

# BIOFILM OG LUKT/SMÅK I DRİKKEVANN

Årsak eller symptom?

Gunhild Hageskal

SINTEF Bioteknologi og Nanomedisin



# DNA-sekvensering

## Kartlegge det mikrobielle samfunnet

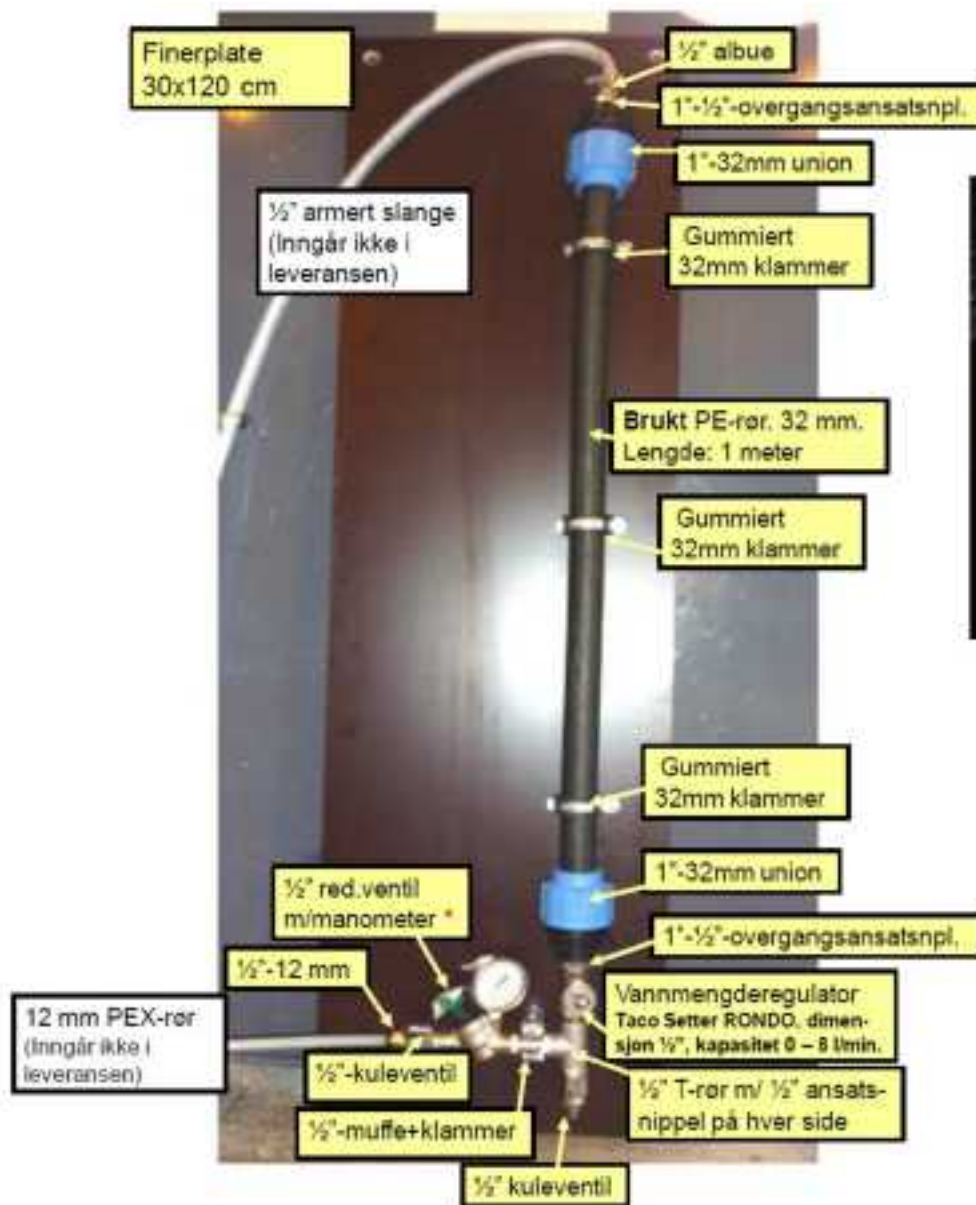
- Sekvensering av genetiske markører (Illumina MiSeq)
- Målet er å lese av organismenes genetiske kode for å kunne identifisere ulike grupper av mikroorganismer i en prøve (vha. Bioinformatisk analyse)
- Signatur / fingerprint av sammensetningen av bakterier, typisk på slektsnivå (genus)
- Kan vi si noe om smak/luktproblemet skyldes mikrobiologisk aktivitet?
- Kan vi si noe om hvilke organismer som er ansvarlig for problemet?
- Analysene kan gi ny informasjon om den mikrobiologiske tilstanden i vannet, i større grad enn dyrkningsanalyser



# Utfordringer

- For lite DNA og dårlig kvalitet for å gjennomføre sekvenseringsanalyser
- Prøvetaking biofilm - vanskelig å få nok materiale
- Ikke lukt/smaksproblem akkurat da prøvene ble tatt
- Hvilke andre muligheter har vi for prøvetaking?

