

Popular science summary

Humans have a complex relationship to water. Natural bodies of water are a source of drinking water, our most consumed foodstuff, while simultaneously being the recipients for much of our waste. To ensure that our drinking water is safe and wholesome, and that our wastewater does not damage the recipient environment, a variety of treatment processes are used. Many of these processes rely on the activity of microbes, providing sustainable and adaptive alternatives to chemical and mechanical treatments.

However, the complexity and uncharacterized dynamics of these microbial processes make biological treatment options comparatively more difficult to control, limiting the ability of water engineers to optimize the treatment. Myriads of poorly understood microbial species affect the water quality at every treatment step. Some of them are helpful, consuming chemical compounds that compromise water quality. Others are harmful, such as bacteria that make us sick, or make the water taste bad. Even when the water has been disinfected and distributed, microbial processes still occur.

Deciphering how microbes interact with their environments and each other is key to understanding both the underlying mechanisms of biological water treatment, and how we can harness the activity of microbes to improve water quality. The fundamental requirement for microbial growth is that their environment contains the atoms needed to produce biomolecules, a source of energy, a source of electrons and a suitable electron acceptor. Many of these components exist in forms which are undesirable in water, and so their consumption by microbes contributes to improved water quality. As an example, denitrifying bacteria can use hazardous nitrate as an electron acceptor, producing harmless dinitrogen gas.

Engineering interventions can change the availability of the fundamental components for microbial growth, and thus the resident microbial communities. This is exemplified in this thesis by two studies within the drinking water context. The first study characterized microbial community differences caused by ozonation of the influent water to slow sand filters for drinking water production. Slow sand filters are submerged beds of sand through which water flows at a low rate, being purified by microbes along the way. Ozonation was used to break down natural organic matter in the water entering the filter into smaller molecules. This favored the growth of microbes adapted to the use of these smaller molecules over those adapted to using larger organic matter molecules. As such, changing the natural organic matter profile is one way to alter the microbial communities of slow sand filters.

The second study characterized the response of the microbial community in a full-scale drinking water distribution system to the removal of the disinfectant monochloramine. Aside from being a disinfectant, monochloramine is also a source of ammonia, which can be used as a source of energy for carbon-fixing bacteria. The carbon fixed by these bacteria can then be used by other microbes in the distribution system. When monochloramine was removed, the environmental conditions in the distribution system could no longer support these microbes. As such, they were replaced by different microbes, including specialized bacterial predators of other bacteria. While monochloramine has been associated with potential health hazards, the microbial communities of the disinfectant-free distribution system did not seem to indicate any increased microbial risk. As such, water quality could be considered improved.

Microbes themselves can also change their local environments. In this thesis, this is shown by one study of a bioreactor treating wastewater, and two studies of slow sand filters for drinking water production. In the first study, the development of a functional partial nitrification-anammox community was followed over 175 days. The objective of the partial nitrification-anammox process is to remove nitrogen from the wastewater through the activity of microbes. This is complicated by the fact that some microbes key to this process use oxygen (aerobes), while others prefer to grow without the presence of oxygen (anaerobes). Microbes solve this dilemma by forming biofilms: slimy layers in which regions can have higher or lower concentrations of oxygen. After 100 days of growth by aerobic microbes, the biofilm was mature enough to support the growth and activity of essential anaerobic microbes. Further work

promoting the activity of the pioneering aerobic microbes in this setting may lead to shorter start-up times in the future.

Two additional studies of the microbial community of slow sand filters showed that the ability of microbes to alter their local environments can be applied through inoculation. An experiment was undertaken where one full-scale slow sand filter was inoculated with sand from established filters, whereas another was constructed entirely with new sand. This inoculation changed the development of the bacterial communities: the inoculated filter retained most of its bacterial community throughout the entire project, while the non-inoculated filter community experienced rapid changes of the microbial community. The non-inoculated filter also did not function as well as the inoculated filter. This showed that the inoculating microbes could establish themselves in the new filter and were not outcompeted by microbes from the water entering the filter, while also being able to perform the desired slow sand filter functions. A study of the fungal communities in the same slow sand filters additionally indicated that the inoculation process led to the transfer of entire food chains. Specific parasitic fungi, which live inside other eukaryotic cells, were present in the inoculated filter, but not in the non-inoculated filter. They were probably introduced in the inoculated filter together with their hosts.

