



Virusverwijdering door bodemtransport onder suboxische condities.

BTO 2013.001
Mei 2013

Virusverwijdering door bodemtransport onder suboxische condities

BTO2013.001
Mei 2013

© 2012 KWR

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Colofon

Titel

Virusverwijdering door bodemtransport onder suboxische condities.

Opdrachtnummer

B111708

Rapportnummer

BTO 2013.001

Onderzoeksprogramma

BTO

Projectmanager

Niels Dammers

Opdrachtgever

CvO

Kwaliteitsborger(s)

Gertjan Medema

Auteur(s)

Luc Hornstra

Verzonden aan

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten en is openbaar

Voorwoord

In dit rapport worden de resultaten beschreven van een veldstudie, waarin de verwijdering van bacteriofagen is bepaald in een zandige bodem onder suboxische condities. Het experiment is uitgevoerd in de waterleidingduinen van Waternet. De studie vereiste een multidisciplinaire benadering, waarbij geochemische, geohydrologische en microbiologische kennis en ervaring samenkomen in 1 project. Voor de geohydrologische en geochemische vraagstukken was de hulp van geohydrologen bij KWR en Waternet onontbeerlijk. Pieter Stuyfzand, Gijsbert Cirkel en Klaasjan Raat van KWR en Philip Nienhuis en Frank Smits van Waternet wil ik bedanken voor hun essentiële bijdrage aan dit project. Ook Steven van Duivenbode, Pierre Kamps en vele andere medewerkers van Waternet hebben direct of indirect bijgedragen aan het slagen van dit project. Gemma Serra Prat was als stagiaire verbonden aan dit project, en wil ik bedanken voor haar bijdrage aan het inmeten van de meetraai, en het verzamelen van veldgegevens. Het meten van de doorbraak van de bacteriofagen was een gezamenlijke inspanning van het gehele LMB lab. Ik wil iedereen bedanken voor deze fantastische 7 dagen per week inzet in de toch al drukke decembermaand. Ook Sidney Meierink en Harry van Wegen wil ik bedanken voor het meedenken en maken van de doseerinstallatie en bemonsteringsinstallatie in de duinen.

Het project werd begeleid door de TBG Duurzaam Veilig water. Alle leden van de TBG wil ik bedanken voor de discussies en suggesties tijdens de bijeenkomsten van de TBG Duurzaam Veilig Water.

Samenvatting

Beschermingszones rondom drinkwaterwinningen.

Drinkwaterwinningen worden beschermd door beschermingszones rondom de winningen. De richtlijn van de Commissie Bescherming Waterwingebieden geeft aan dat de beschermingszone dusdanig groot moet zijn dat het toestromende water een verblijftijd heeft in het watervoerende pakket van tenminste 60 dagen. Deze verblijftijd in het pakket moet de drinkwaterwinning beschermen tegen de doorbraak van ziekteverwekkende micro-organismen.

Er zijn een aantal veldstudies beschreven waarin is bepaald of de 60 dagen zone voldoende bescherming biedt tegen doorbraak van ziekteverwekkende micro-organismen. Hierbij is vooral naar de verwijdering van virussen gekeken, omdat virussen beter dan bacteriën en protozoa in staat zijn om over grote afstanden door de bodem te reizen, waarbij ze ook lange tijd infectieus kunnen blijven.

Veldstudies waarbij de verwijdering van micro-organismen werd bepaald in een oxisch watervoerend pakket lieten zien dat onder deze condities een verblijftijd van 60 dagen voldoende bescherming biedt tegen doorbraak van ziekteverwekkende micro-organismen. Een studie waarbij de verwijdering van virussen werd bepaald in een anoxisch watervoerend pakket, liet echter zien dat onder anoxische condities verwijdering door bodempassage veel minder effectief is, omdat de bacteriofagen onder deze condities zeer slecht hechten aan de bodemdeeltjes. Onder anoxische condities bij kwetsbare winningen kan beter uit worden gegaan van een verblijftijd van 110 dagen, waarbij zowel horizontaal als verticaal transport een bijdrage levert aan de verblijftijd. Deze veldstudies hebben laten zien dat de redoxcondities in het watervoerende pakket een zeer belangrijke rol spelen bij de verwijdering van virussen.

Doelstelling van dit onderzoek.

Het doel van dit onderzoek is om de verwijdering van bacteriofagen te bepalen tijdens bodempassage in een suboxisch watervoerend pakket. De bij een suboxisch watervoerend pakket behorende redoxconditie bevindt zich tussen die van de eerder genoemde oxische en anoxische veldstudies. Omdat onder anoxische condities is gebleken dat 60 dagen horizontaal transport onvoldoende is, is het belangrijk te bepalen vanaf welk "redoxniveau" de 60 dagen zone wel voldoende bescherming biedt. De resultaten zullen worden gebruikt om een uitspraak te doen over of een verblijftijd van 60 dagen in een suboxisch watervoerend pakket voldoende is om de drinkwaterwinningen te beschermen tegen doorbraak van ziekteverwekkende micro-organismen.

Experimentele condities van het onderzoek

Het onderzoek is uitgevoerd in een zandige bodem met een suboxisch watervoerend pakket. In dit pakket zijn een doseerput en 6 waarnemingsputten geplaatst in lijn met de stroombaan. Op drie verschillende dieptes zijn filters geplaatst, waarbij het watervoerende pakket op de drie verschillende dieptes verschilde in de zuurstofconcentratie. In de bovenste laag bedroeg de zuurstofconcentratie ongeveer 2 mg/L O₂, en in de middelste en onderste laag bedroeg de zuurstofconcentratie ongeveer 1 mg/L O₂.

Voor het bepalen van de verwijdering van virussen is gebruik gemaakt van de bacteriofagen MS2 en PRD1, als surrogaat voor ziekteverwekkende virussen. Voorafgaand aan de dosering van de bacteriofagen is een tracerexperiment uitgevoerd met NaCl als tracer, om de richting en de snelheid van de grondwaterstroming te bepalen. Een tweede NaCl tracerexperiment is uitgevoerd nadat het doseerexperiment met de bacteriofagen was afgerond, en was noodzakelijk om ontbrekende gegevens van het eerste tracerexperiment aan te vullen.

MS2 en PRD1 werden via het doseerfilter direct in het watervoerend pakket gedoseerd, waarna de verwijdering van MS2 en PRD1 door bodemtransport werd bepaald door middel van het kwantitatief bepalen van het aantal plaque vormende eenheden (pve)/ml in het water in de waarnemingsputten stroomafwaarts van het doseerpunt met behulp van plaque assays. Daarnaast is ook de afsterving bepaald van MS2 en PRD1.

De waargenomen verwijdering wordt bepaald door enerzijds de afsterving en anderzijds de hechting van de bacteriofagen. Omdat de afsterving en de totale verwijdering wordt bepaald en dus na de veldstudie bekend zijn, kan de verwijdering door hechting worden afgeleid van de totale verwijdering.

Resultaten van de doseerproef

De eerste doseerproef met NaCl leverde van een aantal waarnemingsputten een doorbraakcurve op. Hieruit kon worden geconcludeerd dat de stroomsnelheid van het grondwater in de bovenste en de middelste laag met ongeveer 1,2 meter per dag bijna gelijk was, terwijl in de onderste laag de stroomsnelheid met een snelheid van 3,3 meter per dag veel hoger was. Deze hogere stroomsnelheid werd ook gevonden in de 2^e doseerproef met NaCl. In de 2^e doseerproef lagen de grondwatersnelheden in de drie lagen iets hoger. In de bovenste en middelste laag werd een stroomsnelheid gemeten van 1,6 meter/dag, en in de onderste laag 4,1 meter/dag.

De verwijdering van MS2 en PRD1 bleek hoger te zijn dan verwacht, waarbij MS2 beter werd verwijderd dan PRD1. Van MS2 werd in de bovenste en middelste laag 8,6 logeenheden verwijderd na 10 meter bodemtransport. In de onderste laag bedroeg de verwijdering van MS2 6 logeenheden na 10 meter. PRD1 werd na 10 meter bodemtransport verwijderd met 3,9, 5,0 en 3,5 logeenheden in respectievelijk de bovenste, middelste en onderste laag. Na 26 meter werd in de onderste laag een verwijdering gevonden voor PRD1 van 7,5 logeenheden.

De inactivatieconstante van MS2 bij een temperatuur van 15°C was 0,137 log/dag, en van PRD1 0,057 log/dag. Omdat de reistijd vanaf het doseerpunt tot de waarnemingsputten meestal niet langer was dan 10 dagen, was afsterving geen grote factor in de totale verwijdering. Het grootste aandeel in de verwijdering kan worden toegekend aan hechting van de bacteriëfagen aan bodemdeeltjes.

De verwijdering van de bacteriëfagen tijdens transport door de bovenste laag en de middelste laag liet geen duidelijk verschil zien. Het verschil in zuurstofconcentratie tussen deze twee lagen (2,0 mg/l voor de bovenste laag versus 1 mg/L voor de middelste laag) was vermoedelijk te klein om een duidelijk verschil in verwijdering te laten zien.

De benodigde reistijd rondom een winning met een suboxisch watervoerend pakket.

Uit de resultaten blijkt dat hechting de belangrijkste oorzaak is voor de verwijdering van MS2 en PRD1 in een suboxisch watervoerend pakket. De resultaten blijken voor een belangrijk deel overeen te komen met de resultaten van het eerdere veldexperiment te Castricum, waar een verwijdering werd gevonden van PRD1 van 8 logeenheden na 30 meter transport. Dit is nagenoeg gelijk aan de waarde die in deze studie werd gevonden voor PRD1. In tegenstelling tot deze studie waarin MS2 beter werd verwijderd dan PRD1, was in de studie in Castricum de verwijdering van MS2 en PRD1 gelijk.

Uit de in dit experiment waargenomen verwijdering van PRD1 kan worden geconcludeerd dat een reistijd van 60 dagen en een beschermingszone van 30 meter zal resulteren in een verwijdering van minimaal 12 logeenheden. Uitgaande van een 'worse case' scenario van een lekkend riool net buiten de 60 dagen zone, kan worden gesteld dat transport door een suboxisch watervoerend pakket onder deze condities voldoende bescherming biedt tegen doorbraak van ziekteverwekkende virussen.

Inhoud

Voorwoord	1
Samenvatting	3
Inhoud	5
1 Inleiding	7
2 Materiaal en Methoden	11
2.1 Vooranalyse en selectie van de locatie	11
2.2 Beschrijving van de locatie: De Amsterdamse Waterleidingduinen	12
2.3 Positie van de meetraai	14
2.4 Het ontwerp van de meetraai	16
2.4.1 De richting van de grondwaterstroming	16
2.4.2 De zuurstofconcentratie en de plaatsingsdieptes van de filters	16
2.4.3 Het aantal waarnemingsputten en de onderlinge afstanden	17
2.4.4 Filterstellingen	18
2.4.5 Het doseerfilter	19
2.5 De doseerinstallatie	20
2.6 Het aanleggen van de meetraai	21
2.7 Bodemsamenstelling en geochemische analyses	22
2.8 Natriumchloride als tracer	27
2.9 Bacteriofagen als modelorganisme voor ziekteverwekkende virussen	28
2.10 Bemonstering van de bacteriofagen	29
2.11 Labanalyses	30
3 Resultaten	31
3.1 Beschrijving van de uitgevoerde experimenten	31
3.2 Resultaten van het eerste doseerexperiment met NaCl.	31
3.3 Resultaten van de 2 ^e doseerproef met NaCl	33
3.4 Vergelijking van het 1 ^e en 2 ^e NaCl doseerexperiment.	35
3.5 De resultaten van de doseerproef met bacteriofagen MS2 en PRD1.	36
3.5.1 Het doseren van bacteriofagen MS2 en PRD1	36
3.5.2 Doorbraak bacteriofagen MS2 en PRD1	37
3.6 De verwijderingscapaciteit van MS2 en PRD1 in duinzand onder suboxische condities.	41
3.6.1 Verdunning tijdens dosering, het berekenen van de initiële concentratie C_0	41
3.6.2 De verwijdering van MS2 en PRD1	44
3.7 Afsterving van MS2 en PRD1 in grondwater.	53
3.8 Hechting	58
3.9 Hechting en afsterving van MS2 en PRD1 tijdens de veldstudie.	61

3.10	De zuurstofconcentraties in het grondwater op -1,5 -2,5 en -3,5 m NAP.	62
4	Vertaling van de resultaten naar de lengte van de microbiologische verwijderingszone	67
4.1	De microbiologische veiligheidszone rondom winningen	67
4.2	Verwijdering van MS2 en PRD1 onder suboxische condities, de resultaten van deze studie	68
5	Discussie	71
6	Conclusies	77
7	Aanbevelingen	79
8	Referenties	81
9	Bijlagen	85
9.1	Boorbeschrijvingen van de boringen door VCMi.	85

1 Inleiding

In Nederland wordt het grootste deel van het drinkwater gewonnen uit grondwater. Grondwater is over het algemeen van zeer goede microbiologische kwaliteit, omdat het vaak al geruime tijd in de bodem aanwezig is. Daardoor zijn ziekteverwekkende micro-organismen van humaan fecale herkomst door filtratie en afsterving uit dit water verdwenen. Om deze kwaliteit te kunnen blijven waarborgen, zijn rondom waterwinningen beschermingszones aangelegd. Binnen een dergelijke beschermingszone zijn alleen activiteiten toegestaan die in het kader van de waterwinning noodzakelijk zijn. Op deze wijze wordt de verontreiniging van het grondwater in het waterwingebied van de winning voorkomen.

De basis voor deze beschermingszones is gelegd door de Duitse hygiënicus Knorr, die al in 1937 experimenteel had gevonden dat bodempassage een effectieve stap was om allochtone bacteriën in grondwater te laten afsterven. Een verblijftijd in de bodem van 50 tot 60 dagen werd voldoende geacht om hygiënisch betrouwbaar drinkwater te maken. Bij zijn bevindingen heeft Knorr destijds ook aangegeven dat niet bekend was of een verblijftijd van 50 tot 60 dagen ook voldoende was om virussen adequaat te verwijderen (Knorr, 1937).

In 1980 is door de commissie Bescherming Waterwingebieden, mede op basis van de informatie van Knorr, in een richtlijn vastgelegd dat de beschermingszone rondom een winning van een dergelijke grootte moet zijn dat het toestromende watervoerende pakket een verblijftijd heeft van minimaal 60 dagen voordat het de winput bereikt (Anonymous, 1980). Wel geeft de commissie aan dat de verblijftijd van 60 dagen niet voldoende is onderbouwd, en dat dit in het bijzonder geldt voor virussen. Het was dus ten tijde van het vaststellen van deze richtlijn niet duidelijk of virussen de veiligheid van grondwaterwinningen kunnen bedreigen.

Ziekteverwekkende virussen van humane afkomst zijn in zeer grote getale aanwezig in het riool (Lodder et al, 2005). In eerdere studies is gevonden dat een groot deel van het rioolstelsel in kleine of grote mate lekkage vertoont. Vanuit deze bronnen van verontreiniging kunnen humane virussen zich verspreiden in de ondergrond (Schijven *et al*, 2002). Inzicht in hoeverre virussen zich door de bodem kunnen verspreiden is noodzakelijk om in te kunnen schatten of ze een bedreiging kunnen zijn voor het drinkwater. Met deze informatie kan dan worden bepaald of een lekkend riool direct buiten de 60 dagen zone een bedreiging vormt voor de drinkwaterkwaliteit, en op deze wijze een gevaar vormt voor de volksgezondheid. Naast riool lekkage kunnen ook andere bronnen, zoals septic tanks en fecaal verontreinigd oppervlaktewater humane virussen verspreiding.

Tijdens bodemtransport neemt het aantal virussen af met het toenemen van de afgelegde afstand. De belangrijkste processen die hierbij een rol spelen zijn hechting en inactivatie van de virussen. Ook predatie wordt soms genoemd als een mogelijk proces dat voor de vermindering van infectieuze virussen kan zorgen, hier zijn echter zeer weinig gegevens over bekend.

Hechting

Tijdens transport door de bodem zal een virus afhankelijk van de condities in het watervoerend pakket en de eigenschappen van het virus wel of niet gaan hechten aan bodem deeltjes. Hechting is een ingewikkeld proces waarbij viruseigenschappen zoals elektrische lading, hydrophobiciteit en grootte een belangrijke rol spelen. De elektrische lading van een virus wordt bepaald door het iso-elektrisch punt van het virus in combinatie met de pH van het water. Een iso-elektrisch punt lager dan de pH van het omgevingswater resulteert in een negatief geladen virus. Een negatief geladen virus ondergaat in de praktijk in minder hechting omdat de bodemdeeltjes ook negatief geladen zijn, waardoor repulsie zal optreden (Schijven *et al*, 2000^a).

Naast viruseigenschappen bepalen ook geohydrologische condities en bodemeigenschappen de mate van hechting. Factoren zijn de stroomsnelheid van het grondwater, korrelgrootte en aanwezigheid van metaalhydroxiden en organisch materiaal in de bodem (Ryan *et al*, 1999, Ryan *et al*, 2002). De aanwezigheid van metaalhydroxiden is gerelateerd aan de redoxcondities in de bodem. Onder oxische

condities zijn de metalen aanwezig als positief geladen metaalhydroxiden, en vormen zo bindingsplaatsen voor de negatief geladen virussen.

Inactivatie

Naast hechting speelt inactivatie of afsterving ook een belangrijke rol bij de verwijdering van micro-organismen. Een afgestorven micro-organisme is niet meer infectieus, en vormt geen bedreiging meer voor de volksgezondheid. In de bodem wordt de snelheid van afsterving voornamelijk bepaald door de temperatuur van het water. Een hogere temperatuur resulteert in een duidelijk hogere afsterving (Blanc *et al*, 1996; Schijven *et al*, 2000^a; Yates *et al*, 1985; Yates *et al*, 1990). Daarnaast is de snelheid van afsterving specifiek voor een micro-organisme.

De afgelopen jaren zijn veel studies verricht naar het reisgedrag van virussen (bio-colloïden) in poreuze media, waarbij een groot deel van deze informatie afkomstig is van experimenten met kolommen onder labcondities. Er zijn ook veldexperimenten beschreven, waarbij het transport en verwijdering van de virussen door bodempassage is bepaald (Bales *et al*, 1995; Blanford *et al*, 2005; de Borde *et al*, 1998; de Borde *et al*, 1999; Pang *et al*, 2005; Pieper *et al*, 1997; Ryan *et al*, 2002; Schijven *et al*, 1999; Schijven *et al*, 2000^a; Woessner *et al*, 2001, van der Wielen *et al*, 2009). Uit deze studies is gebleken dat gegevens afkomstig van kolomstudies vaak niet overeenkwamen met waarnemingen van veldstudies, waarbij in de meeste gevallen kolomstudies per meter een hogere verwijdering lieten zien (Pang, 2009). Op basis van kolom experimenten is dus niet goed in te schatten wat de daadwerkelijke virusverwijdering zal zijn onder veldcondities. Informatie over de verwijdering van micro-organismen door bodempassage zal daarom bij voorkeur gebaseerd moeten zijn op daadwerkelijke veldexperimenten, omdat deze het beste in staat zijn realistische gegevens te leveren over de daadwerkelijke verwijdering van micro-organismen tijdens transport door de bodem.

De afgelopen jaren zijn meerdere veldexperimenten beschreven waarbij de verwijdering van door bodemtransport is bepaald. Een aantal studies is ook in Nederland uitgevoerd. In 1999 is in een studie in de duinen bij Castricum de verwijdering van bacteriofagen MS2 en PRD1 tijdens transport door duinzand bepaald (Schijven *et al*, 1999). Tijdens deze studie zijn bacteriofagen door middel van kunstmatige infiltratie onder oxische condities in de bodem geïnfiltrerd. Uit deze studie bleek dat de verwijdering van MS2 en PRD1 na 26 dagen 8,1 logeenheden bedroeg.

Een andere studie beschrijft de verwijdering van bacteriën en virussen tijdens diepinfiltratie van oxisch oppervlaktewater in een anoxisch watervoerend pakket op ongeveer 310 meter diepte (Schijven *et al*, 2000^b). Hier werd de eerste 8 meter rondom het injectiepunt een verwijdering geregistreerd van MS2 en PRD1 van 6 logeenheden, terwijl de volgende 30 meter resulteerden in 2 logeenheden verwijdering. Een verblijftijd van 38 dagen resulteerde in een verwijdering van 8,4 logeenheden. De meeste verwijdering vond plaats direct bij het injectiepunt. Dit kon verklaard worden door de vorming van ijzerhydroxiden als gevolg van pyriet oxidatie door de aanwezigheid zuurstof in het geïnjecteerde water.

Metaalhydroxiden zijn positief geladen deeltjes in de bodem die kunnen fungeren als bindingsplaatsen voor de negatief geladen virussen. De aanwezigheid van metaalhydroxiden is afhankelijk van de concentratie metalen in de bodem, en van de redoxcondities. De aanwezigheid van zuurstof resulteert in de vorming van de positief geladen hydroxide vorm van metalen, en daarom is de verwachting dat verwijdering van virussen onder oxische condities hoger is dan onder anoxische condities. Bij de studie in Castricum is het waarschijnlijk dat een groot deel van virustransport door de bodem zal hebben plaatsgevonden onder oxische condities. Ook bij de diepinfiltratie in Someren is de grootste virusverwijdering geregistreerd in de eerste 8 meter in de aanwezigheid van zuurstof in het water.

Uit de resultaten van Castricum en Someren blijkt dat bij beide studies meer dan 8 logeenheden verwijdering werd behaald binnen een verblijftijd van 60 dagen. In de bovenstaande gevallen biedt de 60 dagen zone dus voldoende bescherming tegen de doorbraak van virussen. In Nederland zijn ongeveer 200 zandige grondwaterwinningen in gebruik. 176 winningen worden afdoende beschermd tegen doorbraak van virussen omdat het watervoerend pakket onder beschermende kleilagen ligt, het grondwater oxisch is, of omdat de onverzadigde zone langer is dan 5 meter. De overige winningen onttrekken water uit een anoxisch of suboxisch watervoerend pakket. In een eerdere studie is de verwijdering van virussen beschreven onder anoxische omstandigheden in combinatie met een hoge pH.

Van deze bodemeigenschappen wordt aangenomen deze ongunstig zijn voor virusverwijdering door bodempassage (van der Wielen *et al*, 2006).

Een studie, waar bacteriofagen MS2 en Φ X174 werden geïnjecteerd in een anoxisch watervoerend pakket met een hoge pH in de bodem van Nieuwegein, liet zien dat voor MS2 een verwijdering werd gevonden van 3,5 logeenheden gedurende een verblijftijd van 62 dagen (van der Wielen *et al*, 2008). In diezelfde verblijftijd werd van Φ X174 4,9 logeenheden verwijderd. Voor MS2 bleek slechts 1,2 logeenheden verwijderd te zijn als gevolg van hechting, en 2,3 logeenheden door afsterving, terwijl voor Φ X174 4,1 logeenheden werden verwijderd door hechting en 0,8 logeenheden door afsterving. Uit de studie bleek dat hechting onder anoxische condities met een hoge pH, met name voor MS2 zeer gering was. Hierdoor was onder deze condities een verblijftijd van 60 dagen niet voldoende om de winning adequaat te beschermen tegen de doorbraak van slecht-hechtende virussen.

Uit de bovenstaande studies blijkt dat de redoxcondities, en de daarmee samenhangende zuurstofconcentratie in het water, een belangrijke rol spelen in de verwijderingscapaciteit van de bodem tijdens de verwijdering van micro-organismen. Gebaseerd op de resultaten van de studie te Castricum en Someren, kan worden geconcludeerd dat onder oxische condities een verblijftijd van 60 dagen voldoende bescherming biedt tegen de doorbraak van ziekteverwekkende virussen. Onder anoxische condities is de verwijdering als gevolg van de zeer geringe hechting duidelijk minder, en voldoet 60 dagen verblijftijd niet. Hierbij moet wel worden opgemerkt dat de lengte van de 60-dagenzone wordt berekend met horizontaal transport. In de praktijk zal de een verontreiniging, bijvoorbeeld uit een lekkend riool, zich ook verticaal verplaatsen, waardoor de daadwerkelijke reistijd door de bodem meer dan 60 dagen zal bedragen.

In Nederland betrekken de drinkwaterbedrijven water uit watervoerende pakketten onder zowel oxische, anoxische als suboxische condities. Hoewel de vorige studies veel informatie hebben opgeleverd over de verwijdering van virussen door bodemtransport, kan op basis van deze studies niet goed worden geconcludeerd wat het effect is van een watervoerend pakket met een geringe zuurstofconcentratie op de verwijdering van virussen.

In dit rapport wordt een veldstudie beschreven naar de verwijdering van MS2 en PRD1 in duinzand onder suboxische condities, waarbij de suboxische condities zijn gedefinieerd als $< 1,0 \text{ mg/L O}_2$, en $> 0,5 \text{ mg/L NO}_3$. Deze studie is uitgevoerd om meer inzicht te krijgen in de invloed van een geringe hoeveelheid zuurstof in het watervoerende pakket op de verwijdering van de modelorganismen MS2 en PRD1. De resultaten moeten helderheid geven over de te verwachten verwijdering van virussen tijdens bodemtransport onder suboxische condities, en hiermee de vraag beantwoorden of een verblijftijd van 60 dagen in een suboxisch watervoerend pakket voldoende is om virussen adequaat te verwijderen.

2 Materiaal en Methoden

2.1 Vooranalyse en selectie van de locatie

Op basis van eerdere veldexperimenten, uitgevoerd in Castricum, Someren (diepinfiltratie) en Nieuwegein zijn voor dit project voorwaarden gedefinieerd waar het watervoerende pakket van de veldlocatie aan zal moeten voldoen om de verwijdering onder suboxische condities te onderzoeken. Omdat een suboxische watervoerende pakketten overgangszones zijn, zijn deze minder eenduidig aan te wijzen als oxische of anoxische condities. De belangrijkste voorwaarde was om het experiment uit te voeren onder redoxcondities die zich bevonden tussen de redoxcondities van het eerdere experiment in Castricum (vermoedelijk oxisch) en Nieuwegein (anoxisch). Een watervoerend pakket met suboxische redoxcondities bevindt zich tussen de redoxcondities van de bovengenoemde veldexperimenten. Volgens de redoxclassificatie van Stuyfzand wordt suboxisch grondwater getypeerd als redox level 2, met een typische redoxpotentiaal van 740 mV. Hierin is < 1.0 mg/l zuurstof aanwezig en > 1.0 mg/l nitraat. (Stuyfzand et al, 1993).

Op basis hiervan werden de redoxcondities waaraan het watervoerende pakket moet voldoen gedefinieerd als: een zuurstofconcentratie van minder dan 1 mg/L O_2 , en de aanwezigheid van meer dan 0.5 mg/L NO_3 .

Daarnaast werd er in eerste instantie naar gestreefd om een locatie te selecteren waar gebruik kon worden gemaakt van een bestaande meetraai. Echter, omdat het doseren van surrogaatvirussen aan een in gebruik zijnde drinkwaterwinning een niet gewenste situatie is, was de focus gericht op buiten gebruik gestelde winningen of scherpmputen, waarbij het opgepompte water wordt geloosd.

Met dit eisenpakket bleek het niet mogelijk om een veldlocatie te vinden die aan de bovenstaande voorwaarden voldeed. Daarom is besloten te zoeken naar een veldlocatie met de vereiste condities van het watervoerende pakket, waarbij de meetraai zou moeten worden aangelegd. Verdere voorkeuren bestonden uit: budgettechnische voorkeur voor een niet al te diepe winning in verband met het aanleggen van een meetraai, en voorkeur voor het uitvoeren van de werkzaamheden binnen een afgesloten gebied in verband met eventuele verstoring door derden of vandalisme.

Binnen het werkgebied van Vitens is een scherpmpuut in de nabijheid van de drinkwaterwinning te Wierden nader onderzocht om te bepalen of dit een goede veldlocatie zou zijn voor dit onderzoek.

Schermpuut Wierden (Vitens):

In Wierden wordt een chemische verontreiniging verwijderd door middel van een scherpmpuut. Het watervoerend pakket in het aanstroomgebied van deze scherpmpuut, is op basis van de meetgegevens van drinkwaterputten in de nabijheid vermoedelijk suboxisch. Deze put is onderzocht op geschiktheid.

De betreffende scherpmpuut (een oude winput van Vitens) is door Vitens overgedragen aan de provincie. Het beheer en monitoring van de scherpmpuut heeft de provincie overgedragen aan Royal Haskoning, en deze hebben de operationele activiteiten uitbesteed. Op basis van overleg met de beheerder van de scherpmpuut, eigen waarnemingen en een geohydrologische rapportage van de scherpmpuut (Rambags, F. interne memo) konden de volgende conclusies worden getrokken.

De scherpmpuut heeft een zeer onregelmatige onttrekking. Het debiet loopt elke 2 weken met ongeveer 50% terug, waarna na reiniging van de pomp het debiet weer het oorspronkelijke niveau bereikt. Dit resulteert in een onregelmatige grondwaterstroming. Verder ligt het aanstroomgebied van de scherpmpuut op particulier terrein, wat zal inhouden dat werkzaamheden (aankomen van de doseer en waarnemingsputten) zullen moeten worden uitgevoerd op privé terrein. De geohydrologische analyse laat zien dat de ondergrond ter plaatse van de put gestuwd is. Dit maakt het voorspellen van de stroombanen lastig. Op basis van deze gegevens werd besloten dat er teveel versturende factoren zijn om het experiment op deze locatie goed te kunnen uitvoeren. Er is daarom ervoor gekozen om het experiment niet uit te voeren in Wierden.

Vervolgens zijn drie nieuwe potentiële locaties onderzocht op geschiktheid. Deze locaties worden hieronder beschreven.

Drinkwaterwinning Laren (Vitens).

Op deze locatie liggen drie interceptieputten. Het grondwater zit hier relatief diep, waardoor het aanleggen van een meetraai, en het bemonsteren van de peilbuizen lastig is. Ook is er geen informatie beschikbaar over de diepte waarop suboxische condities kunnen worden aangetroffen. Daarom is besloten deze winning niet te selecteren.

Drinkwaterwinning Budel (Brabant water).

Na analyse van de geochemische resultaten van een aantal waarnemingsputten rondom deze winning bleek dat de samenstelling van het grondwater seizoensvariatie vertoont. Een waarschijnlijke oorzaak is een variabele grondwaterspiegel, waardoor filters van waarnemingsputten niet het gehele jaar onder de grondwaterspiegel staan. Het is de verwachting dat door de variabele grondwaterspiegel en plaats van suboxische pakket het niet mogelijk zal zijn gedurende een langere tijd condities constant te houden rondom de aan te leggen doseer- en waarnemingsfilter. Daarom is besloten ook deze winning niet te selecteren.

Drinkwaterwinning Leiduin (Waternet).

De geohydrologische condities van de Nederlandse kuststrook zijn gedetailleerd in kaart gebracht (Stuyfzand et al, 1993). In de duinen wordt op veel plaatsen water geïnfiltreerd, en volgt zuivering door bodempassage. Een aantal van deze locaties zijn in het verleden onderzocht op geohydrologische en geochemische condities. Op basis van informatie van P. Stuyfzand is een locatie onderzocht in de waterleidingduinen bij Waternet, tussen Geul 6 en het Westerkanaal. Op deze locatie zijn al eerder twee waarnemingsputten aangebracht met elk 5 filters. De verwachting is dat in het stroomgebied tussen geul 6 en het Westerkanaal een suboxisch watervoerend pakket kan worden aangetroffen.

Op basis van de bestaande kennis, en zuurstofmetingen in de twee bestaande peilbuizen, werd besloten om deze locatie te selecteren als veldlocatie voor het bestuderen van de verwijdering van virussen door bodemtransport onder suboxische condities.

2.2 Beschrijving van de locatie: De Amsterdamse Waterleidingduinen

De veldlocatie ligt in de Amsterdamse waterleidingduinen. In dit gebied vindt infiltratie plaats van water afkomstig van de WRK te Nieuwegein, waarna het water na het ondergaan van bodemfiltratie verder wordt gezuiverd in de drinkwaterzuivering te Leiduin. Naast een belangrijke taak in de drinkwaterzuivering is het gebied ook zeer belangrijk als natuurgebied. Zowel de drinkwaterwinning als het natuurbeheer valt onder de verantwoording van Waternet. Het gebied bestaat uit een groot aantal infiltratiegeulen, en het door bodempassage gezuiverde water wordt in een open kanaal naar de drinkwaterproductie Leiduin gevoerd.

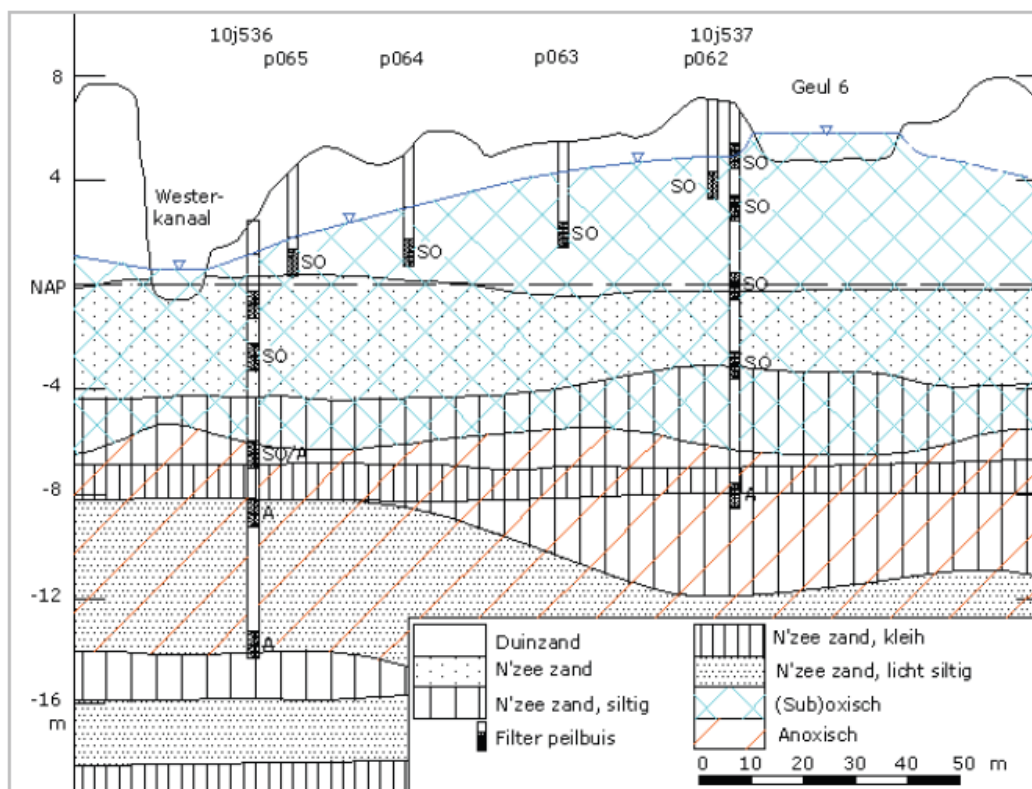
De veldlocatie is gelegen tussen infiltratiepand Geul 6 en het Westerkanaal. De afstand van Geul 6 naar het Westerkanaal bedraagt ongeveer 101 meter, en het hoogteverschil tussen het water in Geul 6 en het Westerkanaal bedraagt ongeveer 5,2 meter. Afhankelijk van de stroombaan is de reistijd van Geul 6 naar het Westerkanaal ongeveer 50 dagen (Segers, W. 2007). Het hoogteverschil tussen Geul 6 en het Westerkanaal initieert een natuurlijke grondwaterstroming, waaraan bacteriofagen kunnen worden gedoseerd. Daardoor is het niet nodig om met behulp van (electrische) pompen water te gaan onttrekken om een grondwaterstroming te initiëren. Omdat in de nabijheid van de locatie geen elektriciteit aanwezig was, zou in de stroomvoorziening alleen kunnen worden voorzien door permanente aanwezigheid van een aggregaat. Dit was vanuit ecologisch oogpunt geen wenselijke situatie.

Van maaiveld tot ongeveer NAP bestaat de ondergrond uit duinzand. Vanaf NAP tot ongeveer -4 m NAP bestaat de ondergrond uit Noordzeezand, en onder -4 m NAP is het zand siltig. Op ongeveer -6 m NAP bevindt zich de overgang van een suboxisch naar een anoxische bodem (Fig 2.1). De porositeit van het Noordzeezand bedraagt 0.38. Op basis van een eerdere studie is de verwachting dat het grootste deel

van het geïnfilterde water door het duinzand en het Noordzeezand zal migreren (Segers, 2007). In verband met een verminderde watervraag in de winter wordt de bedrijfsvoering van de infiltratiepanden in de wintermaanden aangepast. Een aantal geulen is dan niet in bedrijf, en de waterhoeveelheid in de geul wordt dan sterk verminderd. Dit is ook het geval voor Geul 6, deze is normaalgesproken in de winter niet gevuld. Na de winter van 2010 werd medio februari 2011 Geul 6 weer gevuld en in gebruik genomen. Voor de experimenten in najaar/winter 2011 is Geul 6 wel gevuld gehouden.

Het gehele gebied rondom Geul 6 en het Westerkanaal is een ecologisch belangrijk gebied. Dit houdt in dat er restricties gelden voor werkzaamheden in bepaalde periodes (broedseizoen).

Waternet



Figuur 2.1 Een dwarsdoorsnede van de bodem op de locatie waar het veldexperiment is uitgevoerd, met daarin aangegeven de bodemkarakteristieken, en al eerder aangebrachte peilbuizen in dit gebied (afbeelding van P. Stuyfzand).

In het verleden zijn op deze plaats twee waarnemingsputten aangebracht. Waarnemingsput 10J537 is gelegen vlak bij Geul 6, en 10J536 is gelegen vlak bij het Westerkanaal. Beide waarnemingsputten bestaan uit 5 peilbuizen met filters op verschillende dieptes. Om inzicht te verkrijgen in de zuurstofconcentraties in het watervoerende pakket op verschillende dieptes werden op 22 maart 2011 zuurstofmetingen uitgevoerd in alle filters van deze 2 peilbuizen. Deze metingen werden uitgevoerd ongeveer 3 weken nadat geul 6 weer in gebruik was genomen. In een later stadium, op 7 september, vlak voor de aanleg van de meetraai zijn nogmaals zuurstofmetingen uitgevoerd. De zuurstofconcentraties zijn weergegeven in Tabel 2.1

Tabel 2.1 Zuurstofmetingen in de 5 filters van 10J536 en 10J537 op 22 maart en 7 september 2011.