## Biofilm-monitor: PE-rør satt inn på vannsystemet



# Uttesting av analyse av biofilm fra biofilmmonitorer

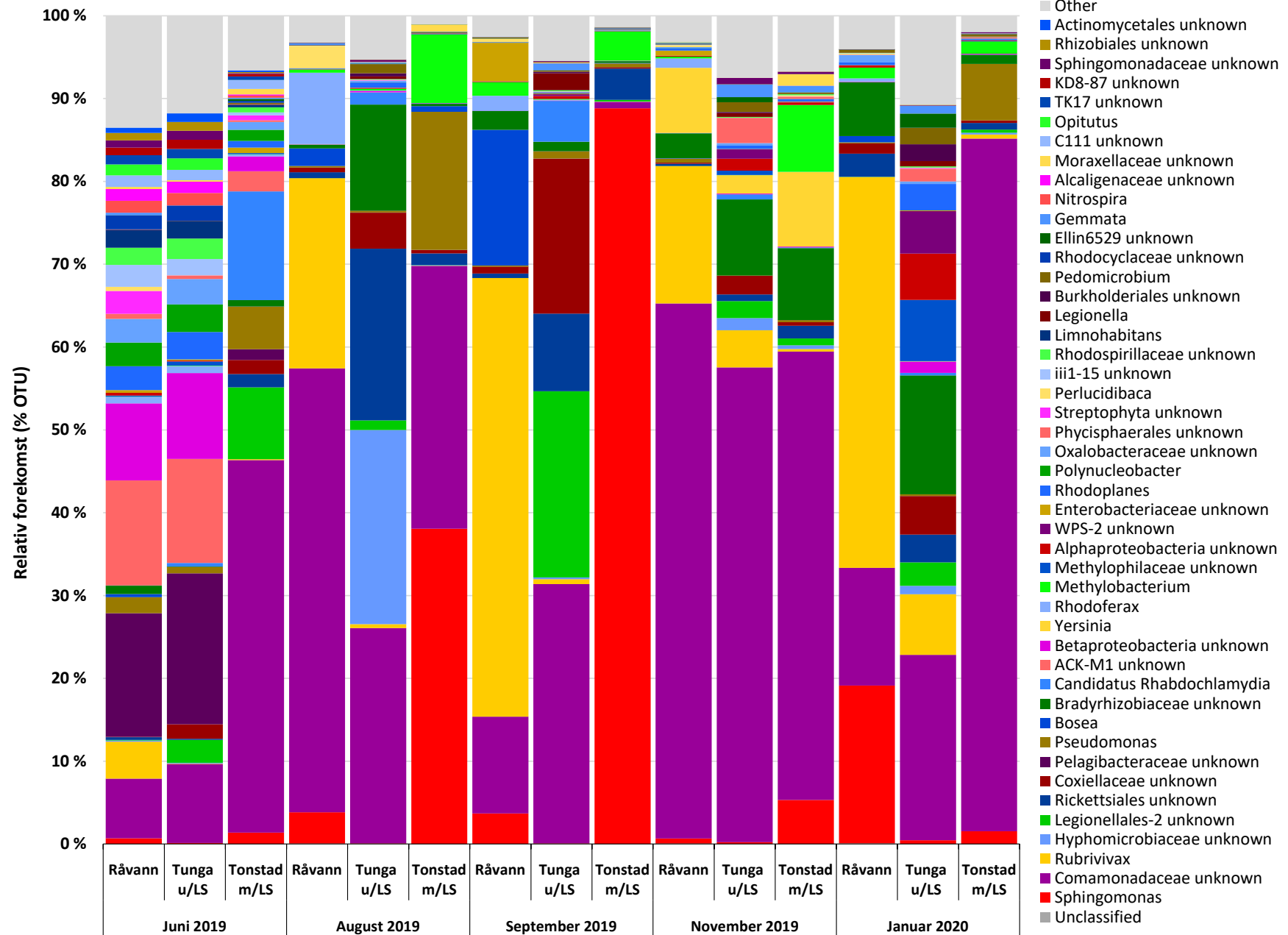
## Kartlegging av mikrobefunn i biofilm fra BFM i Sirdal

- Ekstra finansiering fra Norsk Vann
- Utplassering av **BFM (brukte PE-rør)** på nettpunkt med lukt/smaksproblemer (Tonstad) og ett uten problemer (Tunga), samt på råvannsinntaket
- Kutte av 3 rørbiter pr. prøvepunkt i **5 prøveomganger**
- Sekvensering av markørgener **16S** rRNA (encellede bakterier), **18S** (flercellede organismer) og **ITS** (spesielt for sopp)
- Oversikt over hvilke mikroorganismer som lever der og mengdeforholdet mellom dem
- Sammenligne med ATP-analyser, metall-analyser, og lukt/smak scan-analyser (MS)

# Bakterielt biofilmsamfunn

## Systematikknivå Genus (slekt)

- Resultater fra alle prøvepunkter og prøveomganger
- % Relativ forekomst
- Fingerprint / mønster
- **Comamonadaceae** dominerende
- Bakterieslekt beskrevet som vanlig i jord, vann og planter
- Ikke rapportert ifm. lukt/smak
- Innblikk i naturlig utvikling av biofilm i et vannsystem
- Forholdsvis lav bakteriediversitet sammenlignet med f.eks. jord