It's clear that there are a variety of ways available to change the microbial communities of water systems, but how should they be changed to maximize the benefit to humans? To answer this, we need a systematic understanding of how microbes interact and affect water quality. As such, this thesis presents a mechanistic mathematical model of slow sand filtration, incorporating physical and biological mechanisms. The current model simulates the relationships between microbes capable of photosynthesis and microbes that break down organic material and could be adapted to describe other members of the microbial community. Engineering interventions, such as covering the slow sand filter from sunlight, or removing the top layer of sand to restore flow, can be experimentally simulated in the model. This enables scientific experimentation and hypothesis generation without posing risks to drinking water treatment.

To enable the development of more accurate models of slow sand filters, there is a need for a more detailed understanding of the interactions between the resident microbes. This could be achieved by isolating these microbes and characterizing their properties and genes to produce models of their metabolism. Subsequent steps could be made with pairs of microbes, allowing the generation of models for their pairwise interactions. Eventually, this could be extrapolated to the full set of microbes and microbial interactions present in a slow sand filter.

When a greater understanding of the interplay between engineering interventions and microbial community processes is gained, the sustainable production of clean water can be optimized and future proofed. By overcoming the challenges of gaining this understanding, we will be more ready to face the broader water-related challenges associated with climate change.

Populärvetenskaplig sammanfattning

Människor har ett komplicerat förhållande till vatten. Ytvatten är källor till dricksvatten, vårt mest konsumerade livsmedel. Samtidigt mynnar stora delar av vårt avloppsvatten ut i ytvatten. För att vara säkra på att vårt dricksvatten är säkert och hälsosamt, samt att vårt avloppsvatten inte skadar den mottagande miljön, använder vi en rad reningsprocesser. Många av dessa reningsprocesser förlitar sig på aktiviteten hos mikroorganismer, och är hållbara alternativ till kemiska och mekaniska behandlingsmetoder.

De biologiska processernas komplexitet och utforskade dynamik gör dem dock svåra att styra, vilket begränsar möjligheterna att optimera behandlingen. En stor mängd relativt ostuderade mikroorganismer påverkar vattenkvaliteten vid varje reningssteg. Vissa är hjälpsamma, och bidrar till att öka vattenkvaliteten genom att förbruka oönskade kemikalier. Andra är skadliga, som bakterier som gör oss sjuka, eller försämrar vattnets smak. Även efter att vattnet renats och skickats ut i dricksvattnenätet, fortsätter mikroorganismer att leva och påverka vattnet.

Att förstå hur mikroorganismer interagerar med sina omgivningar och varandra är nyckeln till att förstå hur biologisk vattenrening fungerar, och hur den kan förbättras. Det grundläggande kravet för att mikroorganismer ska kunna växa är att deras omgivning innehåller atomerna nödvändiga för att producera biologiska molekyler, en energikälla, en källa till elektroner och en lämplig mottagare för elektronerna. Många av dessa komponenter finns i form av kemikalier som är oönskade i vattnet; därmed är det positivt för vattenkvaliteten att mikroorganismer förbrukar dem. Som ett exempel kan denitrifierande bakterier göra skadligt nitrat till ofarlig kvävgas.

De val som vatteningenjörer gör påverkar tillgängligheten av de grundläggande komponenterna för mikroorganismers tillväxt, och därmed de mikrobiella samhällen som finns i vattnet. Detta åskådliggörs av två studier inom dricksvattenområdet. Den första studien beskriver förändringar av det mikrobiella samhället i ett långsamfilter för dricksvattenproduktion, orsakade av ozonering av det inflödande vattnet. Långsamfilter är bäddar av sand, nedsänkta i vatten, där vatten drivs igenom med låg hastighet och blir renat av mikroorganismer. Ozonering bryter upp naturligt organiskt material som finns i det inflödande vattnet från stora till mindre molekyler. Det främjade tillväxten hos mikroorganismer som var anpassade till att använda dessa små molekyler, över tillväxten hos de mikroorganismer som är anpassade för att använda större molekyler. Att ändra sammansättningen av naturligt organiskt material är alltså ett sätt att ändra långsamfilters mikrobiella samhällen.

