dyer

1959; Frostegård ym. 1991). Sakka erotettiin sentrifugoimalla, ja liuotinfaasiin lisättiin kloroformia ja sitraattipuskuria niin että liuottimien suhteiksi saatiin kloroformi : metanoli : 0.15 M sitraattipuskuri pH 4 (1 : 1 : 0.9, v/v/v). Liuotinfaasi erotettiin sentrifugoimalla, haihdutettiin, ja liuotettiin pieneen määrään kloroformia. Näyte siirrettiin silikakolonniin, jossa oli 0.5 g silikaa. Silika oli aktivoitu 120 ^{o}C:n lämpötilassa 2 h, ja pesty kloroformilla. Pylväästä eluoitiin fosfolipidit metanolilla, fraktiot haihdutettiin kuiviin, sisäiset standardit (tridekaanihappo ja nonadekaanihappo) lisättiin, ja rasvahapot saippuoitiin, metyloitiin ja analysoitiin kaasukromatografia-massaspektrometrialla kuten on aikaisemmin esitetty (Suutari ym. 1990). Tulokset käsiteltiin tilastollisesti pääkomponenttianalyysilla.

6.4.3 Tulokset

Vanhat vesijohtoverkoston sedimenttisakat muodostivat pääkomponenttianalyysissa useita toisistaan mikrobiologisesti poikkeavia ryhmiä PLFA-profiilien perusteella. Vesijohto-verkostoille yleisin mikrobiyhteisö oli rasvahappojen perusteella kaupungeissa 1B, 3A, 4, 5B ja 6. Näille kohteille oli tyypillistä korkein gram-negatiivisten bakteerien määrä, sekä suurin eukarioottien, hiivojen ja homeiden osuus. Osan kaupungeista voisi jopa erottaa omaksi ryhmäkseen näiden mikrobiryhmien korkean osuuden perusteella. Kaupungin 2A sakoissa oli eniten tyydyttyneitä suoraketjuisia rasvahappoja, tuberkulostearinihappoa (TBSA), ja C-19 syklopropaanihappoa. Syklopropaanihapot liitetään mm. osmoottisen tasapainon säilyttämiseen ja stationääriseen kasvuvaiheeseen. Suoraketjuisten rasvahappojen osuus on myös yleensä suurempi statiönäärivaiheen soluissa kuin aktiivisesti kasvavissa soluissa. TBSA liitetään mykobakteereihin ja eräisiin aktinomykeetteihin. Kaupungin 3B sakoille oli tyypillistä suurin *iso*- ja *anteiso*-haarottuneiden rasvahappojen osuus, mikä indikoi korkeinta gram-positiivisten bakteereiden määrää. Kaupunki 8B:ssa oli huomattavia määriä 10-Me16:0 happoa, jonka määrä kasvoi gradienttina sakan syvempiin osiin ensimmäisestä possusta kolmanteen possuun. Happo voi olla peräisin rikkiä pelkistävistä bakteereista. Kaupunki 1A oli PLFA-profiilin perusteella mikrobistoltaan kohteiden 2A, 3B ja 8B yhdistelmä. Vuoden jälkeen uudestaan possutetuissa kohteissa mikrobikoostumusta kuvaavat rasvahappoprofiilit olivat kaikissa neljässä possutetussa kohteessa muuttuneet mikrobistoltaan yleisimmän profiilin kaltaisiksi.

6.4.4 Tulosten tarkastelu

Possupuhdistus yhdenmukaisti eri vesijohtoverkostojen mikrobistoa ja vähensi vanhoihin sedimentteihin kertyneitä mikrobiryhmiä, jotka poikkesivat sedimenttien yleisimmästä mikrobiprofiilista. Vanhoissa sedimenttinäytteissä ja vesijohtoverkoston putkisedimenttien