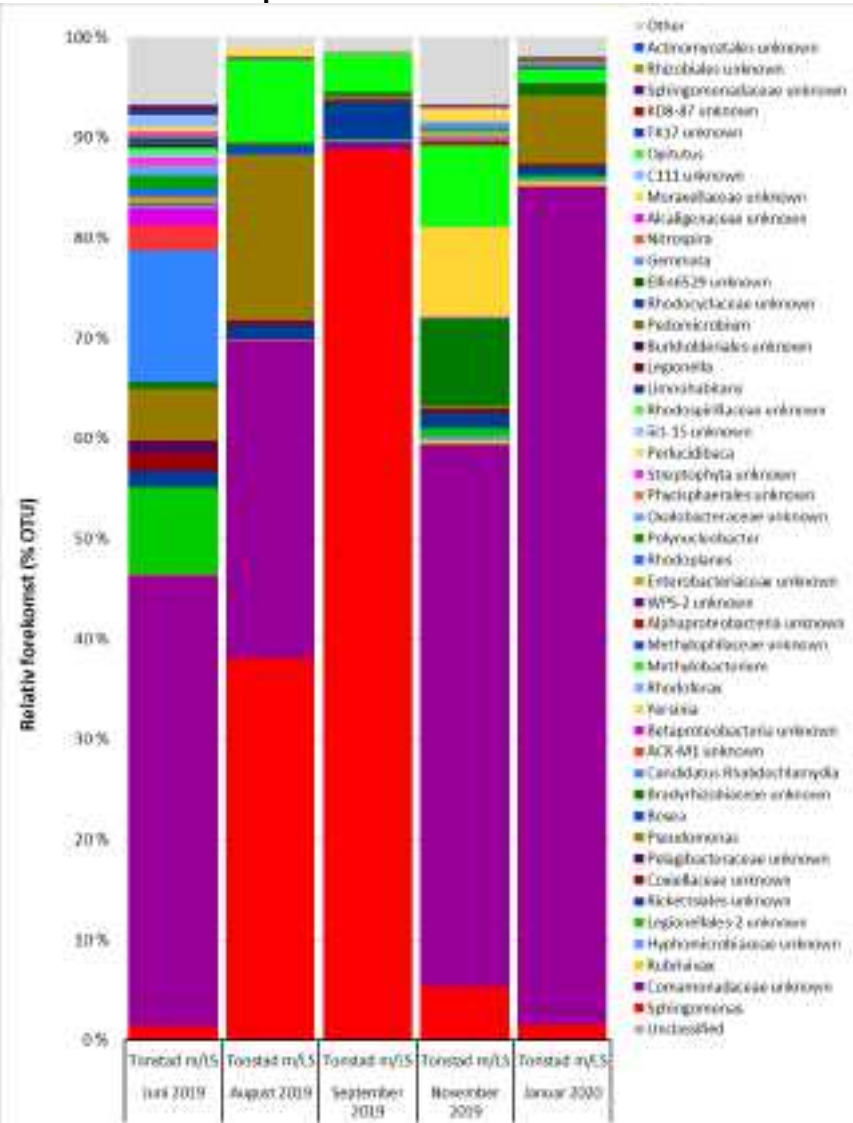
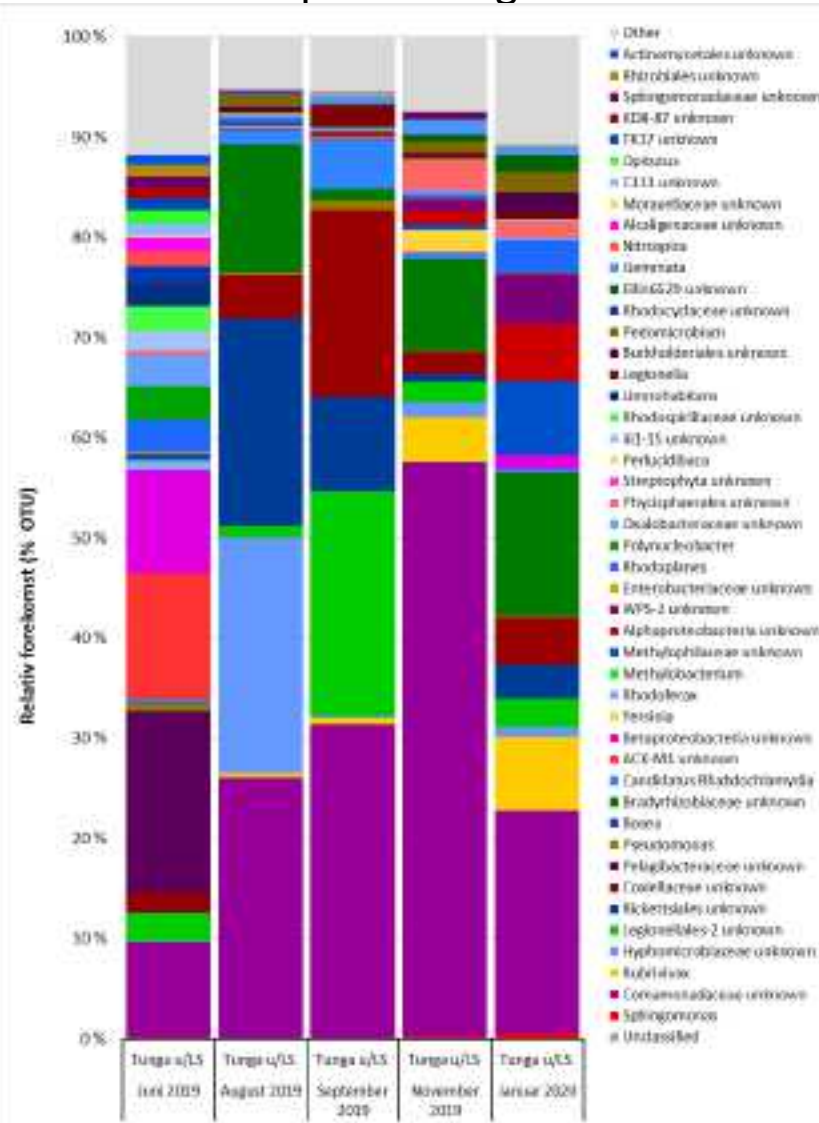