Peilbuis	Filter	Bvk filter m NAP	Onk filter m NAP	22-03-2011 O ₂ mg/L	07-09-2011 O ₂ mg/L
10J537	1	-7,06	-9,06	0,23	0,7
10J537	2	-2,06	-4,06	4,72	0,49
10J537	3	0,94	-1,06	11,51	4,1
10J537	4	3,94	1,94	11,92	6,2
10J537	5	5,94	3,94	10,62	3,7
10J536	1	-12,75	-14,75	0,17	0,8
10J536	2	-7,75	-9,75	0,14	1,2
10J536	3	-4,75	-6,75	0,1	0,53
10J536	4	-1,75	-3,75	3,32	0,6
10J536	5	0,25	-1,75	7,63	3,5

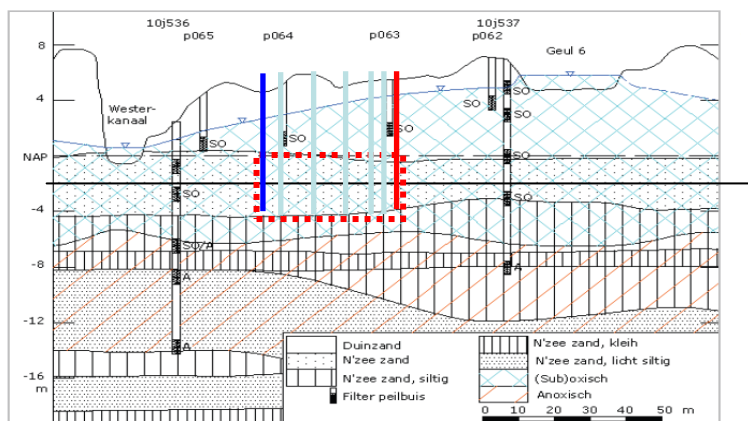
De zuurstofmetingen laten zien dat de zuurstofconcentratie afneemt met een toenemende diepte. Filter 1, 2, en 3 van 10J536, en filter 1 van 10J537 bevinden zich in een anoxisch watervoerend pakket, en de zuurstofwaarden komen hiermee overeen. De zeer lage zuurstofconcentraties zijn waargenomen worden bepaald door de ondergrens van de zuurstofmeter die tijdens veldexperimenten wordt gebruikt. 10J536 filter 4 en 10J537 filter 2 bevinden zich in het gebied van -2 tot -4 meter onder NAP, en de zuurstofconcentraties in dit watervoerend pakket bedragen respectievelijk 3,3 en 4,7 mg/L. Het water in de hoger gepositioneerde filters is oxisch hetgeen uit een zuurstof-concentratie van 7,6 tot 11,9 mg/L blijkt.

Op basis van deze zuurstofmetingen kan worden geconcludeerd dat de zuurstofconcentratie verminderd bij het toenemen van de diepte, en dat hier suboxische condities kunnen worden aangetroffen. De exacte diepte waar de gewenste condities van < 1.0 mg/L O₂ kunnen worden aangetroffen is op basis van deze metingen niet goed vast te stellen.

2.3 Positie van de meetraai

Op basis van de bovenstaande metingen en de geochemische en geohydrologische informatie over de locatie is bepaald waar de meetraai het beste kan worden gepositioneerd tussen Geul 6 en het Westerkanaal. Hierbij hebben de volgende overwegingen en rol gespeeld.

Bij het bepalen van de geschikte positie voor de meetraai is ervoor gekozen om de meetraai zoveel mogelijk te plaatsen in het midden tussen Geul 6 en het Westerkanaal (Fig. 2.2). Dit is gedaan omdat nabij het intredende water in Geul 6 en het uittredende water bij het Westerkanaal de kans groter is op verstoring van de stroombanen. In het midden, zo ver mogelijk van inkomend en uittredend water is de verwachting dat het watervoerend pakket het meest stabiele stroompatroon heeft.



Figuur 2.2. Plaatsing van de meetraai tussen Geul 6 en het Westerkanaal. In het gebied tussen NAP en -4m NAP worden de filters geplaatst. Het doseerfilter is aangegeven met rood, en de waarnemingputten zijn aangegeven met blauw.

Vanaf -4 m NAP en lager neemt het aandeel silt in het Noordzeezand toe. Het is de verwachting dat hierdoor de stroomsnelheid van het grondwater in deze laag sterk zal afnemen. Bovendien is de verwachting dat de zuurstofconcentratie daar waarschijnlijk te laag zal zijn. Daarom worden de filters van de aan te leggen meetraai niet dieper gepositioneerd dan -4 m NAP.

Op basis van de waargenomen zuurstofconcentraties van peilbuis 10J536 filter 4 (-1,75 tot -3,75 m NAP) en peilbuis 10J537 filter 2 (-2.06 tot -4.06 m NAP) is een inschatting gemaakt of de verwachting reëel was dat een watervoerend pakket kon worden aangetroffen met een zuurstofconcentratie van tussen de 0 en 1 mg/L O_2 in het gebied tussen -4 m NAP en 0 m NAP. De gemeten zuurstofconcentraties in 10J536 filter 4 (3,3 mg/L) en 10J537 filter 2 (4,7 mg/L) zijn beide nog te hoog. Het water waarin deze waarden zijn gemeten is echter onttrokken uit een filter met een lengte van 2 meter. De gemeten zuurstofconcentratie is het resultaat van het gemengde water van dit filter en representeert de gemiddelde zuurstofconcentratie van water afkomstig uit een zone ter hoogte van dit filter. Omdat het zuurstofgehalte snel afneemt met het toenemen van de diepte, kan worden aangenomen dat het water afkomstig van de onderkant van het filter minder zuurstof bevat dan het water dat afkomstig is van de bovenkant van het filter.

Verder is de monsternamen uitgevoerd ongeveer 3 weken nadat Geul 6 weer in gebruik was genomen. Gedurende de wintermaanden zal als gevolg van het leegstaan van Geul 6, de grondwaterstroming naar het Westerkanaal afnemen, en de grondwaterspiegel zakken. Bij het weer in bedrijf nemen van Geul 6 zal veel koud zuurstofrijk water in de bodem infiltreren. Het is de verwachting dat daarom kort na de in gebruikname van Geul 6 het zuurstofniveau in het geïnfilterde water relatief hoog is, en dat dit zal afnemen naarmate de geul langer in gebruik is.



Fig. 2.3 Een bovenaanzicht van de veldlocatie. In het rood gearceerde gebied wordt de meetraai geïnstalleerd. Geul 6 is gevuld van ongeveer februari tot december. Op deze foto is Geul 6 niet gevuld.

2.4 Het ontwerp van de meetraai

De te plaatsen meetraai heeft tot doel om met behulp van het doseerfilter de tracer of de bacteriofagen op de juiste plaats in de bodem te injecteren, en vervolgens stroomafwaarts hiervan de hoeveelheid tracer of aantallen bacteriofagen te bepalen. Op deze wijze kan de afname ervan worden bepaald als gevolg van het transport door de bodem. Bij het bepalen van de meest optimale configuratie voor de meetraai hebben de volgende overwegingen een belangrijke rol gespeeld.

2.4.1 De richting van de grondwaterstroming

Het transport van virussen of tracer door de bodem kan plaatsvinden door natuurlijk stromend grondwater of door geforceerde stroming, waarbij het water naar een pompput wordt getrokken. Voor dit experiment is het uitgangspunt dat gebruik wordt gemaakt van de natuurlijke stroming als gevolg van het verhang tussen Geul 6 en het Westerkanaal van ongeveer 5,2 meter. Het gebruik van de natuurlijke stroming heeft als nadeel dat de stroombaan niet in een bepaalde richting kan worden geforceerd, zoals wel mogelijk is bij een onttrekking door een pompput. Het is daarom erg belangrijk dat de meetraai exact met de stroomrichting van het grondwater wordt aangelegd. Wat hierbij ook een rol speelt is de naar verwachting geringe transversale dispersie in Noordzeezand. Longitudinale dispersie voor zandgrond bedraagt naar verwachting 10%, en de transversale dispersie 1% van de door het water afgelegde afstand. De transversale dispersie over een afstand van 10 meter is slechts 10 cm. De te plaatsen peilbuizen stroomafwaarts van het doseerpunt moeten exact in de juiste stroombaan staan, omdat een geringe afwijking zijwaarts van de stroombaan betekent dat de virussen langs de waarnemingsput zullen passeren. Om een geringe afwijking van de stroombaan toch te kunnen tolereren wordt besloten om het doseerfilter zo breed te maken als technisch mogelijk is. Tijdens overleg met boormaatschappijen blijkt dat de maximale breedte wordt beperkt door de toe te passen boortechniek. Gezien de lastige condities in de duinen lijkt een puls boring de meest haalbare boortechniek, en hiermee kan een boorgat worden gemaakt met een maximale diameter van 32 cm. Met deze informatie is besloten om een doseerfilter te maken met een breedte van maximaal 30 cm.

2.4.2 De zuurstofconcentratie en de plaatsingsdieptes van de filters

Omdat op basis van de informatie van waarnemingsputten 10J537 en 10J536 geen goede inschatting kan worden gemaakt van op welke diepte een watervoerend pakket kan worden aangetroffen met een

zuurstofconcentratie minder dan 1.0 mg/L O₂, en meer dan 0.5 mg/L NO₃, wordt besloten om filters aan te brengen op verschillende dieptes in het watervoerend pakket van 0 m NAP tot -4 m NAP.

De onderste filters zullen worden aangebracht dicht boven de het siltige Noordzeezand, op een diepte van -3.5 m NAP. Daarboven zal op -2,5 m NAP de middelste laag filters worden geplaatst, en de bovenste laag filters zal worden aangebracht op -1,5 meter NAP.

Op deze wijze wordt de kans dat het experiment kan worden uitgevoerd in een watervoerend pakket met de juiste zuurstofconcentratie aanmerkelijk vergroot. Bovendien zijn de meerkosten van het plaatsen van meerdere filters relatief gering omdat de waarnemingsfilters in hetzelfde boorgat kunnen worden geplaatst. Daarnaast is het mogelijk om onder relatief gelijke bodemcondities de verwijdering te bepalen van virussen onder verschillende zuurstofconcentraties.

2.4.3 Het aantal waarnemingsputten en de onderlinge afstanden

Voor het meten van de concentraties bacteriofagen, en het meten van de concentratie tracer werden stroomafwaarts van het doseerpunt waarnemingsputten geplaatst op 2,5, 5, 10, 18, 30 en 32 meter afstand van de doseerput (Fig. 2.4). De totale lengte van de meetraai is tot stand gekomen na evaluatie van de resultaten van het veld experiment in de duinen in Castricum onder vermoedelijk oxische condities, en het veldexperiment te Nieuwegein onder anoxische condities. Bij deze experimenten was de reisafstand 30, respectievelijk 37,7 meter. Voor dit experiment is aangenomen dat de virusverwijdering onder suboxische condities zich tussen de verwijdering van oxische en anoxische condities zal bevinden. In dat geval zullen bacteriofagen nog kunnen worden geregistreerd in de laatste waarnemingsput.

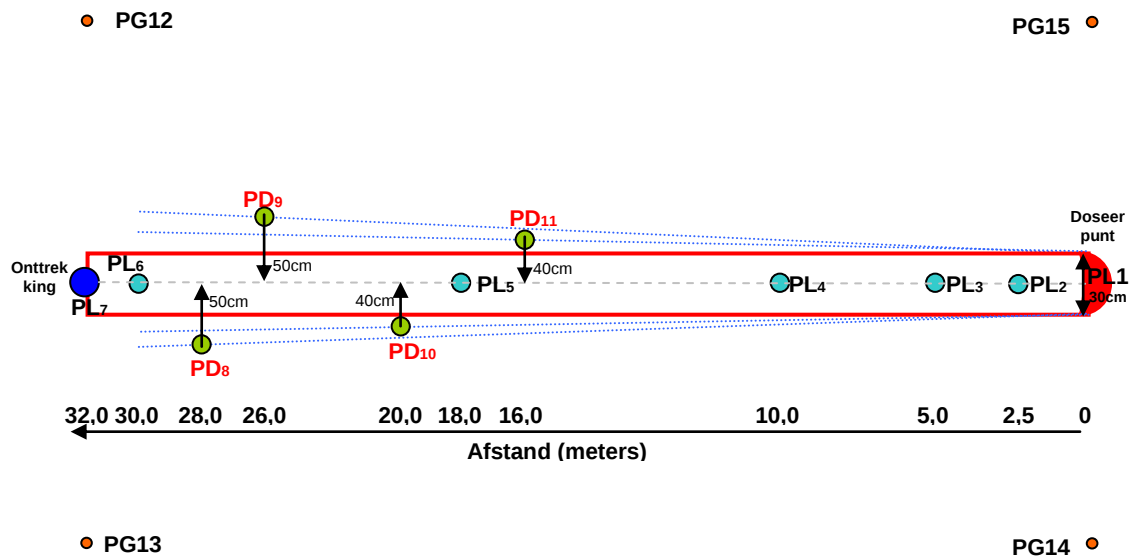
De waarnemingsput op 32 meter had een duale functie. Deze put werd gebruikt als een reguliere waarnemingsput, maar zou tevens kunnen dienen als een onttrekkingsput. Omdat gebruik werd gemaakt van de natuurlijke stroming van het grondwater was de verwachting dat deze put niet zou worden ingezet als onttrekkingsput. Onttrekking zou alleen plaatsvinden als uit de tracer experimenten bleek dat de stroombaan niet parallel liep met de aangelegde meetraai. In dat geval zou worden geprobeerd om door middel van onttrekking uit deze put de grondwaterstroom geforceerd van het doseerpunt door de waarnemingsputten te laten stromen richting de onttrekkingsput. Om te kunnen onttrekken was het nodig om voor deze waarnemingsput peilbuizen te gebruiken met een grotere diameter dan de reguliere peilbuizen, zodat er een pomp in kon worden geplaatst met voldoende capaciteit. Voor de plaatsing van de 3 peilbuizen met een diameter van 9 cm werd voor dit boorgat gebruik gemaakt van een puls boring, en een boorgat gemaakt met een diameter van 32 cm. Hier werden de drie peilbuizen in geplaatst, elk met een filterlengte van 50 cm, en een spleetdikte van 0.5 mm. Omdat de kans bestond dat hier water zou worden onttrokken, werd om het boorgat op te vullen filterzand gebruikt met een diameter van 0.75-1,25 mm. Na de tracerexperimenten bleek dat het niet nodig was om deze put in te zetten als onttrekkingsput.

De naamgeving van deze putten is PL1 voor de doseerput, en PL2 t/m PL6 voor de waarnemingsputten. PL7 is ook een waarnemingsput, maar zou eventueel kunnen worden ingezet als onttrekkingsput. PL2 t/m PL6 zijn aangelegd door middel van sonic boren, en de peilbuizen in deze putten hebben een diameter van 2,3 cm.

Waarnemingsputten ten behoeve van dispersie metingen

Omdat bij deze experimenten met behulp van een tracer de stroomrichting en stroomsnelheid werd bepaald, was het ook mogelijk de dispersie daadwerkelijk te meten in plaats van te schatten. Hiervoor was het nodig om ten noorden en ten zuiden van de centrale stroombaan van de meetraai extra waarnemingsputten te plaatsen. Er werden 4 waarnemingsputten geplaatst, 2 ten noorden en twee ten zuiden van de centrale stroombaan. De 4 "dispersie" waarnemingsputten werden geplaatst op 16 en 20 meter van het doseerpunt, en 40 cm naast de centrale stroombaan, en op 26 en 28 meter van het doseerpunt, en 50 cm naast de centrale stroombaan (Fig. 2.4). Deze configuratie is mede bepaald om beïnvloeding van de bodem rondom de waarnemingsputten door het boren te voorkomen, omdat bij "sonic drilling" een minimale afstand wordt geadviseerd van 2 meter tussen boringen.

Naast het bepalen van de dispersie konden waarnemingen van deze waarnemingsputten helpen bij het construeren van een 3D model van het stroomgebied. Verder konden deze putten ook dienen als additionele bemonsteringsputten voor bacteriofagen, mocht de stroombaan toch in geringe mate afwijken van de te verwachten stroombaan.

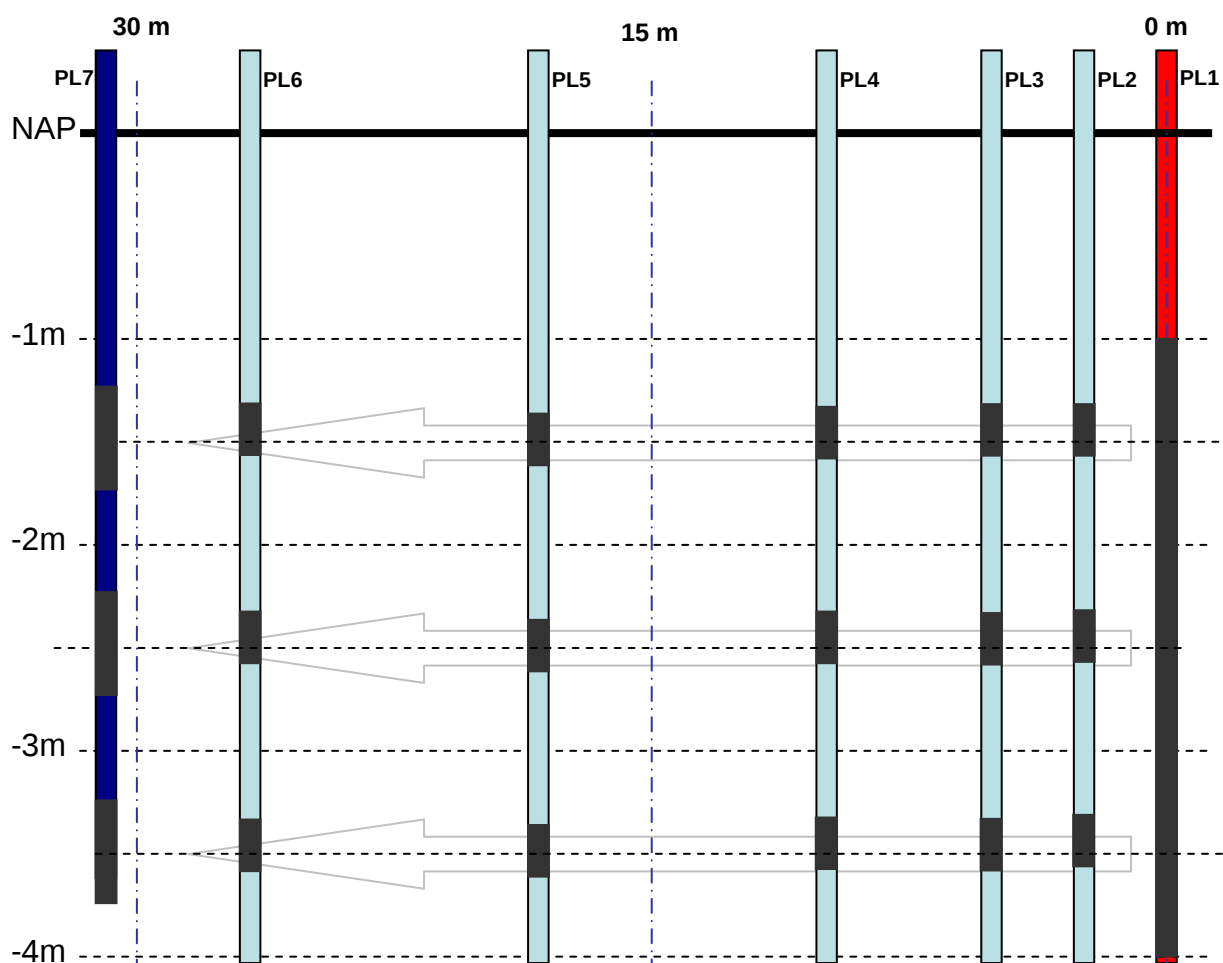


Figuur 2.4. Bovenaanzicht van de meetraai, met daarin de doseerput aangegeven in rood, de waarnemingsputten in lichtblauw, de waarnemings/onttrekkingsput in blauw, en de dispersieputten (PD8 t/m PD11) in groen. PG12 t/m 15 zijn ondiepe peilbuizen ter bepaling van de grondwaterspiegel.

2.4.4 Filterstellingen

Er is voor gekozen om de waarnemingsputten uit te rusten met 3 peilbuizen met een diameter van 2,3 cm. De filters van deze peilbuizen werden op verschillende dieptes en op de volgende wijze geplaatst. De peilbuizen voor de onderste filterlaag werd geplaatst met het hart van het filter op -3,5 m NAP. De peilbuizen voor de middelste filterlaag werden geplaatst met het hart van het filter op -2,5 m NAP, en de peilbuizen voor de bovenste filterlaag werden geplaatst met het hart van het filter op -1,5 m NAP. Dit is ongeveer 6 tot 10 meter onder het maaiveld. Door deze filterstellingen was het mogelijk om op 3 verschillende dieptes, en dus bij drie verschillende zuurstofconcentraties de verwijdering van bacteriöfagen te bepalen. Hoeveel de zuurstofconcentraties verschilden kon pas na de aanleg van de meetraai worden vastgesteld.

De doseerput had een filter met een lengte van 3 meter en 28 cm breed, en wordt in sectie 2.4.5 in meer detail beschreven. De waarnemingsputten en de dispersieputten waren uitgerust met een filter van 25 cm, met daar omheen een filterkous. De onttrekkingsput bestond ook uit drie peilbuizen, en deze peilbuizen hadden een filter van 50 cm. Ook hier werd het hart van het filter van de peilbuizen geplaatst op -3,5 m NAP, -2,5 m NAP, en -1,5 m NAP (Fig. 2.5)



Figuur 2.5. Een detail van de dwarsdoorsnede van de meetraai ter hoogte van de filters. Het doseerfilter (rood) heeft een lengte van 3 meter, en is onderverdeeld in 3 secties van 1 meter. De waarnemingsfilters (lichtblauw) hebben een lengte van 0,25 m, en de filters in de duale waarnemings/onttrekkingsput (donkerblauw) hebben een lengte van 0,5 m.

2.4.5 Het doseerfilter

Bij eerdere veldexperimenten zijn diverse doseringsstrategieën toegepast, waarbij werd gedoseerd door middel van infiltratie of door middel van het pompen van de te doseren oplossing op het filter van een peilbuis. Tijdens dit veldexperiment werd gebruik gemaakt van de natuurlijke stroming, waarbij de richting van de stroming niet kon worden beïnvloedt. De stroomrichting kon echter, als gevolg van heterogeniteit van de ondergrond, afwijkingen vertonen ten opzichte van de te verwachten stroombaan. Daardoor konden de gedoseerde virussen of tracer gedeeltelijk of geheel langs de waarnemingsput stromen. Om deze mogelijkheid te verkleinen werd ervoor gekozen om het doseerfilter zo breed mogelijk te maken, om op deze wijze een zo breed mogelijke dosering mogelijk te maken.

Voor het doseerfilter waren de volgende eisen van belang:

- Het filter moest over een zo groot mogelijk oppervlak gelijkmatig doseren.
- Het filter moest verdeeld worden in 3 secties om in de drie afzonderlijke lagen te kunnen doseren.
- De inhoud van het filter moest zo klein mogelijk zijn om verdunning met het grondwater te beperken.
- Het filter moest voldoende robuust zijn voor plaatsing en werking onder de grond.

Om aan de bovenstaande eisen te voldoen werd als volgt een doseerfilter geconstrueerd:

Van een ronde filterbuis met een doorsnede van 50 cm werd over een lengte van 3 meter een deel met een breedte van ongeveer 30 cm afgezaagd. Aan de achterzijde werd dit deel dichtgemaakt met een plastic plaat. In het filter eindigden 3 buizen met een diameter van 16 mm, voorzien van gaatjes in de onderste meter waardoor de doseer vloeistof werd geïnjecteerd. Van de drie doseerbuisen liep 1 buis door tot onderin het filter, de 2^e buis eindigde 1 meter boven de onderste buis, en de derde buis eindigde weer 1 meter daarboven. Op deze wijze was het filter in drie afzonderlijke doseersecties verdeeld van elk 1 meter (Fig. 2.6 linker figuur).

Dit filter had ten opzichte van een ronde 30 cm brede peilbuis diverse voordelen. De verschillende secties van 1 meter in het doseerfilter maken het mogelijk om tegelijkertijd te injecteren op drie verschillende dieptes. Verder was het volume van dit doseerfilter kleiner dan het volume van een rond doseerfilter, waardoor de te injecteren stroom veel minder werd verdund.



Figuur 2.6. De drie doseerbuisen in het doseerfilter, en het doseerfilter klaar voor gebruik vlak voordat het wordt geplaatst.

2.5 De doseerinstallatie

Tijdens het doseren werd tegelijkertijd op drie verschillende dieptes geïnjecteerd. Hiervoor werd een doseerinstallatie ontworpen die bestond uit drie verschillende vaten met elk een inhoud van 1000 liter. De reden om vanuit drie verschillende vaten te doseren was dat elk vat werd gevuld met water uit het watervoerend pakket waarin later werd geïnjecteerd, zodat de samenstelling van het water in het vat gelijk was aan de samenstelling in de bodem. Elk van de vaten was uitgerust met een elektrische pomp, waardoor de tracer of de virussuspensie door middel van slangen rechtstreeks van de tank naar het doseerfilter werd gepompt. Het debiet werd ingesteld op 12.9 liter per uur met behulp van een flowmeter welke was geplaatst tussen de pomp en de slangen naar het doseerfilter (Fig. 2.7).

Tijdens de dosering was het noodzakelijk om te kunnen beschikken over een ononderbroken stroombron om de pompen van elektriciteit te kunnen voorzien. Daarom werd tijdens het doseren gebruik gemaakt van een aggregaat. Om een permanente stroomvoorziening te garanderen, werd het aggregaat uitgerust met een extra benzinetank van 17 liter.

Het water waarmee de doseertanks werden gevuld was afkomstig van waarnemingsput-/onttrekkingsput PL7. Met behulp van een pomp werd ongeveer 1000 liter water overgebracht van de onttrekkingsput naar de drie doseervaten. Hierbij werd water afkomstig van -1,5 m NAP (is bovenste laag) overgebracht in tank 1, water afkomstig van -2,5 m NAP in tank 2, en water afkomstig uit -3,5 m NAP in tank 3. Tijdens verblijf van dit water in de vaten was een belangrijke voorwaarde dat de zuurstofconcentratie van het opgepompte water in de doseervaten niet veranderde. Om dit te bewerkstelligen werden de vaten voordat ze werden gevuld eerst zuurstofvrij gemaakt door ze te

doorpompen met N₂ gas. Tijdens en na het vullen van de vaten werd er permanent stikstofgas door de vaten geleid, met een snelheid van 30 liter per uur. Hierdoor heerste er een permanente lichte overdruk boven de vaten, en werd voorkomen dat extra zuurstof in het water kon oplossen. De zuurstofconcentratie werd dagelijks gemeten in de vaten, en bleef gedurende de dosering stabiel.



Figuur 2.7. De drie vaten van de doseerinstallaties, met boven de flowmeters voor het instellen van de doseersnelheid.

2.6 Het aanleggen van de meetraai

Voor het aanleggen van de meetraai en het uitvoeren van de bijbehorende booractiviteiten werd een beroep gedaan op de firma VCMi. De activiteiten van VCMi bestonden uit het exact inmeten van de x,y,z positie van de te boren putten door middel van een zeer nauwkeurige GPS meting, het uitvoeren van de boorwerkzaamheden, het plaatsen van de peilbuizen en het nameten van de puttenconfiguratie. Doseerput PL1 en onttrekkingsput PL7 werden aangelegd door middel van een puls boring, waarbij de boring een diameter heeft van 32 cm. De putten PL2 t/m PL6 en PD8 t/m PD11 werden aangelegd door middel van "sonic" boren. Deze boorgaten hebben een diameter van 10 cm. Sonic drilling maakte het mogelijk om boorkernen ongestoord uit de bodem te halen, en deze werden opgeslagen in doorzichtige 50 cm lange kokers. De kokers werden afgesloten met doppen, geseald met parafilm, en bewaard in de koelcel bij KWR. Alle putten werden gevuld met filterzand, en ongeveer 1 meter onder het maaiveld afgewerkt met een bentoniet afdichting. Van de doseerput, de onttrekkingsput en de 5 waarnemingsputten PL2 t/m PL6 werden door VCMi boorbeschrijvingen gemaakt. Een aantal boorkernen die representatief zijn voor de bodem ter hoogte van de filters werden geochemisch geanalyseerd. De boorbeschrijvingen zijn weergegeven in de bijlage in hoofdstuk 9.

Op basis van de boorbeschrijvingen kan een beeld worden gevormd van het bodemprofiel. De eerste 10 cm bestaat uit een donkerbruine toplaag met begroeiing. De 2 meter daaronder, van ongeveer 4,7 tot 2,7 m boven NAP bestaat uit zeer fijn, matig siltig zand met een lichtbruine tot beige-bruine kleur. In de laag daaronder, van ongeveer 3,5 tot 4 meter dik, lopend van + 2,7 tot -1,6 meter NAP, wordt uiterst fijn lichtbruin zand aangetroffen, met sporen van schelpen. Op -1,5 m NAP is de bovenste filterlaag geïnstalleerd, en de bodemcondities rondom de filters worden hieronder in meer detail beschreven.

Het doseerfilter bevindt zich in zeer fijn, matig siltig grijs tot grijsgeel zand. Het gehalte schelpen neemt toe met het toenemen van de diepte. Op -1 m NAP werden sporen van schelpen aangetroffen en op -4 m NAP ter hoogte van de onderkant van het filter bleek de bodem uiterst schelphoudend te zijn.

Op -1,5 m NAP is de bovenste laag filters aangelegd. Op de diepte van deze filters werden volgens de boorbeschrijvingen de volgende condities aangetroffen.

- PL2_1 uiterst fijn zwaksiltig lichtbruin zand. Aan de onderkant van het filter vindt een overgang plaats naar zeer fijn grijzig zand met sporen van schelpen.
- PL3_1 matig fijn, matig siltig licht oranje bruin zand.

PL4_1 zeer fijn, matig siltig, matig schelphoudend grijsgeel zand.
 PL5-1 zeer fijn, zwak siltig matig schelphoudend lichtgeel bruin zand.
 PL6_1 uiterst fijn, zwaksiltig, matig schelphoudend, lichtbruin zand.

Op de diepte van de 2^e filterlaag op -2,5m NAP werden de volgende condities aangetroffen.

PL2_2 zeer fijn, zwak siltig, matig schelphoudend grijs zand
 PL3_2 zeer fijn, zwak siltig, matig schelphoudend lichtgeel bruin zand
 PL4_2 zeer fijn, matig siltig, matig schelphoudend grijsgeel zand
 PL5_2 zeer fijn, zwak siltig, sterk schelphoudend lichtbruin zand
 PL6_2 uiterst fijn, zwak siltig, matig schelphoudend lichtbruin zand

Op de diepte van de 3^e filterlaag op -3,5m NAP werden de volgende condities aangetroffen.

PL2_3 zeer fijn, zwak siltig, sterk schelphoudend grijsgeel zand
 PL3_3 zeer fijn, zwak siltig, matig schelphoudend grijsgeel zand
 PL4_3 uiterst fijn, zwak siltig, matig schelphoudend grijsbruin zand
 PL5_3 zeer fijn, zwak siltig, uiterst schelphoudend, matig roesthoudend lichtbruin zand
 onderste helft filter volledig schelpen
 PL6_3 zeer fijn, zwak siltig uiterst schelphoudend grijsgeel zand.

De boorbeschrijvingen geven aan dat de bodem ter hoogte van de filters bestaat uit overwegend fijn, zwak siltig zand. In de onderste filterlaag is de kleur van het zand meer grijsig dan de twee lagen erboven. Lokaal worden, vooral in de laag ter hoogte van de onderste filters, af en toe lagen gevonden die volledig bestaan uit schelpen. Deze kunnen van invloed zijn op de grondwaterstroming. Het effect van een volledige schelpenlaag op de verwijdering van virussen is niet bekend.

2.7 Bodemsamenstelling en geochemische analyses

Korrelgrootteverdeling

Van de in de boorbeschrijvingen geel gemerkte secties is een sedimentanalyse uitgevoerd bij de Vrije Universiteit te Amsterdam om de korrelgrootteverdeling en de samenstelling van de bodem te bepalen.

Tabel 2.2. Het percentage klei, silt en zand, in de onderzochte bodemmonsters.

	Gemiddelde korrelgrootte verdeling (µm)	klei ^a %	silt ^a %	zand ^a %
PL2_1	281	1,04	1,42	97,54
PL2_2	247	1,73	1,35	96,92
PL2_3	255	1,22	1,45	97,33
PL3_1 ^b	297	0,61	0,74	98,65
PL3_2	238	2,75	3,25	93,99
PL3_3 ^b	242	3,83	3,40	92,77
PL4_2	269	1,21	1,03	97,76
PL4_3	240	1,09	1,35	97,56

^a Classificatie volgens VU: Clay < 8 µm, Silt 8-63 µm, Sand 63-2000 µm

^b Van sectie PL3_1 en PL3_3 is het segment een halve meter hoger dan het geplaatste filter onderzocht.

Bij het boren van PL3 zijn door een boortechnisch probleem een aantal boorkernen verloren gegaan. Daarom zijn van PL3_1 en PL3_3 secties onderzocht die afkomstig zijn van de boorkern direct boven het filter. Uit de korrelgrootteverdeling blijkt dat de bovenste laag een hogere korrelgrootte heeft (281 en 297

µm) dan de twee lagen daaronder. Verder blijkt de bodem ter hoogte van PL3_2 en PL3_3 2 tot 3 keer meer klei en silt te bevatten dan de bodem van de monsters van de andere peilbuizen. Dit is een indicatie dat naast de schelpen ook klei en silt vermoedelijk niet homogeen zijn verdeeld in de bodem. Variatie in klei en silt kan een effect hebben zowel op de stroming van het grondwater, als de verwijdering van de bacteriofagen.

Hoeveelheid organische stof, het gehalte totaal carbonaat, en de cation exchange capacity (CEC).

Tevens zijn secties van de boorkernen bij KWR geanalyseerd op droogrest, asrest en gloeirest (Tabel 2.3). De droogrest is een indicatie voor de hoeveelheid gebonden water, dat nog aanwezig is in het bodemonmonster. De gloeirest is een maat voor het organische stof gehalte in het monster. Het percentage organische stof wordt bepaald door

$$\% \text{ droogrest} - \% \text{ gloeirest} / (\% \text{ droogrest} \times 100) \text{ (Stuyfzand en van der Jagt, 1997).}$$

Op basis van de organische stof gehalten, het percentage klei en de pH kan de CEC-waarde worden geschat volgens de formule:

$$\text{CEC} = 5 \times \% \text{ lutum} + 2.4315 \times (\text{pH} - \text{H}_2\text{O}) \times \% \text{ org stof} \text{ (Stuyfzand en van der Jagt, 1997)}$$

Het percentage organische stof is ongeveer 0,35 % voor de meerderheid van de monsters. Het organische stof gehalte is lager in PL2_1 en hoger in PL4_3. De organische stof gehalten in combinatie met een kleine hoeveelheid klei (lutum) resulteren in lage CEC waarden. De hoogste CEC-waarden werden gevonden bij PL3_2 en PL3_3 en deze corresponderen met het hogere percentage klei in deze bodemonsters.

De asrest is een maat voor het gehalte totaal carbonaten (kalk) volgens:

$$\% \text{ Kalk} = 1,786 (\% \text{ gloeirest} - \% \text{ asrest}) \text{ (Stuyfzand en van der Jagt, 1997).}$$

waarbij alle parameters in gewichtsprocenten zijn uitgedrukt betrokken op de droge stof.

De bodem is rijk aan kalk, met gehalten tussen de 5,6 en 13,1 %. De grote variatie tussen monsters onderling is vermoedelijk het gevolg van variatie in de hoeveelheden schelpresten in de monsters. De hoge pH van het grondwater (tussen de 7,85 en 8,00) en de hoge pH van de ontsloten bodem (tussen de 8,8 en 9,1) kunnen vermoedelijk worden gerelateerd aan de hoge kalkgehalten.

Tabel 2.3. De droogrest, gloeirest en asrest van de bodem afkomstig uit de boorkernen van de corresponderende filters, met daaruit afgeleid het percentage organische stof, en het percentage totaal carbonaten (kalk) en CEC (geschat op basis van organische stof, lutum en pH).

	Droogrest 105°C	Gloeirest 450°C	Asrest 1000°C	org. stof %	CEC meq/kg	Kalk %
PL2_1	83,6	83,4	79,5	0,24	8	8,3
PL2_2	85,6	85,3	80,2	0,35	13	10,6
PL2_3	83,6	83,3	79,0	0,36	11	9,2
PL3_1	83,8	83,5	79,6	0,36	8	8,3
PL3_2	87,4	87,1	83,0	0,34	18	8,4
PL3_3	88,7	88,4	85,6	0,34	23	5,6
PL4_2	86,4	86,1	81,1	0,35	10	10,3
PL4_3	85,6	85,2	78,9	0,47	11	13,1

Mineralen en pH

Omdat in het grondwater in geringe mate zuurstof aanwezig is, is de verwachting dat de metalen Fe, Al en Mn als hydroxiden in de bodem aanwezig zullen zijn. Deze kunnen worden bepaald door middel van een oxalaat extractie. De Al_{OX} concentratie varieert van 73 tot 160 mg/kg ds. De hoeveelheid Fe_{OX} varieert van 0,72 tot 1,1 g/kg ds. Ook hier wordt de hoogste concentratie waargenomen in PL3_3. De Mn_{OX} concentratie bevindt zich tussen de 0,24 en 15 mg/kg ds, en vertoont daarmee een grote variatie tussen de grondmonsters onderling.

