

## Factsheet 4.2 – Sensoren en andere innovatieve hulpmiddelen om de kwaliteit van teruggewonnen water te monitoren: facts and figures



**SUWANU EUROPE** is een H2020-thematisch netwerk die de inzet van teruggewonnen water in de landbouw wil bevorderen door stimulatie van de effectieve uitwisseling van kennis, ervaringen en vaardigheden tussen de verschillende eindgebruikers en de relevante actoren. Deze factsheet maakt samen met 4 andere factsheets deel uit van het “Info-pakket 4” dat gericht is op wateringenieursbureaus. Deze factsheet beschrijft verschillende innovatieve methoden voor de detectie van pathogenen of de opgeloste organische koolstof. Voor de meting van pathogenen wordt de flowcytometrie besproken en voor de opgeloste organische koolstof wordt de UV-LED-fluorescentiesensor besproken.

### INTRODUCTIE

#### 1. Flowcytometry

Van de meerderheid van de watergebonden bacteriën kunnen geen kweekculturen worden gemaakt omdat er geen standaard microbiologische kweekmedia beschikbaar zijn waarop deze bacteriën kolonies kunnen vormen. Als gevolg daarvan worden deze bacteriën niet opgepikt via de standaard detectie methoden. Bij het ontbreken van specifieke kweekmedia, wordt flowcytometrie ingezet vanwege de gegarandeerde snelle detectie alsook de reproduceerbaarheid van de resultaten bij het gebruik van verschillende type water. De bepaling van de bacterieconcentraties kan uitgevoerd worden binnen de 15 minuten en is mogelijk in een online opstelling. Naast de kwantificering maakt deze technologie het ook mogelijk om te differentiëren tussen intacte (levende bacteriën) en membraan gecompromitteerde bacteriën (dode/beschadigde).

#### 2. UV-Led Sensor

Eenzijds is continue online monitoring van het opgelost organisch materiaal (OOM) urgent voor toekomstige slimme en kosteneffectieve controle gedurende de waterbehandeling. Anderzijds is frequente controle van opgeloste organische koolstof (OOK) en toxische desinfectiebijproducten (DBP) relatief duur en tijdrovend. Als gevolg daarvan benadrukken veel agentschappen de noodzaak voor de surrogaatmonitoring van OOK als zowel een inschatting van het DBP-vormingspotentieel. Daarom is het noodzakelijk om een soort goedkope, kleine, energiezuinigere maar gevoelige sensor te ontwikkelen, die real-time feedbacksignalen kan geven voor automatische optimalisatie van de werkingsparameters en een inschatting kan geven van de vorming van DBP's gedurende de waterbehandeling. Spectrale metingen met inbegrip van UV-absorptie en fluorescentiesignalen, die geassocieerd worden met de bulk van het doodorganische materiaal (DOM), bieden bijzonder veelbelovende oplossingen voor frequente online monitoring.