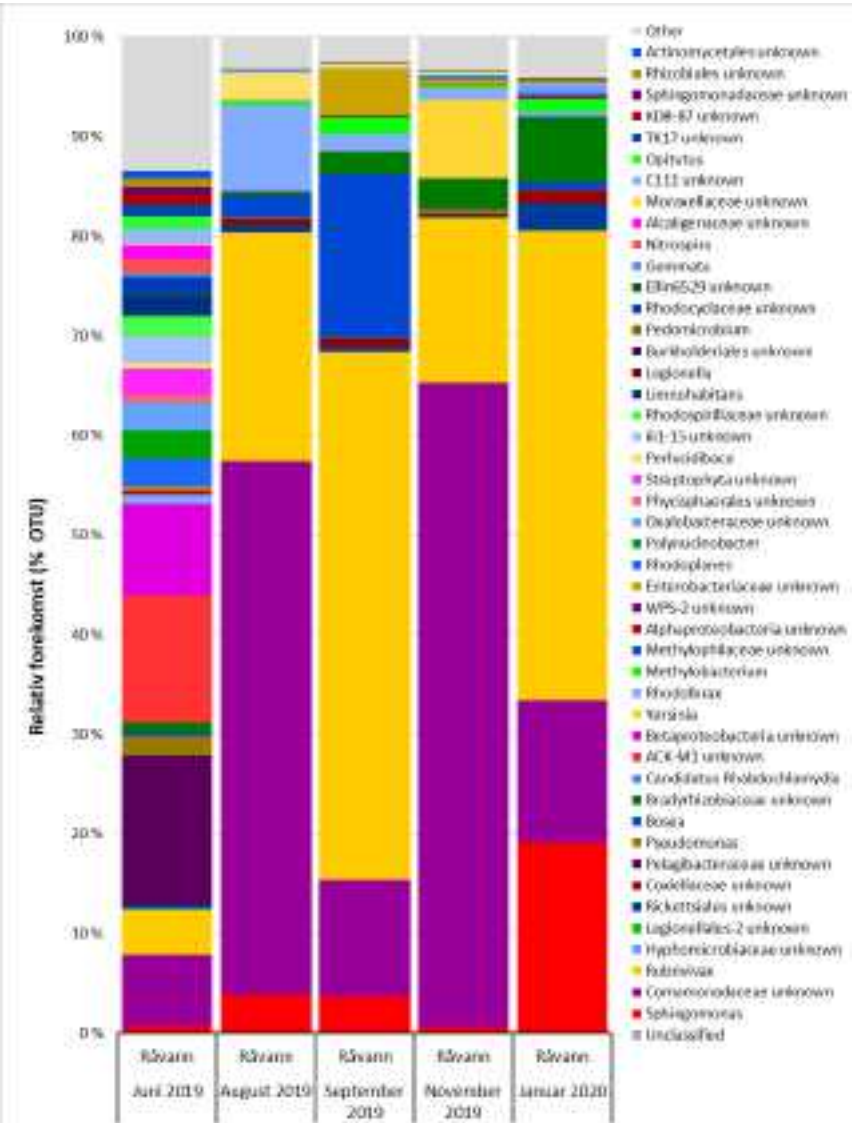
# 16S – utvikling av bakterielt samfunn i biofilm fra juni til januar 2019-2020