syvimmissä kerroksissa mikrobiologinen diversiteetti oli suurin. Toisaalta syvällä biofilmisedimenteissä mikro-organismit olivat ehkä myös adaptoituneet hitaaseen kasvuun tai stationääriseen kasvuvaiheeseen. Yleisin mikrobiryhmä vesijohtoverkostoissa oli gram-negatiiviset bakteerit, joihin kuuluvat mm. *Aeromonas* ja *Pseudomonas*. Mitkään veden tai sakkojen kemialliset tekijät eivät selittäneet eroja vesijohtoverkostojen vanhojen sedimenttien poikkeavia mikrobikoostumuksissa, vaikka kaupunki 8:n poikkeuksellinen mikrobien rasvahappoprofiili korreloikin korkean fosforimäärän kanssa. Ehkä ymmärrettävästi sedimenttien mikrobiprofiileille ei löytynyt yksittäistä kemiallista selittäjää, sillä vesilaitosten raakavesilähteet ja vedenkäsittelymenetelmät ovat voineet vaihtua vuosien kuluessa.

7 YHTEENVETO MIKROBIOLOGISISTA JA KEMIALLISISTA TUTKIMUKSISTA

Kuluttajien saama veden laatu on usean tekijän summa. Laadun perusteet luodaan vesilaitoksella. Vesilaitokset joutuvat käyttämään raakavetenään hyvinkin erilaisia vesiä, joiden ominaisuudet muokataan veden käsittelyssä jakeluun sopivaksi. Perusvaatimuksia vesilaitokselta lähtevälle vedelle ovat veden mikrobiologinen ja kemiallinen turvallisuus. Vesi ei myöskään saa olla jakeluverkostoa ja vesikalusteita korrosoivaa. Vesilaitoksilta lähtevän korkealaatuisen veden ominaisuudet voivat kuitenkin muuttua jakeluverkostossa. Muutokset ovat yleensä veden laatua huonontavia. Merkittävin laadun lasku liittyy mikrobien kasvuun jakeluverkostossa. Mikrobien kasvu ja toiminta vesijohtoverkostossa saattaa myös heikentää veden kemiallista laatua. Esimerkkejä ovat nitriitin kertyminen veteen ja veden mahdolliset maku- ja hajuongelmat. Nykyisessä vedenkäsittelyssä pyrkimyksenä on mahdollisimman kontrolloitu desinfektiokemikaalien käyttö, mikä edellyttää hyvää jaettavan veden laatua ja virheetöntä jakeluverkoston kuntoa (ei esim. vuotoja).

Mikrobien kasvu vesijohtojen pinnoilla on merkittävä tekijä veden laatumuutoksille jakeluverkostossa. Pintakasvun (biofilmi, saostumat) merkitystä suomalaisissa veden jakeluverkostoissa on tutkittu niukalti. Tässä projektissa koottiin kansallinen konsortio, jossa tutkimuslaitokset yhdessä vesihuollon yritysten ja kaupunkien vesilaitosten kanssa tutkivat erilaisen ”historian” omaavien vesijohtoverkostojen veden laatua ja tämän liittymistä verkoston saostumiin. Tutkimuksessa selvitettiin myös saostumien mekaanisen poiston merkitystä veden laatuun. Projekti tuotti tietoa verkostoveden ja saostumien mikrobiologiasta ja kemiasta sekä vedenjakeluverkoston mikrobien kyvystä muodostaa biofilmikasvustoja.

Tässä luvussa esitetään veden kemiaan ja mikrobiologiaan liittyvän osaprojektin tulosten pääkohdat. Tarkastelussa pyritään painottamaan tulosten käytännön merkitystä.