#### 3. Opkomende innovaties

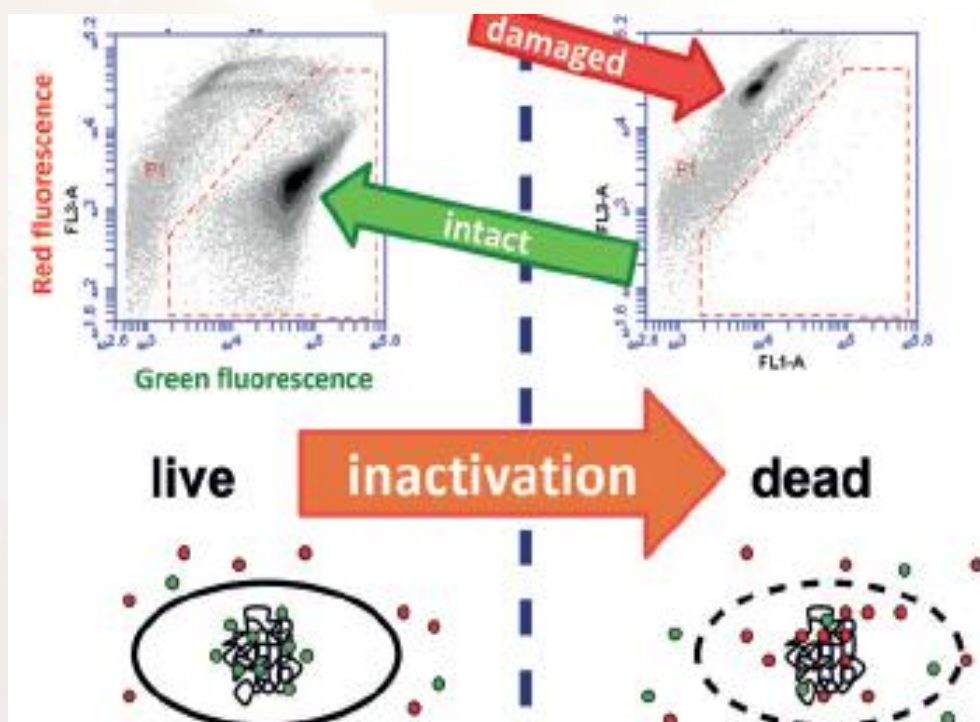
Ondanks de inspanningen om realtime monitoringsystemen te ontwikkelen, is er nog steeds een gebrek aan robuuste, continue en accurate verifieerbare real-timeapparaten die het potentieel voor grootschalige implementatie aantonen. Hun wijdverspreide toepassing is beperkt door het onvermogen om op betrouwbare wijze nauwkeurige en kosteneffectieve gegevens over de waterkwaliteit te verkrijgen. Aan de andere kant zijn het merendeel van de ontwikkelde onlinemonitoringsystemen directe aanpassingen van traditionele, op laboratoria gebaseerde analysemethoden die oorspronkelijk niet voor veldtoepassingen waren ontworpen. Bovendien zijn ze verplicht om te werken in extreme en variabele omgevingen én toch nauwkeurige en reproduceerbare resultaten te genereren. Bijgevolg vereisen deze methoden frequente kalibratie en onderhoud en verbruiken ze vaak grote hoeveelheden chemische reagentia. Bovendien zijn de analyseprocessen vaak gevoelig voor kruisreacties als gevolg van matrixvariëaties tussen de standaarden en de geanalyseerde monsters, aangezien de meetomstandigheden niet worden gecontroleerd. Er zijn ook belangrijke economische en logistieke kosten in verband met het onderhoud van apparatuur op afstand vanwege de moeilijkheid om problemen zoals sensorvervuiling op te sporen.

# 1. FLOWCYTOMETRY

## 1.1. Technologie

De integriteit van het celmembraan is een algemeen gehanteerd criterium voor het karakteriseren van intacte (actieve of inactieve) cellen en om hen te onderscheiden van beschadigde en door het membraan aangetaste cellen. Deze informatie is van groot belang in studies over het functioneren van microbiële gemeenschap in natuurlijke omgevingen, om zo de bulkactiviteiten toe te wijzen, gemeten met verschillende methoden, aan de zeer actieve cellen die effectief verantwoordelijk zijn voor de waargenomen processen. Het principe van deze aanpak gaat er vanuit dat wanneer er tegelijkertijd een permeabel (SYBR Green; Molecular Probes) en een impermeabele (propidiumjodide) sonde worden gebruikt voor het aankleuren van het nucleïnezuur, er een energieoverdracht plaatsvindt tussen beide sondes.

Een volledige emissie van de permeabele fluorescentie sonde veroorzaakt door de impermeabele sonde zal wijzen op cellen met een gecompromitteerd membraan, een verminderde fluorescentie zal wijzen op cellen met een licht beschadigde membraan. Bij een gebrek aan emissie worden de intacte membraancellen gekarakteriseerd en identificeren als levensvatbaar.