## Systematikknivå Genus (slekt)

Råvann

Nettpunkt Tunga

Nettpunkt Tonstad

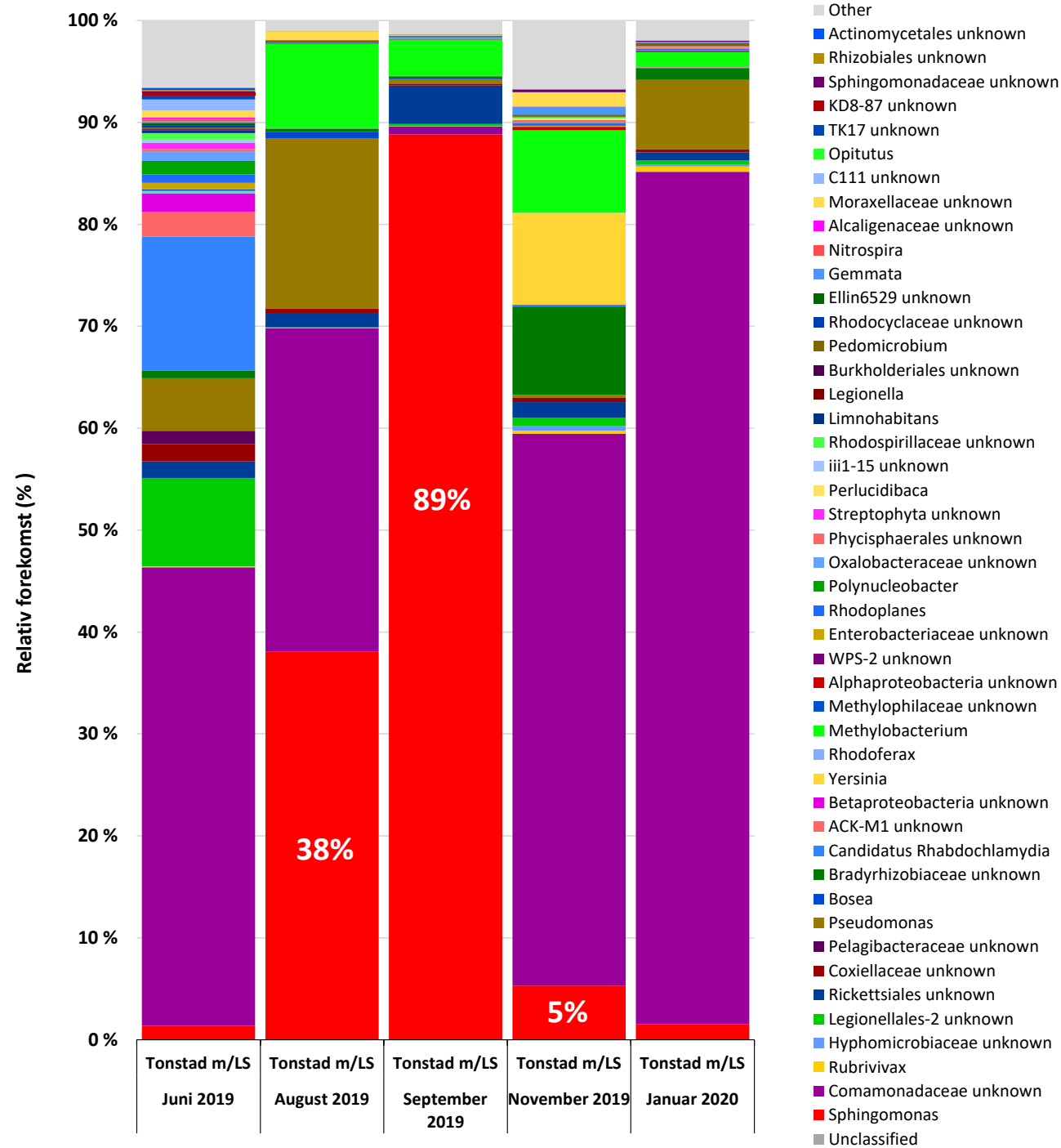


# Tonstad – oppvekst av *Sphingomonas*

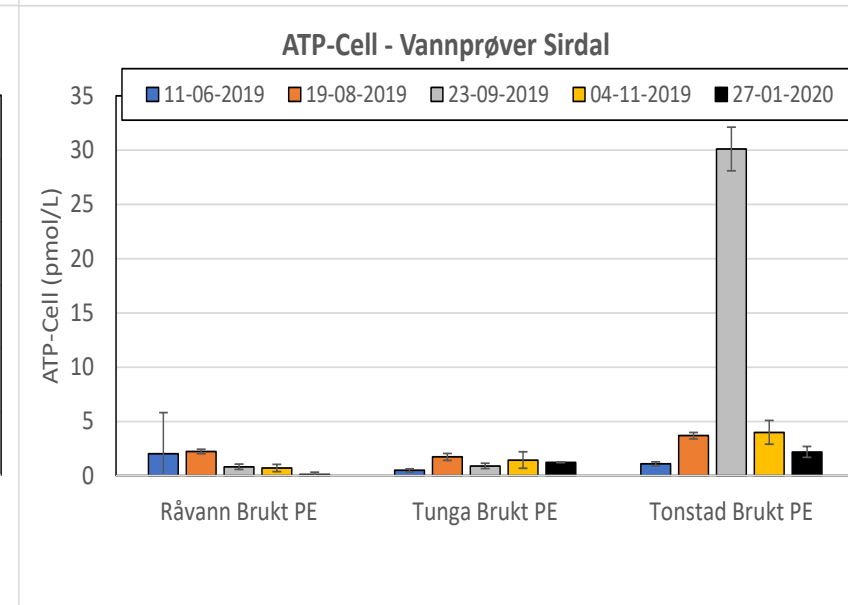
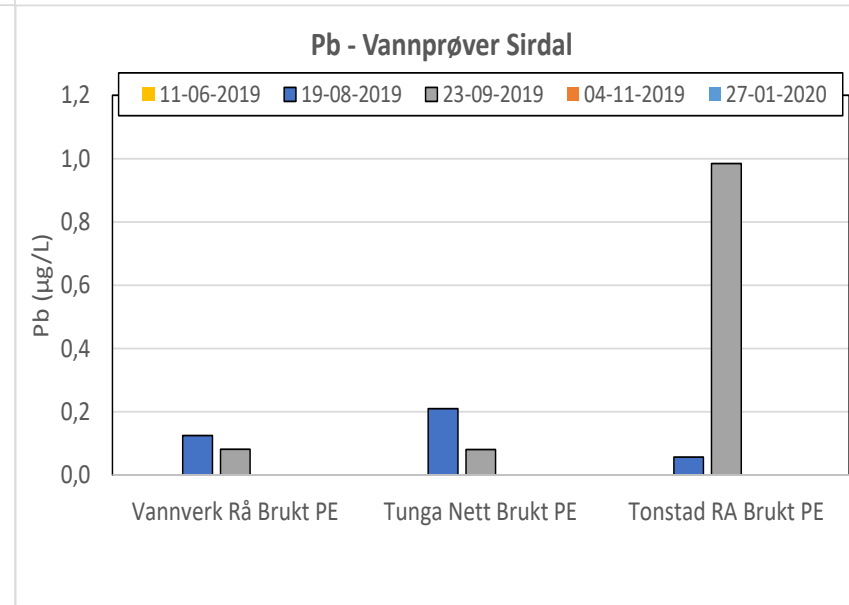