Een vergelijking met de concentraties metaalhydroxiden in het duinzand te Castricum laat zien dat de concentraties Fe_{OX} , Al_{OX} en Mn_{OX} fractioneel lager zijn dan waargenomen in Castricum. De waarden voor elektrisch geleidend vermogen zijn gebruikelijk voor zoet grondwater.

Tabel 2.4A Geochemische parameters na ontsluiting van de grond.

	Calcium	EGV -H ₂ O μS/cm	pH-H ₂ O -H ₂ O	Oxalaat extraheerbaar		
	mg/kg ds			Al mg/kg ds	Fe mg/kg ds	Mn mg/kg ds
PL2_1	0,025	95	8,9	82	720	8,6
PL2_2	0,036	100	9,0	110	875	12,0
PL2_3	0,025	115	8,8	94	900	0,24
PL3_1	0,025	83	9,0	73	860	6,7
PL3_2	0,025	100	9,1	115	875	15
PL3_3	0,023	120	9,0	160	1120	15
PL4_2	0,030	93	9,0	90	870	9,6
PL4_3	0,042	94	9,1	91	790	15

In aanvulling op deze analyses is een koningswaterextractie uitgevoerd op de bodemonsters om de gehalten metalen in de bodem vast te stellen door ACME. Een samenvatting van deze resultaten staat in de onderstaande tabel 2.4B.

Tabel 2.4B Geochemische parameters na koningswaterextractie ACME.

	Mo mg/kg	Cu mg/kg	Zn mg/kg	Ni mg/kg	Mn mg/kg	Fe g/kg	Ca g/kg	Mg g/kg	Al g/kg
PL2_1	0,35	2,37	5	9,5	47	4,0	34,7	0,6	1,0
PL2_2	1,12	6,55	5,7	34,4	57	4,5	48,5	0,7	1,2
PL2_3	0,72	3,72	6,8	9,7	67	5,7	41,3	0,7	1,2
PL3_1	0,18	2,1	4,4	4,1	54	5,5	31,1	0,6	1,1
PL3_2	0,8	4,29	6	15,4	70	5,6	45,5	0,9	1,3
PL3_3	2,49	14,24	5,9	70,9	74	6,5	26,9	0,7	1,4
PL4_2	0,91	4,99	5,9	17,3	62	5,5	46,0	0,8	1,2
PL4_3	0,29	2,43	6,2	9,4	70	5,1	70,1	0,9	1,3

Uit deze gegevens blijkt dat in het grondmonster van PL3_3 de concentraties van de meeste metalen het hoogst zijn, en dat de samenstelling van de bodem hier afwijkt van de overige monsterpunten. In de andere bodemonsters zijn de meeste gehalten aan metalen redelijk gelijk, en zijn geen duidelijke trends waar te nemen.

Geochemie in relatie tot virustransport.

Bij het zoeken naar een locatie werd als belangrijkste eis gesteld dat het water suboxisch moest zijn, dat wil zeggen $< 1.0 \text{ mg/L O}_2$ en $> 0,5 \text{ mg/L NO}_3$. Omdat het experiment op verschillende dieptes kan worden uitgevoerd, is het de verwachting dat aan die voorwaarden kan worden voldaan. Verder heeft het pakket een hoge pH, waardoor de hechting laag zal zijn. Hiermee vertegenwoordigt deze locatie een veldlocatie met lage hechtingskans, en kan dus worden gezien als een “worst case” locatie voor wat betreft bodemcondities onder suboxische condities. Wat ook uit de geochemische analyses opvalt, is dat de bodem minder homogeen is dan gehoopt, gezien de hoge kleigehaltes rondom PL3, en de lagen met intacte schelpen die door het gehele watervoerende pakket incidenteel worden aangetroffen.

De samenstelling van het grondwater in de meetraai.

Naast geochemische analyses is ook het grondwater onderzocht op samenstelling en eigenschappen. Deze zijn gegroepeerd in tabel 2.5. Het grondwater is onderzocht op samenstelling in de drie filters van de putten PL2 t/m PL4 en PD11. Omdat deze monsternamen zijn uitgevoerd op 18 april 2012, nadat het 2^e tracer experiment was afgerond, en het zuurstofgehalte van het water vanaf begin december begon toe te nemen, is het zuurstofgehalte van deze grondwaterbemonstering niet representatief voor het zuurstofgehalte ten tijde van de dosering van de bacteriofagen.

Uit deze gegevens blijkt dat de pH van het water zich in alle lagen rond de 7,7 bevond. Het zuurstofgehalte is flink hoger dan ten tijde van de dosering van de bacteriofagen, wat inzicht geeft in de zuurstofdynamiek van het gebied tussen Geul 6 en het Westerkanaal. De anorganisch chemische parameters van PL3_1 wijken af van de andere bemonsterde filters. Ook PD11_1 laat afwijkende waarden zien voor de ijzer en mangaan gehalten. Dit kan het gevolg zijn van lokale afwijkingen rondom dat filter in de bodem.

Tabel 2.5 Analyse van het grondwater in de waarnemingsputten PL2 t/m PL4 en PD11.

	HCO ₃ mg/l	Ca mg/l	K mg/l	Mg mg/l	Na mg/l	Fe mg/l	Mn µg/l	Cl mg/l	Br mg/l
PL2_1	170	67	4,5	12	52	0,06	<0,60	95	0,175
PL2_2	175	70	3,9	12	51	0,02	<0,60	92	0,165
PL2_3	180	71	4,4	12	51	<0,01	<0,60	97	0,167
PL3_1	170	70	4,1	13	54	0,2	2,0	51	0,175
PL3_2	170	69	3,9	12	53	0,02	<0,60	95	0,174
PL3_3	180	71	4,6	12	51	0,03	<0,60	92	0,168
PL4_1	170	67	3,5	13	52	0,09	<0,60	97	0,177
PL4_2	170	68	3,5	13	52	0,05	<0,60	99	0,172
PL4_3	180	69	4,1	12	50	0,02	1,7	91	0,164
PD11_1	170	85	3,5	14	49	2,6	31	97	0,160
PD11_2	170	67	3,4	12	49	0,07	0,34	96	0,164
PD11_3	175	67	3,7	12	49	0,03	<0,60	96	0,159

	Ammonium-N mg N/l	Amm.-NH4 mg NH4/l	Fosfaat t-PO4 mg PO4/l	Fosfaat t P mg P/l
PL2_1	<0,02	<0,03	0,12	0,04
PL2_2	<0,02	<0,03	0,14	0,04
PL2_3	<0,02	<0,03	0,11	0,04
PL3_1	1,86	2,39	0,12	0,04
PL3_2	<0,02	<0,03	0,17	0,05
PL3_3	<0,02	<0,03	0,12	0,04
PL4_1	<0,02	<0,03	0,10	0,03
PL4_2	<0,02	<0,03	0,12	0,04
PL4_3	<0,02	<0,03	0,12	0,04
PD11_1	<0,02	<0,03	0,14	0,05
PD11_2	<0,02	<0,03	0,11	0,04
PD11_3	<0,02	<0,03	0,11	0,04

	pH	DOC mg/l	Nitraat-NO3 mg NO3/l	Nitraat-N mg N/l	Sulfaat mg SO4/l
PL2_1	7,7	1,2	15,2	3,42	63
PL2_2	7,7	1,2	13,9	3,13	60
PL2_3	7,6	1,2	14,0	3,17	61
PL3_1	7,7	1,3	<1,0	<0,2	<2
PL3_2	7,7	1,2	13,9	3,37	62
PL3_3	7,7	1,3	14,5	3,06	61
PL4_1	7,7	1,4	15,5	3,50	64
PL4_2	7,7	1,2	15,2	3,43	62
PL4_3	7,6	1,2	13,1	2,96	60
PD11_1	7,8	1,4	15,0	3,38	58
PD11_2	7,6	1,2	14,6	3,29	59
PD11_3	7,7	1,2	13,3	3,01	58

VELDMETINGEN				
	Temp °C	O ₂ mg/L	EGV µS/cm	pH
PL2_1	6,4	5,1	713	7,94
PL2_2	5,7	4,2	713	7,89
PL2_3	6,2	3,0	719	7,84
PL3_1	5,1	5,6	730	7,87
PL3_2	5,1	5,7	729	7,89
PL3_3	5,7	2,8	728	7,94
PL4_1	3,4	6,3	736	7,95
PL4_2	3,8	5,8	731	8,00
PL4_3	4,9	3,1	726	7,85
PD11_1	3,8	6,6	702	7,94
PD11_2	4,1	5,8	718	7,88
PD11_3	4,6	3,5	718	7,91

2.8 Natriumchloride als tracer

Voor tracerstudies wordt vaak gebruik gemaakt van natriumchloride (NaCl) of natriumbromide (NaBr). Dit zijn conservatieve tracers, wat betekent dat deze stoffen zich met dezelfde snelheid door de bodem bewegen als het grondwater. Het doel van het doseren van een tracer is enerzijds het bepalen van de reistijd van de tracer vanaf het doseerpunt tot aan de waarnemingsput, waardoor inzicht kan worden verkregen in de snelheid van het grondwater. Anderzijds geeft de tracer inzicht in de mate van verdunning die mogelijk kan optreden bij het afleggen van de afstand tussen het doseerpunt en de waarnemingsputten.

NaCl is een veel gebruikte tracer en werd onder andere gebruikt bij een soortgelijk experiment te Castricum (Schijven et al, 1999). Het voordeel van NaCl als tracer is dat de concentratie van NaCl gemakkelijk 'real time' kan worden gemeten met behulp van CTD divers. Deze divers kunnen in de peilbuis worden gebracht en meten met een vooraf instelbaar tijdsinterval de geleidbaarheid van het water. Door middel van het meten van de geleidbaarheid registreert de diver het passeren van de NaCl tracer. Naderhand kan met behulp van de geregistreerde gegevens de doorbraakcurve van NaCl worden geconstrueerd. De doorbraakcurve geeft inzicht in de grondwatersnelheid en de mate van verdunning die is opgetreden tijdens het transport van het doseerpunt naar de waarnemingsput.

Daarnaast is het doseren van NaCl niet schadelijk voor de watervoorziening en de omgeving. Er is daarom voor deze studie gekozen om NaCl te gebruiken als tracer.

Het meten van de zoutconcentratie tijdens de 1^e zoutdosering.

Om het verloop van het gedoseerde NaCl te kunnen bepalen werden de drie filters van PL2, PL3 en PL4 en PD11 uitgerust met CTD divers. De CTD divers registreerden elke 15 minuten de temperatuur en de elektrische geleidbaarheid van het water. Een toenemende zoutconcentratie resulteert in een toenemende elektrische geleidbaarheid, en dit werd door de CTD divers geregistreerd.

De divers werden in de peilbuizen afgezonken aan een staal draad van 1 mm. De lengte van de draad inclusief de diver zelf werd zodanig ingesteld dat de onderkant van de diver, waar de meetcel is gepositioneerd, ongeveer 12.5 cm verwijderd was van de bodem van de peilbuis. Hiermee hangt de meetcel in het midden van het 25 cm hoge filter.

Nadat een zoutpiek volledig was gepasseerd, werd de diver uitgelezen en in een verder stroomafwaarts gelegen peilbuis gebracht om daar de opnieuw passerende zoutpiek te meten.

Het meten van de zoutconcentratie tijdens de 2^e zoutdosering.

Uit het eerste doseerexperiment met NaCl is gebleken dat de divers in de meeste gevallen net boven het filter in de peilbuis blijven vastzitten. De meest waarschijnlijk oorzaak is dat de filtersok, die tussen de peilbuis en het filter wordt geklemd, zorgt voor een vernauwing van de peilbuis.

Daarom is besloten om tijdens het 2^e doseerexperiment NaCl op een andere manier te meten, waarbij de experimentele set-up zoals die is gebruikt voor de virussen ook te gebruiken voor het meten van de geleidbaarheid van het water.

In deze set-up lopen slangen vanuit het filter van de peilbuizen naar een kast met afsluiters bij het Westerkanaal. Aan de afsluiters zijn siliconen slangen bevestigd, die uitkomen in plastic kokertjes van ongeveer 40 cm lang en een doorsnede van 4 cm. De plastic kokers werden van onderen gevuld met water afkomstig uit de peilbuis, en het debiet werd afgeregeld op 2 liter per uur. Er werd dus permanent onttrokken uit elk filter met 2 liter per uur. In de plastic kokers werden de divers geplaatst, die op deze wijze permanent het zoutgehalte van het onttrokken water registreerden. Bij een onttrekking van 2 liter per uur bedraagt de reistijd van het filter naar de plastic koker met de CTD-diver ongeveer 1 uur. De registratie van de geleidbaarheid van het water loopt hierdoor een uur achter op de werkelijke geleidbaarheid in het filter.

Het schatten van de doseersnelheid van de traceroplossing.

De hoeveelheid te doseren tracer is op de volgende wijze vastgesteld, waarbij de volgende aannames zijn gedaan:

Porositeit van de bodem 0,38

Hoeveelheid water in 1 m³ bodem: 380 liter.

Grondwatersnelheid: 2 meter per dag.

Het doseerfilter is 3 meter hoog en 28 cm breed. Voor de berekening wordt de grootte van het doseerfilter iets ruimer gedimensioneerd tot een grootte van 3,5 meter hoog en 35 cm breed. Bij een grondwatersnelheid van 2 meter per dag wordt per dag een gebied met een inhoud van $2 \times 0,35 \times 3,5 \text{ m} = 2,45 \text{ m}^3$ doorstroomt. Uitgaande van een porositeit van 0,38 bevat dit gebied 931 liter water. Indien dit volledig zal moeten worden vervangen door traceroplossing, dan moet minimaal 931 liter tracer worden gedoseerd per 24 uur. Omdat de duur van de dosering 48 uur bedraagt, zal in totaal minimaal 1862 liter traceroplossing moeten worden gedoseerd in de drie lagen, om alle grondwater te vervangen door traceroplossing. Dit is 621 liter per laag, en daarvoor is een debiet noodzakelijk van 12,9 liter per filter per uur.

2.9 Bacteriofagen als modelorganisme voor ziekteverwekkende virussen

De modelorganismen voor deze studie waren bacteriofaag MS2 en bacteriofaag PRD1. Beide bacteriofagen worden gezien als een goed modelorganisme voor de verwijdering van humane enterovirussen worden daarom veel gebruikt in studies waarin de verwijdering van virussen wordt bestudeerd (Harvey, 2004, Proefschrift Schijven).

Bacteriofaag MS2 is een isocahedrale faag met een diameter van 26 nm en een iso-electrisch punt van 3,5. Door dit lage iso-electrische punt is MS2 sterk negatief geladen bij pH waarden van 6 tot 8, en zal daarom ook slecht hechten aan negatief geladen bodem deeltjes. MS2 wordt daarom gezien als een conservatief virus, dwz dat de verwijdering door bodemtransport gering is in vergelijking met de bekende humaan pathogene virussen. MS2 inactieveert relatief snel bij een temperatuur boven 10°C (Blanc en Nasser, 1996, Yates, 1985).

Bacteriofaag PRD1 is ook een icosahedrale faag met een diameter van 64 nm. Vanwege zijn diameter wordt PRD1 gezien als een goed model voor rotavirussen en adenovirussen (Proefschrift Jack Schijven). Het iso-electrisch punt van PRD1 ligt tussen de 3 en de 4, dus ook PRD1 is negatief geladen bij pH-waarden tussen de 6 en 8. Daarnaast heeft PRD1 een lipide membraan en is het meer hydrophoob dan MS2 (Bales et al, 1991, Kinoshita et al, 1993).

De hechting van PRD1 is in veldstudies ongeveer gelijk aan de hechting van MS2. (De Borde et al, 1999, Schijven et al, 1999), maar in kolom studies is gevonden dat PRD1 beter hecht dan MS2 (Kinoshita et al,

1993). PRD1 is een stabiele bacteriofaag en inactieveert langzamer dan andere bacteriofagen bij temperaturen boven de 10°C. Beide bacteriofagen worden gezien als conservatieve modelorganismen voor humaan pathogene virussen.

Stockoplossingen van bacteriofaag MS2 werden geleverd door GAP enviromicrobial Services, Canada. De stockoplossing van GAP bevatte $9,1 \cdot 10^{10}$ plaque vormende eenheden/ml (pve/ml).

De stockoplossing van bacteriofaag PRD1 is bij KWR gemaakt waarbij PRD1 en de gastheer *S. typhimurium* LT2 zijn verkregen van het RIVM.

De stockoplossing van PRD1 bevatte $5,4 \cdot 10^9$ pve/ml.

De dosering van de bacteriofagen is op dezelfde wijze uitgevoerd als de dosering van NaCl, waarbij stikstof door de vaten is geleid om zuurstofconcentraties in de vaten tijdens het doseren suboxisch te houden.

2.10 Bemonstering van de bacteriofagen

Op basis van de eerste doseerproef met NaCl is een indicatie verkregen van de snelheid van het grondwater ter hoogte van de bovenste, de middelste en de onderste laag filters. De monsternamen in een waarnemingsput begint idealiter voordat de virussen de waarnemingsput bereiken, en loopt daarna lang door om ook de staart van de doorbraakcurve (als maat voor de afsterving) goed te kunnen meten. Omdat de meetraai bestaat uit meerdere peilbuizen met elk drie filters, en omdat de reistijd van de virussen niet exact was te voorspellen, moesten er dagelijks zeer veel monsters (tussen de 15 en 30) worden genomen en onderzocht in het lab. Om de dag na de monsternamen over de resultaten te kunnen beschikken, was het noodzakelijk om alle monsters voor 13.00 uur af te leveren op het lab. Dit betekent dat de monsternamen op de veldlocatie voor 12.00 uur afgerond moest zijn.

Om contaminatie van monsters met geringe aantallen bacteriofagen te voorkomen, was het essentieel dat er zeer zorgvuldig werd bemonsterd. De gebruikelijke bemonstering, waarbij met een slangenpomp de waarnemingsput wordt gespoeld, waarna er wordt bemonsterd, bleek met de bovenstaande eisen niet haalbaar, voornamelijk omdat dit teveel tijd zou kosten en het contaminatierisico te groot was.

Daarom is voor een nieuwe bemonsteringsprocedure gekozen, waarbij gebruik is gemaakt van het hoogteverschil tussen grondwaterpeil ter hoogte van de waarnemingsputten en het waterniveau in het Westerkanaal.

Om een waarnemingsput te kunnen bemonsteren, is in de waarnemingsput een slang geplaatst met een diameter van 6mm tot op het filter. Het andere uiteinde van deze slang werd ter hoogte van het Westerkanaal aan een afsluiter bevestigd. Afhankelijk van de positie van de waarnemingsput ten opzichte van het Westerkanaal, betekent dit dat de slang een lengte heeft van 50 tot 75 meter. Elk filter van waarnemingsput PL2, PL3, PL4, PL5, PL6 en PL7 werd uitgerust met een hydrolyse bestendige polyurethaan slang, waarbij om verwarring te voorkomen gebruik werd gemaakt van gekleurde slangen (filters op -1,5 m NAP blauwe slang, filters op -2,5 m NAP doorzichtige slang, filters op -3,5 m NAP zwarte slang).

Bij het Westerkanaal zijn de slangen van de filters van elke waarnemingsput bevestigd aan metalen afsluitbare monsterpunten. Elk filter van een waarnemingsput was op deze wijze verbonden met een monsterpunt. De monsterpunten waren in twee afsluitbare metalen kasten geplaatst. Door eenmalig met een slangenpomp het water uit het filter in de slang te trekken, werd de slang gevuld met water. Bij het verwijderen van de slangenpomp werd blijvend water onttrokken uit het filter omdat het waterpeil ter hoogte van de peilbuis hoger was dan het niveau ter hoogte van het Westerkanaal. Het maximale debiet was 60 liter per uur, en het debiet kon worden gereguleerd met een afsluiter op het monsterpunt. Door de afsluiter volledig dicht te zetten, werd er geen water onttrokken uit het filter. Omdat de slang van het filter naar de kraan wel gevuld bleef met water, was het openen van de afsluiter voldoende om het onttrekken van water te uit het filter te starten.

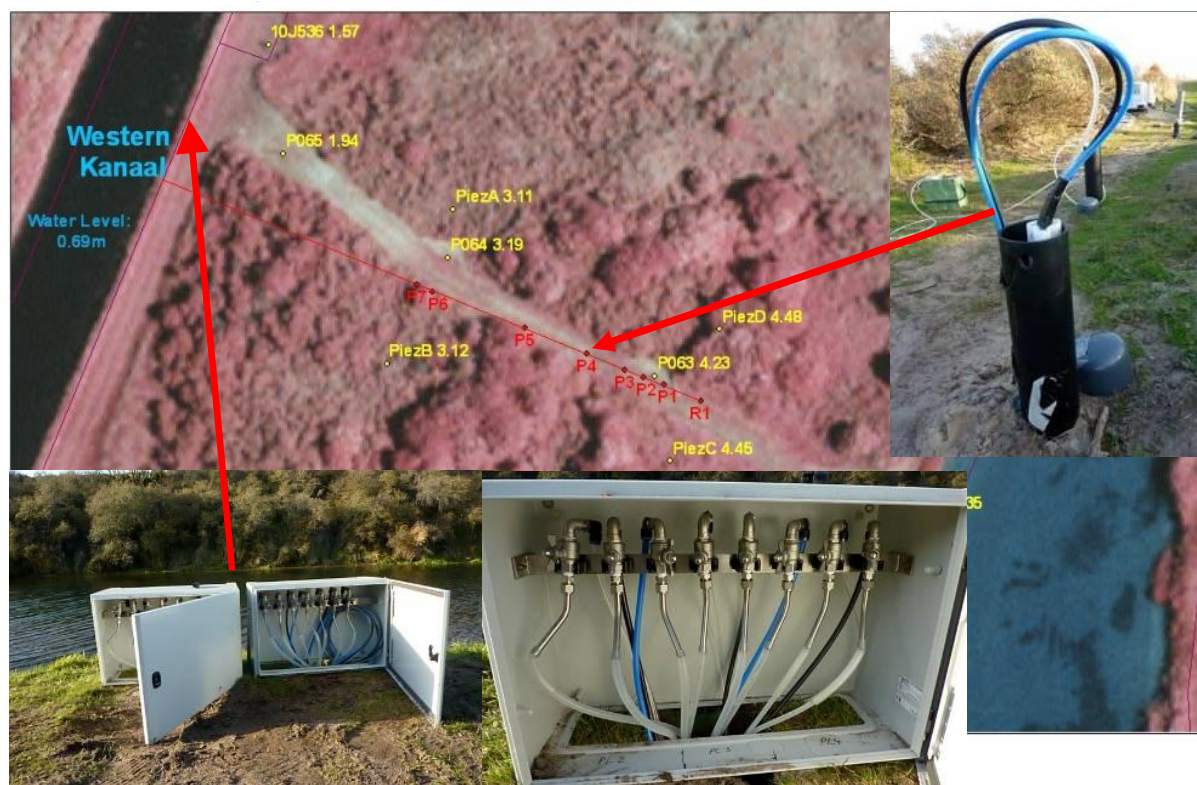
Omdat de monsterpunten waren uitgerust met metalen tappunten, konden deze voorafgaand aan de monsternamen worden gesteriliseerd met een brander, waardoor het risico op contaminatie sterk kon worden beperkt (Fig. 2.8).

Verder zijn de slangen tussen de peilbuizen en de kast met de tappunten zoveel mogelijk ondergronds aangelegd om schade door dieren (doorbijten van de slangen) te voorkomen.

Nadat dit systeem was geïnstalleerd, zag de bemonsteringsprocedure er als volgt uit:

Voorafgaand aan de bemonstering werd de kraan van het te bemonsteren filter geopend, waarna minimaal 10 minuten werd onttrokken met een debiet van 60 liter per uur. (Het slangvolume van het tappunt tot het filter bedraagt ongeveer twee liter).

Vervolgens wordt het tappunt gedesinfecteerd met een brander, waarna het microbiologisch monster werd genomen, variërend van 50 ml tot maximaal 2 liter. Daarna werd de doorstroomcel aangesloten op de slang en werd het zuurstofgehalte gemeten van het water.



Figuur 2.8 De bemonsteringsinstallatie met metalen tappunten bij het Westerkanaal. De foto van de waarnemingsput laat zien dat de slangen vanuit de peilbuis onder de grond worden geleid.

2.11 Labanalyses

Zowel bacteriofaag MS2 als PRD1 werden aangetoond door middel van plaquevormende eenheden te tellen op een agar plaat met gastheer-bacteriën volgens KWR labvoorschriften LMB-037. In het kort is de gevolgde werkwijze: het watermonster of een verdunning daarvan werd in een petrischaal gemengd met semi-solid agarmedium en een cultuur van de gastheerstam. De petrischalen werden vervolgens 24 uur geïncubeerd bij 37°C. na incubatie werd het aantal heldere zones geteld (plaques) en de aantallen werden omgerekend naar het aantal plaquevormende eenheden per ml (pve/ml).

Van elk monster werden meerdere verdunningen ingezet en werd de best telbare plaat geselecteerd voor de telling. De gastheer voor MS2 was *S. typhimurium* WG49 en voor PRD1 *S. typhimurium* LT2.

3 Resultaten

3.1 Beschrijving van de uitgevoerde experimenten

Na het afronden van de booractiviteiten, en het aanleggen van het monstername systeem werd begonnen met het uitvoeren van de experimenten. De eerste doseerproef met de tracer NaCl werd gestart op 02-11-2011 en beëindigd op 26-11-2011. Tijdens dit experiment bleek dat slechts een beperkt aantal CTD divers een duidelijk signaal had verzameld over de doorbraak van NaCl. Hierdoor was het aantal doorbraakcurves beperkt. Op basis van deze doorbraakcurves kon wel een inschatting worden gemaakt van de stroomsnelheid van het grondwater, en of de stroomrichting in lijn was met de aangelegde meetraai. Uit deze gegevens bleek dat de stroomrichting van het grondwater overeenkwam met de richting van de aangelegde meetraai. Op 28-11-2011 werd begonnen met het doseren van bacteriofaag MS2 en PRD1. De bemonstering van waarnemingsputten ter bepaling van de aantallen bacteriofagen werd uitgevoerd tot en met 02-01-2012. Omdat de resultaten van de eerste doseerproef met NaCl voor slechts een aantal filters een doorbraakcurve had opgeleverd, werd op 17-01-2012 een 2^e doseerproef met NaCl gestart. De opzet van dit experiment was gelijk aan het eerste experiment. Omdat uit het eerste experiment bleek dat het niet mogelijk was de divers in de peilbuis te plaatsen ter hoogte van het filter, werd besloten de CTD-divers te koppelen aan de tappunten die werden gebruikt voor de virus monstername.

3.2 Resultaten van het eerste doseerexperiment met NaCl.

Een dag voor de start van de dosering op 01-11-2011, werden de drie doseertanks gevuld met water afkomstig van filter PL7_1, PL7_2 en PL7_3 met een diepte van respectievelijk -1,5 m NAP (naar tank 1), -2.5 m NAP (naar tank 2) en -3.5m NAP (naar tank 3). Hieraan werd 3 liter van een geconcentreerde NaCl oplossing toegevoegd met een concentratie van 300 gram NaCl per liter. In totaal is 900 gram NaCl toegevoegd aan elke tank, en de eindconcentratie in de tanks bedroeg 0,9 gram NaCl per liter. De dosering werd gestart op 2 november 2011 om 15.00 uur, en gestopt na 48 uur op 4 november 2011 om 15.00 uur. Er werd gedoseerd vanuit drie afzonderlijke doseertanks, waarbij vanuit tank 1 in het bovenste deel van het doseerfilter werd gedoseerd, vanuit tank 2 in het middelste deel, en vanuit tank 3 in het onderste deel van het doseerfilter. Het debiet voor elke tank werd door middel van flowmeters ingesteld op 12.9 liter per uur. Ondanks deze instelling bleken de flowmeters in de praktijk een grote afwijking te vertonen, en liepen de debieten en daardoor de doseerhoeveelheden van de verschillende tanks uiteen (Tabel 3.1).

Tabel 3.1. De gegevens van de doseertanks tijdens de eerste doseerproef met NaCl.

	EGV tank mS/cm	Gedoseerd (totaal) Liter	Concentratie O ₂ mg/L
Tank 1	2,40	672	2,8
Tank 2	2,38	937	1,4
Tank 3	2,39	727	0,9

Gemeten gegevens van de CTD divers.

Bij het uitlezen van de divers bleek dat een groot deel van de divers geen signaal had gemeten. In deze gevallen was de diver vermoedelijk niet in het filter gepositioneerd, en had het stromende grondwater niet bereikt. Dit was het gevolg van een vernauwing van de peilbuis op de plaats waar het filter met filtersok was bevestigd aan de peilbuis. Een aantal CTD divers hadden wel de goede positie in het filter kunnen bereiken, en deze hebben de geleidbaarheid kunnen meten van het water dat door het filter is

gestroomd. Dit heeft voor de filters PL2_1, PL2_2, PL3_2, PL4_3, PD11_2, PD11_3, PD10_1 en PD9_1 een doorbraakcurve opgeleverd.

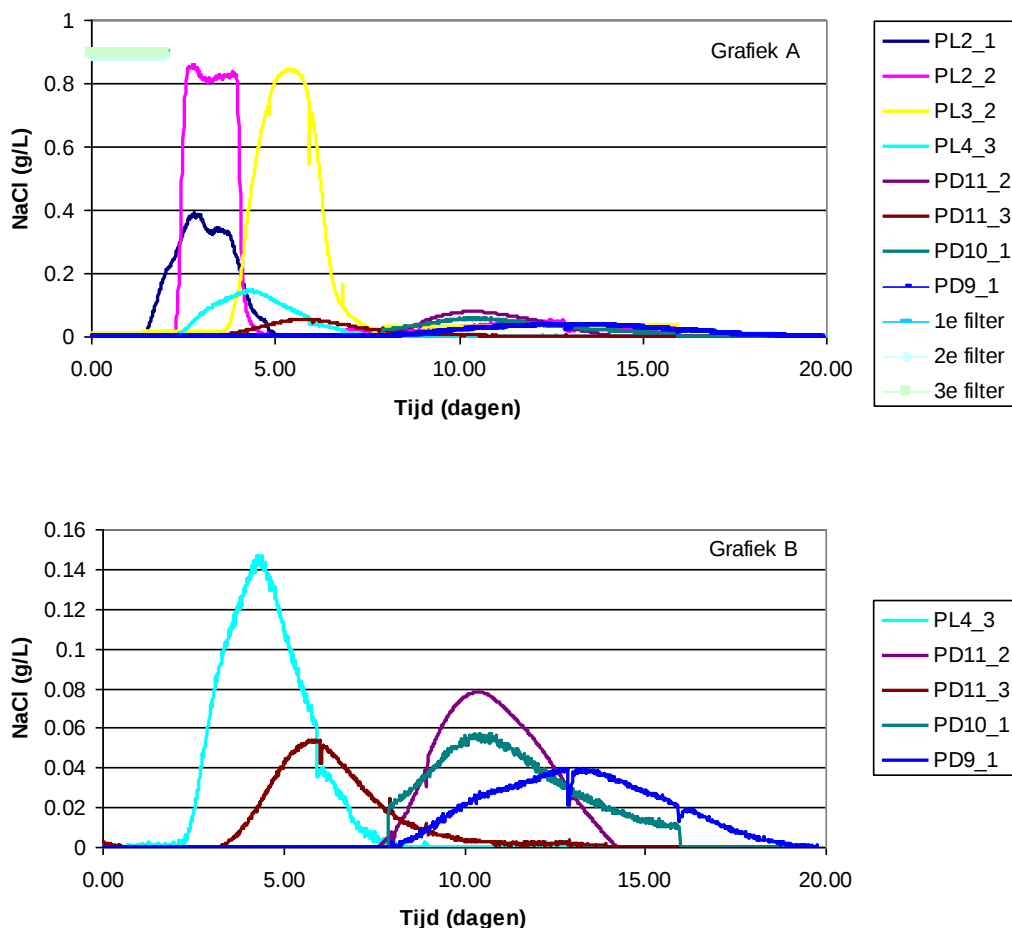


Fig. 3.1. De NaCl doorbraakcurves in g/L van het 1^e doseerexperiment, waarin in A alle doorbraakcurves zijn weergegeven, en in B de doorbraakcurves met een laag signaal, die door aanpassing van de y-as hier duidelijker zichtbaar zijn. De horizontale meetreeksen in grafiek A geven de NaCl concentratie aan in de doseertanks.

De doorbraakcurves zijn verkregen door het bepalen van de elektrische geleidbaarheid van het water. Deze zijn voor de figuren omgerekend naar mg/L NaCl. Uit de doorbraakcurves kan informatie worden verkregen over de stroomsnelheid van het grondwater en over de mate van verdunning van het gedoseerde NaCl. De verblijftijd van de doseerput tot de waarnemingsputten kan worden afgeleid van de halve hoogte van de stijgende flank van de doorbraakcurve. Omdat de eerste waarnemingsput op 2,5 meter van het doseerfilter is geplaatst, wordt kort na het doseren een verhoogde NaCl concentratie waargenomen in PL2_1 en PL2_2. De maximale doorbraak in filter 1 en 2 van deze peilbuis wordt bereikt na 3 dagen. In het eerste filter is de maximale concentratie NaCl lager dan in de doseertank, wat betekent dat de tracer in het traject van het doseerfilter naar filter PL2_1 is verdund. Bij PL2_2 is de maximale NaCl concentratie nagenoeg gelijk aan de gedoseerde concentratie, hier vindt dus nagenoeg geen verdunning plaats. Ook bij PL3_2, op 5 meter afstand van het doseerpunt, is de verdunning nog gering. In peilbuis PL4_3 op 10 meter van het doseerpunt werd de maximale doorbraakcurve waargenomen na 4,4 dagen. Hieruit blijkt dat de grondwatersnelheid in de onderste laag ongeveer twee zo hoog is dan in de bovenste en middelste laag. Dit wordt bevestigd door de doorbraakcurves van PD11_2 en PD11_3. De maximale doorbraakcurve van PD11_2 werd waargenomen na 10,4 dagen, terwijl de maximale doorbraakcurve van PD11_3 werd waargenomen na 5,9 dagen. Verder zijn doorbraakcurves gemeten in

PD10_1 en PD9_1, op respectievelijk 20 en 26 meter van het doseerpunt. Beide filters bevinden zich in de bovenste laag, maar peilbuis PD10 bevindt zich 40 cm ten zuiden, en PD9 50 cm ten noorden van de centrale stroombaan. In peilbuis PD10 wordt 6% van het gedoseerde NaCl teruggevonden, en in PD9 4%. In beide peilbuizen wordt ongeveer dezelfde hoeveelheid NaCl teruggevonden, wat erop duidt dat het gedoseerde zout door het midden van de meetraai stroomt.

Peilbuis PD10 ligt 40 cm uit de centrale stroombaan. Omdat de gedoseerde zoutkolom bij het doseerfilter een minimale breedte zal hebben gelijk aan het doseerfilter van 28cm, heeft dispersie plaatsgevonden van de rand van de gedoseerde zoutkolom tot aan PD10. Deze afstand bedraagt $40 - 28/2 = 26$ cm over een reisafstand van 20 meter. Voor PD9 bedraagt de dispersie minimaal $50 - 28/2 = 36$ cm over een reisafstand van 26 meter. Dit is in lijn met de in zandige ondergrond verwachte transversale dispersie van 1% van de afgelegde afstand.

Uit de doorbraakcurves van PD10_1 en PD9_1 blijkt dat de stroomsnelheid meer stroomafwaarts van het doseerpunt hoger is dan in de eerste 10 meter. Dit zou kunnen duiden op een preferente stroombaan in dit deel van de meetraai. Omdat bij de boringen geregeld intacte schelpenlagen zijn aangetroffen is het mogelijk dat deze de stroomsnelheid van het grondwater plaatselijk beïnvloeden.

Tabel 3.2. De grondwatersnelheid en de mate van verdunning van de NaCl tracer voor een aantal van de waarnemingsputten.

	Afstand (m)	Verblijftijd (dagen)	v (m/dag)	Tijd tot maximale doorbraak (dagen)	Maximale concentratie (NaCl g/L)	Massabalans tov doseer (%)
Doseertank					0,9	100
PL2_1	2,5	2,0	1,2	3,1	0,39	43
PL2_2	2,5	2,5	1,0	3,3	0,86	97
PL3_2	5	4,3	1,2	5,4	0,84	95
PL4_3	10	3,1	3,3	4,4	0,15	17
PD11_2	16	9,0	1,8	10,4	0,08	9
PD11_3	16	4,6	3,5	5,9	0,06	6
PD10_1	20	8,6	2,3	10,5	0,06	6
PD9_1	26	10,1	2,6	12,8	0,04	4

Deze doseerproef heeft informatie opgeleverd over de stroomrichting van het grondwater en over de mate van verdunning van het NaCl in de filters van een aantal waarnemingsputten. Van veel filters zijn echter geen gegevens geregistreerd. Daarom is besloten om de doseerproef met NaCl te herhalen. In verband met de labplanning werd besloten om de doseerproef met bacteriofagen volgens planning te starten op 28 november 2011, direct na afloop van de eerste doseerproef met NaCl. Daarna heeft de 2^e doseerproef met NaCl plaatsgevonden om doorbraakcurves te bepalen van de filters waarvan in de eerste doseerproef geen informatie van kon worden verkregen.