1. Mikrobeille käyttökelpoinen hiili (AOC) jakeluverkostossa ja verkoston mikrobikasvu

Verkoston mikrobit eivät voi hyödyntää kasvussaan kaikkea veden sisältämää orgaanista ainesta. On kehitetty erilaisia biotestejä mittamaan sitä orgaanisen hiilen jaetta, joka on mikrobeille helposti ”purtavaa”. Yksi mittareista on AOC (assimilable organic carbon), jota tässä tutkimuksessa sovellettiin. Veden desinfioinnin eräs ”hankala” piirre on desinfiointi-kemikaalien reagoiminen veden humusaineiden kanssa, jolloin humusaineet pilkkoutuvat mikrobeille helpommin hyödynnettäviksi yhdisteiksi (AOC-pitoisuus nousee). Projektissa havaittiin, että AOC:n pitoisuus laski vesijohtoverkostoissa. Tämä johtui verkostojen mikrobistosta, joka hyödynsi vesilaitoskäsittelyssä veteen jäänyttä AOC:tä kasvussaan. Vesijohtoverkostojen olosuhteet eivät siis estäneet mikrobien kykyä lisääntyä viipymän kasvaessa. Saostumien poisto laski AOC:n kulutusta (katso myös kohdat 2 ja 3). Tulokset osoittavat ettei verkostoon syötetty vesi ollut biologisesti stabiilia. Tämä on ymmärrettävää huomioiden vesien korkeat AOC-pitoisuudet.

2. Saostumat mikrobien kasvuympäristönä ja saostumien poiston merkitys veden mikrobiologiseen laatuun

Tulokset osoittivat saostumien olevan mikrobien kasvun ydinpaikka verkostossa. Tämä päti sekä heterotrofisiin mikrobeihin (mikrobeja, jotka vaativat orgaanista ainesta kasvuunsa) että tutkittuihin kemolitrotrofisiin bakteereihin (bakteerit, jotka saavat kasvun vaatiman energian epäorgaanisista yhdisteistä ja soluhiilen hiilidioksidista, kuten ammoniumin ja nitriitin hapettajabakteerit). Sakkoihin oli siis pesiytynyt bakteereja (sädesienet mukaan lukien) ja sieniä. Sakan bakteerien joukossa esiintyi myös potentiaalisesti patogeeneja ympäristö-mykobakteerilajeja sekä koliformisia bakteereita, joita käytetään veden hygieniaindikaattoreina. Koliformisia bakteereita löydettiin vain sakoista, ei vesinäytteistä. Sakat olivat myös nitrifikaatiobakteerien merkittävin kasvuympäristö. Nitrifikaatiobakteerit edustavat sakoissa mikrobiryhmää, jonka aktiivisuus voi vaikuttaa veden kemialliseen laatuun. Nitrifikaatiobakteerien toiminta saattaa johtaa nitriitin kertymiseen veteen. Nitrifikaatiobakteerien pitoisuudet sakoissa olivat yllättävän suuret, joten niiden mahdolliset ”toimintahäiriöt” mm. klooriamiinidesinfektioon liittyen muodostavat potentiaalisen uhan veden kemialliselle laadulle. Merkillepantavaa oli se, että eri mikrobiryhmien esiintyvyydet sakoissa korreloivat keskenään, mikä osoittaa saostumien suosivan mikrobikasvua yleensä, ei vain tiettyjen mikrobien esiintyvyyttä. Patogeenit lajit löytävät sakoista hyvän suojan stressitekijöitä vastaan. Biofilmin mikrobit suojautuvat tehokkaasti esim. desinfiointikemikaaleilta. Sakkoihin sisältyy siis merkittävä veden hygieeninen riski.

Kun saostumat poistettiin, veden mikrobiologinen laatu verkostossa parani ainakin vuodeksi puhdistustoimista. Pitempiaikaista vaikutusta ei tutkittu. Tulokset osoittivat mikrobien kolonisoivan pinnat nopeasti (kohta 4), joten sakkojen poiston vaikutus veden laatuun ei johdu yksinomaan verkoston mikrobikasvun laskusta. AOC:n kulutuksen lasku viittaisi orgaanista ainesta hyödyntävien mikrobien kasvun laskuun, mitatut mikrobiologiset muuttujat tukivat osittain tätä johtopäätöstä. Eräänä syynä mikrobipitoisuuden laskuun puhdistetussa verkostossa on luultavasti myös se, että pinnoille muodostuvasta uudesta mikrobikasvustosta ei vapaudu mikrobeja veteen esim. paineenvaihtelujen yhteydessä siinä määrin kuin vanhoista saostumista.