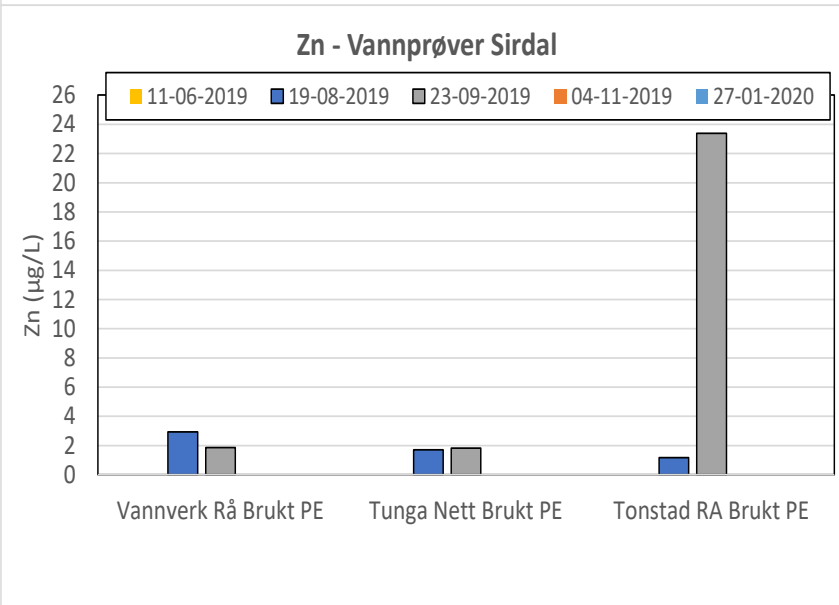
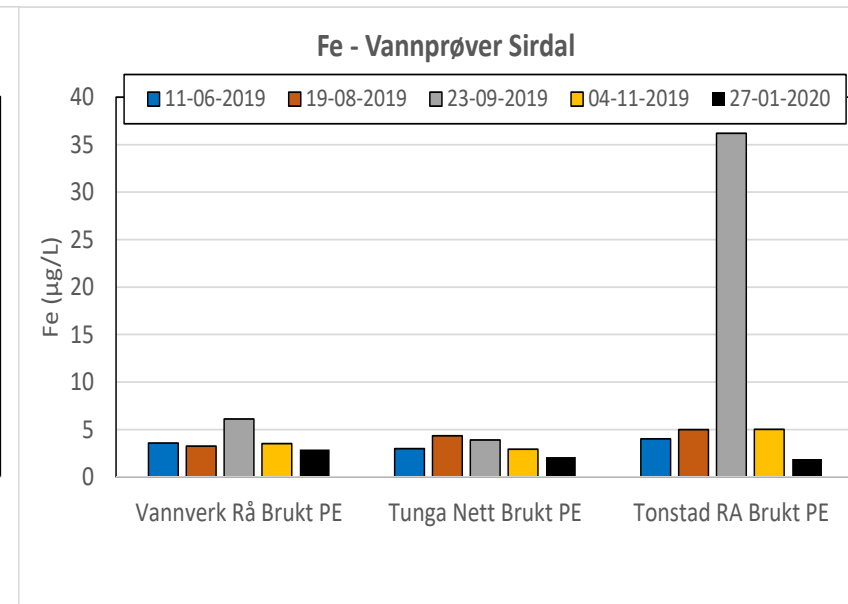
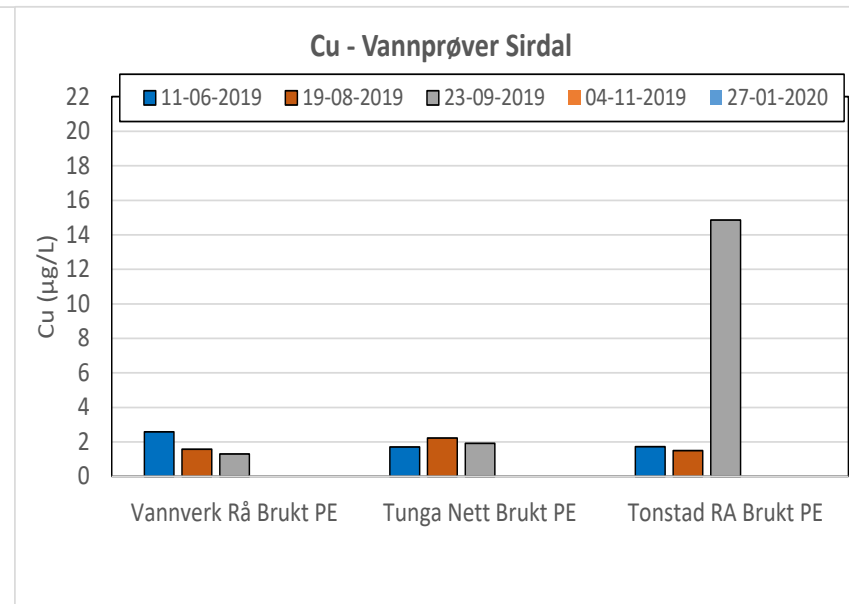
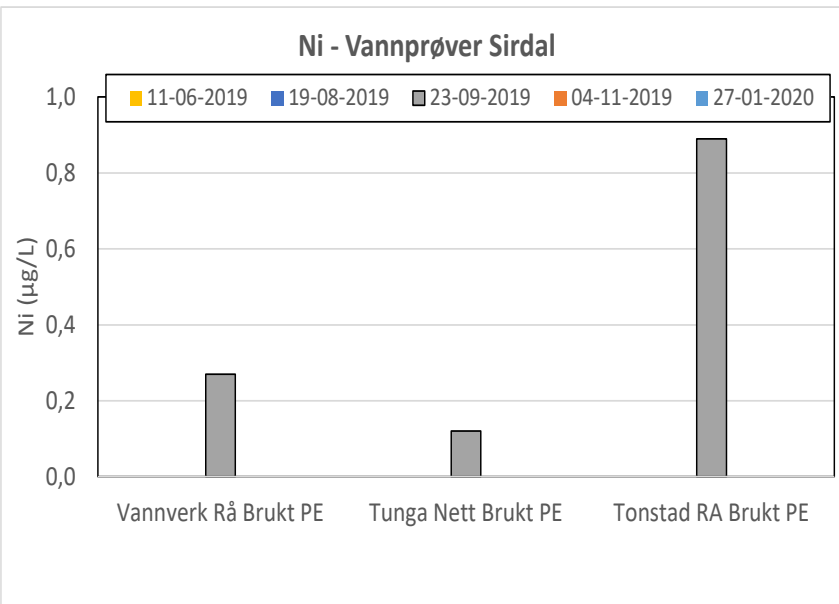
Systematikknivå Genus (bakterieslekt)