3.3 Resultaten van de 2^e doseerproef met NaCl

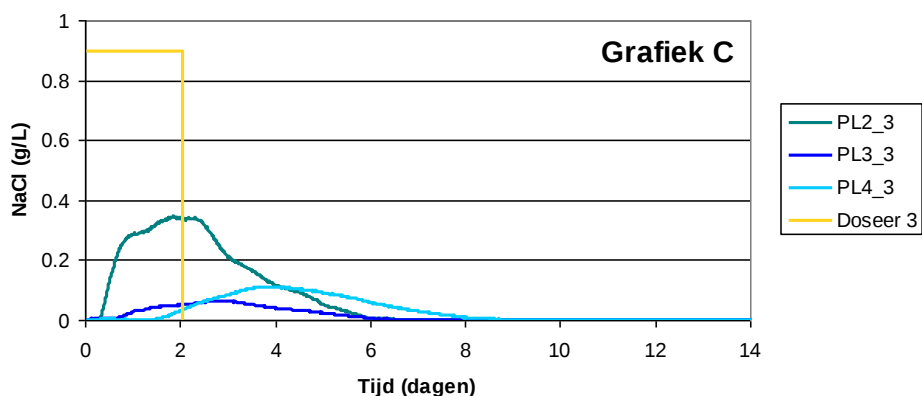
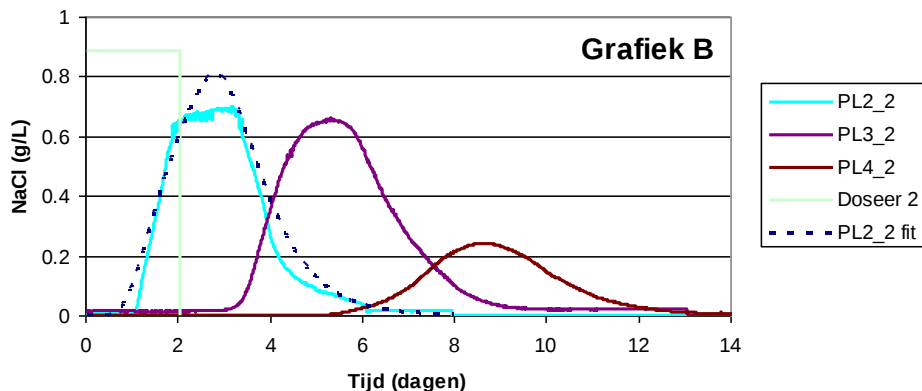
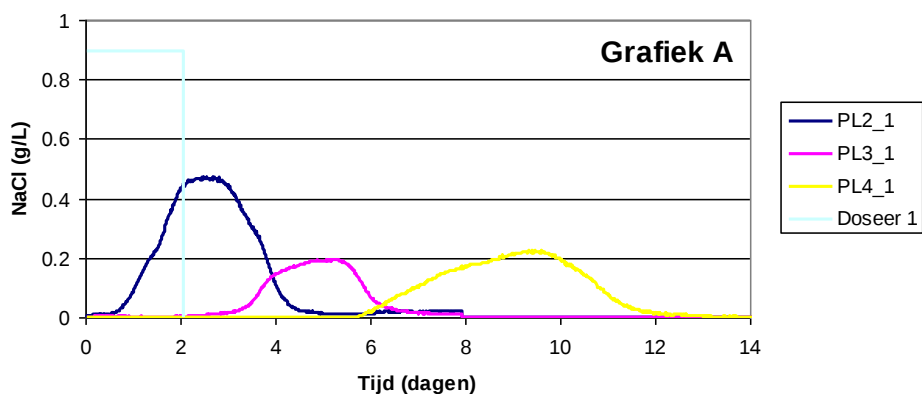
Op 16-01-2012, nadat het meten van de gedoseerde bacteriofagen was gestopt, werd begonnen met het vullen van drie doseertanks met water afkomstig uit onttrekkingsput PL7, waarbij tank 1 werd gevuld met water uit filter PL7_1, tank 2 uit PL7_2 en tank 3 uit PL7_3. Aan elke tank werd 3 liter van een geconcentreerde NaCl oplossing toegevoegd met een concentratie van 300 gram NaCl (Merck) per liter. In totaal werd 900 gram NaCl toegevoegd aan elke tank, en de eindconcentratie in de tanks bedroeg 0,9 gram NaCl per liter.

Op 17-01-2012 werd begonnen met de dosering van NaCl, waarbij vanuit tank 1 werd gedoseerd in de bovenste laag, vanuit tank 2 in de middelste laag, en vanuit tank 3 in de onderste laag. De dosering werd gestart op 17-01-2012 om 13.24 uur door het aanzetten van de pompen van de drie vaten en de flowmeters af te regelen op ongeveer 13 liter per uur. De dosering werd beëindigd om 19-01-2012 om 14.13. Er werd in totaal 48 uur en 49 minuten gedoseerd. De gedoseerde hoeveelheden zijn weergegeven in tabel 3.3.

Tabel 3.3 De gegevens van de doseertanks tijdens het doseren van de tweede proef.

	EGV tank mS/cm	Hoeveelheid gedoseerd Liter	Concentratie O ₂ mg/L
Tank 1	2.47	718	2,2
Tank 2	2.47	953	2,1
Tank 3	2.46	579	2,7

Het monitoren van het EGV/NaCl moest helaas voortijdig worden afgebroken op 30 januari 2012, vanwege het invallen van een zeer strenge vorstperiode. Er zijn volledige doorbraakcurves verzameld van de drie filters in PL2, PL3 en PL4. Het was niet mogelijk om doorbraakcurves te meten in waarnemingsputten verder stroomafwaarts dan PL4.



Figuur 3.2 De doorbraakcurves van NaCl in PL2, PL3 en PL4 op -1,5 m NAP, (A), -2,5 m NAP (B), en -3,5m NAP (C).

In figuur 3.2 zijn de NaCl doorbraakcurves van waarnemingsput PL2, PL3 en PL4, gemeten in de drie filters weergegeven.

De doorbraakcurves van PL2_1 laten zien dat na ongeveer een dag een verhoogde concentratie NaCl werd waargenomen. De NaCl concentratie bij de maximale doorbraak bedroeg 0,47 mg/L. Dit betekent dat de gedoseerde NaCl concentratie van 0,9 g/L door verdunning is afgenomen. Na 5 en 10 dagen werd de maximale doorbraak waargenomen in PL3_1 respectievelijk PL4_1. Opvallend is dat de concentratie bij maximale doorbraak in PL3_1 lager is dan bij PL4_1 terwijl PL4_1 verder van het doseerpunt aflight. Mogelijk is de stroombaan rondom PL3_1 afwijkend van de verwachte stroombaan door heterogeniteit in de ondergrond. Het moment van maximale doorbraak van de curves van de middelste laag (PL2_2, PL3_2 en PL4_2) zijn nagenoeg gelijk aan die van de bovenste laag, waardoor geconcludeerd kan worden dat de grondwatersnelheid in deze twee lagen bijna niet van elkaar verschilt. Helaas is de maximale doorbraak van PL2_1 niet goed geregistreerd door een oscillerend registrerende CTD-diver. Door een curve door de geregistreerde punten te fitten kan de oorspronkelijke doorbraakcurve naar verwachting goed worden benaderd. Dit resulteert in een NaCl concentratie van 0,81 mg/L ten tijde van de maximale doorbraak. Het maximum van de doorbraakcurves van PL3_2 en PL4_2 laat de verdunning zien die de tracer ondergaat tijdens transport van het doseerfilter tot de desbetreffende peilbuis.

In PL2_3 (de onderste laag) werd binnen een dag na de start van de dosering een verhoogde concentratie NaCl waargenomen. Ook de doorbraakcurves van PL3_3 en PL4_3 laten zien dat de grondwatersnelheid in deze onderste laag op -3,5 m NAP hoger is dan in de twee lagen daarboven. Opvallend is dat de maximale zoutconcentratie van de doorbraakcurve net zoals in de bovenste laag van PL3_3 lager is dan die van PL4_3. Mogelijk is ook rondom filter PL3_3 de werkelijke stroombaan als gevolg van preferentiële stroombanen of heterogeniteit in de bodem afwijkend van de te verwachten stroombaan (horizontaal of verticaal) waardoor een deel van de tracer langs het filter stroomt.

Tabel 3.4. De grondwatersnelheid en de mate van verdunning van de NaCl tracer voor de drie filters van PL2, PL3 en PL4.

	Afstand (m)	Verblijftijd (dagen)	v (m/dag)	Tijd tot maximale doorbraak (dagen)	Maximale concentratie (NaCl g/L)	Massabalans tov doseer (%)
Doseertank	-	-	-	-	0,9	100
PL2_1	2,5	1,5	1,6	2,7	0,47	53
PL2_2	2,5	1,6	1,6	2,7	0,70	79
PL2_2 (fit)	2,5	1,6	1,6	2,9	0,81	91
PL2_3	2,5	0,6	4,2	2,0	0,35	39
PL3_1	5	3,6	1,4	5,2	0,19	22
PL3_2	5	4,0	1,3	5,3	0,66	74
PL3_3	5	1,2	4,1	2,9	0,06	7
PL4_1	10	7,1	1,4	9,5	0,23	25
PL4_2	10	7,3	1,4	8,6	0,24	27
PL4_3	10	2,4	4,1	3,9	0,11	12

3.4 Vergelijking van het 1^e en 2^e NaCl doseerexperiment.

Er zijn 4 filters welke in beide doseerproeven een doorbraakcurve hebben opgeleverd. Deze worden in de onderstaande tabel met elkaar vergeleken. Tijdens de 2^e doseerproef blijkt de grondwatersnelheid iets hoger te zijn dan tijdens de 1^e doseerproef. Gedurende de periode van metingen is geprobeerd het niveau in het Westerkanaal en in Geul 6 zo constant mogelijk te houden. Dit is gedurende de gehele periode van experimenten gelukt, met uitzondering van een incident in december. In de laatste week van december heeft een innamestop plaatsgevonden in verband met een calamiteit. Dit heeft

geresulteerd in grote fluctuaties in de waterstanden in de Amsterdamse waterleidingduinen, en ook van Geul 6 en het Westerkanaal. Deze zijn van invloed op de grondwatersnelheid en hebben mogelijk een effect gehad ten tijde van de 2^e doseerproef.

De concentratie NaCl op het maximum van de doorbraakcurves vertoont kleine verschillen tussen de twee doseerproeven. De verschillen zijn niet erg groot, en de verwachting is dat de doorbraakcurves een goed beeld geven van de mate van verdunning van de tracer die optreedt bij het transport door de bodem. Omdat de verwachting is dat de bacteriofagen in gelijke mate als de tracer worden verdund, kan de gevonden verwijdering van bacteriofagen worden gecorrigeerd voor het effect van verdunning. Voor de correctie worden de gegevens uit het 2^e tracerexperiment gebruikt, omdat dit experiment het meest volledige beeld geeft van de verdunning die is opgetreden in de filters van PL2, PL3 en PL4. Voor peilbuizen stroomafwaarts van PL4, waar geen gegevens zijn verzameld tijdens het 2^e tracerexperiment, zijn gegevens gebruikt uit het eerste tracerexperiment.

Tabel 3.5. Vergelijking van de gegevens van de 1^e doseerproef met die van de 2^e doseerproef met NaCl. De grijs gemerkte gegevens zijn afkomstig van de 2^e doseerproef.

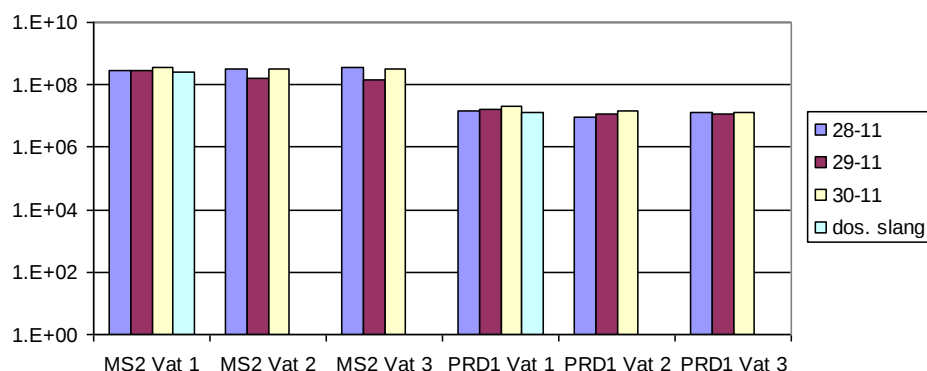
	Afstand (m)	Verblijftijd (dagen)	V (m/dag)	Tijd tot maximale doorbraak (dag)	Maximale concentratie (NaCl g/L)	Massabalans tov doseer (%)
Doseertank					0,9	100
PL2_1	2,5	2,0	1,2	3,1	0,39	43
PL2_1	2,5	1,5	1,6	2,7	0,47	53
PL2_2	2,5	2,5	1,0	3,3	0,86	97
PL2_2	2,5	1,6	1,6	2,7	0,70	79
PL2_2 (fit)	2,5	1,6	1,6	2,9	0,81	91
PL3_2	5	4,3	1,2	5,4	0,84	95
PL3_2	5	4,0	1,3	5,3	0,66	74
PL4_3	10	3,1	3,3	4,4	0,15	17
PL4_3	10	2,4	4,1	3,9	0,11	12

3.5 De resultaten van de doseerproef met bacteriofagen MS2 en PRD1.

3.5.1 Het doseren van bacteriofagen MS2 en PRD1

Voor het doseren van de bacteriofagen is op dezelfde wijze te werk gegaan als voor de dosering van de tracer. De drie doseervaten werden op 28 november 2011 gevuld met water afkomstig uit PL7_1 in vat 1, PL7_2 in vat 2 en PL7_3 in vat 3. Aan elke vat werd 1 liter toegevoegd van een suspensie van MS2 en 1 liter van een suspensie van PRD1. De dosering werd gestart op 28 november 2011 om 17.45 uur en gestopt op 31 november om 9.45 uur. Er werd in totaal 64 uur gedoseerd. De concentratie bacteriofagen in de tank en de zuurstofconcentratie in de vaten werd dagelijks gemeten. De concentratie van bacteriofagen in het vat bleek niet af te nemen gedurende de tijd van doseren (Fig. 3.3). Tevens is van vat 1 de concentratie bacteriofagen bepaald nadat deze de doseerslang waren gepasseerd. Deze concentratie was gelijk aan de concentratie in de doseertank. De bacteriofagen hechten dus niet aan de doseervaten en de doseerslang (Fig. 3.3).

De zuurstofconcentratie bleek na de 2^e dag in geringe mate af te nemen. Dit werd waarschijnlijk veroorzaakt door een geringe groei van al in het water aanwezige micro-organismen. Deze groei werd vermoedelijk veroorzaakt door het toevoegen van de geringe hoeveelheid nutriënten, die nog aanwezig waren in de bacteriofagen suspensie.



Figuur 3.3. De concentratie MS2 en PRD1 in de doseervaten in pvc/ml tijdens de drie opeenvolgende dagen van dosering en na passage door de doseerslang (voor vat 1.).

Tabel 3.6. Dezuurstofconcentraties in de doseertanks tijdens het doseren van de bacteriofagen.

	Concentratie O ₂ (mg/L)			Hoeveelheid gedoseerd (liter)
	28-11	29-11	30-11	
Tank 1	1,9	1,7	0,8	921
Tank 2	0,9	0,9	0,4	968
Tank 3	0,8	0,8	0,4	898

3.5.2 Doorbraak bacteriofagen MS2 en PRD1

Vanaf de start van de dosering op 28-11-2011 tot en met 19-12-2011 werden dagelijks voor 12.00 uur de waarnemingsputten bemonsterd voor het bepalen van de aantallen bacteriofagen in het grondwater. Vanaf 19-12-2012 werd overgegaan op een monsternameschema van 2 tot 3 keer in de week. De laatste monstername vond plaats op 02-01-2012. Met behulp van de verkregen grondwatersnelheid van de eerste doseerproef met NaCl kon ruwweg ingeschat worden wanneer de piek van de doorbraakcurve van bacteriofagen verwacht kon worden bij de waarnemingsput. De monstername werd drie dagen voor de verwachte aankomst van de doorbraakcurve gestart, en vond bij de maximale doorbraak dagelijks plaats. Nadat de maximale concentratie bacteriofagen was gepasseerd werd overgegaan op een monstername van 2 tot 3 keer in de week.

Er zijn doorbraakcurves geregistreerd in PL2 (alle filters), PL3 (alle filters), PL4 (alle filters), en voor een aantal filters van PD11 en PL5. Voor PD9 waren een drietal monsters positief voor PRD1. PD10 en PL6 zijn geregeld bemonsterd, maar daar zijn op 1 positieve waarneming na voor PRD1, geen bacteriofagen meer in gevonden.

De doorbraakcurves van MS2 zijn weergegeven in figuur 3.4 en die van PRD1 in figuur 3.5.

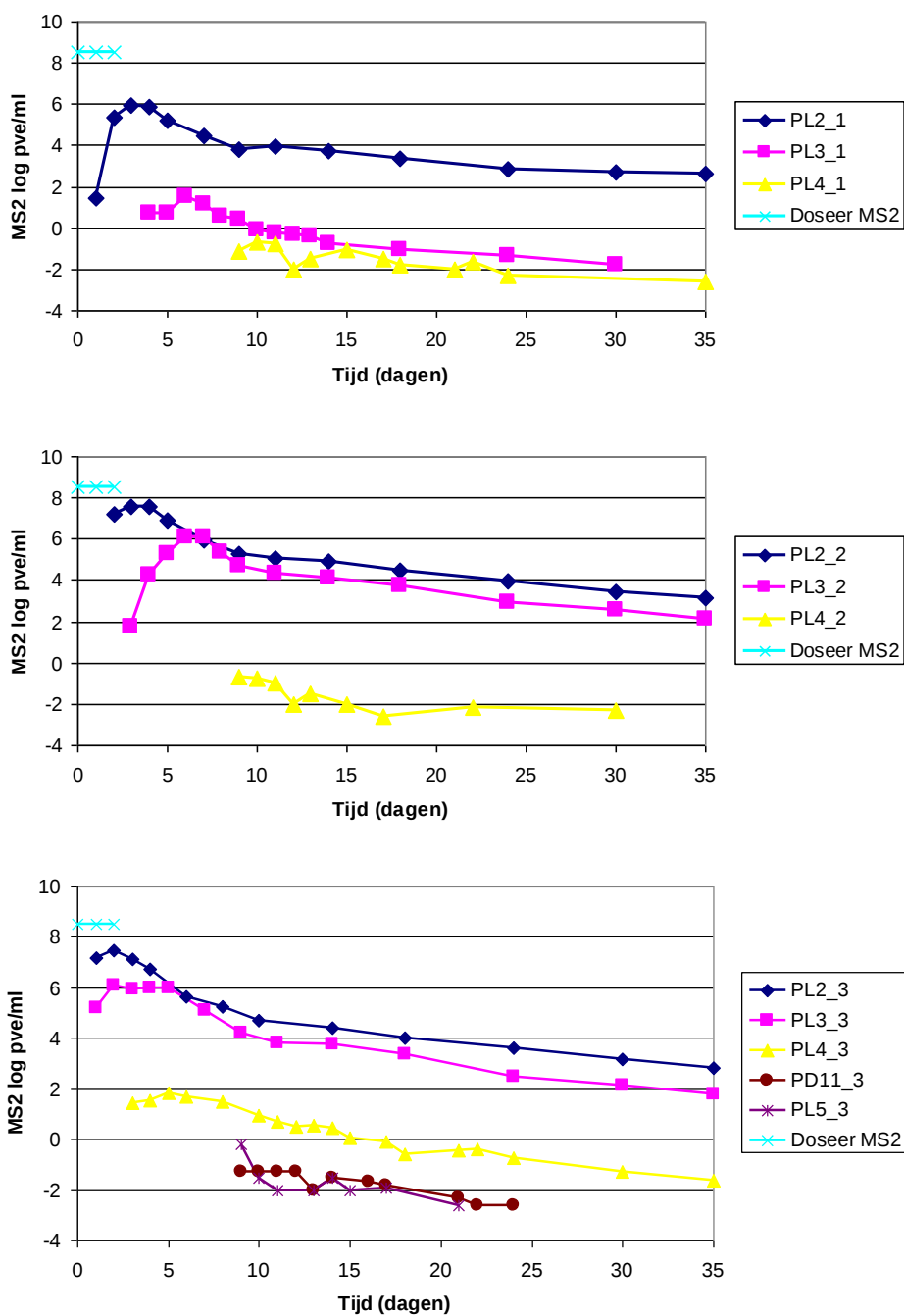


Fig. 3.4. De doorbraakcurves van MS2 in PL2, PL3 en PL4 op -1,5 m NAP (bovenste grafiek), in PL2, PL3 en PL4 op -2,5 m NAP (middelste grafiek), en in PL2, PL3, PL4, PD11 en PL5 op -3,5m NAP (onderste grafiek).

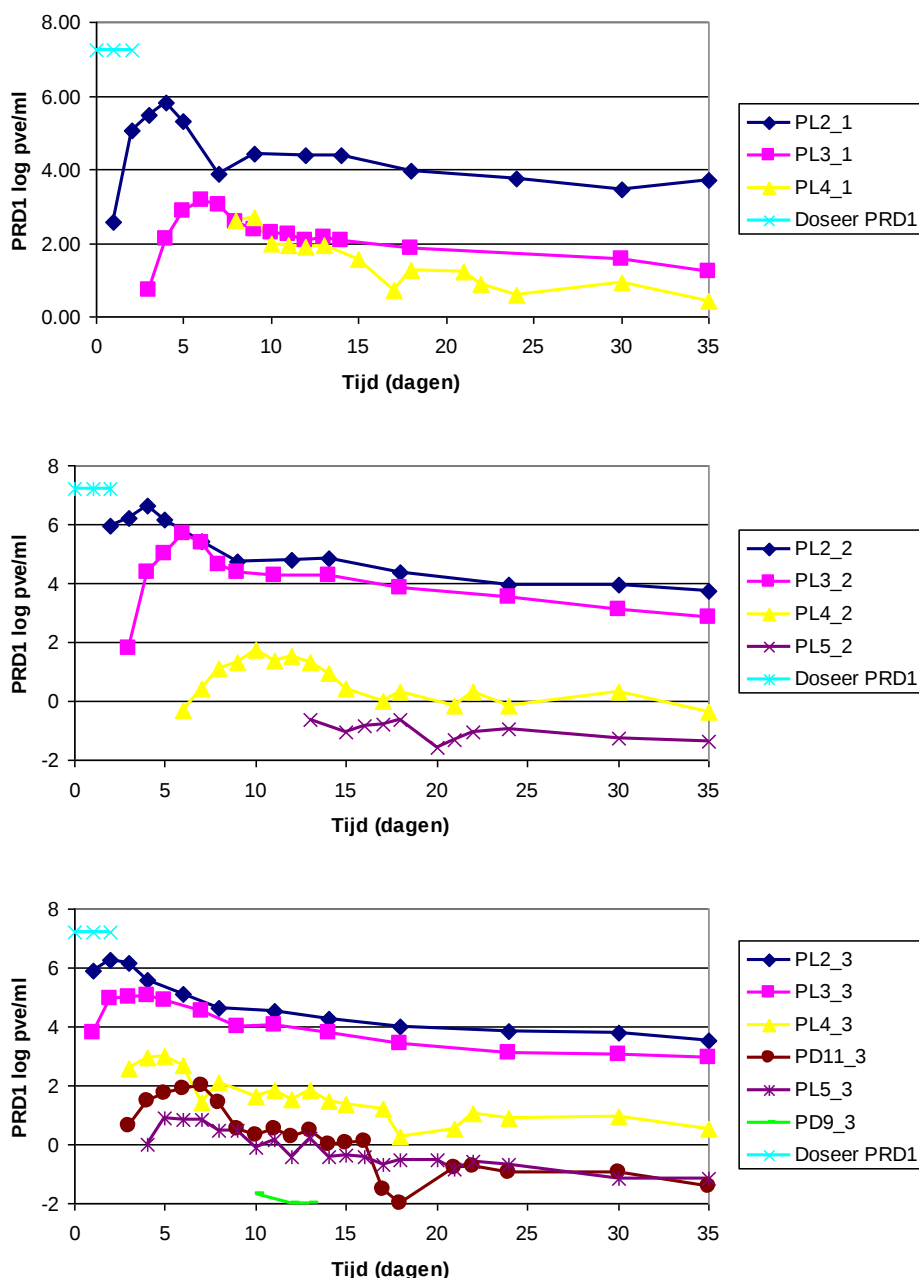


Fig. 3.5. De doorbraakcurves van PRD1 in PL2, PL3 en PL4 op -1,5 m NAP (bovenste grafiek), in PL2, PL3, PL4 en PL5 op -2,5 m NAP (middelste grafiek), en in PL2, PL3, PL4, PD11, PL5 en PD9 op -3,5m NAP (onderste grafiek).

De doorbraakcurves van MS2 en PRD1 in de bovenste laag op -1,5m NAP.

Direct na de start van de dosering is begonnen met de monsternamen voor de bacteriofagen. In de bovenste laag (-1,5 NAP) werden na 1 dag de eerste bacteriofagen teruggevonden in PL2. In deze waarnemingsput werd na 3 dagen de maximale doorbraak geregistreerd voor MS2. De maximale doorbraak in PL3 vond plaats op dag 6, en in PL4 op dag 10. Voor PRD1 was de tijd van dosering tot maximale doorbraak nagenoeg gelijk aan die van MS2, respectievelijk in PL2 na 4 dagen, in PL3 na 6 dagen en in PL4 na 9 dagen. In de bovenste laag werden stroomafwaarts van peilbuis PL4 (10 meter) geen MS2 en PRD1 meer gedetecteerd. Het aantal bacteriofagen is na PL4 dus blijkbaar dermate afgenomen dat het aantal per liter onder de detectiegrens van de bacteriofagenbepaling is gekomen.

Doorbraakcurves van MS2 en PRD1 in de middelste laag op -2,5m NAP.

In de middelste laag (-2,5 NAP) werd voor MS2 de maximale doorbraak gevonden na 4 dagen in PL2, na 7 dagen in PL3, en na 9 dagen in PL4. Voor PRD1 werd de maximale doorbraak gevonden in PL2 na 4 dagen, in PL3 na 6 dagen en in PL4 na 10 dagen. PRD1 werd ook teruggevonden in PL5 (18 meter van het doseerpunt). De doorbraakcurve vertoont geen duidelijke piek, maar het meest waarschijnlijk is dat het maximum van de doorbraakcurve ligt bij 18 dagen, wat in lijn is met de reistijden die worden gevonden voor PL2, PL3 en PL4. MS2 is niet teruggevonden in PL5.

Doorbraakcurves van MS2 en PRD1 in de onderste laag op -3,5m NAP.

In de onderste laag (-3,5 NAP) werden zowel MS2 als PRD1 gevonden in de peilbuizen PL2, PL3, PL4, PD11 en PL5. Tevens werd PRD1 gedurende drie dagen gedetecteerd in PD9.

Het maximum van de doorbraakcurve van MS2 in PL2 werd gevonden na 2 dagen, wat in de lijn der verwachting is gezien de hogere stroomsnelheid in deze laag. De maximale doorbraak in PL3 werd ook geregistreerd op dag 2, wat er op kan duiden dat de waarneming van PL2_3 is genomen van een afnemende piek, en PL3_3 van de toenemende piek. Het maximum in PL4 werd waargenomen op dag 5. De doorbraakcurves van MS2 in PD11 en PL5 zijn lastiger te beoordelen, omdat ze geen duidelijke maximale doorbraak vertonen. Voor PL5 op 18 meter ligt de waargenomen maximale doorbraak op dag 9. Dit is echter het eerste positieve waarneming van deze curve, waardoor het waarschijnlijk is dat de maximale doorbraak plaats heeft gevonden voor dag 9 en mogelijk hoger was dan nu geregistreerd. Dit is aannemelijk, omdat op dag 9 is overgegaan op het onderzoeken van een groter volume grondwater. Dat dit monster direct positief was, geeft aan dat eerdere monsters mogelijk ook positief zijn geweest, maar dat de bacteriofagen vanwege een te klein volume niet werden gedetecteerd. De doorbraakcurve kan dus hoger zijn geweest en eerder zijn doorgebroken dan dag 9. Voor PD11 is ook op dag 9 overgegaan op groter volume monsters, waardoor ook voor PD11 de het maximum van de doorbraakcurve voor dag 9 kan liggen, en dan een hoger maximum kan hebben. Omdat PD11 op 16 meter van het doseerpunt ligt, en 40 cm ten noorden van de centrale stroombaan, is de verwachting dat dit monster mogelijk ook verdund is door dispersie. Uit de waarnemingen van de peilbuizen PL2 t/m PL4 blijkt dat de maximale doorbraak van MS2 en PRD1 nagenoeg niet van elkaar verschilt, zodat het waarschijnlijk is dat het doorbraakmaximum van de MS2 doorbraakcurve ook in PD11 en PL5 samenvalt met die van PRD1. De maximale doorbraak van PRD1 werd waargenomen op dag 7 (zie ook hieronder), en het is daarom waarschijnlijk dat de maximale doorbraak van MS2 in PD11 en PL5 op dezelfde dag heeft plaatsgevonden. Dat betekent dat de waarnemingen vanaf dag 9 inderdaad representatief zijn voor de dalende flank van de doorbraakcurve en dat de maximale doorbraak daarvoor al plaats heeft gevonden.

Het maximum van de doorbraakcurves van PRD1 in PL2, PL3 en PL4 werd gevonden na respectievelijk 2 dagen, 4 dagen en 5 dagen. De reissnelheid van PRD1 was dus bijna gelijk aan die van MS2.

Van PRD1 zijn ook nog duidelijke doorbraakcurves gevonden in PD11 en PL5. Uit deze curves kan worden afgeleid dat de maximale doorbraak van PD11 werd waargenomen na 7 dagen. De maximale doorbraak van PL5 vertoont een plateau van dag 5 tot dag 7. Het maximum van de doorbraak zal zich vermoedelijk tussen dag 5 en dag 7 bevinden.

Voor PRD1 zijn tussen 10 en 15 dagen na het doseren een gering aantal positieve waarnemingen geregistreerd in PD9, waarbij de hoogste waarde werd gevonden op dag 10. Hoewel het maar om drie datapunten gaat, en er dus geen doorbraakcurve kan worden afgeleid, zou dit kunnen betekenen dat de maximum doorbraak in PD9 plaatsvond rond dag 10. Door de reissnelheid van PD11, waarmee PD9 op 1 lijn ligt, te extrapoleren, kan de reistijd worden geschat naar PD9. De maximale doorbraak bij PD11 werd waargenomen 7 dagen na de start van de dosering. Uitgaande van de afstand van het doseerpunt naar PD11 van 16 meter, betekent dit dat de virussen ongeveer 2,3 meter per dag hebben afgelegd. Omdat punt PD9 op 26 meter ligt van het doseerpunt, is de maximale doorbraak in PD9 na ongeveer 11 dagen te verwachten. Hoewel het aantal waarnemingen in PD9 gering is, komen ze dus wel overeen met de te verwachten doorbraaktijd.

Tabel 3.7. De tijd tot maximale doorbraak voor PRD1 en MS2 en de reissnelheid (m/dag)

	Afstand (m)	Tijd tot maximale doorbraak (dagen)		v	
		MS2	PRD1	(m/ dag) MS2	(m/ dag) PRD1
PL2_1	2,5	3	4	0,83	0,63
PL2_2	2,5	4	4	0,63	0,63
PL2_3	2,5	2	2	1,25	1,25
PL3_1	5	6	6	0,83	0,83
PL3_2	5	7	6	0,71	0,83
PL3_3	5	2	4	2,5	1,25
PL4_1	10	10	9	1	0,9
PL4_2	10	9	10	0,9	1
PL4_3	10	5	5	2	2
PD11_1	16	-	-		
PD11_2	16	-	-		
PD11_3 ^a	16	9 (7)	7		2,3
PL5_1	18	-	-		
PL5_2	18	-	18		
PL5_3 ^a	18	9 (7)	7		2,6
PD9_1	26	-	-		
PD9_2	26	-	-		
PD9_3	26	-	11		2,4

^a De tijd tot maximale doorbraak heeft waarschijnlijk plaatsgevonden voordat de monsternamen is gestart. De waarde tussen haakjes is de vermoedelijke dag van maximale doorbraak.

3.6 De verwijderingscapaciteit van MS2 en PRD1 in duinzand onder suboxische condities.

Tijdens het transport door de bodem zal de gemeten concentratie bacteriofagen in de peilbuizen afnemen door hechting, afsterving en verdunning naarmate de peilbuizen verder weg liggen van het doseerpunt. Met de eerder bepaalde verdunning van de NaCl tracer naar de waarnemingsputten, en de aanname dat de grondwaterstroming en verdunning tijdens het virustransport op gelijke wijze zal verlopen, is het mogelijk om de gemeten afname van de bacteriofagen te corrigeren voor de verdunningsfactor. Zo is het mogelijk om de daadwerkelijke verwijdering van bacteriofagen door het transport door de bodem te bepalen.

3.6.1 Verdunning tijdens dosering, het berekenen van de initiële concentratie C_0

Voor zowel de bacteriofagen als voor de NaCl tracer geldt dat de dosering plaatsvindt door de tracer/bacteriofagensuspensie vanuit de doseervaten met behulp van een pomp naar het doseerfilter te pompen. De gedoseerde oplossing zal naar de rand van het filter stromen, en vervolgens het filter verlaten. Afhankelijk van de doseersnelheid zal de gedoseerde oplossing wel of niet worden verdund direct nadat deze in de bodem is gekomen. Bij een voldoende hoge doseersnelheid zal het grondwater dat zich stroomafwaarts van het doseerfilter bevindt geheel worden vervangen door de gedoseerde oplossing. Indien de dosering niet voldoende snel is, dan zal de gedoseerde oplossing zich mengen met het grondwater en op deze wijze worden verdund. Omdat de verwijdering van bacteriofagen wordt bepaald door de aantallen bacteriofagen op C_0 (tijdens dosering) te vergelijken met het aantal bacteriofagen in een waarnemingsput stroomafwaarts, is het belangrijk om uit te gaan van de juiste waarde van C_0 . Omdat bij een hoge grondwatersnelheid de gedoseerde bacteriofagen direct al worden verdund, is de werkelijke C_0 waarde de waarde van de gedoseerde bacteriofagen na verdunning. Indien

niet wordt gecorrigeerd voor een eventuele verdunning op het moment van dosering, wordt ten onrechte een te hoge verwijdering toegekend aan het aandeel bodemtransport. (Pang et al, 2009)

Bij het berekenen van de dosering vooraf is getracht om onder alle condities voldoende tracer of bacteriofagen te doseren zodat het grondwater volledig vervangen zou worden door de te doseren bacteriofagen of de tracer oplossing. Verdunning zou in dat geval geen rol spelen, en de startconcentratie in de doseervaten (C_0) voor de bacteriofagen of tracer zal gelijk zijn aan de concentratie op het moment van intrede in de bodem. In de onderste laag zal echter in verband met de hogere stroomsnelheid niet voldoende tracer of bacteriofagen gedoseerd zijn om alle grondwater volledig te vervangen, en zal de gedoseerde oplossing bij intrede in de bodem in bepaalde mate zijn verdund.

Op basis van de twee doseerexperimenten met tracer zijn de stroomsnelheden bekend van de 3 verschillende lagen. Met deze informatie is het mogelijk om te berekenen hoeveel oplossing had moeten worden gedoseerd, om het grondwater na het doseerfilter volledig te vervangen door de tracer of bacteriofagensuspensie. Dit geeft dan uitsluitend of de C_0 waarde in de doseertank kan worden gebruikt, of dat deze waarde gecorrigeerd moet worden voor verdunning. Hieronder wordt dit berekend voor de twee doseerexperimenten met NaCl, en de dosering van de bacteriofagen.

Doseringshoeveelheden tijdens het 1^e doseerexperiment met NaCl

Zijn de doseersnelheden tijdens het 1^e doseerexperiment met NaCl voldoende hoog geweest om verdunning van het NaCl bij intrede in de bodem te vermijden?

Voor zowel de dosering in de bovenste de middelste als de onderste laag worden de volgende dimensies gehanteerd:

Hoogte doseerfilter: 1 m
Breedte filter: 0,35 m
Porositeit 0.38
Duur dosering 48 uur

Snelheid grondwater bovenste laag:	1,2 meter per dag (gebaseerd op PL2_1)
Reisafstand grondwater na 48 uur:	2,4 meter
Volume na 48 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 2,4$	0,84m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 0,84m ³ :	320 liter
Gedoseerd: 672 liter.	

Snelheid grondwater middelste laag:	1,0 meter per dag (gebaseerd op PL2_2)
Reisafstand grondwater na 48 uur:	2,0 meter
Volume na 48 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 2,0$	0,70m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 0,70m ³ :	266 liter
Gedoseerd: 937 liter	

Snelheid grondwater onderste laag:	3,3 meter per dag (gebaseerd op PL4_3)
Reisafstand grondwater na 48 uur:	6,6 meter
Volume na 48 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 2,0$	2,31 m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 2,31 m ³ :	878 liter
Gedoseerd: 727 liter	

In de bovenste en de middelste laag is een ruim groter volume NaCl oplossing gedoseerd dan het volume van het van nature aanwezige grondwater, waardoor daar mag worden verwacht dat het grondwater volledig werd vervangen door het gedoseerde NaCl. In de onderste laag was dat niet het geval. Het is daarom de verwachting dat in de onderste laag het gedoseerde NaCl zich zal mengen met het grondwater. Daardoor zal de concentratie van het gedoseerde NaCl na menging lager zijn. Uitgaande van een grondwatervolume van 878 liter en een gedoseerd tracer volume van 727 liter is de concentratie door verdunning verlaagd tot $727/878 \times 100 = 83\%$ van de origineel gedoseerde concentratie. Dit betekent dat de NaCl concentratie in doseertank 3 (0,90 gr/l NaCl) door verdunning wordt verlaagd tot 0,75 mg/l NaCl bij intrede in de bodem.

Doseringshoeveelheden tijdens het 2^e doseerexperiment met NaCl

Hoogte filter:	1 m
Breedte filter:	0,35 m
Porositeit	0,38
Duur dosering	49 uur

Snelheid grondwater bovenste laag:	1,7 meter per dag (gebaseerd op PL2_1)
Reisafstand grondwater na 49 uur:	3,4 meter
Volume na 49 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 3,4$	1,19 m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 1,19 m ³ :	452 liter
Gedoseerd:	718 liter.