**Figuur 1: Voorbeeld van flowcytometriedichtheid van een bacterie suspensie met levende/intacte membraancellen (in rood gestreepte gebied) resp. met dode beschadigde membraancellen (buiten de stippellijnen) na het aankleuren met twee kleurstoffen**

## 1.2. Toepassing in waterterugwinning

Voor andere watertypen biedt flowcytometrie een snelle en betrouwbare bepaling van het aantal bacteriële cellen voor het monitoren tijdens de waterterugwinningsprocessen. Aangezien de detectie onafhankelijk is van groeimedia en kweekculturen van bacteriën, is het mogelijk om de gehele bacteriepopulatie in het water in kaart te brengen. Terwijl traditionele hygiënische indicatorbacteriën zoals coliformen, intestinale enterokokken of *Clostridium perfringens* meestal niet detecteerbaar zijn na membraanfiltratie en het totaal aantal kolonies alleen beschikbaar is na 2-3 dagen, biedt flowcytometrie een solide database voor de microbiologische beoordeling van de efficiëntie van verschillende waterbehandelingsstappen. De methode is compatibel met de 'Hazard analysis and critical control points' (HACCP) concept omdat de snelle detectie van veranderingen in de microbiologie een goede basis vormt voor proces gecontroleerde beslissingen.

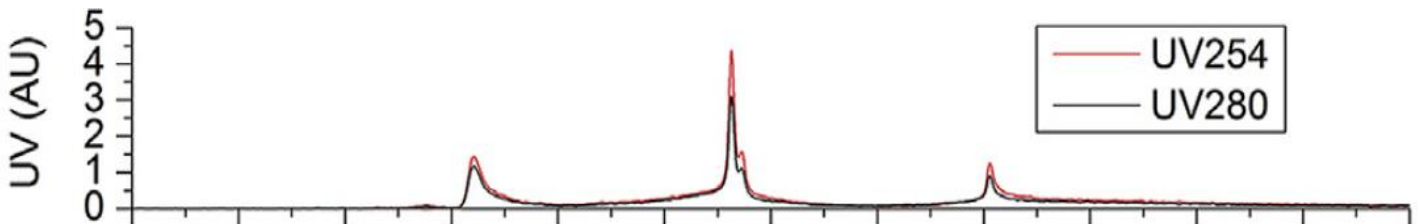




## 2. UV- Led Sensor

### 2.1. Technology

De LED-sensor meet tegelijkertijd UV 280 absorberende, proteïne- en humusachtige fluorescentie en is geschikt om chromoforen en fluoroforen met een goede gevoeligheid en nauwkeurigheid te monitoren. De vloeistofchromatografie met een organische koolstofdetector gecombineerd met 2D synchrone correlatieanalyse toont verder aan hoe de OOM-componenten met een groot moleculair gewicht werden getransformeerd tot kleinere eenheden in functie van de afname van de humusachtige fluorescentie. High performance size exclusion chromatografie met meervoudige UV-absorptie en meervoudige emissie fluorescentiescans worden toegepast om monsters spectraal te karakteriseren.