3. Veden klooripitoisuus ja mikrobiologia

Edellä olevasta ilmenee, ettei verkoston klooripitoisuus estä mikrobien kasvua. Koska veden biologinen stabiilisuus ei kykene rajoittamaan mikrobikasvua, kiinnostavaa on klooritasojen ja veden mikrobiologian välinen suhde. Tulokset osoittivat, että eri mikrobiryhmien pitoisuudet ja mikrobiaktiivisuudet nousivat vedessä klooritasojen laskiessa veden ikääntyessä verkostoissa.

4. Verkoston mikrobien kyky muodostaa biofilmejä

Veden mikrobiologiselle laadulle merkittävää on, kuinka mikrobit voivat kolonisoida puhtaat pinnat ja miten nopeasti eri mikrobiryhmät pinnoilla kasvavat. Tätä tutkittiin verkostoon asennetuilla biofilmikeräimillä. Tulokset osoittivat mikrobien kolonisoivan nopeasti PVC-pinnan ja lisääntyvän niin, että biofilmin bakteerit saavuttivat maksimimääränsä jopa kuukaudessa. Merkittävää oli, että myös hidaskasvuiset bakteerit, kuten mykobakteerit ja nitrifikaatiobakteerit, ottivat nopeasti paikkansa biofilmiyhteisössä. Biofilmien muodostus oli nopeampaa verkostojen ääripäissä mikä käy yksiin veden mikrobipitoisuuksien nousun ja klooripitoisuuksien laskun kanssa.

5. Mikrobiyhteisöjen rakenne vedenjakeluverkostoissa

Vesijohtoverkostojen mikrobiyhteisöjen rakennetta ei tunneta juuri lainkaan. Viljely-menetelmillä ei kyetä saamaan kattavaa kuvaa saostumien/biofilmien mikrobien yhteisörakenteesta. Mikroyhteisöjen rakenteella saattaa olla merkitystä patogeenien mikrobien esiintymiseen saostumissa. Tiedetään, että mikrobit voivat joko edistää tai hankaloittaa toistensa menestymistä mikrobiyhteisöissä. Projektissa kehitettiin ns. fosfolipidianalytiikka verkoston mikrobiyhteisöjen analyysiin sopivaksi. Tällä analytiikalla pystytään tutkimaan

mikrobiyhteisön rakennetta suoraan näytteestä ilman että mikrobeja tarvitsee ensin eristää puhdasviljelmiksi. On huomattava, että kaikkia mikrobeja ei nykytekniikoin edes pystytä viljelemään.

Fosfolipidianalyysi osoitti eri verkostojen sakkojen mikrobiyhteisörakenteen olevan erilainen. Tällä voi olla merkitystä mm. patogeenimikrobien esiintymiseen ja biofilmin koko toimintaan. Merkittävä havainto oli, että biofilmin mikrobiyhteisön diversiteetti oli suurempi vanhoissa saostumissa kuin vuoden sisällä kertyneissä saostumissa. Eri verkostoista kerättyjen mikrobiyhteisöjen rakenne oli hyvin samanlainen uusissa kertymissä. Fosfolipidianalytiikka osoitti vesijohtoverkoston olosuhteiden suosivan Gram-negatiivisten bakteerien akkumuloitumista ensimmäisinä verkostojen sedimentteihin.

6. Sameuden ja mikrobien esiintyvyyden välinen riippuvuus

Verkostoveden mikrobipitoisuuden jatkuvaan seurantaan ei ole yksinkertaista rutiinianalytiikkaa. Tulokset osoittivat sameuden ja mikrobipitoisuuden korreloivan keskenään. Sameuden automaattinen monitorointi antaa siis tietoa myös veden mikrobiologiasta. Sameuden äkkinäinen muutos heijastuu eri mikrobien pitoisuuden nousuna vedessä. Mikrobit ovat peräisin saostumista. Sameuden nousuun saattaa myös sisältyä infektioriskin kasvu mikäli verkostojen biofilmeihin on pesiytynyt patogeeneja.