Snelheid grondwater middelste laag:	1,7 meter per dag (gebaseerd op PL2_2)
Reisafstand grondwater na 49 uur:	3,4 meter
Volume na 48 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 3,4$	1,19 m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 1,19 m ³ :	452 liter
Gedoseerd:	953 liter

Snelheid grondwater onderste laag:	4,2 meter per dag (gebaseerd op PL2_3)
Reisafstand grondwater na 49 uur:	8,6 meter
Volume na 48 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 8,6$	3,01 m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 3,01 m ³ :	1144 liter
Gedoseerd:	579 liter

Ook tijdens de 2^e doseerproef is in de bovenste en de middelste laag een groter volume NaCl oplossing gedoseerd dan het volume van het van nature aanwezige grondwater. Verwacht mag worden dat het grondwater volledig werd vervangen door de tracer. In de onderste laag is dat niet het geval. Daardoor zal de concentratie van het gedoseerde NaCl na menging lager zijn, en uitgaande van een grondwatervolume van 1144 liter en een gedoseerd tracer volume van 579 liter is de concentratie door verdunning verlaagd tot $579/1144 \times 100 = 51$ % van de origineel gedoseerde concentratie. Dit betekent dat de NaCl concentratie in doseertank 3 (0,90 gr/l NaCl) door verdunning wordt verlaagd tot 0,46 mg/l NaCl bij intrede in de bodem.

Doseringshoeveelheden tijdens het doseren van bacteriofagen

Zijn de doseersnelheden tijdens het doseren van bacteriofagen voldoende geweest om geen verdunning te krijgen van de bacteriofagen bij intrede in de bodem? Om dit te kunnen bepalen wordt gebruik gemaakt van de grondwatersnelheden die berekend zijn uit de doorbraakcurves van de eerste doseerproef. Hiervoor wordt gekozen omdat de virusdosering zeer kort na afloop van de 1^e NaCl dosering is gestart. De verwachting is dat de NaCl doorbraakcurves van de 1^e doseerproef de condities tijdens de bacteriofagendosering het best benaderen. De duur van doseren van bacteriofagen was 64 uur.

Snelheid grondwater bovenste laag:	1,2 meter per dag (gebaseerd op PL2_1)
Reisafstand grondwater na 64 uur:	3,2 meter
Volume na 64 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 3,2$	1,12 m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 1,12 m ³ :	426 liter
Gedoseerd:	921 liter.

Snelheid grondwater middelste laag:	1,0 meter per dag (gebaseerd op PL2_2)
Reisafstand grondwater na 64 uur:	2,7 meter
Volume na 64 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 2,7$	0,95 m ³ .
Hoeveelheid grondwater in 0,95 m ³ :	359 liter
Gedoseerd:	968 liter

Snelheid grondwater onderste laag:	3,3 meter per dag (gebaseerd op PL4_3)
Reisafstand grondwater na 64 uur:	8,8 meter
Volume na 64 uur reistijd = $0.35 \times 1 \times 8,8$	3,08 m ³ .

Hoeveelheid grondwater in 3,08 m3:
Gedoseerd: 898 liter

1170 liter

Tijdens de dosering van bacteriofagen is in de bovenste en de middelste laag een groter volume van de bacteriofagen suspensie gedoseerd dan het volume van het van nature aanwezige grondwater. Verwacht mag worden dat het grondwater volledig werd vervangen door de gedoseerde bacteriofagensuspensie. In de onderste laag is dat wederom niet het geval. Daardoor zal de concentratie van de gedoseerde bacteriofagen na menging lager zijn. Uitgaande van een grondwatervolume van 1170 liter en een gedoseerde bacteriofagensuspensie van 898 liter is de concentratie door verdunning verlaagd tot $898/1170 \times 100 = 77\%$ van de origineel gedoseerde concentratie. Dit betekent dat de bacteriofagensuspensie met in de doseertank een concentratie van MS2 van $3,12 \times 10^8$ pfu/ml en een concentratie van PRD1 van $1,69 \times 10^7$ pfu/ml door verdunning wordt verlaagd tot $2,40 \times 10^8$ pfu/ml voor MS2 en tot $1,30 \times 10^7$ pfu/ml voor PRD1.

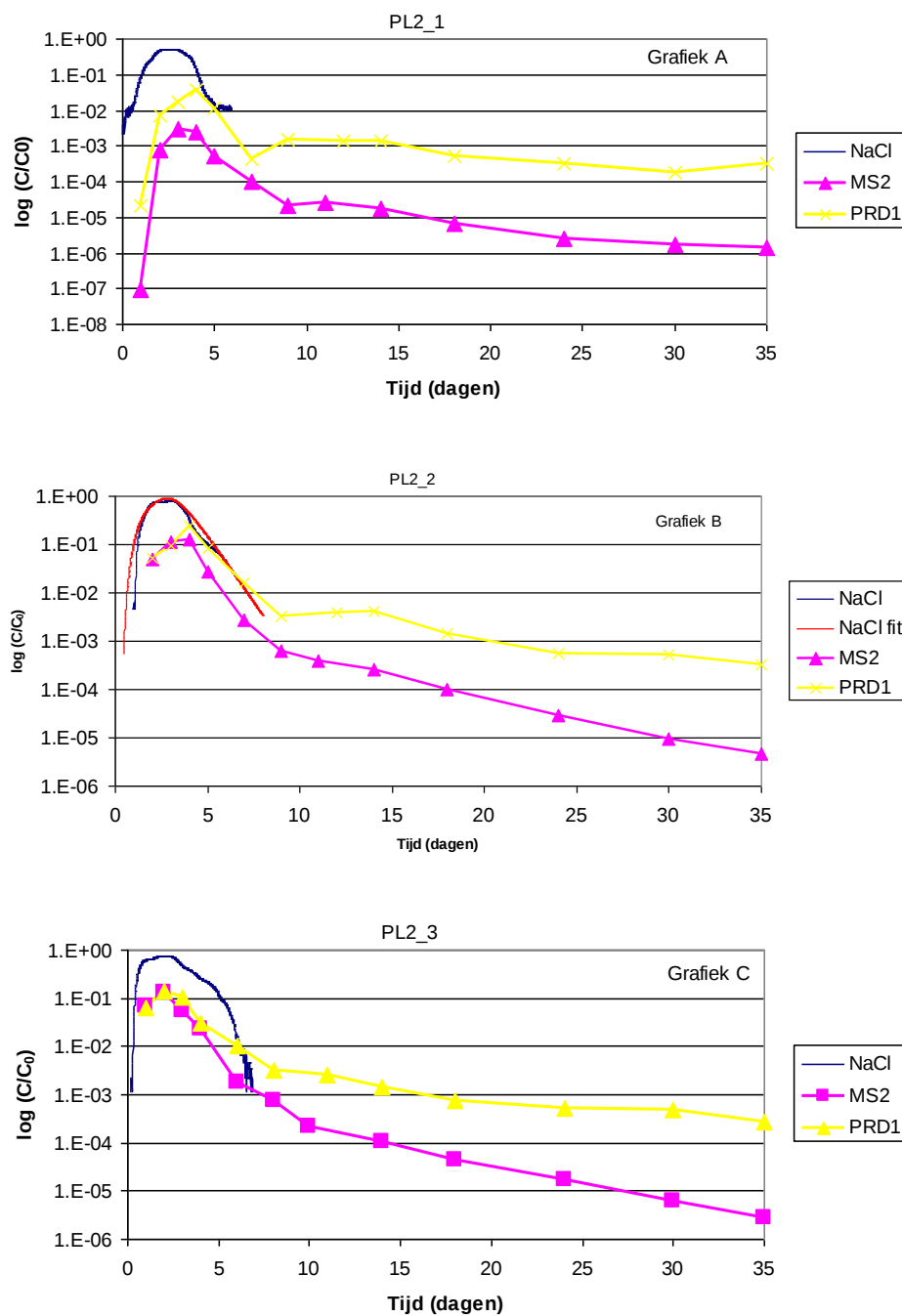
Tabel 3.8 Gecorrigeerde beginconcentraties (C_0) van NaCl en bacteriofagen tijdens de doseringen

		Tank	Conc in tank NaCl in g/L MS2/PRD1 in pve/ml	Correctie	Conc na correctie NaCl in g/L MS2/PRD1 in pve/ml
1 ^e doseerproef	NaCl	1	0,900	nee	
1 ^e doseerproef	NaCl	2	0,890	nee	
1 ^e doseerproef	NaCl	3	0,895	83%	0,743
2 ^e doseerproef	NaCl	1	0,893	nee	
2 ^e doseerproef	NaCl	2	0,888	nee	
2 ^e doseerproef	NaCl	3	0,896	51%	0,457
Doseer bacteriofagen	MS2	1	$3,12 \times 10^8$	nee	
Doseer bacteriofagen	PRD1	1	$1,69 \times 10^7$	nee	
Doseer bacteriofagen	MS2	2	$3,12 \times 10^8$	nee	
Doseer bacteriofagen	PRD1	2	$1,69 \times 10^7$	nee	
Doseer bacteriofagen	MS2	3	$3,12 \times 10^8$	77%	2,40E8
Doseer bacteriofagen	PRD1	3	$1,69 \times 10^7$	77%	1,30E7

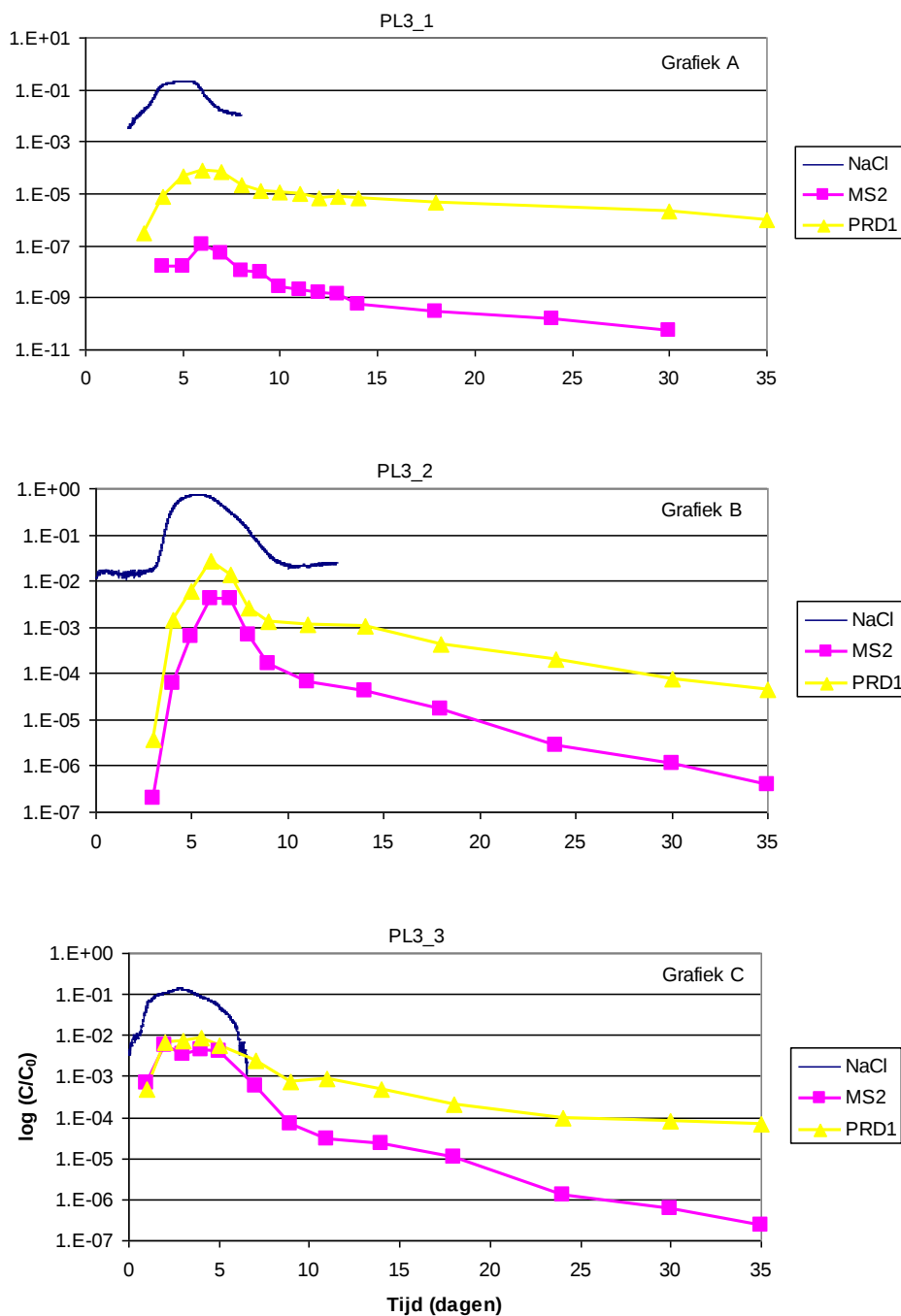
3.6.2 De verwijdering van MS2 en PRD1

De verdunning van de NaCl tracer en de verdunning en verwijdering van de twee bacteriofagen kan worden weergegeven door de gemeten concentratie in de waarnemingsputten te delen door de initiële concentratie C_0 . Op deze wijze is het mogelijk om de doorbraakcurves van NaCl en de bacteriofagen in een waarnemingsput weer te geven als C/C_0 , waarbij C_0 de werkelijk gedoseerde concentratie is en C de waargenomen concentratie in de waarnemingsputten.

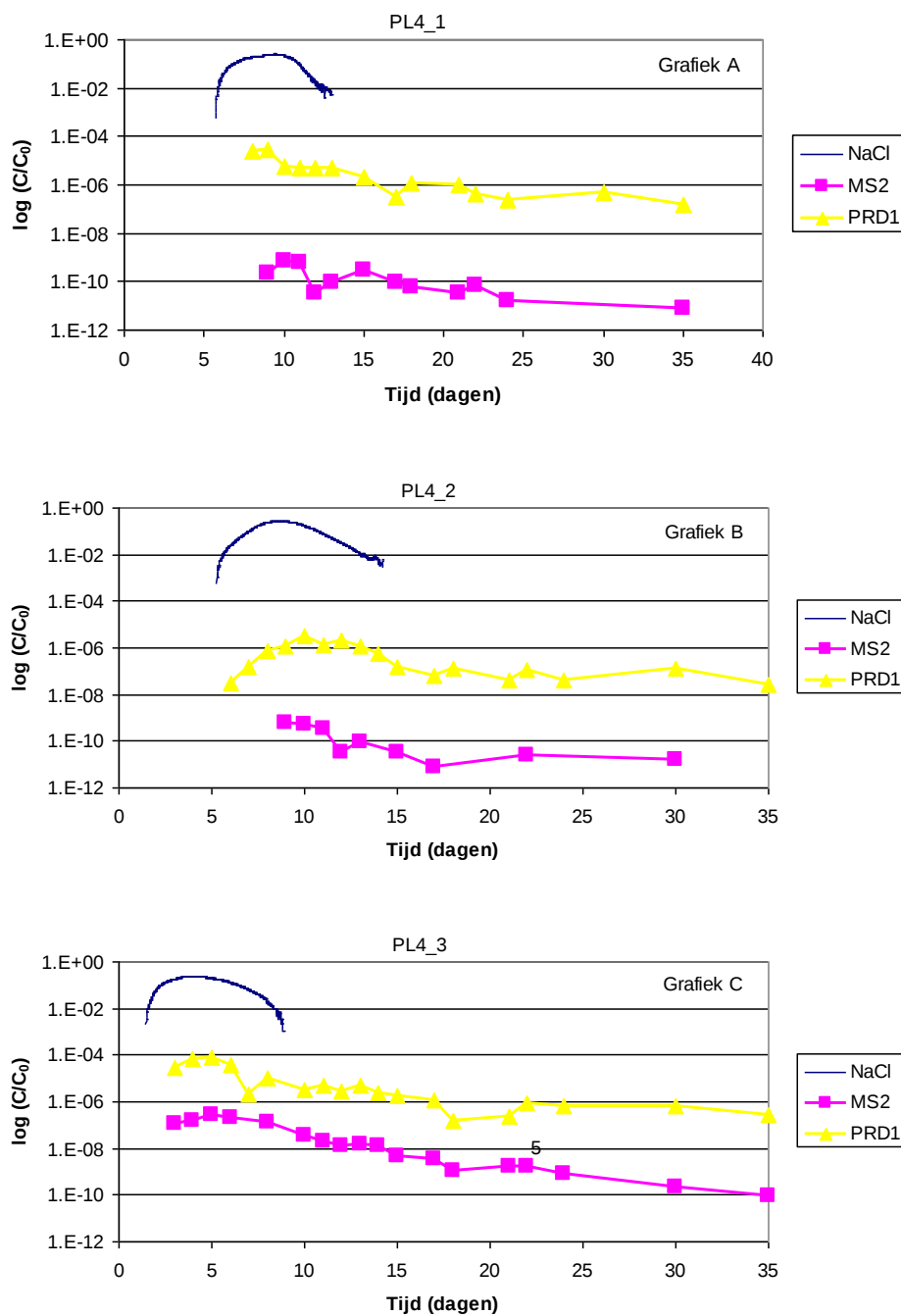
De C/C_0 doorbraakcurves van PL2, PL3, PL4, PD11, PL5 en PD9 zijn hieronder weergegeven in Figuur 3.6 tot en met Figuur 3.11.



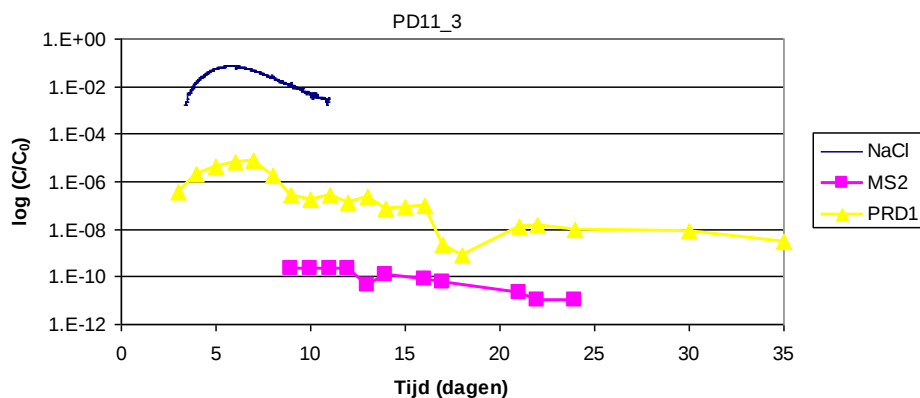
Figuur 3.6. De C/C_0 doorbraakcurve van NaCl, 2^e doseerproef (blauwe lijn), en bacteriofagen MS2 en PRD1 in waarnemingsput PL2. De doorbraakcurven van de bovenste filterlaag zijn weergegeven in grafiek A, de doorbraakcurven van de middelste filterlaag zijn weergegeven in grafiek B, en de doorbraakcurven van de onderste filterlaag zijn weergegeven in grafiek C



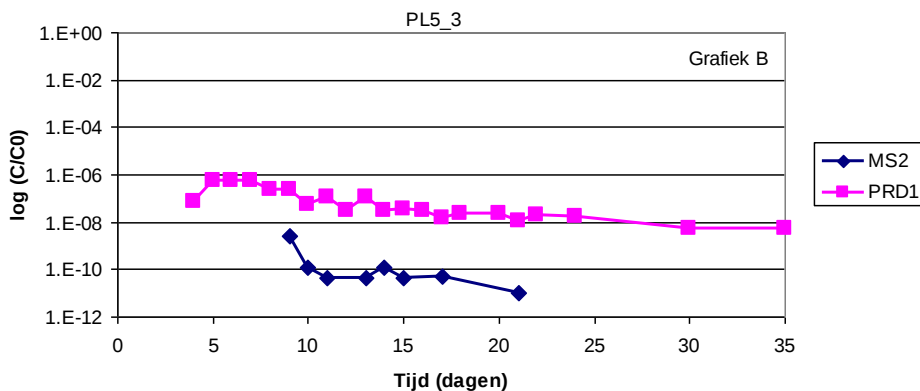
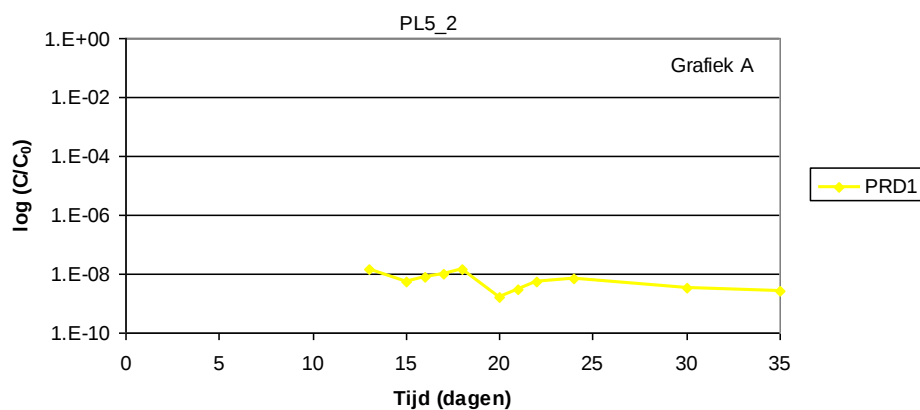
Figuur 3.7. De C/C_0 doorbraakcurve van NaCl, 2^e doseerproef (blauwe lijn), en bacteriofagen MS2 en PRD1 in waarnemingsput PL3. De doorbraakcurven van de bovenste filterlaag zijn weergegeven in grafiek A, de doorbraakcurven van de middelste filterlaag zijn weergegeven in grafiek B, en de doorbraakcurven van de onderste filterlaag zijn weergegeven in grafiek C



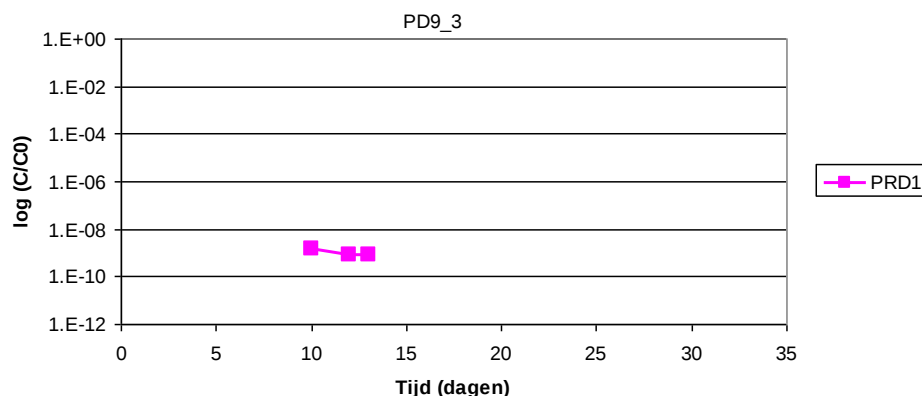
Figuur 3.8. De C/C_0 doorbraakcurve van NaCl, 2^e doseerproef (blauwe lijn), en bacteriofagen MS2 en PRD1 in waarnemingsput PL4. De doorbraakcurven van de bovenste filterlaag zijn weergegeven in grafiek A, de doorbraakcurven van de middelste filterlaag zijn weergegeven in grafiek B, en de doorbraakcurven van de onderste filterlaag zijn weergegeven in grafiek C



Figuur 3.9. De C/C_0 doorbraakcurve van NaCl, 2^e doseerproef (blauwe lijn), en bacteriofagen MS2 en PRD1 in de onderste laag van waarnemingsput PD11.



Figuur 3.10. De C/C_0 doorbraakcurve van bacteriofaag PRD1 in de middelste laag in waarnemingsput PL5_2 (Grafiek A), en de doorbraakcurven van de bacteriofagen MS2 en PRD1 in de onderste filterlaag (grafiek B) van peilbuis PL5_3.



Figuur 3.11. De C/C_0 doorbraakcurve van bacteriofaag PRD1 in de onderste laag in waarnemingsput PD9_3.

In alle gevallen werd waargenomen dat de C/C_0 waarden van de bacteriofagen lager zijn dan die van de conservatieve NaCl tracer. Daaruit kan worden geconcludeerd dat de beide bacteriofagen daadwerkelijk werden verwijderd, en omdat de doorbraakcurve van MS2 lager is dan die van PRD1, werd MS2 beter verwijderd dan PRD1. Dit werd consistent waargenomen in de drie onderzochte bodemlagen.

Uit de doorbraakcurve van een conservatieve tracer, in dit geval NaCl, is de mate van verdunning af te leiden die is opgetreden tijdens het transport van de doseerput naar de waarnemingsput. Indien er geen verdunning optreedt tussen de doseerput en de waarnemingsput, dan is de concentratie in de waarnemingsput (C) gelijk aan de gedoseerde concentratie (C_0). Bij verdunning zal C kleiner zijn dan C_0 , en C/C_0 wordt kleiner dan 1. Indien het maximum van de C/C_0 doorbraakcurve kleiner is dan 1, dan is er verdunning opgetreden van het gedoseerde NaCl tijdens transport naar de waarnemingsput. Bij de doorbraakcurve van de virussen speelt de verdunning ook een rol. Door de verdunning van de virussen gelijk te stellen aan die van de conservatieve tracer, kan worden bepaald hoeveel het aantal virussen is afgenomen door verdunning. Door de totale verwijdering van bacteriofagen te corrigeren voor de verdunning van de tracer, is het mogelijk de verwijdering (is hechting en afsterving) van bacteriofagen door bodemtransport te bepalen.

De verwijdering van PRD1 in de filters PL5_2, PL5_3 en PD9_3 kon niet worden gecorrigeerd voor de verdunning van de NaCl tracer, omdat van deze punten geen tracerinformatie voorhanden was. Om toch een idee te krijgen van de concentratie van de NaCl tracer in de punten PL5_2 en PL5_3, is het resultaat van de NaCl doorbraakcurve van PL4_2 en PL4_3 geëxtrapoleerd naar PL5_2 en PL5_3. Hierbij wordt de aanname gedaan dat de mate van verdunning zoals die is opgetreden in de eerste 10 meter lineair mag worden geëxtrapoleerd naar waarnemingsput PL5 op 18 meter. Ook voor PD9_3 was geen tracerinformatie voorhanden. Hier is voor het berekenen van de verdunningsfactor gebruik gemaakt van de NaCl doorbraakcurve van PD9_1. De door extrapolatie verkregen verdunningsfactoren lijken goed te vergelijken met de wel gemeten verdunningsfactoren in de nabijgelegen waarnemingsputten PD11 en PD10.

Tabel 3.8. De afname in logeenheden van de NaCl tracer en de bacteriofagen MS2 en PRD1 tijdens transport van het doseerfilter naar een waarnemingsfilter.

	Afname NaCl	Totale afname		Afname gecorrigeerd voor verdunning	
		MS2	PRD1	MS2	PRD1
PL2_1	0,28	2,52	1,41	2,24	1,13
PL2_2 (fit)	0,04	0,91	0,62	0,87	0,58
PL2_3	0,12	0,88	0,87	0,76	0,75
PL3_1	0,66	6,95	4,08	6,29	3,42
PL3_2	0,13	2,37	1,56	2,24	1,43
PL3_3	0,85	2,26	2,06	1,41	1,21
PL4_1	0,60	9,15	4,54	8,55	3,94
PL4_2	0,57	9,19	5,52	8,62	4,95
PL4_3	0,61	6,57	4,12	5,96	3,51
PL4_3	0,71 ^a	-	-		
PD11_2	1,06 ^a	-	-		
PD11_3	1,14 ^a	9,68 ^b	5,11	8,54	3,97
PL5_2	1,02 ^c	-	7,85		6,83
PL5_3	1,11 ^c	6,57 ^b	6,23		5,13
PD10_1	1,20 ^a	-	-		
PD9_1	1,36 ^a	-	-		
PD9_3	1,36 ^d	-	8,81		7,45

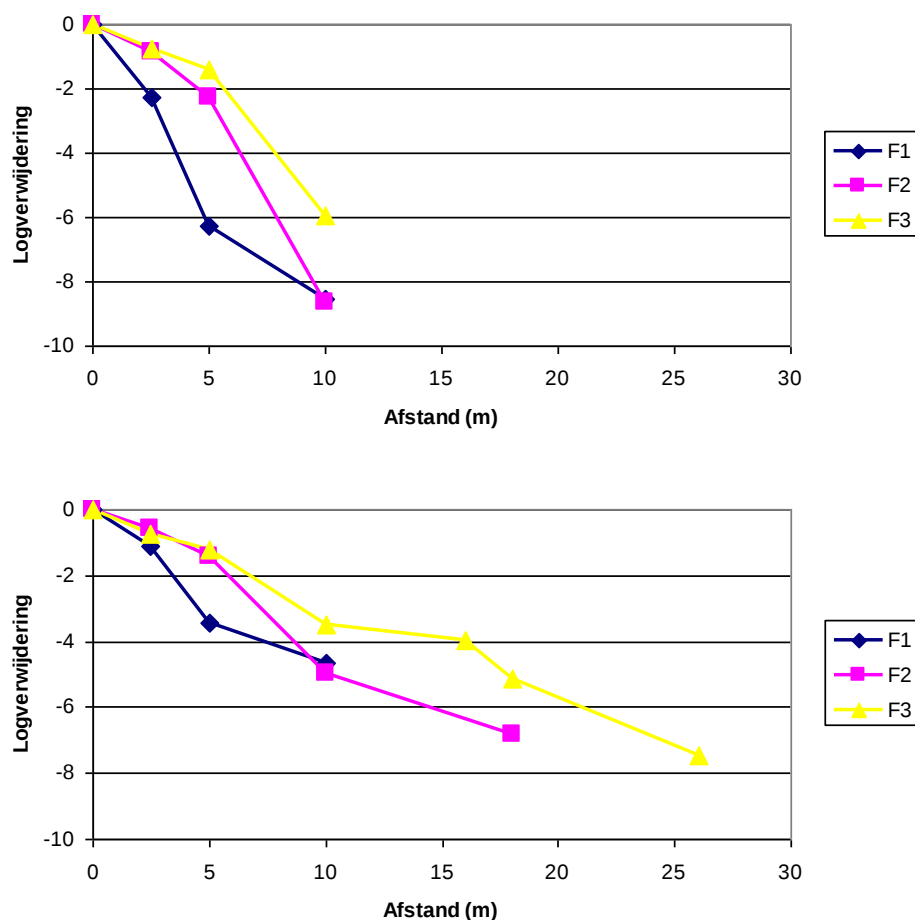
^a Gegevens afkomstig van de eerste doseerproef met NaCl

^b Getal voor verwijdering zeer waarschijnlijk afkomstig van doorbraakcurve na het moment van maximale doorbraak.

^c op basis van lineaire extrapolatie van de tracerinformatie van PL4_2

^d geen tracergegevens beschikbaar, afkomstig van de tracerinformatie van PD9_1

Met behulp van de gegevens uit tabel 3.8 kan de voor de verdunning gecorrigeerde verwijdering worden uitgezet tegen de door de bacteriofagen afgelegde afstand.



Figuur 3.12. De verwijdering van MS2 (bovenste grafiek) en PRD1 (onderste grafiek) uitgezet tegen de reisafstand voor de bovenste laag (F1), de middelste laag (F2) en de onderste laag (F3).

MS2 verwijdering

Uit de bovenstaande twee grafieken blijkt dat de verwijdering in de drie onderzochte lagen van elkaar verschilt. In de bovenste laag worden de bacteriofagen in de eerste 5 meter het meest efficiënt verwijderd. De verwijdering van het doseerpunt naar PL3_1 (5 meter) bedraagt voor MS2 6,3 log eenheden. Over de volgende 5 meter bedraagt de logverwijdering voor MS2 2,3 log. In totaal is de logverwijdering van MS2 over 10 meter 8,6 log. In de waarnemingsfilters na 10 meter werden ondanks intensieve bemonstering geen MS2 bacteriofagen meer waargenomen.

In de middelste laag werd voor MS2 tijdens het bodemtransport gedurende de eerste 5 meter 2,2 logeenheden verwijderd, en in de volgende 5 meter 6,4 logeenheden. In totaal werd gedurende 10 meter bodemtransport door de middelste laag ook 8,6 log verwijderd. De MS2 verwijdering door bodemtransport in de bovenste en middelste laag was dus gelijk in de eerste 10 meter bodemtransport, maar verschilt wel in waar de verwijdering heeft plaatsgevonden.

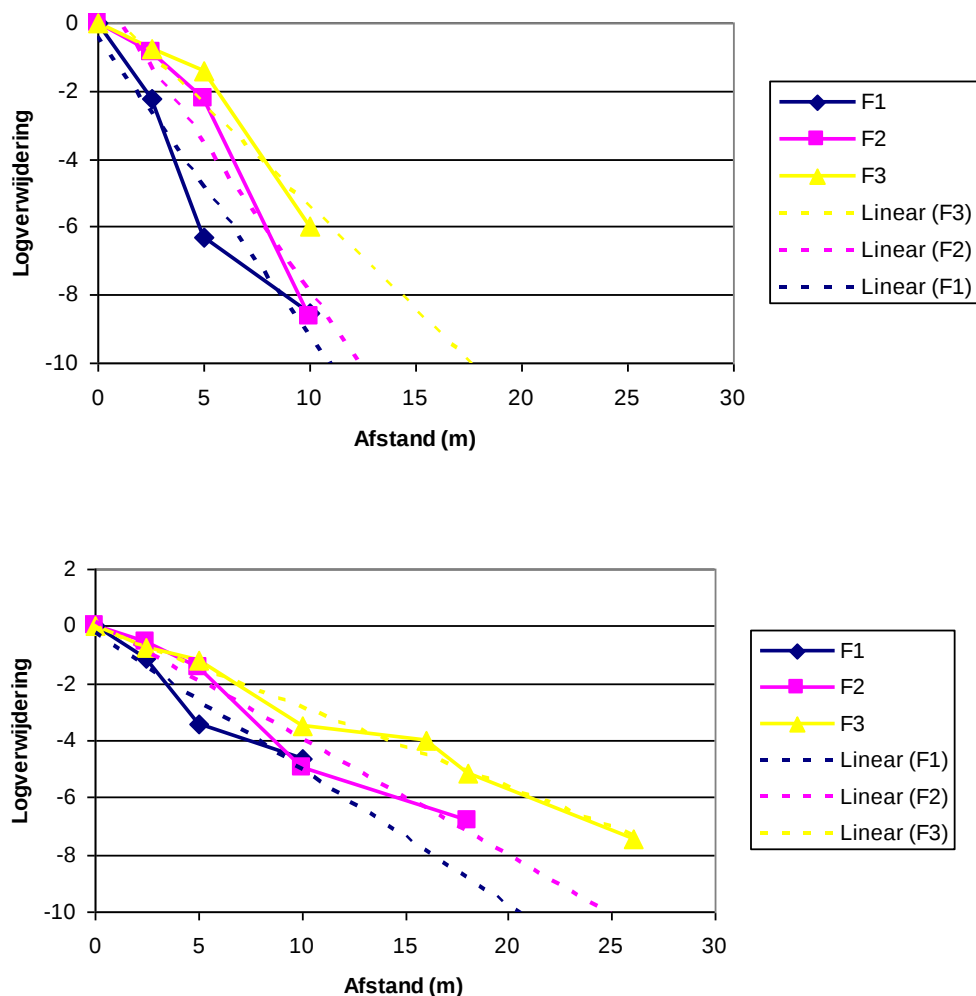
In de onderste laag is de MS2 verwijdering over de eerste 5 meter 1,4 logeenheden, en werd er in de volgende 5 meter 4,5 logeenheden verwijderd. De totale verwijdering over 10 meter bedroeg 6,0 logeenheden. De verwijdering in de eerste 10 meter in de onderste laag is dus 2,6 logeenheden minder dan in de twee lagen erboven. De punten op 16 meter en 18 meter (PD11_3 en PL5_3) laten ook een doorbraakcurve zien, maar hiervan is de maximale doorbraak niet bekend. De punten aan het begin van de doorbraakcurve zijn zeer waarschijnlijk afkomstig van de dalende flank van de doorbraakcurve. Omdat deze punten waarschijnlijk niet de maximale verwijdering weergeven, zijn ze niet afgebeeld in Figuur 3.12.

PRD1 verwijdering

Bij een vergelijking van de verwijdering van MS2 en PRD1 blijkt dat PRD1 onder alle omstandigheden minder goed werd verwijderd dan MS2. Wel zijn voor PRD1 veelal gelijke trends zichtbaar als bij MS2. Zo wordt ook voor PRD1 gevonden dat in de bovenste laag de verwijdering tussen PL2 en PL3 toeneemt, en tussen PL3 en PL4 weer afneemt. In de tweede laag neemt de verwijdering tussen PL3 en PL4 juist toe, net zoals geobserveerd voor MS2. De geochemische eigenschappen van de boorkernen van PL3_2 en PL3_3 bleken nogal af te wijken van de rest van de onderzochte boorkernen. Het is daarom niet uit te sluiten dat de bodem hier minder homogeen is en dat voorkeursstromingen of veranderde geochemische eigenschappen van de bodem de oorzaak zijn van deze waarnemingen.

De verwijdering van PRD1 bedraagt in de eerste 10 meter 4,7, 4,9 en 3,5 logeenheden in respectievelijk de bovenste, middelste en onderste laag. Omdat de verwijdering van PRD1 minder is, kon PRD1 in de 2^e en de 3^e laag na een grotere reisafstand dan MS2 nog worden teruggevonden in de waarnemingsputten. In de bovenste laag is de verwijdering net als voor MS2, na 10 meter gelijk als in de middelste laag. In deze laag werden in de waarnemingsputten op meer dan 10 meter afstand van de doseerput geen PRD1 bacteriofagen meer waargenomen. Dit is opvallend omdat de concentratie bacteriofagen die nog werd waargenomen in PL4_1, nog hoog genoeg was om verder stroomafwaarts in PD11_1 of PL5_1 nog bacteriofagen aan te treffen. Omdat deze punten wel zijn bemonsterd vanaf dag 13 tot en met dag 20, ten tijde van de verwachte maximale doorbraakcurve, maar er geen PRD1 meer is gedetecteerd in PD11_1 of PL5_1, is dit een indicatie dat de verwijdering tussen PL4 en de waarnemingsputten stroomafwaarts hiervan meer is geweest dan 3 log. In de middelste laag is PRD1 teruggevonden in PL5_2 op 18 meter van het doseerpunt. In de onderste laag is PRD1 ook nog gedetecteerd op 26 meter afstand van de doseerput. Op basis van de verwijdering van PRD1 in de onderste laag, lijkt de verwijdering in grote mate lineair te verlopen met de afstand.