- Tonstad har tidligere hatt episoder med lukt/smaksproblemer
- Spesielt i septemberprøven var det en veldig dominans av bakterieslekten *Sphingomonas* (89%).
- *Sphingomonas* utnytter et bredt spekter av naturlige forbindelser som næringskilde, også miljøforurensende stoffer.
- Bakterien har blitt brukt til bioremidering (opprensing av miljøforurensning), og nyere forskning viser at *Sphingomonas*-arter spiller en rolle i degradering av metallorganiske stoffer
- Hva er det som gjør at denne bakterien etablerer seg i Tonstad?

7



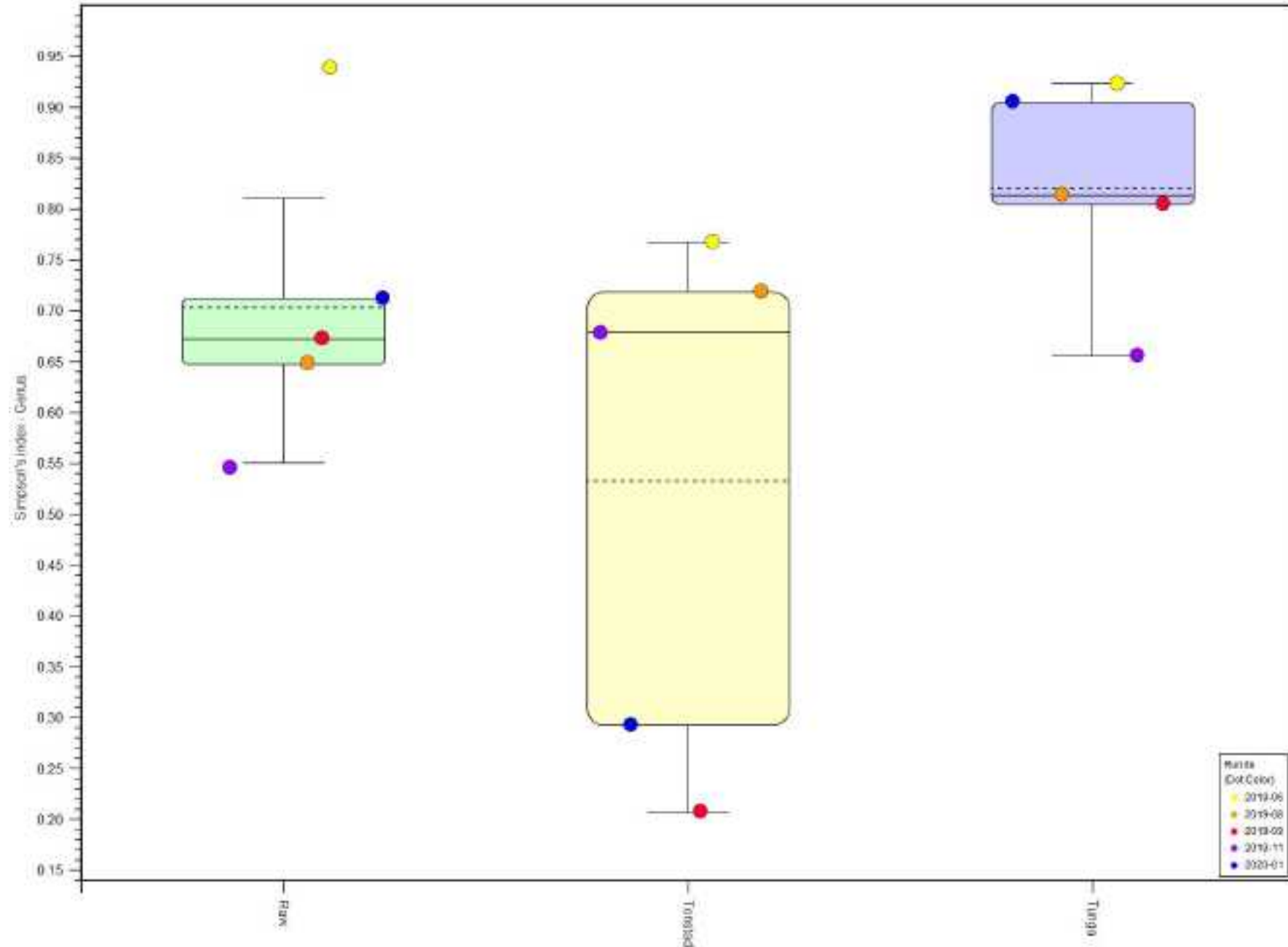
# Høyt nivå av tungmetaller og ATP i vannprøvene fra Tonstad tatt i september!