Projektissa saatiin ensi tuntuma Suomessa vesijohtoverkostojen saostumien monipuoliseen tutkimiseen. Merkittävää oli kyetä saamaan kokoon konsortio, jonka jäsenillä oli toisiaan täydentävä tausta. Tämä mahdollisti tutkimuksen suorittamisen. Tutkijayhteisöt tarvitsevat kaupunkien vesilaitosten tuen, samoin kuin verkostojen tekniikkaan perehtyneiden tahojen panoksen. Vesijohtoverkostojen tutkiminen eroaa merkittävästi muusta ”ympäristön tutkimuksesta” jo näytteenottoon liittyvien ongelmien/haasteiden puolesta.

KIRJALLISUUS

Ames BN, McCann J & Yamasaki E (1974) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsome test. Mutat. Res. 31:437-464.

Augoustinos MT, Venter SN & Kfir R. 1995. Assessment of water quality problems due to microbial growth in drinking water distribution systems. Environ. Toxicol. Water Quality 10:295-299.

Bellar TA, Lichtenberg JJ & Kroner RC. 1974. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. J. AWWA. 66:703-707.

Belser LW & Mays EL. 1980. Spesific inhibition of nitrite oxidation by chlorate and its use in assessing nitrification in soils and sediments. Appl. Environ. Microbiol. 39:505-510.

Belser LW. 1979. Population ecology of nitrifying bacteria. Ann. Rev. Microbiol. 33:309-333.

Bligh EG & Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37:911-917.Block JC, Haudidier K, Paquin JL, Miazga J & Levi Y. 1993. Biofilm accumulation in drinking water distribution systems. Biofouling 6:333-343.

Block JC. 1992. Biofilms in drinking water distribution systems. In: Biofilms - Science and Technology. Edited by L.F. Melo. Kluwer Academic Publichers, Netherlands, pp. 469-485.

Brady NC. 1984. Organic matter of mineral soils, pp. 253 - 282. Kirjassa The Nature and Properties of Soils. Macmillan, New York. Collier Macmillan, London.

Burman NP. 1965 Taste and odour due to stagnation and local warming in long lengths of piping. Proc. Soc. Water Treat. Exam. 14:125-131.

Carson LA, Petersen NJ, Favero MS & Aguero SM. 1978. Growth characteristics of atypical mycobacteria in water and their comparative resistance to disinfectants. Appl. Environ. Microbiol. 36:839-846.

Christman RF, Norwood DL & Millington DS (1983) Identity and yields of major halogenated products of aquatic fulvic acid chlorination. Environ. Sci. Technol. 17(10):625.

Cunliffe DA. 1991. Bacterial nitrification in chloraminated water supplies. Appl. Environ. Microbiol. 57:3399-3402.

Environmental Protection Agency, 1998. National primary drinking water regulations: disinfectants and disinfection byproducts; Final Rule. Federal Register, Wednesday, December 16, 1998, USA, vol. 63, no. 241 pp. 69390-69476.

Falkinham JO III. 1996. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin. Microbiol. Rev. 9:177-215.

Falkinham JO III, Norton CD & LeChevallier MW. 2001. Factors influencing numbers of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, and other mycobacteria in drinking water distribution systems. Appl. Environ. Microbiol. 67:1225-1231.Focht DD & Verstraete W. 1977. Biochemical ecology of nitrification and denitrification. Adv. Microb. Ecol. 1:135-214.

Frostegård Å, Tunlid A & Bååth E. 1991. Mibrobial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. J. Microbiol. Methods 14:151-163.

Haase G, Kentrup H, Skopnik H, Springer B & Böttger EC. 1997. *Mycobacterium lentiflavum*: an etiologic agent of cervical lymphadenitis. Clin. Infect. Dis. 25:1245-1246.