Een vergelijking van de verwijdering van MS2 (Fig 3.12 bovenste grafiek) met PRD1 (Fig. 3.12 onderste grafiek) laat zien dat MS2 beter wordt verwijderd dan PRD1. Verder blijkt uit deze figuur dat voor beide bacteriofagen de minste verwijdering wordt waargenomen in de onderste laag. De verwijdering in de bovenste en middelste laag is hoger. Om te bepalen of de verwijdering in de bovenste en middelste laag van elkaar verschilt, wordt een trendline door middel van een "best fit" door de waargenomen datapunten getrokken. De steilheid van de helling is een maat voor de geobserveerde verwijdering over een bepaalde afstand. Figuur 3.13.

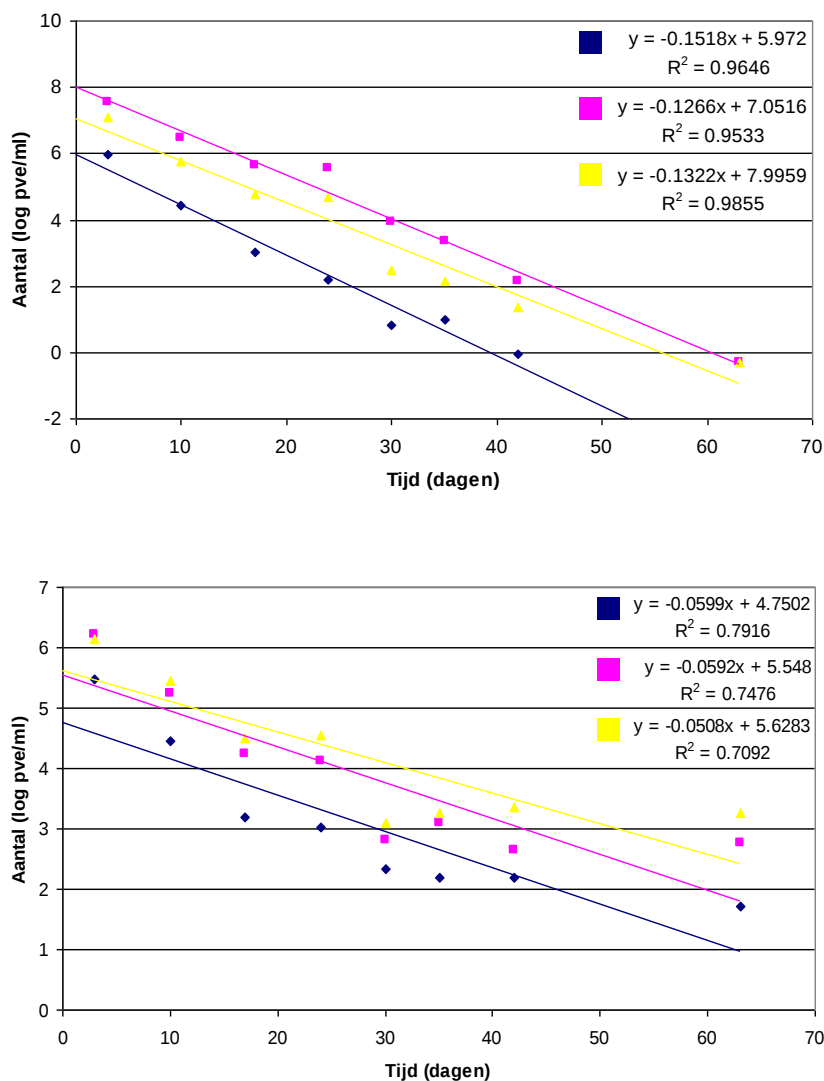


Figuur 3.13. De verwijdering van MS2 (bovenste grafiek) en PRD1 (onderste grafiek) uitgezet tegen de reisafstand voor de bovenste laag (F1), de middelste laag (F2) en de onderste laag (F3). Een trendline laat de hellingshoek zien van de verwijdering van MS2 en PRD1 in de drie lagen.

Uit figuur 3.13 blijkt dat de steilheid van de trendlijn van de bovenste en middelste laag voor MS2 zeer weinig van elkaar verschilt. Ook voor PRD1 laat de trendlijn een bijna gelijke hellingshoek zien. De trendlijn die door de datapunten van de onderste laag gaat loopt minder steil. Op basis van deze trendlijnen kan worden geconcludeerd dat de verwijdering in de bovenste en de middelste laag met ongeveer gelijke snelheid verloopt, terwijl de verwijdering in de onderste laag minder snel verloopt.

3.7 Afsterving van MS2 en PRD1 in grondwater.

De afsterving van MS2 en PRD1 werd bepaald in een grondwatermonster genomen uit PL2_1, PL2_2 en PL2_3 ten tijde van de maximale doorbraak van de bacteriofagen. Op het moment van doseren was temperatuur van het grondwater 14,9 °C. De watermonsters werden daarom bewaard bij 15,0 °C in een incubator. Gedurende een periode van twee maanden werd wekelijks het aantal pve/ml bepaald van MS2 en PRD1.



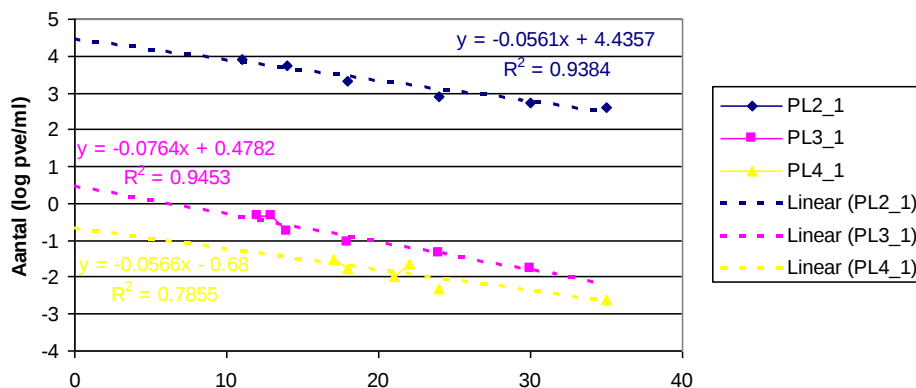
Figuur 3.14 De afsterving van MS2 (bovenste grafiek) en PRD1 (onderste grafiek) in water afkomstig uit PL2_1 (blauwe punten), PL2_2 (roze lijn) en PL2_3 (gele lijn), met door deze punten een lineaire regressielijn. De richtingscoëfficiënt van de regressielijn geeft de inactivatiesnelheid van de bacteriofaag weer.

In figuur 3.14 wordt de afsterving van MS2 en PRD1 weergegeven na incubatie bij een temperatuur van 15°C, gedurende 60 dagen. Op regelmatige tijdstippen werd de hoeveelheid infectieuze bacteriofagen bepaald in dit water. Deze punten zijn weergegeven in de bovenstaande figuur. Lineaire regressie laat zien dat de afsterving van MS2 uitgezet op een log-schaal lineair gecorreleerd is met de tijd (R^2 tussen de 95 en 99%), wat er op duidt dat de afsterving volgens een eerste orde reactie verloopt. Lineaire regressie van PRD1 afsterving laat zien dat afsterving van PRD1 een minder duidelijke correlatie laat zien met de tijd (R^2 tussen de 71 en 79%). De afsterving van PRD1 lijkt minder lineair te verlopen en meer een bifasische inactivatiecurve te vertonen. Een bifasische inactivatiecurve is eerder waargenomen voor Cocksackievirus A9 en B1 (Dizer et al., 1984)

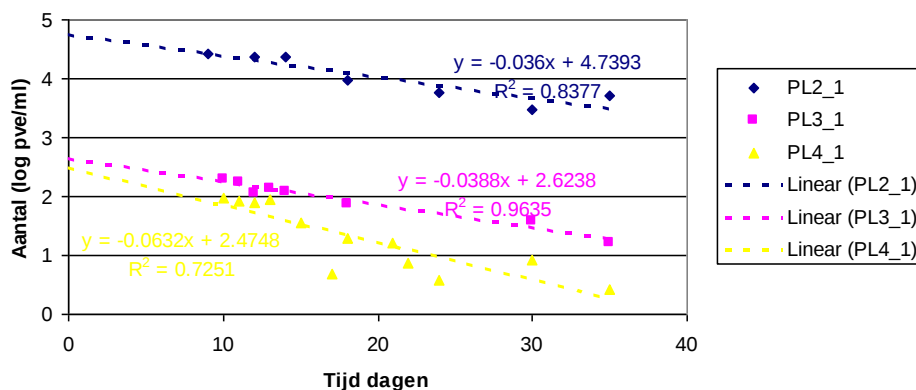
De verschillen in afsterving in water afkomstig van -1,5 m NAP, -2,5 m NAP en -3,5 m NAP zijn gering. De gemiddelde afstervingsconstante voor MS2 bedraagt 0,137 log per dag, en voor PRD1 0,0566 log per dag.

Naast de afsterving van niet gehechte bacteriofagen zoals is gemeten hierboven, kan ook de afsterving worden bepaald van bacteriofagen terwijl ze zijn gehecht aan bodemdeeltjes. Deze afsterving kan worden bepaald uit de helling van de staart van de doorbraakcurve (Schijven, 1999). De staart van de

doorbraakcurve wordt gevormd door bacteriofagen die zijn blijven hechten aan bodemdeeltjes en na verloop van tijd weer loskomen. Wanneer aangenomen wordt dat de kinetiek van loskomen constant is in de tijd, dan is de helling een maat voor de afsterving van bacteriofagen die aan bodemdeeltjes zijn gehecht. De afsterving is bepaald door het bepalen van de hellingshoek van een regressielijn door de datapunten (Fig. 3.15).

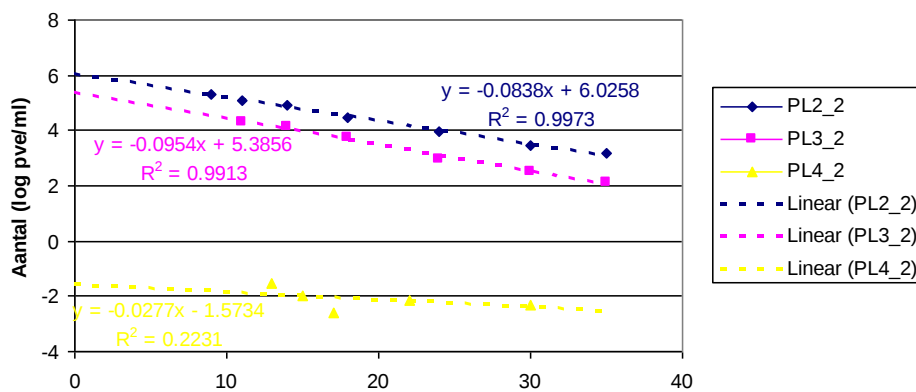


MS2

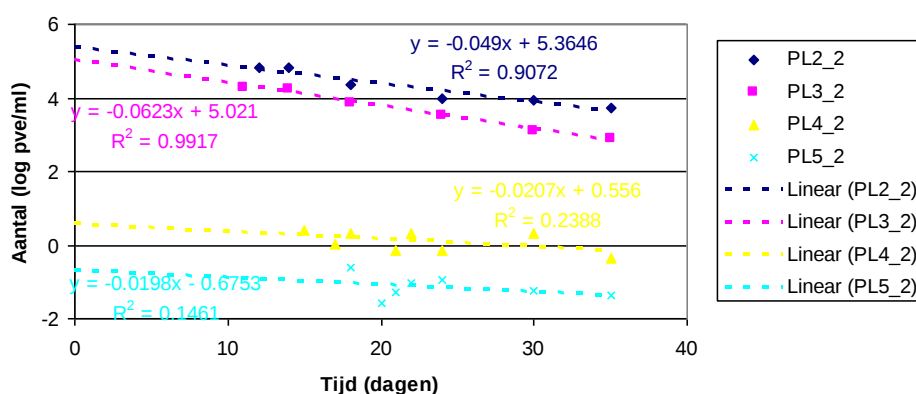


PRD1

Figuur 3.15. De datapunten afkomstig van de staart van de doorbraakcurve van MS2 (bovenste grafiek) en PRD1 (onderste grafiek) in het bovenste filter van waarnemingsput PL2, PL3 en PL4.

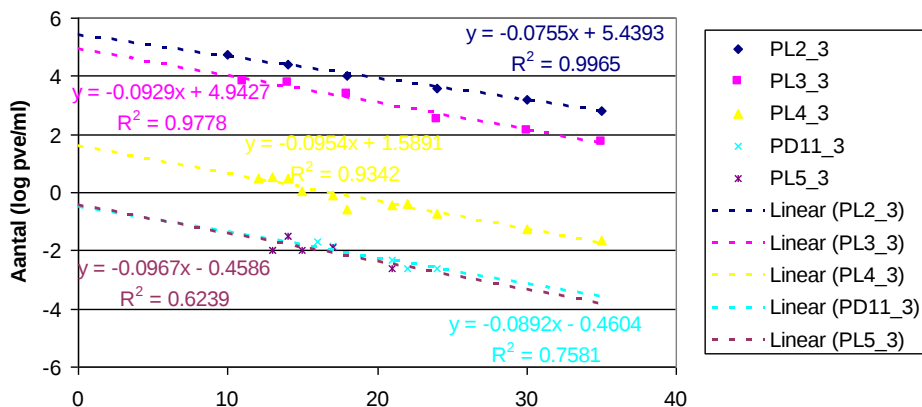


MS2

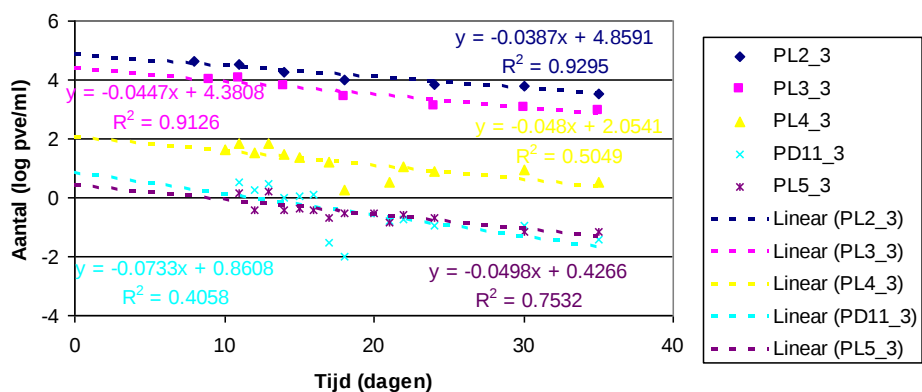


PRD1

Figuur 3.16. De datapunten afkomstig van de staart van de doorbraakcurve van MS2 (bovenste grafiek) en PRD1 (onderste grafiek) in het middelste filter van waarnemingsput PL2, PL3, PL4 en PL5.



MS2



PRD1

Figuur 3.17. De datapunten afkomstig van de staart van de doorbraakcurve van MS2 (bovenste grafiek) en PRD1 (onderste grafiek) in het onderste filter van waarnemingsput PL2, PL3, PL4, PD11 en PL5.

Tabel 3.8. De afstervingsconstanten van MS2 en PRD1 in niet gehechte en in gehechte conditie.

	NIET GEHECHT				GEHECHT			
	MS2	R ²	PRD1	R ²	MS2	R ²	PRD1	R ²
PL2_1	0,152	0,96	0,060	0,79	0,056	0,94	0,036	0,84
PL2_2	0,132	0,99	0,059	0,75	0,084	1,00	0,049	0,91
PL2_3	0,127	0,95	0,051	0,71	0,076	1,00	0,039	0,93
PL3_1					0,076	0,95	0,039	0,96
PL3_2					0,095	0,99	0,062	0,99
PL3_3					0,093	0,98	0,045	0,91
PL4_1					0,057	0,79	0,063	0,73
PL4_2					0,028	0,22	0,021	0,24
PL4_3					0,095	0,94	0,048	0,51
PD11_3					0,089	0,76	0,073	0,41
PL5_2							0,020	0,15
PL5_3					0,097	0,62	0,050	0,75

Uit de inactivatie van de gehechte fagen blijkt dat MS2 net als bij de niet gehechte fagen een log lineaire afsterving laat zien, en dat de afsterving volgens een eerste orde reactie verloopt. Ook PRD1 lijkt in de eerste twee waarnemingsputten PL2 en PL3, een log lineaire afsterving te vertonen. De afsterving is echter gedurende ongeveer 30 dagen gevolgd, terwijl de afsterving van de bacteriofagen in de incubator gedurende 60 dagen is geregistreerd. Uit figuur 3.14 lijkt een overgang naar een langzamere inactivatie plaats te vinden na ongeveer 30 dagen. Bij de veldstudie is de staart van de doorbraakcurve gedurende ongeveer 35 dagen gevolgd. Deze tijd is te kort om een overgang te kunnen registreren naar een eventueel plaatsvindende langzamere inactivatie.

Bij een vergelijk van de afsterving van bacteriofagen die zijn bewaard in de incubator bij 15°C met de afsterving van de gehechte bacteriofagen in de bodem blijkt dat de afsterving tijdens het bewaren in de incubator sneller verliep. De gemiddelde inactivatieconstante van niet gehechte MS2 was 0,1368 log/dag, terwijl voor de gehechte MS2 een gemiddelde inactivatieconstante werd waargenomen 0,0769 log/dag. Dit is bijna een halvering van de inactivatieconstante voor gehechte MS2. Voor PRD1 werd voor de niet gehechte bacteriofagen een gemiddelde inactivatieconstante gevonden van 0,0566 log/dag, en een inactivatieconstante van 0,0454 log/dag voor de gehechte PRD1.

Ten tijde van de start van het doseren van de bacteriofagen, bleek de grondwatertemperatuur een waarde te hebben van 14,9°C. Daarom is ervoor gekozen om de bacteriofagen te incuberen bij 15°C. Gedurende het doseerexperiment met de bacteriofagen bleek de temperatuur te dalen naar 11,8°C drie weken na de start van de dosering. Bacteriofagen die op de dag van de dosering niet zijn gehecht, en dus hebben meegereisd met het grondwater, zullen slechts bloot hebben gestaan aan een zeer kleine temperatuurdaling. Bacteriofagen die door hechting zijn vertraagd in het transport, zijn ingehaald door kouder water. Het effect hiervan is dat in het veldexperiment de gehechte bacteriofagen aan een lagere gemiddelde temperatuur hebben blootgestaan dan de geïncubeerde bacteriofagen. Voor MS2, die meer gevoelig is voor afsterving door een hoge temperatuur, is het verschil in afsterving tussen de geïncubeerde en de gehechte bacteriofagen dan ook groter dan voor PRD1.

3.8 Hechting

De verwijdering van virussen in stromend water door een poreus medium vindt plaats door afsterving en door hechting. Hechting is het resultaat van 2 processen. Het eerste proces beschrijft het transport van het virus naar het oppervlak van het bodemdeeltje, en het 2^e proces beschrijft de interactie tussen het virusdeeltje en het bodemdeeltje.

Deze beide processen worden beschreven door de hechtingscoëfficiënt k_{att} . k_{att} wordt bepaald door hechtingseigenschappen van het virus met de bodemdeeltjes in het watervoerend pakket, en door geohydrologische (stromings en diffusie) parameters.

De hechting kan ook worden bepaald door het berekenen van de botsingsefficiëntie (α), die het aandeel van de botsingen tussen de virusdeeltjes en de bodemdeeltjes dat daadwerkelijk resulteert in hechting beschrijft. Deze botsingen zijn het resultaat van elektrostatische interacties tussen micro-organismen en het poreuze medium waarbij de parameters stroming en diffusie niet worden meegenomen in de berekening. De botsingsefficiëntie kan worden berekend met de colloïd filtratie theorie van Yao (Yao et al 1971), en wordt door de volgende formule beschreven:

$$\alpha = \frac{2}{3} \frac{d_c}{1 - \varepsilon} \frac{k_{att}}{v} \frac{1}{\eta}$$

waarbij α de botsingsefficiëntie is, d_c de korreldiameter, ε de porositeit, k_{att} de hechtingssnelheidscoëfficiënt, v de stroomsnelheid en η de 'single collector efficiency'.

Sindsdien zijn voor het oplossen van de colloïd filtratie berekeningen een aantal semi-empirische correlatie vergelijkingen beschreven, waarbij de correlatievergelijking voor het berekenen van de 'single collector efficiency' beschreven door Tufenkji en Elimelech het beste in overeenstemming lijkt te zijn met experimenteel gevonden gegevens (Tufenkji en Elimelech, 2004).

De 'single collector efficiency' beschrijft de fractie van de virusdeeltjes die in botsing komen met de collector (is het bodemdeeltje). Deze vergelijking heeft als uitgangspunt dat de totale single-collector efficiency de som bedraagt van de individuele transport mechanismen waaraan het (virus)deeltje is blootgesteld (brownse beweging, interceptie en sedimentatie).

De single collector efficiency wordt beschreven door de correlatie vergelijking zoals opgesteld door Tufenkji en Elimelech:

$$\eta_0 = 2,4 A_S^{1/3} N_{Pe}^{-0,715} N_R^{-0,081} N_{vdW}^{0,052} + 0,55 A_S N_R^{1,675} N_A^{0,125} + 0,22 N_R^{-0,24} N_G^{1,11} N_{vdW}^{0,053}$$

Voor het afleiden van deze vergelijking wordt verwezen naar Tufenkji en Elimelech, 2004. Met behulp van de verkregen waarde van de single collector efficiency kan de waarde voor α worden berekend met:

$$\alpha = -\frac{2}{3} \frac{d_c}{(1-\varepsilon)L\eta_0} \ln(C/C_0)$$

waarbij α de botsingsefficiëntie is, d_c de korreldiameter, ε de porositeit, L de lengte van de kolom (of de afgelegde afstand), η_0 de 'single collector efficiency'. C is het aantal infectieuze bacteriofagen tijdens maximale doorbraak, en C_0 is het aantal infectieuze bacteriofagen ten tijde van de dosering. Met behulp van beide bovenstaande vergelijkingen zijn de α en η waarden bepaald voor het transport van MS2 en PRD1 van de doseerput naar de waarnemingsputten. Hierbij zijn de volgende waarden voor de parameters in de formules gebruikt:

Tabel 3.9. De waarden van de parameters die worden gebruikt in de berekeningen

Korreldiameter bovenste laag	d_c	289 μm	
Korreldiameter middelste laag	d_c	251 μm	
Korreldiameter bovenste laag	d_c	246 μm	
Porositeit	ε	0,38	
Stroomsnelheid bovenste laag	v	1,4 m/dag	
Stroomsnelheid middelste laag	v	1,3 m/dag	
Stroomsnelheid bovenste laag	v	3,9 m/dag	
Dichtheid virusdeeltjes	ρ_P	1460 kg/m ³	
Dichtheid water	ρ_f	999,703 kg/m ³	
Dynamische viscositeit	μ	$1,20 \times 10^{-3}$ kg/m/s	
Temperatuur	T	288°K	
Hamaker constante	A	$4,0 \times 10^{-21}$ J	
Virusgrootte MS2	d_P	25 nm	
Virusgrootte PRD1	d_P	64 nm	

	Afstand (m)	C/C_0 MS2	C/C_0 PRD1
PI2_1	2,5	$5,69 \times 10^{-3}$	$7,30 \times 10^{-2}$
PI2_2	2,5	$1,36 \times 10^{-1}$	$2,65 \times 10^{-1}$
PI2_3	2,5	$1,74 \times 10^{-1}$	$1,80 \times 10^{-1}$
PI3_1	5	$5,17 \times 10^{-7}$	$3,82 \times 10^{-4}$
PI3_2	5	$5,69 \times 10^{-3}$	$3,75 \times 10^{-2}$
PI3_3	5	$3,87 \times 10^{-2}$	$6,18 \times 10^{-2}$
PI4_1	10	$2,80 \times 10^{-9}$	$1,14 \times 10^{-4}$
PI4_2	10	$2,36 \times 10^{-9}$	$1,12 \times 10^{-5}$
PI4_3	10	$1,11 \times 10^{-6}$	$3,10 \times 10^{-4}$
PD11_3	16		$1,06 \times 10^{-4}$

Tabel 3.10. De met de bovenstaande formules berekende waarden voor α en η .

	MS2			PRD1		
	α	η	k_{att}	α	η	k_{att}
PI2_1	$2,28 \times 10^{-3}$	0,282	2,90	$2,44 \times 10^{-3}$	0,134	1,46
PI2_2	$6,63 \times 10^{-4}$	0,325	1,04	$9,32 \times 10^{-4}$	0,154	0,69
PI2_3	$1,24 \times 10^{-3}$	0,150	2,73	$2,56 \times 10^{-3}$	0,071	2,67
PI3_1	$3,19 \times 10^{-3}$	0,282	4,05	$3,66 \times 10^{-3}$	0,134	2,20
PI3_2	$8,58 \times 10^{-4}$	0,325	1,34	$1,15 \times 10^{-3}$	0,154	0,85
PI3_3	$1,15 \times 10^{-3}$	0,150	2,53	$2,08 \times 10^{-3}$	0,071	2,17
PI4_1	$2,17 \times 10^{-3}$	0,282	2,75	$2,11 \times 10^{-3}$	0,134	1,27
PI4_2	$1,65 \times 10^{-3}$	0,325	2,58	$2,00 \times 10^{-3}$	0,154	1,48
PI4_3	$2,42 \times 10^{-3}$	0,150	5,34	$3,02 \times 10^{-3}$	0,071	3,15
PD11_3				$2,14 \times 10^{-3}$	0,071	2,23

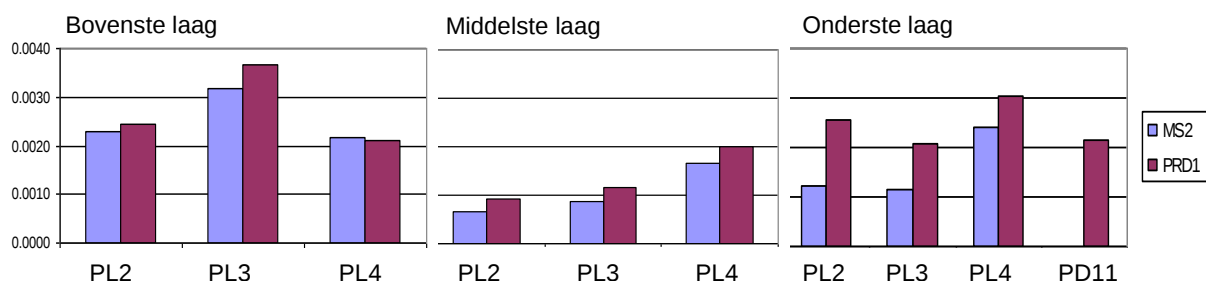
Met de berekende waarden voor α en η kan K_{att} worden berekend met de formule:

$$k_{att} = \frac{3(1-\varepsilon)v}{2d_c} \eta \alpha$$

De op deze wijze berekende waarden voor K_{att} staan in tabel 3.10.

Voor het berekenen van de η waarde zijn onder andere de korrelgrootte, de stroomsnelheid en de grootte van het virusdeeltje van belang. De korrelgrootte en stroomsnelheid zijn verschillend voor elk van de drie lagen. Tussen de bovenste en de middelste laag is het verschil in stroomsnelheid en in de gemiddelde korreldiameter klein, en daardoor verschillen de waarden voor η weinig. Tussen de onderste en de middelste laag is het verschil in korreldiameter te verwaarlozen, maar is de stroomsnelheid in de onderste laag meer dan 2 keer zo hoog. Hierdoor halveert de waarde van η ongeveer. De stroomsnelheid is dus een belangrijke factor voor de 'single collector efficiency'. Daarnaast is de grootte van het virusdeeltje van belang. De grootte van PRD1 is meer dan het dubbele van MS2 zodat de waarde van η verder afneemt.

Voor het berekenen van α is naast de waarde van η ook de korreldiameter (d_c), de porositeit (ε), de afgelegde afstand (L) en C/C_0 van belang. In figuur 3.18 zijn de berekende waarden van α uitgezet voor MS2 en PRD1 afgeleid van de doorbraakcurves van waarnemingsputten PL2, PL3 en PL4.



Figuur 3.18 De waarde van α voor MS2 en PRD1 in de bovenste, middelste en onderste laag.

Uit de bovenstaande figuur blijkt dat de botsingsefficiëntie in de bovenste laag varieert tussen de punten PL2, PL3 en PL4. De verwijdering in deze bovenste laag varieert echter ook, en is maximaal tussen PL2

en PL3. De verwijdering tussen de punten PL2, PL3 en PL4 is niet gelijk, en dat blijkt ook uit de waarden voor de botsingsefficiëntie.

Bij de middelste laag wordt de grootste verwijdering gevonden in het traject tussen PL3 en PL4, en in dat traject is de botsingsefficiëntie ook het hoogst. De botsingsefficiëntie in de middelste laag is kleiner dan in de bovenste laag. Omdat de stroomsnelheid in de middelste en bovenste laag nagenoeg gelijk zijn, en deze lagen ook verder weinig van elkaar verschillen, zou het kunnen zijn dat de lagere botsingsefficiëntie het gevolg is van de lagere zuurstofconcentratie in deze laag.

In de onderste laag nam de verwijdering ook toe in het traject tussen PL3 en PL4. Dit resulteert ook in de onderste laag in een toename van de botsingsefficiëntie in dit traject. Verder verschilt de botsingsefficiëntie van PRD1 en MS2 niet heel veel van elkaar in de bovenste en middelste laag. In de onderste laag is het verschil groter, waardoor geconcludeerd kan worden dat een verhoging van de stroomsnelheid resulteert in een hogere botsingsefficiëntie voor virusdeeltjes met een grotere diameter. De gevonden botsingsefficiënties zijn vergelijkbaar met de gevonden botsingsefficiënties voor MS2 en PRD1 in de veldstudie bij Castricum (Schijven et al, 1999).

3.9 Hechting en afsterving van MS2 en PRD1 tijdens de veldstudie.

In tabel 3.8 is de gevonden afname van MS2 en PRD1 voor elk waarnemingsfilter weergegeven. Dit kan worden gecombineerd met de gegevens van tabel 3.7 waarin de gevonden tijden zijn weergegeven vanaf dosering tot het tijdstip van maximale doorbraak.

Met behulp van de reistijd en de gemeten inactivatiesnelheid van de bacteriofagen kan het aandeel bacteriofagen worden bepaald dat is "verwijderd" door afsterving. Deze zullen immers geen plaques meer vormen tijdens de microbiologische analyse. Deze gegevens zijn weergegeven in tabel 3.9A voor MS2 en Tabel 3.9B voor PRD1.

Tabel 3.9A . Het aandeel afsterving en het aandeel hechting in de verwijdering van MS2.

	Afstand vanaf doseerpunt (m)	Afname MS2 log pve/ml	Tijd tot maximale doorbraak (dagen)	Afsterving (lab cond)	Hechting
PL2_1	2,5	2,24	3	0,41	1,83
PL2_2 (fit)	2,5	0,87	4	0,55	0,32
PL2_3	2,5	0,76	2	0,27	0,49
PL3_1	5	6,29	6	0,82	5,47
PL3_2	5	2,24	7	0,96	1,28
PL3_3	5	1,41	2	0,27	1,14
PL4_1	10	8,55	10	1,37	7,18
PL4_2	10	8,62	9	1,23	7,39
PL4_3	10	5,96	5	0,68	5,28

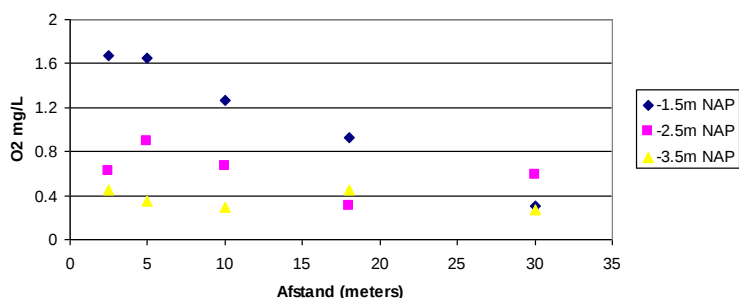
Tabel 3.9B . Het aandeel afsterving en het aandeel hechting in de verwijdering van PRD1.

	Afstand vanaf doseerpunt (m)	Afname PRD1 log pve/ml	Tijd tot maximale doorbraak (dagen)	Afsterving (lab cond) log pve/ml	Hechting log pve/ml
PL2_1	2,5	1,13	4	0,23	0,9
PL2_2 (fit)	2,5	0,58	4	0,23	0,35
PL2_3	2,5	0,75	2	0,11	0,64
PL3_1	5	3,42	6	0,34	3,08
PL3_2	5	1,43	6	0,34	1,09
PL3_3	5	1,21	4	0,23	0,98
PL4_1	10	3,94	9	0,51	3,43
PL4_2	10	4,95	10	0,57	4,38
PL4_3	10	3,51	5	0,28	3,23
PD11_3	16	3,97	7	0,40	3,57
PL5_2	18	6,83	18	1,02	5,81
PL5_3	18	5,13	7	0,40	4,73
PD9_3	26	7,45	11	0,62	6,83

De reistijden variëren van 2 tot 18 dagen. Vanwege deze betrekkelijk korte reistijden is het aandeel in de verwijdering door afsterving gering. Het grootste aandeel van de verwijdering kan worden toegekend aan de hechting van de bacteriofagen aan de bodem. De hechting is in de onderste laag (-3,5 m NAP) het geringst.

3.10 De zuurstofconcentraties in het grondwater op -1,5 -2,5 en -3,5 m NAP.

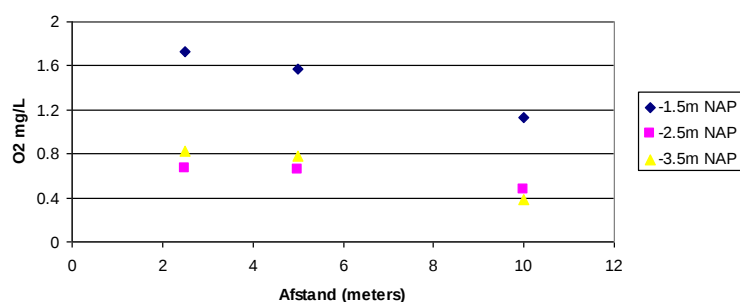
De doseerput en waarnemingsputten zijn geplaatst in het midden tussen Geul 6 en het Westerkanaal. Voorafgaand aan het experiment was de zuurstofconcentratie ter plaatse van de meetraai niet bekend, en werd het zuurstofverloop geschat op basis van de zuurstofmetingen van 22 maart 2011 in waarnemingsputten 10J536 en 10J537. Omdat het op basis van deze zuurstofmetingen niet mogelijk was een voldoende exact beeld te krijgen van de zuurstofconcentraties op verschillende dieptes in het gebied waar de meetraai zou worden geplaatst, is besloten om filters te installeren op drie verschillende dieptes om hiermee de kans te vergroten dat het experiment uitgevoerd kan worden onder de gewenste experimentele condities van minder dan 1 mg/L O₂ en meer dan 0,5 mg/L NO₃. Naast de onbekende zuurstofconcentratie op de drie verschillende dieptes van -1,5, -2,5 en -3,5 meter NAP, was er ook geen informatie voorhanden over eventuele variatie in de zuurstofconcentratie gedurende het jaar. Nadat de meetraai was geïnstalleerd in september, is een maand gewacht met metingen om afwijkingen in de zuurstofconcentratie als gevolg van eventuele verstoring van de bodem door de booractiviteiten te verminderen. Daarna is op 10 oktober de zuurstofconcentratie gemeten in waarnemingsput PL2 t/m PL6 (Fig. 3.18).



Figuur 3.18. De zuurstofconcentratie in PL2 (2,5m), PL3 (5m), PL4 (10m), PL5 (18m), en PL6 (30m) , gemeten in de drie filters van elke peilbuis op 10-10-2011.

Uit de meting van 10 oktober bleek dat de zuurstofconcentratie in de bovenste laag op -1,5 m NAP in PL2 1,6 mg/L bedroeg. Vanaf PL3 nam de zuurstofconcentratie af naar ongeveer 0,4 mg/L in PL6. De zuurstofconcentraties van de 2^e laag en de 3^e laag bleken zich allemaal te bevinden onder de 1,0 mg/L. Deze lagen voldeden beide aan de voorwaarde van minder dan 1,0 mg/L O₂.

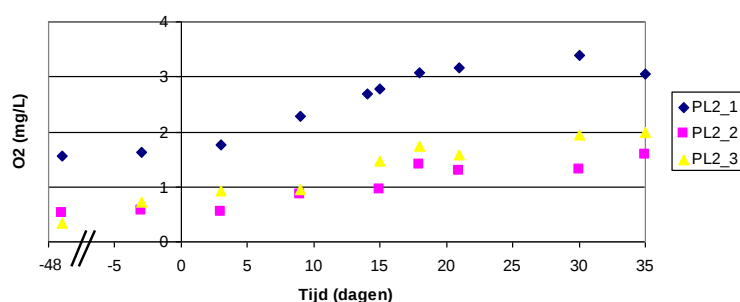
Vervolgens is voorafgaand aan de dosering van de bacteriofagen een nieuwe serie zuurstofmetingen begonnen om de zuurstofconcentratie tijdens het transport van de bacteriofagen te registreren. De eerste meting is gedaan op 26 november, 2 dagen voorafgaand aan de start van de dosering. De zuurstofconcentratie is gemeten in PL2 (2,5m), PL3 (5m) en PL4 (10m).



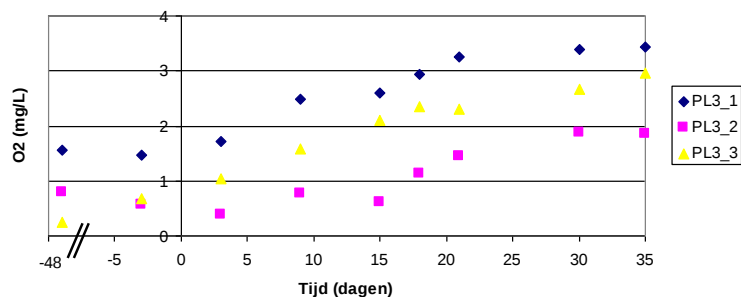
Figuur 3.19. De zuurstofconcentratie in PL2 (2,5m) , PL3 (5m) , PL4 (10m) , gemeten in de drie filters van elke peilbuis op 26-11-2011. .