**Figuur 2: Afbeelding van een spectrofotometer met een diagram die de gemeten pieken van UV254 en UV280 laten zien.**

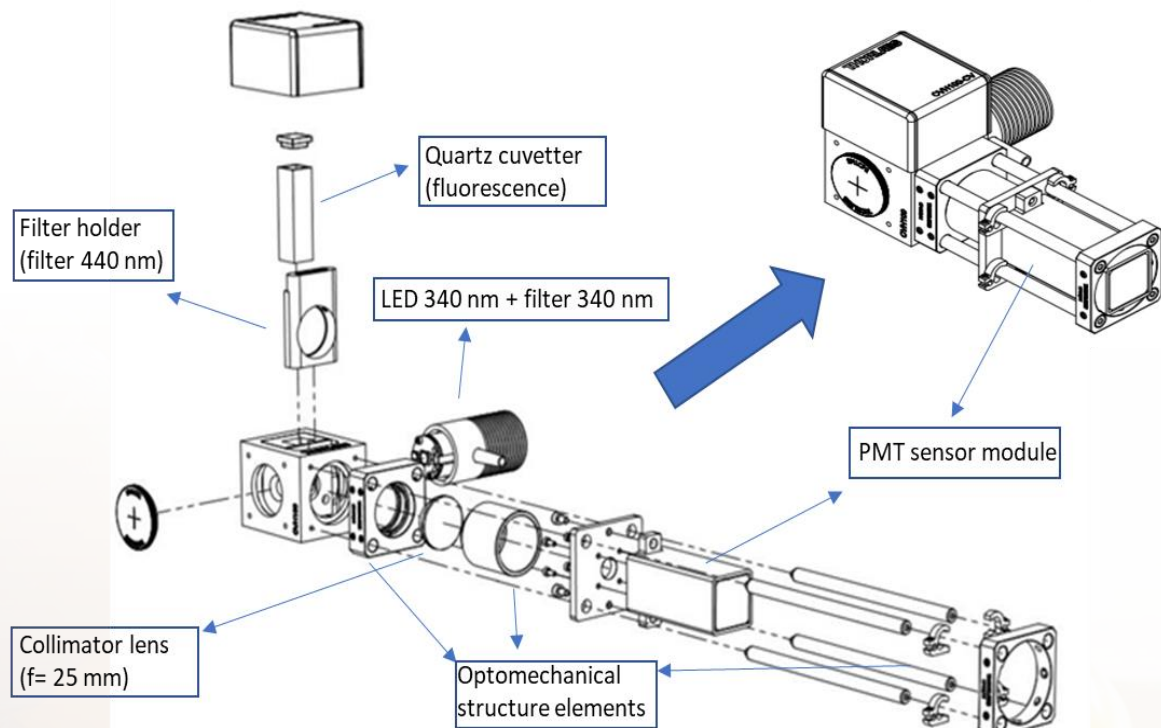
### 2.2. Toepassing bij waterterugwinning

Waterchlorering is de meest gebruikte desinfectiepraktijk bij de waterbehandeling omdat het de meeste ziekteverwekkers beschadigt en zorgt voor een residueel desinfecterend vermogen. Toxische desinfectiebijproducten (DBP's) ontstaan onvermijdelijk als gevolg van reacties tussen chloor en natuurlijk organisch materiaal (NOM) en hebben al eerder voor ernstige gevolgen voor de volksgezondheid gezorgd. Veel studies wijzen erop dat DBP's cytotoxisch en genotoxisch zijn en dat er een verband bestaat tussen chronische blootstelling aan DBP's en blaas- en darmkanker bij de mens. Wanneer men in staat is om deze producten te detecteren met LED-UV-fluorescentiesensor, kan de concentratie van deze producten aan het einde van de behandeling verminderd worden.

### 3. OPKOMENDE INNOVATIES

#### 3.1. Technologie

Specifiek voor de detectie van ziekteverwekkers in water is er een veelbelovend perspectief voor fotonische sensoren. Deze bieden een verbetering van de biologische detectie door gebruik te maken van de natuurlijke fluorescentie-eigenschappen van sommige bacteriën, zoals *Escherichia coli*. De door AIMEN voorgestelde pathogenensensor heeft tot doel de natuurlijke fluorescentie van bacteriën in watermonsters te detecteren in in situ metingen. Een grondige studie met watermonsters zal het verschil maken met de bestaande state of the art in dit gebied. Deze sensor geeft geen nauwkeurige *E.coli* kwantificering, maar voert een monitoring uit die een schatting maakt van de aanwezigheid van ziekteverwekkers. Dit moet worden opgevat als een vroegtijdig alarmsysteem. Dat zou de noodzaak impliceren van verdere laboratoriumanalyse om de aanwezigheid en CFU van ziekteverwekkers in het water te bevestigen. De methodologie is niet erg specifiek, maar vereist geen waterbehandeling, reagentia, voorbehandeling van het monster, waardoor het goedkoper en heel gemakkelijk te hanteren wordt.