Hall-Stoodley L, Keevil CW & Lappin-Scott HM. 1998. Biofilm formation by the rapidly growing mycobacterial species Mycobacterium fortuitum. FEMS Microbiol. L. 168, 77-84.

Harris PJ. 1988. The microbial population of the soil, pp. 449 □ 471. Kirjassa Russell□s Soil Condition and Plant Growth (toim. A. Wild). 11. painos. Longman Scientific & Technical. Essex, England.

Herb S, Stair JO, Ringelberg DB, White DC & Flemming HC. 1996. Characterization of biofilms on corroded concrete surfaces in drinking water reservoirs. Water Science Technol. 32: 141-147.

Hynes RK & Knowles R. 1983. Inhibition of chemoautotrophic nitrification by sodium chlorate and sodium chlorite: a reexamination. Appl. Environ. Microbiol. 45:1178-1182.

Iivanainen EK, Martikainen PJ, Räisänen ML & Katila M-L. 1997. Mycobacteria in boreal coniferous forest soils. FEMS Microbiol. Ecol. 23:325-332.

International Agency for Research on Cancer, World Health Organization (1991) IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Chlorinated drinking water, Chlorination By-products; Some Other Halogenated Compounds; Cobalt and Cobalt Compounds. Lyon, France, IARC, Volume 52, 544 s.

Kauppinen J, Nousiainen T, Mattila R, Jantunen E, Kärkkäinen U & Katila M-L. 1999. Hospital water supply as a source of disseminated *Mycobacterium fortuitum* infection in a leukemia patient. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 20:343-345.

Keevil CW, Rogers J & Walker JT. 1995. Potable-water biofilms. Microbiology Europe 3:10-14.

van der Kooij D. 1982. Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water. J. AWWA. 74:540-545.v

van der Kooij D. Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. J. AWWA. 84:57-66

van der Kooij D & Hijnen WAM. 1984. Substrate utilization by an oxalate-consuming *Spirillum* species in relation to its growth in ozonated water. Appl. Environ. Microbiol. 47:551-559

Lahti K. 1993. Microbial quality of drinking water in some Finnish distribution systems. Wat. Sci. Tech. 27:151-154.

LeBel GL, Benoit FM & Williams DT (1997) A one-year survey of halogenated disinfection by-products in the distribution system of treatment plants using three different disinfection processes. Chemosphere. 34(11): 2301-2317.

LeChevallier MW, Cawthon CD & Lee RG. 1988a. Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies. Appl. Environ. Microbiol. 54:649-654.

LeChevallier MW, Cawthon CD & Lee RG. 1988b. Inactivation of biofilm bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 54:2492-2499.

LeChevallier MW, Schulz W & Lee RG. 1991. Bacterial nutrients in drinking water. Appl. Environ. Microbiol. 57:857-862.

LeChevallier MW, Welch NJ & Smith DB. 1996. Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water. Appl. Environ. Microbiol. 62:2201-2211.

Le Dantec C, Duguet J-P, Montiel A, Dumoutier N, Dubrou S & Vincent V. 2002. Chlorine disinfection of atypical mycobacteria isolated from a water distribution system. Appl. Environ. Microbiol. 68:1025-1032.

Loper JC, Land DR, Schoeny RS, Richmond BB, Gallagher PM & Smith CC (1978) Residue organics mixtures from drinking water show in vitro mutagenic tranforming activity. J. Toxicol. Environ. Health. 4:919-938.

Lund V & Ormerod K. 1995. The influence of disinfection processes on biofilm formation in water distribution systems. Wat. Res. 29:1013-1021.

Martikainen PJ. 1985. Numbers of autotrophic nitrifiers and nitrification in fertilized forest soil. Soil Biol. Biochem. 17:245-248.

Maul A, El-Shaarawi AH & Block JC. 1985. Heterotrophic bacteria in water distribution systems. I. Spatial and temporal variation. Sci. Total Environ. 44:201-214.