Uit de metingen van 26 november bleek dat de zuurstofconcentratie in de bovenste en de middelste laag vrijwel gelijk waren aan de eerdere metingen uitgevoerd op 10 oktober. De zuurstofconcentratie in de onderste laag was voor PL2 en PL3 iets hoger dan eerder gemeten op 10 oktober, en is nu gelijk aan de zuurstofconcentratie van de middelste laag. Op punt PL4 is de zuurstofconcentratie gelijk aan de eerder waargenomen waarde op 10 oktober.

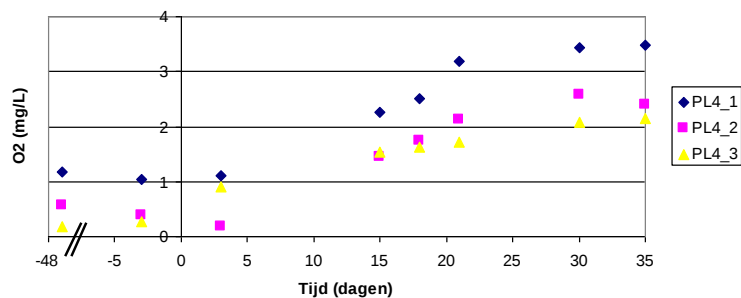
Vervolgens zijn op regelmatige basis zuurstofmetingen uitgevoerd in PL2 t/m PL6 in de periode nadat de virussen waren gedoseerd. De metingen van PL2 t/m 6 zijn voor en tijdens het virusexperiment weergegeven in figuur 3.20 t/m figuur 3.24.



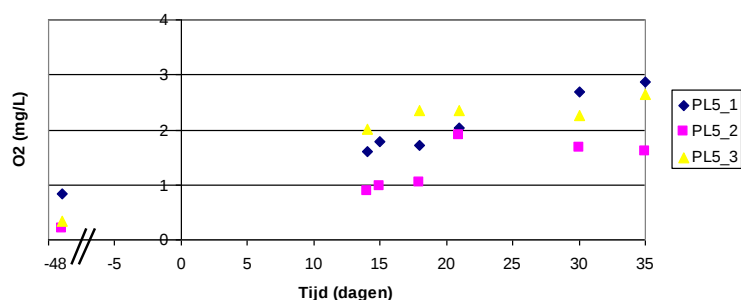
Figuur 3.20. De zuurstofconcentratie gemeten in PL2 in filter 1, 2 en 3. Op dag 0 heeft de dosering van de bacteriofagen plaatsgevonden. Dag -48 geeft de eerste zuurstofmeting aan in de meetraai op 10-10-2011.



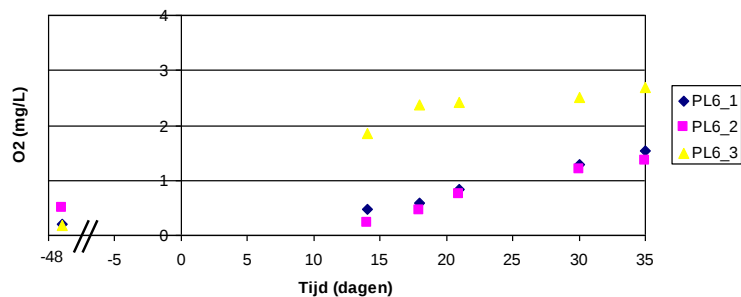
Figuur 3.21. De zuurstofconcentratie gemeten in PL3 in filter 1, 2 en 3.



Figuur 3.22. De zuurstofconcentratie gemeten in PL4 in filter 1, 2 en 3.



Figuur 3.23. De zuurstofconcentratie gemeten in PL5 in filter 1, 2 en 3.



Figuur 3.24. De zuurstofconcentratie gemeten in PL6 in filter 1, 2 en 3.

Uit de zuurstofmetingen blijkt dat op het tijdstip tussen dag 3 en dag 9 na het doseren van de bacteriofagen de zuurstofconcentratie in PL2 begint te stijgen. Voor de onderste laag was deze stijging vermoedelijk al begonnen voor de dag van dosering, omdat in vergelijking met de metingen van 10 oktober deze laag al een licht verhoogde zuurstofconcentratie liet zien. De hogere stroomsnelheid in deze laag is vermoedelijk de reden dat hier de stijging van de zuurstofconcentratie al eerder was begonnen. Ook in de peilbuizen na PL2 begint de zuurstofconcentratie toe te nemen, echter een aantal dagen later dan in PL2.

De dosering van de bacteriofagen is begonnen vlak voordat de zuurstofconcentratie van het watervoerende pakket in alle drie de lagen begon te stijgen. De stijging is waarschijnlijk het gevolg van twee factoren, die veroorzaakt worden door seizoensinvloeden. Door de daling van de temperatuur kan het oppervlaktewater meer zuurstof bevatten. Het infiltratiewater bevat daarom een hogere concentratie zuurstof dan in de zomer. Daarnaast speelt de bacterielaag die zich bevindt op de bodem van het infiltratiepand een rol. Deze laag, de “schmutzdecke” heeft veel microbiologische activiteit, waardoor passage van water door een schmutzdecke resulteert in een flinke vermindering van de hoeveelheid zuurstof. Bij een lage temperatuur zijn de bacteriën in de schmutzdecke veel minder actief, en zal het water na passage minder zuurstof zijn kwijtgeraakt. Door de hogere zuurstofconcentratie en de lagere activiteit van de schmutzdecke bevat het water in de zomer na intrede in de bodem veel minder zuurstof dan wanneer intrede in de winter plaatsvindt. Daarnaast zullen, door de lagere temperatuur van de bodem, biologische processen in de bodem trager verlopen. Tijdens het transport door de bodem wordt dus ook minder zuurstof verbruikt. Een gevolg van deze processen is dat het zuurstofniveau in het watervoerend pakket stijgt. Omdat er voorafgaand aan de plaatsing van de meetraai in september er geen gegevens waren over de zuurstofconcentraties en eventuele seizoensdynamiek, was het vooraf niet mogelijk om een schatting te maken van de te verwachten zuurstofschommelingen gedurende het jaar.

De invloed van de toenemende zuurstofconcentratie op de verwijdering van MS2 en PRD1.

Door de doorbraakcurves uit te zetten tegen de zuurstofconcentraties in de meetraai, is het mogelijk om de zuurstofconcentratie te bepalen ten tijde van de maximale doorbraak van de bacteriofagen (Tabel 3.10).

Tabel 3.10 De zuurstofconcentratie in de waarnemingsfilters ten tijde van de maximale doorbraak van MS2 en PRD1.

	Afstand	Tijd tot maximale doorbraak		Conc O ₂
	(m)	MS2 (dagen)	PRD1 (dagen)	mg/L
PL2_1	2,5	3	4	1,8
PL2_2	2,5	4	4	0,6
PL2_3	2,5	2	2	0,9
PL3_1	5	6	6	2,1
PL3_2	5	7	6	0,6
PL3_3	5	2	4	1,1
PL4_1	10	10	9	2,0
PL4_2	10	9	10	0,9
PL4_3	10	5	5	1,1
PD11_1	16	-	-	
PD11_2	16	-	-	
PD11_3	16	9 (7)	7	
PL5_1	18	-	-	
PL5_2	18	-	18	1,1
PL5_3	18	9 (7)	7	
PD9_1	26	-	-	
PD9_2	26	-	-	
PD9_3	26	-	11	

De zuurstofconcentraties in het water ten tijde van de maximale doorbraak waren niet afwijkend van de waarden zoals gemeten voor aanvang van de doseerproef. De concentratie zuurstof ten tijde van de maximale doorbraak in de bovenste laag was rond de 2 mg/L in de waarnemingsputten PL2 t/m PL4. In de middelste laag varieerde de zuurstofconcentratie tussen de 0,6 en 0,9 mg/L O₂ in PL2 t/m PL4. In de onderste laag varieerde de zuurstofconcentratie tussen de 0,9 en 1,0 mg/L in PL2 t/m PL4. Kort nadat de maximale doorbraak is geregistreerd zal water passeren waarvan geleidelijk de zuurstofconcentratie zal

toenemen. Gehechte bacteriofagen zullen dus wel worden “ingehaald” door water met een langzaam toenemende concentratie zuurstof.

Het water afkomstig van dispersiewaarnemingsput PD11 is niet onderzocht op zuurstofconcentratie, omdat deze waarnemingsput niet was aangesloten op het monstersysteem met tappunten bij het Westerkanaal.

In PL5-3 zijn geen zuurstofmetingen uitgevoerd ten tijde van de maximale doorbraak van PRD1. De maximale doorbraak in PL5_3 werd geregistreerd na 7 dagen. Op basis van de informatie van PL4_3 kan een schatting worden gedaan naar de zuurstofconcentratie in PL5_3 op dat moment. De concentratie in PL4_3 bedroeg na 5 dagen 1,1 mg/L O₂. Bij een reissnelheid van 3,3 m/dag (afgeleid van NaCl doseerproef 1), zal dit water na 2,4 dagen PL5_3 hebben bereikt. Ervan uitgaande dat het water in het traject van PL4_3 naar PL5_3 geen zuurstof verliest, zal de zuurstofconcentratie op dag 7 gelijk zijn aan de zuurstofconcentratie van PL4_3.

Omdat de maximale doorbraak van PRD1 na 7 dagen werd geregistreerd zal de zuurstofconcentratie van het water van PL5_3 ten tijde van de maximale doorbraak ongeveer 1 mg/l bedragen.

Invloed van zuurstof op gehechte bacteriofagen.

Uit de bovenstaande informatie blijkt dat de zuurstofconcentratie van het water langzaam toeneemt kort nadat de maximale doorbraak van de bacteriofagen werd waargenomen in de waarnemingsputten. De stijgende zuurstofconcentratie is dus niet van invloed op het grootste deel van de reizende bacteriofagen, maar gehechte bacteriofagen zullen wel worden blootgesteld aan een langzaam toenemende concentratie zuurstof in het omringende water. De invloed van zuurstof op een al gehechte bacteriofaag is niet bekend. Het effect van zuurstof op de hechting van bacteriofagen wordt onder andere toegekend aan het oxideren van metalen in de bodem naar de positief geladen metaalhydroxide vorm. De positief geladen metaalhydroxiden kunnen dienen als een bindingsplaats voor de negatief geladen virussen. Indien de zuurstofconcentratie in het water toeneemt, zal het aantal positief geladen metaalhydroxiden toenemen, en op deze wijze resulteren in het toenemen van het aantal bindingsplaatsen in de bodem.

De hechting van bacteriofagen aan bodemdeeltjes is reversibel, waarbij gehechte bacteriofagen na verloop van tijd weer losraken en later weer een hechtingsplaats vinden. Het hechten van bacteriofagen is een elektrostatisch proces, waarbij de ionensamenstelling en concentratie in het water een belangrijke invloed uitoefenen op de mate van hechting van de bacteriofagen. Of de hoeveelheid zuurstof een effect heeft op de electrostatische binding van al gebonden bacteriofagen met bodemdeeltjes is niet bekend. Het is dus niet bekend of het langzaam toenemen van de zuurstofconcentratie een invloed heeft op de sterkte van de binding van al gehechte bacteriofagen.

Het is wel te verwachten dat bacteriofagen die na hechting hebben losgelaten, door het toenemende zuurstof, en daardoor de vorming van metaalhydroxiden, sneller een nieuwe hechtingsplaats zullen vinden. Het zou daarom kunnen dat gehechte bacteriofagen door de toenemende zuurstofconcentratie meer worden vertraagd.

Conclusie

Op basis van geregelde zuurstofmetingen in de filters van de waarnemingsputten van de meetraai kon voor de tijd van september tot en met december 2011 een beeld worden gevormd van de zuurstofconcentraties in de bodem. De zuurstofconcentraties variëren enigszins, en worden vermoedelijk vooral beïnvloedt door de temperatuur van het ingaande water. Vanaf begin december begonnen de zuurstofconcentraties in het water rondom de meetraai langzaam begonnen te stijgen.

Met behulp van de doorbraakcurves en de zuurstofmetingen is gereconstrueerd welke zuurstofconcentratie het water bevatte ten tijde van de maximale doorbraakcurve. Voor de bovenste laag varieerde de zuurstofconcentratie van 1,8 tot 2,1 mg/L O₂ in PL2 t/m PL4. De zuurstofconcentratie in de middelste laag varieerde tussen de 0,6 en 0,9 mg/L O₂, en in de onderste laag tussen de 0,9 en 1,1 mg/L O₂ in PL2 t/m PL4. De experimenten zijn dus uitgevoerd onder verschillende suboxische condities met zuurstofconcentraties onder, rond en iets boven de 1,0 mg/L O₂.

4 Vertaling van de resultaten naar de lengte van de microbiologische verwijderingszone

4.1 De microbiologische veiligheidszone rondom winningen

In een eerdere studie; “De microbiologische veiligheid van de 60-dagenzone rond grondwaterwinningen” (BTO 2008.004, van de Wielen et al) is een inventarisatie uitgevoerd naar de belangrijkste bedreigingen voor de 60-dagen zone. In deze studie werden lekkende riolen, fecaal verontreinigd oppervlaktewater, en lekkende voorzieningen voor de opslag van dierlijke mest als belangrijkste microbiële bedreigingen gezien voor grondwater.

Van de bovenstaande verontreinigingen bevat dierlijke mest de laagste concentratie aan humaan pathogene virussen. Oppervlaktewater en rioolwater kunnen hoge concentraties humaan pathogene micro-organismen bevatten, en deze lijken dan ook de grootste bedreiging te vormen voor grondwaterwinningen. Hierbij zijn met name de concentraties virussen van belang omdat uit eerder onderzoek is vastgesteld dat virussen zeer mobiel kunnen zijn in de bodem en dus relatief gemakkelijk grote afstanden kunnen afleggen. De afstand van de verontreiniging tot aan de grondwaterwinning kan dus door virussen het gemakkelijkst worden overbrugd.

In een studie van het RIVM is bepaald in welke hoeveelheden voor de mens ziekteverwekkende virussen voor kunnen komen in oppervlaktewater en in rioolwater (Tabel 4.1). De aantallen norovirus en rotavirus zijn weergegeven in PCR detecteerbare eenheden. Deze methode detecteert het aantal virusdeeltjes, maar is niet in staat te bepalen of de virusdeeltjes infectieus zijn. Het aantal infectieuze noro- en rotavirusdeeltjes zal dus lager zijn.

Tabel 4.1 Aantallen humaan pathogene virussen in oppervlaktewater en in rioolwater (Lodder en de Roda Husman, 2005).

Watertype	Enterovirus pve/l	Reovirus pve/l	Norovirus pde/l ^a	Rotavirus pde/l ^a
Oppervlaktewater	2	10	4900	5386
Rioolwater	833	2143	$8,5 \times 10^5$	$5,5 \times 10^4$

^a Aantal PCR detecteerbare eenheden.

Het Nederlandse Drinkwaterbesluit hanteert een infectierisico van 10^{-4} per persoon per jaar als acceptabel. Om dit infectierisico niet te overschrijden mag het aantal virussen in het drinkwater niet meer dan 1.2×10^{-6} pve per liter bedragen (de Roda Husman et al, 2004). Omdat in de meeste grondwaterzuiveringen niet in een desinfectiestap is voorzien (zoals bijv. UV desinfectie), is de verwijdering van virussen tijdens de zuivering gering of nihil. De concentratie van 1.2×10^{-6} pve per liter is dus de waarde aan waar het grondwater aan zal moeten voldoen op het moment dat de winput bereikt, er van uitgaande dat het water van de winput niet wordt verdund door andere winputten in een puttenveld.

Om te kunnen bepalen hoeveel verwijdering moet worden bewerkstelligd door bodempassage, wordt van een situatie uitgegaan waarbij een lekkend riool een mogelijke bedreiging vormt voor de waterwinning. Hierbij wordt de aanname gedaan dat een lekkend riool een lekdebiet heeft van ongeveer 1 m^3 per dag, en dat het aantal norovirussen in het rioolwater $8,5 \times 10^5$ pde/l bedraagt, waarbij de conservatieve aanname geldt dat alle norovirussen infectieus zijn. Voor de waterwinning wordt

uitgegaan van een onttrekkingsdebiet van 1000 m³ per dag. Hierdoor wordt door verdunning de concentratie norovirussen verlaagd met een factor 1000 tot $8,5 \times 10^2$ pde/l. Om aan het infectierisico te kunnen voldoen van 10^{-4} betekent dit dat de vermindering van $8,5 \times 10^2$ pde/l naar $1,2 \times 10^{-6}$ pde/l bewerkstelligd zal moeten worden door verwijdering door bodempassage. Dit is een logverwijdering van ruim 8 log tijdens 60 dagen transport.

4.2 Verwijdering van MS2 en PRD1 onder suboxische condities, de resultaten van deze studie

In deze studie is de verwijdering bepaald van de bacteriofagen MS2 en PRD1. De verwijdering is een combinatie van hechting en afsterving van de bacteriofaag.

Van zowel MS2 als PRD1 is in eerdere studies geconstateerd dat deze bacteriofagen relatief weinig aan de bodem hechten in vergelijking met de meeste pathogene virussen, en daardoor minder goed worden verwijderd dan de pathogene virussen. Door het conservatief hechtingsgedrag zijn het veilige surrogaten voor de pathogene virussen. Deze zullen met de tot nu toe bekende gegevens beter worden verwijderd dan de surrogaatvirussen MS2 en PRD1.

Van een aantal humaan pathogene virussen is de inactivatieconstante bekend. Daaruit blijkt dat deze virussen veelal sneller afsterven dan MS2 en PRD1 (Blanc en Nasser, 1996, Keswick et al, 1982, Nasser et al, 1993, Nasser et al, 1997, Yates, 1985, Yates 1990). Ook de inactivatie van MS2 en met name PRD1 gaat dus langzamer dan de humaan pathogene virussen.

Op basis hiervan mag worden verondersteld dat de twee bacteriofagen door de relatief slechte hechting en geringe afsterving een conservatieve maat zijn voor de virusverwijdering van humaan pathogene virussen. Tot op heden is een humaan pathogeen virus met slechtere hechting en minder inactivatie dan de surrogaatvirussen niet beschreven in de literatuur.

In deze studie zijn de verwijderingen van MS2 en PRD1 bepaald onder suboxische condities. Naast de verwijdering is ook de afsterving bepaald waardoor het mogelijk is om de totale verwijdering te verdelen in het deel afsterving en een deel hechting (Tabel 4.2).

Tabel 4.2. De verwijdering van MS2 en PRD1 in de drie verschillende lagen, waarbij het onderscheid is gemaakt tussen verwijdering door hechting en verwijdering door afsterving.

MS2						
Bodemlaag	O ₂ mg/l	afstand m	reistijd d	verwijdering log pve/l	hechting log pve/l	afsterving log pve/l
-1,5 m NAP	2,0	10	10	8,6	7,2	1,4
-2,5 m NAP	0,9	10	9	8,6	7,4	1,2
-3,5 m NAP	1,0	10	5	6,0	5,3	0,7
PRD1						
Bodemlaag	O ₂ mg/l	afstand m	reistijd d	verwijdering log pve/l	hechting log pve/l	afsterving log pve/l
-1,5 m NAP	2,0	10	9	3,9	3,4	0,5
-2,5 m NAP	0,9	10	10	5,0	4,4	0,6
-3,5 m NAP	1,0	10	5	3,5	3,2	0,3
-2,5 m NAP	0,9	18	18	6,8	5,8	1,0
-3,5 m NAP	1,0	26	11	7,5	6,8	0,6

Uit de bovenstaande gegevens blijkt dat in deze bodem onder suboxische condities hechting de belangrijkste oorzaak is voor de verwijdering van virussen. De minste verwijdering in deze studie werd gevonden voor de verwijdering van PRD1 in de onderste laag. Op 10 meter afstand met een reistijd van 5 dagen bedroeg de verwijdering 3,5 logeenheden, waarvan 3,2 logeenheden door hechting waren verwijderd. Op 26 meter was de verwijdering van PRD1 in de onderste laag 7,5 logeenheden, waarvan 6,8 logeenheden waren verwijderd door hechting.

Om te bepalen of de 60 dagen zone voldoende bescherming biedt tegen doorbraak van virussen in een bodem met een suboxisch watervoerend pakket, worden de gegevens van de verwijdering van PRD1 in de onderste laag gebruikt om de verwijdering te bepalen voor een beschermingszone van 60 dagen.

Bij een reistijd van 60 dagen en de temperaturen zoals gemeten tijdens dit experiment zal de inactivatie een grotere rol spelen, dan tijdens het hier uitgevoerde experiment, met een maximale reistijd in de onderste laag van 11 dagen. De gemiddelde inactivatieconstante van bacteriofaag PRD1 was 0,0566 log/dag. In geval van 60 dagen transport zal dit resulteren in een vermindering van het aantal infectieuze bacteriofagen door afsterving met 3,4 logeenheden.

De grondwatersnelheid in de onderste laag bedroeg tussen de 3 en 4 meter per dag. Na 60 dagen transport zal het grondwater dan tussen de 180 en 240 meter hebben afgelegd. De grondwatersnelheden bij winningen zijn lager, waardoor het water in 60 dagen een kortere afstand aflegt. Als we uitgaan van een reisafstand van 30 meter van de verontreiniging naar de winput, en we extrapoleren de gegevens van de verwijdering van PRD1 uit de 3^e laag, dan vinden we daarvoor een verwijdering van $7,5 / 26 \times 30 = 8,7$ logeenheden. Dit is een conservatieve aanname, omdat bij een lagere stroomsnelheid van het grondwater de hechting van virussen zal toenemen.

Daarnaast zal bij 15°C door afsterving het aantal virussen verminderen met 3,4 logeenheden.

De totale verwijdering die dan kan worden toegekend aan bodempassage met een duur van 60 dagen en een afstand van 30 meter onder suboxische condities bij 15°C bedraagt dan:

$8,7 \text{ logeenheden (hechting)} + 3,4 \text{ logeenheden (afsterving)} = 12,1 \text{ logeenheden verwijdering.}$

Zoals in sectie 4.1 is beargumenteerd, bedraagt in geval van een lekkend riool op de grens van de 60 dagen zone de benodigde logverwijdering ruim 8 logeenheden om aan het gestelde infectierisico van 10^{-4} te kunnen voldoen. Uit de bovenstaande berekening blijkt dat bodempassage onder suboxische condities tijdens 60 dagen transport ruim meer bacteriofagen verwijderd dan de benodigde 8 logeenheden. Er kan dus worden gesteld dat onder suboxische condities de 60 dagen zone voldoende bescherming biedt tegen de doorbraak van humaan pathogene virussen. Ook bij een lagere temperatuur, en dus minder verwijdering van bacteriofagen door afsterving, zal de verwijdering onder suboxische condities voldoende zijn. Het niet meenemen van de afsterving resulteert nog steeds in een verwijdering van 8,7 logeenheden door hechting alleen.

Schijven et al (Schijven et al, 2004) hebben een model ontwikkeld waarmee de afstand en reistijd van een microbiologische beschermingszone rond grondwaterwinningen kan worden berekend. Dit model berekent de verwijdering op basis van een aantal aannames en locatiespecifieke parameters. In dit model wordt gerekend met een enterovirusconcentratie van 150 virussen per liter. Deze concentratie is gebaseerd op een aantal metingen van enterovirussen in ruw afvalwater van rwzi's in Amsterdam en Rotterdam (Schijven et al, 2004). De bovenstaande berekening kan ook worden uitgevoerd voor een enterovirusconcentratie van 150 virussen per liter.

Wederom wordt de aanname gedaan dat een lekkend riool een lekdebiet heeft van ongeveer 1 m^3 per dag. Het aantal enterovirussen in het rioolwater bedraagt $1,5 \times 10^2 \text{ pve/l}$. Voor de waterwinning wordt uitgegaan van een onttrekkingsdebiet van 1000 m^3 per dag. Hierdoor wordt door verdunning de concentratie enterovirussen verlaagd met een factor 1000 tot $1,5 \times 10^{-1} \text{ pve/l}$. Om aan het infectierisico te kunnen voldoen van 10^{-4} betekent dit dat de vermindering van $1,5 \times 10^{-1} \text{ pve/l}$ naar $1,2 \times 10^{-6} \text{ pve/l}$ bewerkstelligd zal moeten worden door verwijdering door bodempassage. Dit is een logverwijdering van ongeveer 5 log tijdens 60 dagen transport.

Hierboven is berekend dat de totale verwijdering die door bodempassage met een duur van 60 dagen en een afstand van 30 meter onder suboxische condities bij 15°C 12,1 logeenheden bedraagt. Uitgaande van de enterovirusconcentratie die wordt gebruikt in het model kan worden geconcludeerd dat de norm voor de verwijdering van enterovirussen ruim wordt gehaald.

Bij de bovenstaande berekeningen is bij de aannames steeds uitgegaan van de meest conservatieve situatie. Bovendien is het experiment uitgevoerd in een conservatief watervoerend pakket met een hoge pH, waardoor de hechting van bacteriofagen laag is. Het mag daarom worden aangenomen dat de verwijdering onder de meeste condities hoger zal zijn dan de hier gerapporteerde 12,1 logeenheden.

5 Discussie

Beschrijving van de veldlocatie en de experimentele condities van het experiment.

Het doel van dit experiment was om de verwijdering te bepalen onder suboxische condities, waarbij suboxisch was gedefinieerd als $< 1,0 \text{ mg/L O}_2$ en $> 0,5 \text{ mg/L NO}_3$. Daartoe is een meetraai aangelegd met filterstellingen op drie verschillende dieptes. Op deze wijze kon op drie verschillende dieptes de verwijdering van virussen worden bepaald. Uit de zuurstofmetingen bleek dat in twee van de drie onderzochte lagen zuurstofconcentraties werden gemeten met waarden onder de 1 mg/L . In de bovenste laag bedroeg de zuurstofconcentratie rond de 2 mg/L ten tijde van de maximale doorbraak van de bacteriofagen. Er kan dus worden geconcludeerd dat de verwijdering is onderzocht onder de condities zoals die vooraf zijn gedefinieerd.

Effect van de stroomsnelheid op de totale verwijdering

Uit de 2 doseerexperimenten met NaCl bleek dat de drie lagen in stroomsnelheid van elkaar verschilden, waarbij de onderste laag een veel hogere stroomsnelheid liet zien. De doorbraakcurves van de bacteriofagen in onderste laag lieten zien dat in deze laag minder verwijdering plaatsvond. In eerdere studies is het verband tussen grondwatersnelheid en virusverwijdering ook aangetoond, en is gerapporteerd dat de mate van virusverwijdering tijdens transport door poreuze media omgekeerd gecorreleerd is aan de stroomsnelheid (Schijven et al, 2000, Wang et al, 1981, Jin et al 1997, Pang et al, 2009). Een hogere stroomsnelheid resulteert in een lagere hechting van virussen. Deze observatie komt overeen met de waarneming in deze studie dat de minste verwijdering werd vastgesteld in de onderste laag met de hoogste grondwatersnelheid.

Het feit dat verschillen in stroomsnelheid dergelijke verschillen in verwijdering laten zien, en er op een plaats in watervoerende lagen vlak onder elkaar grote verschillen in stroomsnelheid worden gezien, geeft aan dat voor het bepalen van de verwijdering van virussen in een watervoerend pakket het zeer belangrijk is om de (verdeling van de) stroomsnelheid in het watervoerend pakket goed te kennen. Door de hogere stroomsnelheid kan een voorkeursstroom een substantiële bijdrage leveren aan de totale volumestroom van een bepaald gebied. Omdat hierin ook minder verwijdering plaatsvindt, zal de totale verwijdering van een bodemsectie voor een groot deel worden bepaald door het water met de hoogste stroomsnelheid. De snelste stroombaan wordt hiermee voor een groot deel bepalend voor de totale verwijderingscapaciteit van een bodemsectie.

Het niet registreren van de maximale doorbraakcurve van MS2 in PD11_3 en PL5_3.

Vermoedelijk is van de doorbraakcurve van MS2 in PD11_3 en PL5_3 niet het maximum geregistreerd. Pas nadat was overgegaan op groot volume monsters, werd in deze waarnemingsfilters op dag 9 MS2 aangetroffen. Na analyse van de doorbraakcurves van MS2 bleek dat MS2 tijdens het bodemtransport veel beter werd verwijderd dan vooraf op basis van eerdere experimenten kon worden verwacht. Hierdoor bleek het monsterschema voor deze punten niet valide. Door de onvoorzien betere verwijdering was de concentratie MS2 op de punten PD11 en PL5 al zodanig laag, dat het aantal MS2 bacteriofagen in deze monsters te laag was voor de gekozen monstervolumes.

De invloed van de ondergrond op de doseerexperimenten met NaCl en bacteriofagen.

In Figuur 3.13 is de verwijdering uitgezet van MS2 en PRD1 tegen de afgelegde afstand. In deze figuur is vast te stellen hoe groot de verwijdering is na bodempassage over een bepaalde afstand. De verwijdering lijkt lineair af te nemen met de afstand. Dit is het duidelijkst te zien bij de afname van PRD1 omdat hiervan meer datapunten konden worden geregistreerd. De lineaire afname is echter niet overal even duidelijk. Dit is vooral bij de verwijdering van MS2 en PRD1 in de bovenste laag waar te nemen. Daar wordt tussen PL2 en PL3 voor zowel PRD1 als MS2 een zeer grote verwijdering waargenomen. In de middelste laag wordt een grotere verwijdering juist waargenomen tussen PL3 en PL4. Deze verwijdering wordt wel voor beide virussen waargenomen.

Deze onderlinge verschillen tussen bodemlagen zijn eigenlijk alleen te verklaren door heterogene zones in de bodem, waardoor de verwijdering lokaal grote verschillen kan vertonen. Dit blijkt ook uit de bodemanalyses van PL3_2 en PL3_3 waarin meer klei en lutum werd aangetroffen dan in de

bodemmonsters van PL2 en PL4. Het is daarom waarschijnlijk dat heterogeniteit in de bodem de vastgestelde verwijdering van MS2 en PRD1 heeft beïnvloedt.

Niet-lineaire resultaten als gevolg van heterogeniteit van de bodem zijn tijdens een veldexperiment wellicht te verwachten, maar uiteraard niet te voorzien. Tijdens dit experiment is de verwijdering onderzocht op meerdere afstanden van het doseerpunt, en op verschillende dieptes. Fluctuaties in de verwijdering versus afstand door heterogene zones in de bodem hebben op 1 waarnemingspunt een duidelijk effect. Op de totale verwijdering is het effect geringer, zeker indien de resultaten worden geïnterpreteerd aan de hand van een lineaire regressielijn door de waargenomen metingen. Op deze wijze wordt een goed beeld verkregen van het vermogen van het watervoerend pakket om virussen te verwijderen.

In een eerder stadium is ervoor gekozen om deze invloed van suboxische condities niet met kolom experimenten te onderzoeken, maar te bestuderen in een veld experiment. De belangrijkste reden daarvoor was dat is vastgesteld dat kolomproeven onder zeer goed geconditioneerde condities kunnen worden uitgevoerd, maar dat de vertaling van resultaten van kolomproeven naar praktijksituaties erg lastig is. Kolommen blijken zelfs met bodemmateriaal van een veldlocatie vaak een afwijkende verwijdering te vertonen dan de verwijdering in de bodem zelf. Hierdoor zijn kolomexperimenten geen goede maatstaf als het er om gaat om de verwijderingszones rondom winningen vast te stellen (Pang, 2009). Het verdient de voorkeur om juist de gegevens die worden gebruikt om de verwijderingszones rondom winningen vast te stellen te baseren op de verwijdering van micro-organismen zoals die tijdens een veldproef zijn bepaald.

Vergelijking met andere experimenten.

In de literatuur zijn een aantal experimenten beschreven waarin de verwijdering van bacteriofagen door bodempassage wordt gerapporteerd. In Nederland zijn 4 studies uitgevoerd in waar virusverwijdering door bodemtransport is onderzocht. In Someren (DIZON) zijn bacteriofagen in een diep anoxisch watervoerend pakket gebracht. Hierbij is oxisch oppervlaktewater geïnfiltreerd, waardoor de redoxstatus rondom de infiltratie veranderde van anoxisch naar oxisch (Schijven et al, 2000). Op het terrein van KWR is de verwijdering van bacteriofagen onderzocht in een anoxisch watervoerend pakket (van der Wielen, 2008). Daarnaast zijn twee studies beschreven waar virusverwijdering onder oxische condities is onderzocht. In Roosteren was sprake van oeverfiltratie, en zijn veel parameters (zoals korrelgrootte) heel anders in deze studie. In Castricum is de verwijdering onderzocht in duinzand (Medema en Stuyfzand, 2002, Schijven et al, 1999). Deze laatste studie, waarin de verwijdering van PRD1 en MS2 door bodempassage werd bepaald in de duinen bij Castricum vertoont veel overeenkomsten met de hier uitgevoerde studie (Schijven et al, 1999).

In fig. 6.1 is de verwijdering zoals gevonden in deze studie vergeleken met de eerder gevonden verwijderingsgegevens van MS2. Omdat in deze studie niet MS2 maar PRD1 het minst werd verwijderd door bodempassage, zijn ook de gegevens van PRD1 in deze figuur uitgezet.

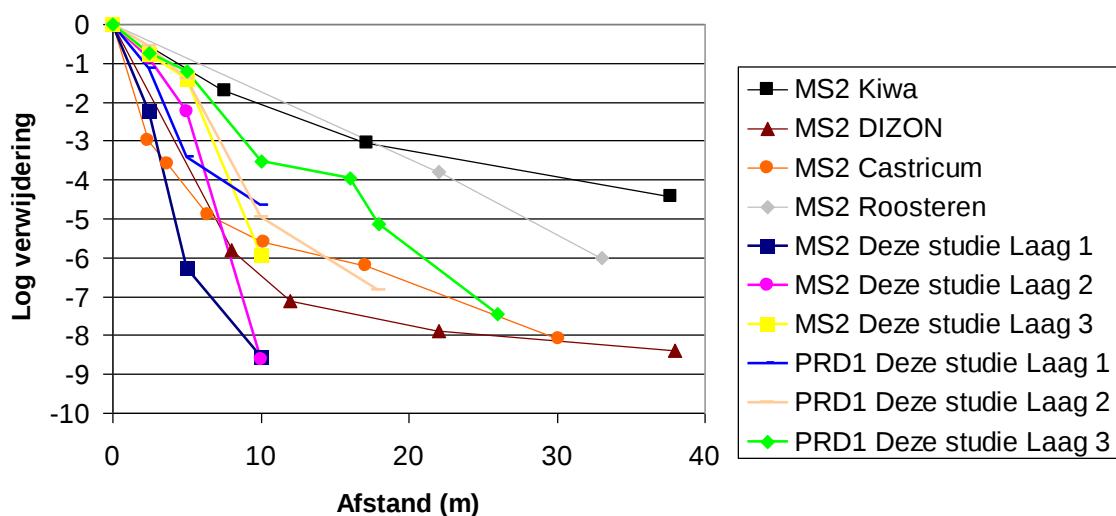


Fig 6.1. De waargenomen logverwijdering van MS2 als functie van de afstand in 5 verschillende aquifers in Nederland.

De resultaten van deze studie kunnen het beste vergeleken worden met de resultaten van Castricum (Schijven et al, 1999). Deze beide studies laten de verwijdering zien van bacteriofagen MS2 en PRD1 tijdens transport door duinzand. De stroomsnelheid in Castricum is met ongeveer 1,5 meter per dag vergelijkbaar met de stroomsnelheid in de bovenste en de middelste laag van deze studie. Op beide locaties zijn bodemonmonsters geochemisch geanalyseerd. De chemische en fysische parameters van de bodem van de locatie in Castricum verschilt op de meeste parameters niet wezenlijk van de bodemparameters van dit veldexperiment te Leiduin. Wel is in Leiduin het percentage organische stof ruwweg een factor 2 hoger.

De zuurstofconcentratie bij het experiment in Castricum in het water in het infiltratiepand was 9,7 mg/L, en in het water afkomstig van de productieput 0,38 mg/L. De onderkant van het filter van de productieput was ongeveer 6 meter dieper gepositioneerd dan de filters in de waarnemingsputten, en zal daardoor vermoedelijk voor een groot deel anoxisch water oppompen. Omdat de zuurstofconcentraties niet zijn bepaald in de waarnemingsputten, is het niet mogelijk om vast te stellen wat de zuurstofconcentratie is geweest in het watervoerende pakket waarin de virussen zijn getransporteerd. De eerste meters zullen waarschijnlijk hebben plaatsgevonden onder oxische condities, omdat het water bij het intreden in de bodem nog veel zuurstof bevatte. Verder is het experiment uitgevoerd in de winter bij een lage watertemperatuur, waardoor het zuurstofgehalte na intrede minder snel zal afnemen. Verderop in de stroombaan richting de onttrekkingsput zal het zuurstofgehalte verder afnemen, maar het is niet bekend of in deze studie transport onder suboxische condities heeft plaatsgevonden.

In de studie van Schijven et al werd over een afstand van 30 meter een verwijdering gerapporteerd van zowel MS2 als PRD1 van 8 logeenheden. Dit is gelijk aan de verwijdering die in deze studie is gevonden voor PRD1 in de onderste laag. Echter in deze studie is de grondwatersnelheid in de onderste laag, met 3,9 m/dag meer dan twee keer hoger dan in Castricum, waar de snelheid ongeveer 1,5 m/dag bedroeg. De grondwatersnelheid in de middelste laag was met 1,5 m/dag wel ongeveer gelijk aan de grondwatersnelheid van het experiment te Castricum. In de middelste laag werd 6,8 logeenheden verwijdering geregistreerd na 18 meter transport. Bij lineaire extrapolatie naar 30 meter zou dit 11,3 logeenheden verwijdering betekenen. Dit is 3,3 logeenheden meer dan werd gevonden bij het experiment te Castricum.