Den andra studien undersökte förändringar av det mikrobiella samhället i ett fullskaligt dricksvattendistributionssystem som svar på avslutad tillsats av desinfektionsmedlet monokloramin. Förutom att vara ett desinfektionsmedel är monokloramin också en källa till ammoniak, som kan användas som en energikälla av kolfixerande bakterier. Kolet som fixeras av dessa mikroorganismer kan sedan användas av andra mikroorganismer i distributionssystemet. När monokloramin togs bort, förändrades levnadsförhållandena för dessa mikroorganismer. Efterhand ersattes de av andra sorters mikroorganismer, exempelvis rovbakterier som livnär sig på andra bakterier. I motsats till de kända hälsorisker som associeras med monokloramin, verkade de nya mikroorganismerna inte medföra några uppenbara risker. Därmed kunde vattenkvaliteten betraktas som förbättrad.

Mikroorganismer kan också själva förändra sina omgivningar. I denna avhandling visas detta av en studie av en bioreaktor som behandlade avloppsvatten, och två studier av långsamfilter för dricksvattenproduktion. I den första av dessa studier följdes utvecklingen av det mikrobiella samhället i en partiell nitritation-anammoxreaktor under 175 dagar. Målet med partiell nitritation-anammoxprocessen är att ta bort kväve från avloppsvatten med hjälp av mikroorganismer. Processen kompliceras av att vissa viktiga mikroorganismer behöver syre (aerober) medan andra inte tål syre (anaerober). Mikroorganismer kan lösa detta dilemma genom att bilda biofilmer: slemmiga lager där områden kan ha högre eller lägre syrekoncentrationer. Efter att aerober hade växt i 100 dagar var biofilmen mogen nog för att stödja tillväxten av anaerober. Framtida forskning om hur de aeroba mikroorganismernas tillväxt kan främjas skulle kunna leda till snabbare uppstart av nitritation-anammoxprocesser i framtiden.

De två studierna av långsamfilters mikrobiella samhällen visar att förmågan hos mikroorganismer att förändra sina omgivningar kan tillvaratas genom inokulering. Ett experiment utfördes där ett nytt fullskaligt långsamfilter inokulerades med sand från etablerade långsamfilter, medan ett parallellt filter anlades med helt ny sand. Denna inokulering förändrade utvecklingen av filtrens mikrobiella samhällen: det inokulerade filtret bibehöll till stor del samma mikrobiella samhälle under hela projektet, medan det oinokulerade filtret hade hög omsättning, och även fungerade sämre. Inokulerande mikroorganismer kunde alltså etablera sig i det nya filtret utan att konkurreras ut av mikroorganismer från det inflödande vattnet, och samtidigt utgöra ett fungerande långsamfilterssamhälle. En studie av svampar i samma långsamfilter indikerade vidare att hela näringskedjor överfördes i och med inokuleringen. En sorts parasitisk svamp, som lever inuti andra eukaryota celler, fanns i det inokulerade men inte i det oinokulerade filtret. De överfördes förmodligen till det inokulerade filtret tillsammans med sina värdjur.

Det är tydligt att det finns flera sätt att förändra de mikrobiella samhällena i vattensystem, men hur ska de förändras för att maximera nyttan för människor? För att svara på detta behövs en mekanistisk förståelse för hur mikroorganismer interagerar och påverkar vattenkvaliteten. Med detta som mål presenterar denna avhandling en mekanistisk modell av ett långsamfilter, som inkluderar fysikaliska och biologiska processer. Den nuvarande modellen simulerar relationen mellan fotosyntetiserande mikroorganismer och mikroorganismer som bryter ned organiskt material, men kan utökas till att inkludera andra medlemmar av det mikrobiella samhället. Förändringar i processbetingelser, som att täcka över långsamfiltren, och underhållsarbeten, som att skrapa av topplagret sand för att återställa flödet, kan simuleras experimentellt i modellen. Detta tillåter vetenskaplig experimentering och hypotesformulering utan att riskera dricksvattenproduktionen.

För att utveckla mer realistiska modeller av långsamfilter, behövs en mer detaljerad förståelse för interaktionerna mellan de inneboende mikroorganismerna. Detta kan uppnås genom att isolera dessa mikroorganismer, undersöka deras egenskaper och gener, och skapa specifika modeller för deras metabolism. Därefter kan par av mikroorganismer undersökas, för att skapa modeller över deras interaktioner. Slutligen kan denna kunskap extrapoleras för att gälla alla mikroorganismer i långsamfilter.

När en djupare förståelse av interaktionen mellan förändrade processbetingelser och mikrobiella processer uppnås, kan vi optimera och framtidssäkra våra system för hållbar dricksvattenproduktion. Detta kommer innebära utmaningar, men genom att övervinna dem kommer vi vara mer redo att möta de bredare vattenrelaterade utmaningarna vi står inför när klimatet förändras.