Miettinen I, Martikainen PJ, Iivanainen E & Vartiainen T. 1995. Mikrobien jälkikasvu, kloorisivutuotteet ja mutageenisuus erilaisissa suomalaisissa talousvesissä vuonna 1994. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B11/1995. Kuopio 1995.

Miettinen IT, Vartiainen T & Martikainen PJ. 1996. Contamination of drinking water. Nature. 381:654-655.

Miettinen I, Vartiainen T & Martikainen PJ. 1997a. Microbial growth and assimilable organic carbon in Finnish drinking waters. Wat. Sci. Tech. 35:301-306.

Miettinen IT, Vartiainen T & Martikainen PJ. 1997b. Phosphorus and bacterial growth in drinking water. Appl. Environ. Microbiol. 63:3242-3245.

Miettinen IT, Vartiainen T & Martikainen PJ. 1998. Microbial growth in drinking waters treated with ozone, ozone/hydrogen peroxide or chlorine. Ozone Sci. Engng 20 :303-315

Miettinen I, Iivanainen E, Vartiainen T & Martikainen PJ. 1998. Mikrobien jälkikasvu suomalaisissa verkostovesissä vuonna 1995. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B4/1998. Kuopio 1998.

Miller JW & Uden PC (1983) Characterization of non-volatile aqueous chlorination products of humic substances. Environ. Sci. Technol. 17(3):150.

Nagy LA & Olson BH. 1982. The occurrence of filamentous fungi in drinking water distribution systems. Can. J. Microbiol. 28:667-671.

Nagy LA & Olson BH. 1985. Occurrence and significance of bacteria, fungi and yeasts associated with distribution pipe surfaces. In: Technology Conference Proceedings. Advances in water analysis and treatment. American Water Works Association, Houston. pp. 213-237.

Ngo Niobe S, Bebear CM, Clerc M, Pellegrin J-L, Bebear C & Maugein J. 2001. Disseminated *Mycobacterium lentiflavum* infection in a human immunodeficiency virus-infected patient. J. Clin. Microbiol. 39:2030-2032.

Niemi RM, Knuth S & Lundström K. 1982. Actinomycetes and fungi in surface waters and in potable water. Appl. Environ. Microbiol. 43:378-388.

Ormerod KS. 1987. Heterotrophic microorganisms in distribution systems for drinking water. Vatten 43:262-268.

Payment P, Gamache F & Paquette G. 1988. Microbiological and virological analysis of water from two water filtration plants and their distribution systems. Can. J. Microbiol. 34:1304-1309.

Pernitsky DJ, Finch GR & Huck PM. 1995. Disinfection kinetics of heterotrophic plate count bacteria in biologically treated potable water. Wat. Res. 29:1235-1241.

Reasoner DJ, Blannon JC, Geldreich EE & Barnick J. 1989. Nonphotosynthetic pigmented bacteria in a potable water treatment and distribution system. Appl. Environ. Microbiol. 55:912-921.

von Reyn CF, Maslow JN, Barber TW, Falkinham JO III & Arbeit RD. 1994. Persistent colonisation of potable water as a source of *Mycobacterium avium* infection in AIDS. Lancet 343:1137-1141

von Reyn CF, Waddell RD, Eaton T, Arbeit RD, Maslow JN, Barber TW, Brindle RJ, Gilks CF, Lumio J, Lähdevirta J, Ranki A, Dawson D & Falkinham JO III. 1993. Isolation of *Mycobacterium avium* complex from water in the United States, Finland, Zaire, and Kenya. J. Clin. Microbiol. 31:3227-3230.

Ridgway HF & Olson BH. 1982. Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. Appl. Environ. Microbiol. 44:972-987.Rook JJ. 1974. Formation of haloforms during chlorination of natural waters. Wat. Treatm. Exam. 23:234-243.

Rosenzweig WD & Pipes WO. 1989. Presence of fungi in drinking water. In: Biohazards of drinking water treatment. Edited by R.A. Larson. Lewis Publishers, Inc., Michigan. pp. 85-93.