Voor MS2 zijn de verschillen groter. Het experiment te Castricum liet voor MS2 en PRD1 beide een verwijdering zien van 8 logeenheden na 30 meter. De resultaten van de hier beschreven veldproef laten zien dat onder alle omstandigheden MS2 veel beter wordt verwijderd dan PRD1. De minste verwijdering van MS2 wordt, net zoals voor PRD1 gevonden in de onderste laag, en bedroeg 6 logeenheden na 10 meter bodempassage. Uit deze vergelijkingen kan worden geconcludeerd dat de verwijdering in de bodem van deze veldlocatie beter verliep dan in de bodem van het experiment te Castricum.

Voorafgaand aan dit experiment is een schatting gemaakt van de te verwachten verwijdering van bacteriofagen tijdens suboxisch transport. Deze schatting is gebaseerd op de gerapporteerde verwijdering te Castricum, met de aanname dat dit transport onder oxische condities heeft plaatsgevonden, en de gerapporteerde verwijdering te Nieuwegein (van der Wielen et al, 2008) waar is aangetoond dat het transport onder anoxische condities heeft plaatsgevonden.

De aanname was dat de verwijdering van bacteriofagen zich zou bevinden tussen de gerapporteerde verwijdering van de twee bovengenoemde studies. Dit is niet het geval. De verwijdering onder suboxische condities blijkt minimaal zo goed te verlopen als onder oxische condities.

Op basis van de in deze studie gevonden resultaten, en het feit dat in Castricum geen zuurstofconcentraties zijn gemeten, kan niet worden uitgesloten dat het watervoerend pakket te Castricum niet oxisch was, maar suboxisch of wellicht voor een deel anoxisch. De in de Castricum studie gerapporteerde grafiek, waarin de logverwijdering is uitgezet tegen de afstand, laat duidelijk een niet lineaire verwijdering zien (Fig 6.1). De auteurs van deze studie geven als verklaring hiervoor: een hogere aanwezigheid van organische stof in de eerste meters van het bodemtraject, of variatie in de oppervlakte eigenschappen van de bacteriofagen populatie, waardoor bacteriofagen met goed hechtende oppervlakte-eigenschappen sneller worden verwijderd. Door bodempassage resulteert dat met het toenemen van de afstand in een steeds minder goed hechtende populatie. Als 3^e mogelijkheid zou hier de van oxisch naar anoxisch veranderende redoxsituatie van de bodem aan toegevoegd kunnen worden. Door het verminderen van de zuurstofconcentratie met het toenemen van de afstand van het doseerpunt

neemt de mate van hechting af. Dit resulteert in een verloop zoals is beschreven in de studie te Castricum.

Waarom wordt MS2 beter verwijderd dan PRD1.

In de meeste studies wordt MS2 als een conservatieve bacteriofaag gerapporteerd. Dit betekent dat MS2 relatief gemakkelijk met de grondwaterstroming mee kan worden gevoerd, en op deze wijze fungeert als een “worstcase” modelvirus voor ziekteverwekkende virussen. Dit gedrag is voor een groot deel het gevolg van het lage iso-electrische punt van MS2, waardoor deze bacteriofaag negatief geladen is bij pH waarden die gebruikelijk zijn voor grondwater. Daardoor wordt de bacteriofaag door repulsie afgestoten van de meestal ook negatief bodemdeeltjes, en is zo in staat beter door de bodem te reizen dan bacteriofagen met een hoger iso-electrische punt.

In deze studie wordt consistent in alle waarnemingsputten een beter verwijdering geregistreerd voor MS2 dan voor PRD1. Uit de bodemanalyses blijkt niet dat deze bodem grote verschillen vertoont met bijvoorbeeld de studie in Castricum voor wat betreft de compositie van metalen of andere chemische bodemparameters. Wel is het gehalte organische stof in de bodem te Leiduin ongeveer 2 keer zo hoog. De invloed van organische stof op de verwijdering is niet eenduidig, en daardoor lastig te bepalen, omdat het effect van organische stof de verwijdering zowel kan bevorderen als tegengaan. Het is beschreven dat organische stof hecht aan dezelfde bindingsplaatsen als de virussen. Daardoor blijven er minder bindingsplaatsen over voor de virussen, en is de verwijdering door bodemtransport minder (Gerba, 2004). Het is echter ook beschreven dat virussen kunnen binden aan organische stof, waardoor de verwijdering juist toeneemt bij de aanwezigheid van organische stof (Bales et al, 1993, Yang, X. et al, 2012). Of het hogere organische stof gehalte in de bodem te Leiduin ook de oorzaak is van de betere verwijdering van MS2, kan met de gegevens van deze studie niet worden bepaald. Naast het verschil in organische stof is verder geen duidelijke geochemische of hydrologische parameter aan te wijzen die verantwoordelijk zou kunnen zijn voor de grotere verwijdering van MS2. Daarom is wellicht een andere reden de oorzaak voor de verwijdering van MS2.

In de meeste studies wordt de verwijdering van virussen door bodempassage toegewezen aan hechting of afsterving. Afsterving is bepaald tijdens incubatie bij 15°C en door de helling van de afnemende doorbraakcurve te bepalen. Door de afsterving van de totale verwijdering af te trekken wordt het deel bepaald dat door hechting wordt verwijderd. Een derde proces dat mogelijk bij kan dragen aan de verwijdering van MS2 is predatie. Predatie van virussen en bacteriofagen door hogere organismen (bijv. ciliaten) is een nog erg onbekend fenomeen. In een aantal (niet bodemtransport gerelateerde) publicaties is beschreven dat predatie van virussen en bacteriofagen op kan treden in een (artificieel) milieu waar beide in hoge concentraties zijn samengebracht, tot meer dan een log inactivatie per dag (Pinheiro et al, 2007). Tot op heden is predatie in relatie tot bodemtransport echter niet beschreven. Een belangrijke parameter bij predatie is de temperatuur van het grondwater. Voor veldexperimenten wordt vaak geprobeerd om het experiment uit te voeren in de winterperiode, omdat afsterving van bacteriofagen bij lage temperatuur geringer is. Voor predatie zal echter ook gelden dat dit minder (of wellicht helemaal niet) zal optreden bij een lage watertemperatuur. Dit wordt ook beschreven in de studie van Pinheiro et al, 2007, waar geen predatie optreedt bij een watertemperatuur onder de 6°C.

Ten tijde van de dosering van de bacteriofagen was de grondwatertemperatuur 14,9°C. In een eerdere studie (Segers, 2007) is het temperatuurverloop gemodelleerd in het gebied tussen Geul 6 en het Westerkanaal. Hieruit kan worden geschat dat de maximale temperatuur in de bodem ter hoogte van de meetraai ongeveer 20°C zal bedragen. Mocht predatie plaatsvinden, dan is het bij een temperatuur van 15°C zeer waarschijnlijk dat predatoren nog actief zijn. In dat geval zou de verwijdering van bacteriofagen door bodemtransport niet alleen te wijten zijn aan hechting en afsterving, maar ook aan predatie. Predatie zou in dat geval een verklaring kunnen zijn voor de hoge verwijdering van MS2 door bodemtransport in deze studie. De rol van predatie in combinatie met bodemtransport in dergelijke omstandigheden is nog speculatief.

Zuurstofdynamiek in de bodem

Uit de zuurstofmetingen blijkt dat de zuurstofconcentratie in het watervoerend pakket tussen Geul 6 en het Westerkanaal gedurende de seizoenen niet stabiel is. In de periode vanaf oktober is de zuurstofconcentratie in de drie bodemlagen rond de 1 mg/L O₂. Het water heeft dan een temperatuur van boven de 15°C. Metingen in april 2012, waarbij het grondwater een temperatuur heeft van tussen de

4 en de 6°C, laten zien dat de zuurstofconcentraties zich bevinden tussen de 3 en de 6 mg/L. De zuurstofconcentratie is dus gedurende het jaar niet stabiel.

Voorafgaand aan deze metingen was er geen informatie voorhanden of en in welke mate het zuurstofgehalte zou variëren in de tijd, wel was duidelijk dat er variatie zou kunnen zijn. Dit is waarschijnlijk een karakteristiek van veel suboxische zones. Zuurstofmetingen tijdens het transport van de bacteriofagen hebben aangetoond dat de zuurstofconcentraties tijdens het transport rond de 1 mg/L bedroeg in de onderste 2 lagen en rond de 2 mg/L in de bovenste laag. Waren de doseerexperimenten met bacteriofagen later gestart, dan waren de bacteriofagen in een watervoerend pakket geïnjecteerd met een op oxisch gelijkend zuurstofgehalte.

Indien de redoxcondities belangrijk zijn bij experimenten in de bodem, dan verdient het de aanbeveling om vooraf aan de experimenten de mogelijk veranderende redoxcondities van een bodemgebied in kaart te brengen.

6 Conclusies

In deze studie zijn de resultaten beschreven van een veldexperiment waarbij de verwijdering van de bacteriofagen MS2 en PRD1 is bepaald op drie verschillende dieptes in een suboxisch watervoerend pakket.

De drie dieptes werden onderzocht door het plaatsen van waarnemingsfilters op -3,5 m NAP, -2,5 m NAP en -1,5 m NAP. Omdat de onderlinge afstand tussen de drie lagen slechts 1 meter bedroeg, waren veel geochemische en geohydrologische eigenschappen gelijk. De lagen waren voornamelijk verschillend in de volgende eigenschappen:

-1,5 m NAP, zuurstofconcentratie tussen 1,8 en 2,1 mg/L, grondwatersnelheid $\pm 1,5$ meter per dag
-2,5 m NAP, zuurstofconcentratie tussen 0,6 en 0,9 mg/L, grondwatersnelheid $\pm 1,5$ meter per dag
-3,5 m NAP, zuurstofconcentratie tussen 0,9 en 1,1 mg/L, grondwatersnelheid $\pm 3,9$ meter per dag

Conclusies in relatie tot verwijdering.

De grootste verwijdering werd waargenomen in de bovenste en de middelste laag voor MS2. In beide lagen werd 8,6 logeenheden MS2 verwijderd na 10 meter bodemtransport, en ongeveer 10 dagen reistijd. In de onderste laag bedroeg de verwijdering 6 logeenheden na 10 meter transport, en 5 dagen reistijd. Omdat de zuurstofconcentratie tussen laag 2 en 3 nagenoeg gelijk is, is het de verwachting dat het verschil in verwijdering voornamelijk kan worden toegekend aan de hogere stroomsnelheid in deze laag, en mogelijk ook aan het voorkomen van heterogene zones in deze laag, voornamelijk intacte schelpen.

Voor het bepalen van de verwijdering van micro-organismen door bodempassage moet daarom worden uitgegaan van de verwijdering in het snelst stromende watervoerende pakket.

In alle waarnemingsfilters was de verwijdering van PRD1 minder dan de verwijdering van MS2. Voor PRD1 bedroeg de verwijdering na 10 meter transport in de bovenste laag 3,9 logeenheden, in de middelste laag 5,0 logeenheden, en in de onderste laag 3,5 logeenheden. Ook hier werd de minste verwijdering waargenomen in de onderste laag. Op 26 meter afstand van het doseerpunt, het verste punt waar nog bacteriofagen zijn gemeten, was 7,5 logeenheden PRD1 verwijderd.

Onder suboxische condities worden zowel PRD1 als MS2 voornamelijk verwijderd door hechting. De verwijdering van MS2 na 10 meter bodempassage door hechting was 7,2, 7,4 en 5,3 logeenheden in respectievelijk de bovenste, middelste en onderste laag. Voor PRD1 was de verwijdering door hechting in deze lagen respectievelijk 3,4, 4,4, en 3,2 logeenheden.

Conclusies in relatie tot inactivatie.

De waargenomen inactivatie van MS2 en PRD1 in de bovenste, de middelste en de onderste laag was gelijk. Bij 15°C in het laboratorium bedroeg de gemiddelde inactivatieconstante van MS2 0,137 log/dag en van PRD1 0,057 log/dag.

De inactivatieconstanten van de gehechte bacteriofagen afgeleid van de richtingscoëfficiënt van de staart van alle doorbraakcurve bedroeg gemiddeld 0,077 log/dag voor MS2 en 0,045 log/dag voor PRD1. Het verschil in inactivatie met de niet gehechte bacteriofagen wordt mogelijk veroorzaakt door de dalende temperatuur van het grondwater tijdens de duur van het experiment.

Conclusies in relatie tot de condities tijdens het veldexperiment.

De zuurstofconcentratie in de bodem tussen het infiltratiepand en het Westerkanaal vertoont grote variatie. Dit is waarschijnlijk een karakteristiek van veel suboxische zones. Deze variatie wordt

veroorzaakt door de dalende temperatuur als gevolg van seizoensvariatie. Omdat het toenemen van de zuurstofconcentratie plaatsvond na het doseren van de bacteriofagen, is hiervan geen invloed te verwachten op de gemeten verwijdering.

Conclusie

Bodempassage onder suboxische condities, bij een watertemperatuur van 15°C, resulteert bij een geaccepteerd infectierisico van 10^{-4} personen per jaar, een reistijd van 60 dagen en een beschermingszone van 30 meter, in een verwijdering van minimaal 12 logeenheden. Hiermee biedt 60 dagen bodempassage in een suboxisch watervoerend pakket voldoende bescherming tegen de doorbraak van humaan pathogene virussen, uitgaande van een lekkend riool op een afstand van 60 dagen reistijd.

7 Aanbevelingen

Lengte beschermingszones

Uit deze studie blijkt dat onder suboxische condities de 60-dagen zone rondom winningen voldoende bescherming biedt tegen doorbraak van pathogene micro-organismen. Een eerdere studie, waar de zuurstofconcentraties niet exact zijn bepaald, maar waar zeker voor een deel transport onder oxische condities heeft plaatsgevonden, laat ook zien dat onder de beschreven condities voldoende bescherming wordt geboden tegen doorbraak van pathogene micro-organismen. Op basis van deze studies lijkt de aanwezigheid van zuurstof te resulteren in voldoende verwijdering van virussen.

Met de huidige kennis is het niet nodig aanvullende veldstudies uit te voeren in een zandige bodem onder suboxische of oxische condities.

Het effect van verschillen in grondwatersnelheden op de totale verwijdering.

In deze studie is de virusverwijdering op verschillende dieptes bepaald. Naast verschillen in zuurstofconcentratie verschillen de transportcondities ook voor wat betreft de stroomsnelheid van het grondwater. Het was al eerder gerapporteerd dat een hogere stroomsnelheid een minder grote verwijdering van virussen tot resultaat heeft. Dit wordt ook in deze studie geconstateerd. De onderste laag heeft een ongeveer 2 keer hogere stroomsnelheid, en ook de minste verwijdering.

De stroomsnelheid van het grondwater kan in sterke mate worden beïnvloedt door heterogene condities in de ondergrond. De aanwezigheid van stroombanen met een hogere grondwatersnelheid, door bijvoorbeeld lagen van schelpen of stenen, kan een zeer groot effect hebben op de totale verwijdering. Het verdient dan ook sterk de aanbeveling om, op plaatsten waar de ondergrond wordt ingezet om water microbiologische te zuiveren, naast de redoxcondities ook eventuele verschillen in stroomsnelheid in kaart te brengen. Zeker in geval van een onregelmatige bodemopbouw, bijvoorbeeld door lagen met stenen of schelpen, is het voor het bepalen van de microbiologische verwijdering essentieel om uit te gaan van de laag met de hoogste grondwatersnelheid. Deze laag zal voor een groot deel bepalend zijn voor de doorbraak van micro-organismen.

Predatie

Indien bij hogere temperaturen predatie een rol speelt bij de verwijdering van micro-organismen door bodemtransport, dan is dit een tot nu toe onbekende factor die bij kan dragen aan het verwijderen van pathogene micro-organismen die afkomstig zijn uit verontreinigd water. Predatie van virussen is niet nauwkeurig in kaart gebracht, maar is in een beperkt aantal publicaties beschreven voor zowel bacteriën als virussen. Indien predatie een belangrijk proces is (wellicht alleen bij hogere temperaturen), dan kan predatie naast hechting en afsterving als 3^e factor een bijdrage leveren aan de verwijdering van pathogene micro-organismen door bodemtransport. In dat geval verdient het de aanbeveling om (bijvoorbeeld met moleculaire technieken) te bepalen welke organismen verantwoordelijk zijn voor predatie. Hiermee kan beter inzicht worden verkregen of predatie daadwerkelijk verantwoordelijk kan zijn voor een vermindering van pathogene micro-organismen, en welke predatoren daarvoor verantwoordelijk kunnen zijn. Tevens genereert dit meer inzicht in de leefomstandigheden (bodemcondities) waarin predatie plaatsvindt.

8 Referenties

- Anonymous. 1980. Richtlijnen en aanbevelingen voor de bescherming van waterwingebieden. Commissie bescherming waterwingebieden, Rijswijk.
- Bales, R. C., S. R. Hinkle, et al. (1991). "Bacteriophage absorption during transport through porous media: chemical perturbations and reversibility." Environ. Sci. Technol. **25**: 2088-2095.
- Bales, R. C., Hinkle, S.R. et al. (1993). "MS2 and poliovirus transport in porous media: hydrophobic effects and chemical perturbations." Water Resour. Res. **29**: 957-963.
- Bales, R. C., S. Li, et al. (1995). "Virus and bacteria transport in a sandy aquifer, Cape Cod, MA." Ground Water **33**: 653-661.
- Blanc, R. and A. Nasser (1996). "Effect of effluent quality and temperature on the persistence of viruses in soil." Wat. Sci. Tech. **33**: 237-242.
- Blanford, W. J., M. L. Brusseau, et al. (2005). "Influence of water chemistry and travel distance on bacteriophage PRD-1 transport in a sandy aquifer." Water Res **39**(11): 2345-2357.
- de Roda Husman, A. M. M., G.J., Teunis, P.F.M., Schijven, J.F. (2004). "Inspectierichtlijn analyse microbiologische veiligheid drinkwater. VROM Inspectie."
- DeBorde, D. C., W. W. Woessner, et al. (1999). "Rapid transport of viruses in a floodplain aquifer." Water Res. **33**: 2229-2238.
- DeBorde, D. C., W. W. Woessner, et al. (1998). "Virus occurrence and transport in a school septic system and unconfined aquifer." Ground Water **36**: 825-834.
- Dizer, H. N., A. Lopez, J.M. (1984). "Penetration of different human pathogenic viruses into sand columns percolated with distilled water, ground water or waste water." Appl Environ Microbiol **47**: 409-415.
- Harvey, R. W. and J. N. Ryan (2004). "Use of PRD1 bacteriophage in groundwater viral transport, inactivation, and attachment studies." FEMS Microbiol. Ecol. **49**: 3-16.
- Keswick, B. H., C. P. Gerba, et al. (1982). "Survival of enteric viruses and indicator bacteria in groundwater." J. Environ. Sci. Health A **17**: 903-912.
- Kinoshita, T., R. C. Bales, et al. (1993). "Effect of pH on bacteriophage transport through sandy soils." J Contam Hydrol **14**: 55-70.
- Knorr, M. (1937). "Die Schutzzonenfrage in der trinkwasser-hygiene." Das Gas- und Wasserfach **80**: 330-335.
- Lodder, W. J. and A. M. de Roda Husman (2005). "Presence of Noroviruses and Other Enteric Viruses in Sewage and Surface Waters in The Netherlands." Appl. Environ. Microbiol. **71**(3): 1453-1461.
- Nasser, A. M. and S. D. Oman (1999). "Quantitative assessment of the inactivation of pathogenic and indicator viruses in natural water sources." Wat. Res. **33**: 1748-1752.
- Nasser, A. M., Y. Tchorsch, et al. (1993). "Comparative survival of E. coli, F+bacteriophages, HAV and Poliovirus 1 in wastewater and groundwater." Water Sci Technol **27**: 401-407.

- Pang, L., M. Close, et al. (2005). "Filtration and transport of *Bacillus subtilis* spores and the F-RNA phage MS2 in a coarse alluvial gravel aquifer: Implications in the estimation of setback distances." J Contam Hydrol **77**(3): 165-194.
- Pang, L. (2009). "Microbial removal rates in subsurface media estimated from published studies of field experiments and large intact soil cores." J Environ Quality **38**: 1531-1559.
- Pieper, A. P., J. N. Ryan, et al. (1997). "Transport and recovery of bacteriophage PRD1 in a sand and gravel aquifer: effect of sewage-derived organic matter." Environ. Sci. Technol. **31**: 1163-1170.
- Pinheiro, M.D., Power, M.E., et al. (2007). "Use of *Tetrahymena thermophila* to study the role of protozoa in inactivation of viruses in water." Appl. Environ. Microbiol. **73**(2): 643-649.
- Rambachs, F. (2010). "Geohydrologische opbouw testgebied Wierden". Interne memo KWR.
- Ryan, J. N., M. Elimelech, et al. (1999). "Bacteriophage PRD1 and silica colloid transport and recovery in an iron oxide-coated sand aquifer." Environ. Sci. Technol. **33**: 63-73.
- Ryan, J. N., R. W. Harvey, et al. (2002). "Field and laboratory investigations of inactivation of viruses (PRD1 and MS2) attached to iron oxide-coated quartz sand." Environ Sci Technol **36**(11): 2403-2413.
- Schijven, J. F. and S. M. Hassanizadeh (2000^a). "Removal of viruses by soil passage: overview of modeling, processes and parameters." Crit. Rev. Environ. Sci. Tech. **31**: 49-125.
- Schijven, J. F., G. J. Medema, et al. (2000^b). "Removal of microorganisms by deep well injection." J Contam. Hydrol. **44**: 301-327.
- Schijven, J. F. and S. M. Hassanizadeh (2002). "Virus removal by soil passage at field scale and groundwater protection of sandy aquifers." Water Sci Technol **46**(3): 123-129.
- Schijven, J. F., W. Hoogenboezem, et al. (1999). "Modeling removal of bacteriophage MS2 and PRD1 by dune recharge at Castricum, the Netherlands." Water Resour. Res. **35**: 1101-1111.
- Schijven, J. F., Mulschlegel, J.H.C., Hassanizadeh S. M., Teunis P.F.M., and A.M. de Roda Husman. (2004). Berekening beschermingszones van Nederlandse grondwaterwinningen voor bescherming tegen virusbesmetting. RIVM rapport 3300000003/2004 herziene versie.
- Segers, W. (2007). "Vóórkomen en gedrag van emerging substances na duininfiltratie." KWR rapport (KWR 07.063)
- Stuyfzand, P. J. en van der Jagt, H. (1997). Toelichting op de anorganisch chemische analysemethoden voor grond in het LAM van KIWA. KIWA, Nieuwegein, Rapport OA96,116.
- Stuyfzand, P. J. (1993). Hydrochemistry and hydrology of the coastal dune area of the western Netherlands. PhD-thesis, Vrije Universiteit, Amsterdam.
- Tufenkji, N. and M. Elimelech (2004). "Correlation Equation for Predicting Single-Collector Efficiency in Physicochemical Filtration in Saturated Porous Media." Environ. Sci. Technol. **38**(2): 529-536.
- Van der Wielen, P.W.J.J., Senden, W.J.M.K and G.J. Medema. (2006). Presumptive classification of the Dutch phreatic sandy groundwater well systems using a microbiological vulnerability index revisited. KWR rapport BTO 2006.015(s).

Van der Wielen, P.W.J.J., Senden, W.J.M.K and G.J. Medema. (2008). De microbiologische veiligheid van de 60-dagenzone rond grondwaterwinningen. KWR rapport BTO 2008.004.

Van der Wielen, P.W.J.J., Senden, W.J.M.K and G.J. Medema. (2009). Removal of bacteriophages MS2 and ΦX174 during transport in a sandy anoxic aquifer. Environ. Sci. Technol. **42**: 4589-4594

Woessner, W. W., P. N. Ball, et al. (2001). "Viral transport in a sand and gravel aquifer under field pumping conditions." Ground Water **39**(6): 886-894.

Yang, X., Deng, S., (2012). "Comparing the influence of two different natural organic matter types on colloid deposition in saturated porous media. Adv. Material Res. **455-456**: 1324-1329

Yao, K. M., M. T. Habibian, et al. (1971). "Water and waste water filtration: concepts and applications." Environ. Sci. Technol. **5**: 1105-1112.

Yates, M. V., C. P. Gerba, et al. (1985). "Virus persistence in groundwater." Appl Environ Microbiol **49**(4): 778-781.

Yates, M. V., L. D. Stetzenbach, et al. (1990). "The effect of indigenous bacteria on virus removal in ground water." J. Environ. Sci. Health A **25**: 81-100.

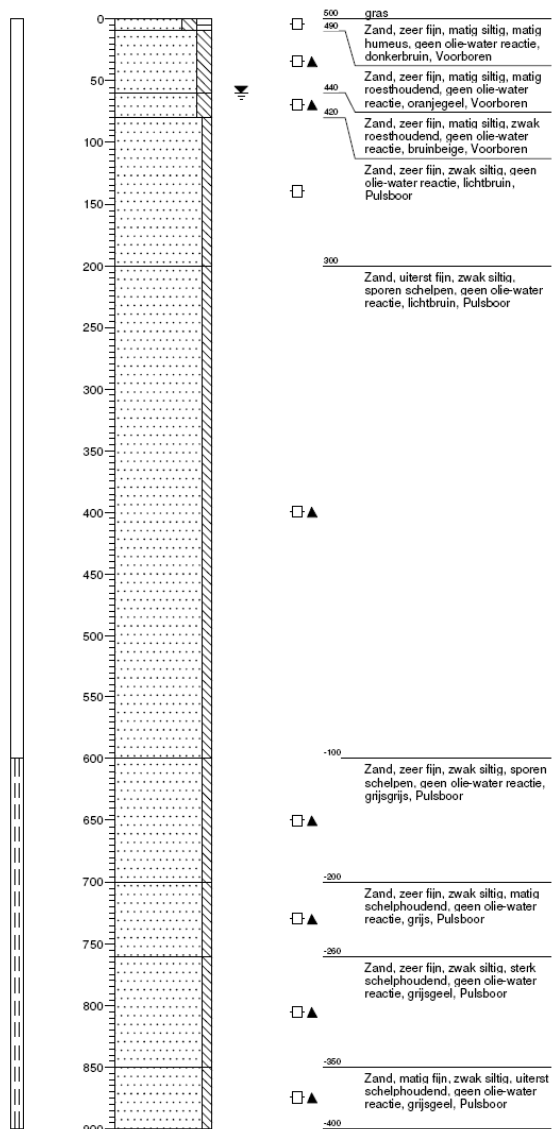
9 Bijlagen

9.1 Boorbeschrijvingen van de boringen door VCMi.

Boring: Doseerput

Datum: 21-09-2011
GWS: 60

Opmerking: 5,002.

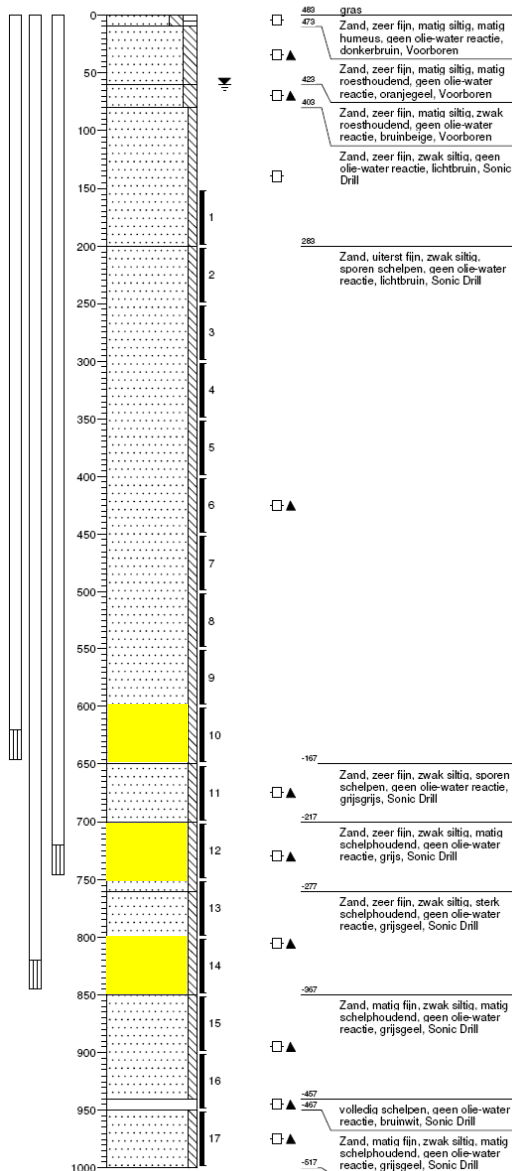


Boorbeschrijvingen van de doseerput. De doseerput is met behulp van een pulsbooring aangelegd. Het drie meter lange doseerfilter is aan de linkerkant zichtbaar. De onderkant van het filter bevindt zich in uiterst schelphoudend zand.

Boring:PL2

Datum: 21-09-2011
GWS: 60

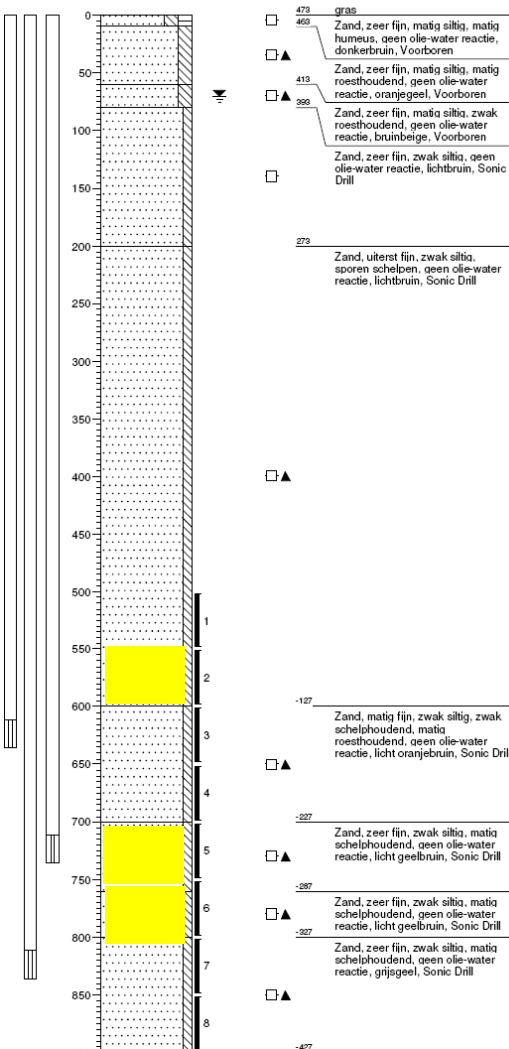
Opmerking: 4,828.



Boring:PL3

Datum: 21-09-2011
GWS: 70

Opmerking: 4,73P.

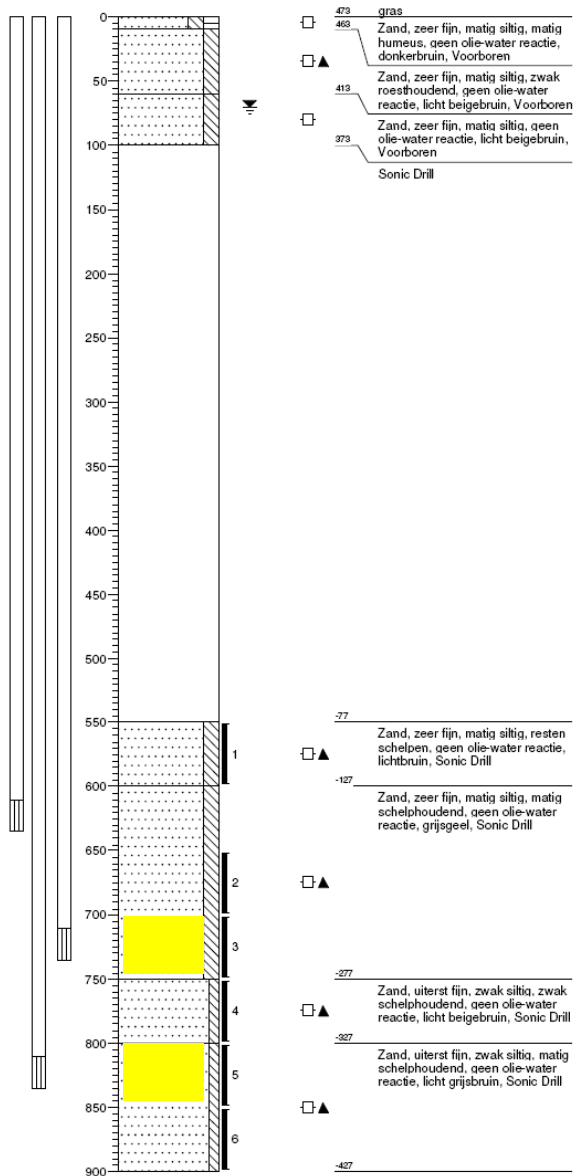


Boorbeschrijvingen van waarnemingsputten PL2 en PL3. Aan de linkerkant staan de peilbuizen en filters ingetekend. De verticale balkjes aan de rechterzijde van de boorbeschrijving corresponderen met de bewaarde boorkern. De geel gemerkte secties zijn geochemisch en verder onderzocht.

Boring: PL4

Datum: 21-09-2011
GWS: 70

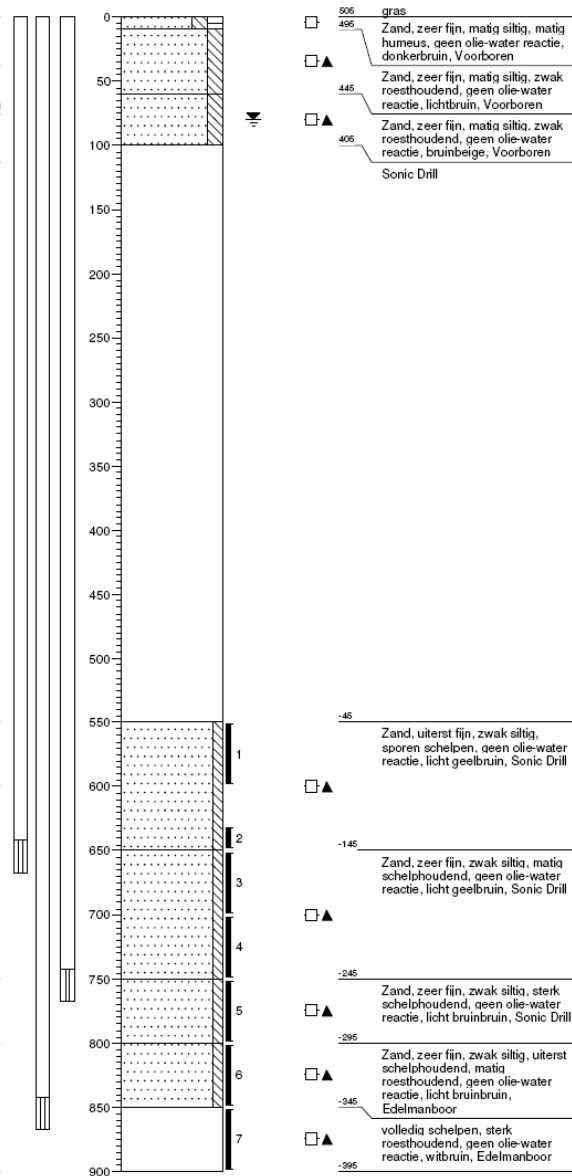
Opmerking: 4,729.



Boring: PL5

Datum: 21-09-2011
GWS: 80

Opmerking: 5,048.

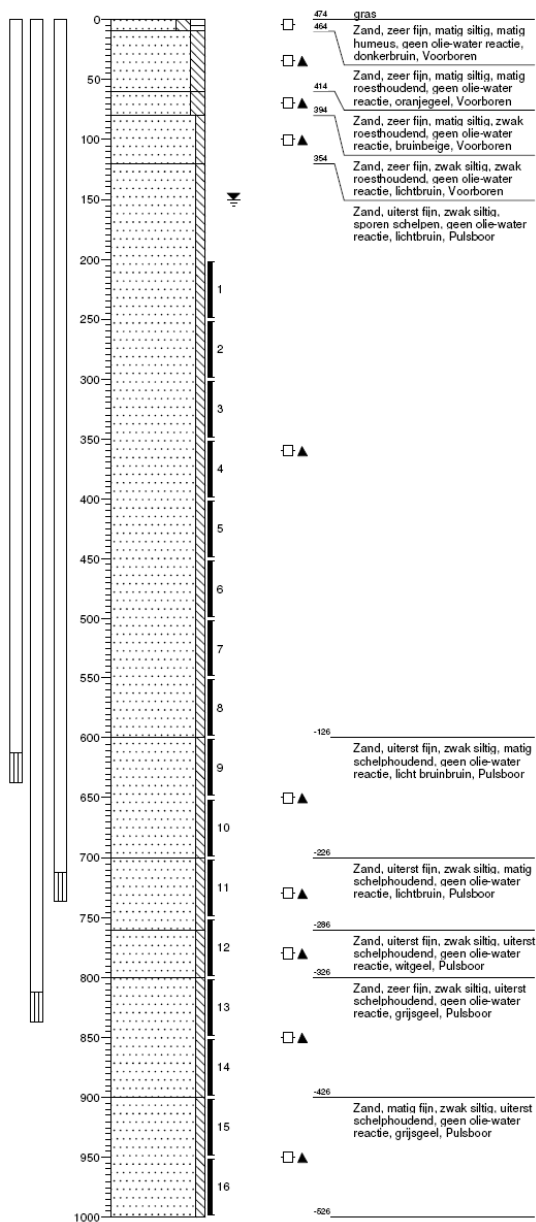


Boorbeschrijvingen van waarnemingsputten PL4 en PL5. Aan de linkerkant staan de peilbuizen en filters ingetekend. De verticale balkjes aan de rechterzijde van de boorbeschrijving corresponderen met de bewaarde boorkern. De geel gemerkte secties zijn geochemisch en verder onderzocht.

Boring: PL6

Datum: 20-09-2011
GWS: 150

Opmerking: 4,74P.



Boorbeschrijvingen van waarnemingsputten PL6. Aan de linkerkant staan de peilbuizen en filters ingetekend. De verticale balkjes aan de rechterzijde van de boorbeschrijving corresponderen met de bewaarde boorkern.