**Figuur 3:** PMT-sensoropstelling voorgesteld door AIMEN voor fluoresciëmetingen van *E. Coli*

#### 3.2. Toepassing in waterterugwinning

Er zijn enkele sensoren ontwikkeld die toelaten de natuurlijke fluorescentie van deze bacteriën in reële omstandigheden direct te meten zonder behandeling van monsters en die rechtstreeks toepasbaar zijn in watercirculatiesystemen wat toelaat om een in-line water monitorings oplossing te reproduceren.

Er is echter geen melding gemaakt van het gebruik van deze sensoren op praktijklocaties of van het monitoren van echte watersamples van waterzuiveringsinstallaties. Maar met de door AIMEN voorgestelde pathogenensensor, zou deze sensor een in-line real-time bewakingsregeling zijn die continu de fluorescentie-emissie meet in een bypass in de waterzuiveringsinstallatie.

Indien de sensor goed werkt, betekent het een doorbraak in het monitoren van watersamples buiten de labo-condities zonder voorbehandeling van watermonsters, toevoeging van reagentia of dure apparaten.



## 5. Referenties

- Dartnell, L. (2013). Fluorescence characterization of clinically-important bacteria. PloS one vol. 8,9.
- Edberg, S. (2000). Escherichia coli: the best biological drinking water indicator for public health protection. J. Appl. Microbiol., 88, 106S-116S.
- Hesari, N. (2016). A biosensor platform for rapid detection of E. coli in drinking water. Enzyme and Microbial Technology vol. 83, Pages 22-28.
- Hongying, Z. (2012). Quantum dot enabled detection of Escherichia coli using a cell-phone. The Analyst vol. 137.
- Kilungo, A. (2013). Continuous Real-time Detection of Microbial Contamination in Water using Intrinsic Fluorescence. doi: 10.4172/2155-6210.S12-002. J Biosens Bioelectron S12:002.
- Li, W. T., Jin, J., Li, Q., Wu, C. F., Lu, H., Zhou, Q., & Li, A. M. (2016). Developing LED UV fluorescence sensors for online monitoring DOM and predicting DBPs formation potential during water treatment. Water research, 93, 1-9.
- Simões, J. (2018). Continuous and Real-Time Detection of Drinking-Water Pathogens with a Low-Cost Fluorescent Optofluidic Sensor. Sensors (Basel, Switzerland) vol. 18,7 2210.
- Wildeboer, D. (2010). Rapid detection of Escherichia coli in water using a hand-held fluorescence detector. Water Research vol. 44, Pages 2621-2628.
- Zulkifli, N. (2018). Detection of contaminants in water supply State-of-the-art monitoring technologies and their applications. Sensors and Actuators B 255 (2018), 2657–2689.



### CONTACT:

#### Cöordinator

Rafael Casielles (BIOAZUL SL)  
Avenida Manuel Agustin Heredia nº18 1ª4 Málaga (SPAIN)  
Mail | [info@suwanu-europe.eu](mailto:info@suwanu-europe.eu) Website | [www.suwanu-europe.eu](http://www.suwanu-europe.eu)

### CONTACT:

#### Verantwoordelijke voor factsheet

Andres Acosta (TTZ Bremerhaven)  
Am Ludeneich 12 27572 Bremerhaven (GERMANY) | Website |  
<https://www.ttz-bremerhaven.de/de/>



THIS PROJECT HAS RECEIVED FUNDING FROM  
THE EUROPEAN UNION' HORIZON 2020 RESEARCH  
AND INNOVATION PROGRAMME  
UNDER GRANT AGREEMENT N. 818088