Rosenzweig WD, Minnigh HA & Pipes WO. 1983. Chlorine demand and inactivation of fungal propagules. Appl. Environ. Microbiol. 45:182-186.

Rosenzweig WD, Minnigh H and Pipes WO. 1986. Fungi in potable water distribution systems. Jour. AWWA 78:53-55.

Schulze-Röbbecke R, Janning B & Fischeder R. 1992. Occurrence of mycobacteria in biofilm samples. Tuber. Lung Dis. 73:141-144.

Sosiaali- ja terveysministeriön asetus 461/2000 talousveden laatuvaatimuksista ja valvontatutkimuksista. Annettu Helsingissä 19 päivänä toukokuuta 2000.

Springer B., Wu W-K, Bodmer T, Haase G, Pfyffer GE, Kroppenstedt RM, Schröder K-H, Emler S, Kilburn JO, Kirschner P, Telenti A, Coyle MB & Böttger EC. 1996. Isolation and characterization of a unique group of slowly growing mycobacteria: description of *Mycobacterium lentiflavum* sp. nov. J. Clin. Microbiol. 34:1100-1107.

Suutari M & Laakso S. 1994. Microbial fatty acids and thermal adaptation, a review, CRC Crit. Rev. Microbiol., 20(4), 285-328.

Suutari M, Liukkonen K & Laakso S. 1990. Temperature adaptation in yeasts: the role of fatty acids. J. Gen. Microbiol. 136:1469-1474.

Taylor RH, Falkinham JO III, Norton CD & LeChevallier MW. 2000. Chlorine, chloramine, chlorine dioxide, and ozone susceptibility of *Mycobacterium avium*. Appl. Environ. Microbiol. 66:1702-1705.

Tortoli E., Kroppenstedt RM, Bartoloni A, Caroli G, Jan I, Pawlowski J &. Emler S. 1999. *Mycobacterium tusciae* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 49:1839-1844.

Torvinen E, Suomalainen S, Lehtola M, Miettinen I, Zacheus O, Paulin L, Katila M-L & Martikainen P. 2004. Mycobacteria in water and loose deposits of drinking water distribution systems in Finland. Appl. Environ. Microbiol. 70:1973-1981.

Weinberger M, Berg SL, Feuerstein IM, Pizzo PA & Witebsky FG. 1992. Disseminated infection with *Mycobacterium gordonae*: a report of a case and critical review of the literature. Clin. Infect. Dis. 14:1229-1239.

White DC, Davis WM, Nickels JS, King JD & Bobbie RJ. 1979. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. Oecologia. 40:51-62.

WHO 1996 Guidelines for drinking water quality, 2. edition, Volume 2, Health criteria and other supporting information, WHO, Geneva .WHO 1998 Guidelines for drinking water quality, 2. edition, Addendum to Volume 2, Health criteria and other supporting information, WHO, Geneva .

Wilczak A, Jacangelo JG, Marcinko JP, Odell LH, Kirmeyer GJ & Wolfe RL. 1996. Occurrence of nitrification in chloraminated distribution systems. J. AWWA. 88:74-85.

Williams SL, Rindfleisch DF & Williams RL (1994) Deadend on Haloacetic acids (HAA). Proceedings Amer. Water Works Assoc. Water Quality Technology Conference, pp. 1053-1065. San Francisco, California.

Wolfe RL, Means III EG, Davis MK & Barret SE. 1988. Biological nitrification in covered reservoirs containing chloraminated water. J. AWWA. 80:109-114.

Wolfe RL, Lieu NI, Izaguirre G & Means EG. 1990. Ammonia-oxidizing bacteria in a chloraminated distribution system: seasonal occurrence, distribution and disinfection resistance. Appl. Environ. Microbiol. 56:451-462.

Zacheus, OM, Lehtola, MJ, Korhonen, LK & Martikainen,PJ 2001. Loose deposits, the key site for microbial growth in drinking water distribution networks. Water Research 35:7:1757-1765.