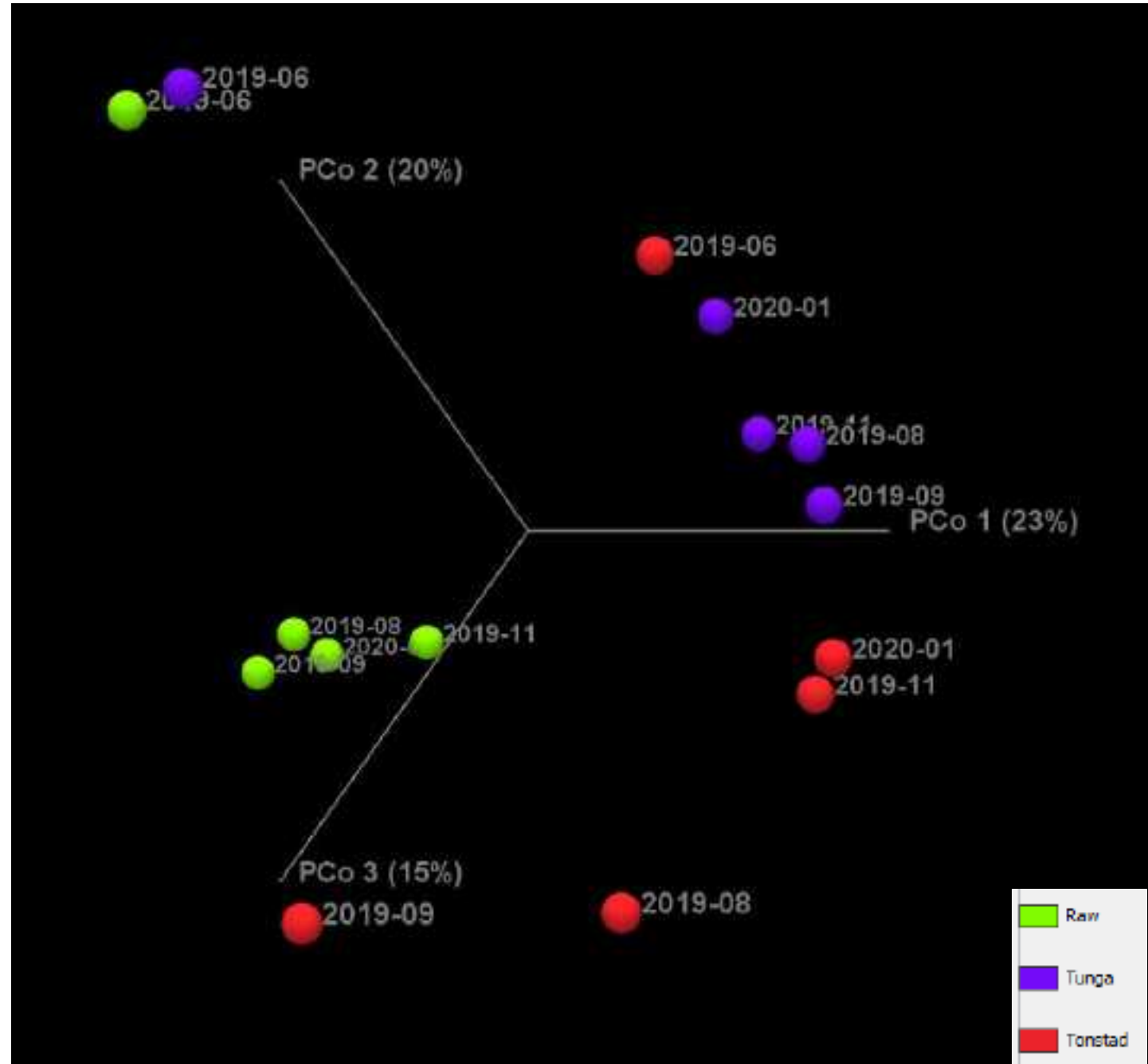
# Simpson's index:

- Statistisk diversitetsindex som gir info om antall og frekvens av slekter et bakteriesamfunn består av
- Boksene viser variasjonen i diversiteten i **prøvepunktene**
- Minst variasjon i diversitet i råvann (stabil biofilmsamfunn)
- Mer variasjon i diversitet i nettpunktene
- Diversiteten av bakterier varierer mest i Tonstad (ustabil biofilmsamfunn)



## Bray Curtis analyse:

- En statistisk analyse av endringen i diversitet **mellom prøvepunkter**
- Avstanden mellom punkter sier noe om likhet/ulikhet i bakteriesamfunn mellom prøvepunkter og prøveomganger
- Juniprøvene skiller seg ut, mest ulik for alle prøvepunkter, første kolonisering
- Råvann minst endring i bakteriesamfunn mellom prøveomganger
- Tonstad mest endring i bakteriesamfunn mellom prøveomganger
- Hva skiller Tonstad og Tunga?



# Oppsummering mikrobekartlegging Sirdal

- Beskriver mikrobefamfunn og utvikling av biofilm i drikkevann over tid
- Utplassering av BFM er en god måte å prøveta biofilm på
- Tonstad skiller seg ut, mest endring/ustabilt biofilmsamfunn sammenlignet med råvann og Tunga
- Tonstad har dominerende bakterieslekter forbundet med bioremidering og forurensning (spesielt i septemberprøven)
- Sammenheng mellom resultatene fra sekvensering, metall-analyser og ATP-analyser.
- Sammenheng mellom kjemisk vannkvalitet og biofilmsamfunn!
- **Lukt/smaks-problemet:** Resultatene tyder på at det er noe spesielt med Tonstad-punktet, finnes det en forurensningskilde eller er det biofilmavskalling vi ser her? Sannsynligvis ikke mikrobene i seg selv som forårsaker problemet, de er heller en indikator på gunstige forhold for oppvekst (ingen smak/lukt rapportert ila. forsøket)

# SINTEF – Team bioteknologi



**Sr. Ing. Tone Haugen**  
DNA-ekstraksjon,  
sekvensering, ddPCR



**Dr. Tonje B Heggeset**  
Bioinformatikk, sekvensering,  
metagenomikk



**Dr. Anna Lewin**  
Molekylærgenetikk,  
eDNA, metagenomikk



**Dr. Gunhild Hageskal**  
Mikrobiologi, vannkvalitet,  
metodeutvikling



Teknologi for et bedre samfunn