

De rol van protozoën in de waterzuivering*)

Inleiding

De biologie is in de studie van de processen die een rol spelen bij de kunstmatige zuivering van afvalwater d.m.v. actief slibinstallaties en oxidatiebedden altijd een beetje het stiefkind geweest. Dit ondanks het feit dat al omstreeks de helft van de 18e eeuw gewezen werd op het belang van micro-organismen bij de afbraak in de natuur. Sir Edward Frankland schreef in een rapport van de River Pollution Commission in 1870 dat het zuiveringsproces niet louter mechanisch was, maar dat er ook chemische oxidatie optrad. Hij had nog geen oog voor de rol van de micro-organismen [18].

Dit mechanisch-chemische concept van het zuiveringsproces heeft tot in onze tijd zijn invloed doen gelden. We weten veel meer van de fysische en chemische processen die optreden gedurende de zuivering, dan van de rol van de verschillende organismen in het proces. Dit is erg vreemd, omdat het uiteindelijk de organismen zijn die de zuivering bewerkstelligen.

Dat bij de zuivering bacteriën van groot belang zijn, werd al spoedig ingezien. Aan de aanwezigheid van andere organismen zoals protozoën, rotiferen, nematoden in actief slib, en in oxidatiebedden behalve deze ook nog crustaceën, wormen, insecten, enz., is in de praktijk van de waterzuivering weinig aandacht besteed. Hun rol bij de zuivering is over het algemeen niet erg hoog aangeslagen. Wel is er betrekkelijk veel onderzoek gedaan naar de functie van deze organismen, maar meestal kwamen de onderzoekers niet verder dan het formuleren van een aantal hypothesen. De tijdrovende laboratoriumproeven, die deze hypothesen moesten toetsen, bleven achterwege, of werden op een niet adequate manier uitgevoerd (zoals bijv. [35]). Pas de laatste jaren is een begin gemaakt met dit laboratoriumwerk (bijv. [13]) en ook vanuit de praktijk komen publicaties die op het belang van protozoën wijzen [16].

Dit artikel is een verkorte weergave van een literatuurstudie. Na een paar korte opmerkingen over protozoën in het algemeen en over enkele ecologische principes die bij de zuivering van afvalwater van belang zijn, zal ingegaan worden op de rol van de protozoën in het eigenlijke proces van de zuivering. Tenslotte zullen nog enige woorden gewijd worden aan de rol van protozoën als indicator van de toestand in de installatie.

Protozoën; algemeen

Protozoën zijn over het algemeen éencellige organismen [23, 25, e.a.]. De grootte varieert sterk tussen de verschillende

soorten en ook binnen één soort is er een zekere variatie. In het algemeen bezitten de bij waterzuiveringsprocessen aangetroffen soorten afmetingen tussen de 5 en 300 μ [6, 8].

De levenswijze van deze groep organismen is zeer gevarieerd. Men kan ze aantreffen in vochtige bodems, in zout en zoet water en ook als parasieten van mens en dier. Van de zoetwatervormen kunnen sommige anaeroob leven, de meesten zijn facultatief of obligaat aeroob. Vele protozoën hebben als voeding ingewikkelde organische verbindingen nodig, anderen voeden zich met eenvoudige organische verbindingen. Weer anderen kunnen m.b.v. chlorofyl zelf organische stof synthetiseren en nemen genoegen met simpele zouten. Bepaalde soorten kunnen het voedsel opnemen in de vorm van partikeltjes (dode of levende materie) door ze op een willekeurige plaats met hun lichaam te omsluiten, andere soorten doen dit d.m.v. een mondopening op een vaste plaats. In het laatste geval is er meestal wel een of andere voorziening, die een stroom water in de richting van de mondopening stuwt, waaruit de voedseldeeltjes dan geselecteerd kunnen worden [18, 19, 23, 25 e.a.].

Sommige protozoën bewegen zich d.m.v. een soort rollende beweging binnen de cel, waardoor bepaalde delen uitstulpen en intrekken (de cel heeft geen vaste vorm), anderen bewegen zich voort d.m.v. één of meerdere flagellen, die het organisme door het water stuwen of trekken. Weer anderen zijn geheel of ten dele omhuld door bewegende haren, ciliën genaamd. Van deze beweeglijke vormen zwemmen sommige vrij door het water, anderen kruipen over gesuspendeerde deeltjes, weer anderen zitten d.m.v. een steel vast op een ondergrond. Vele protozoën die een flagel bezitten brengen hun leven door op één plaats, hoewel ze kunnen zwemmen als ze losgebroken worden. Bij deze vastzittende vormen dienen de flagellen of ciliën ervoor om het water in de buurt van de cel steeds te vervangen door ander water en zo voedsel- en zuurstofopname mogelijk te maken.

Als de omstandigheden gunstig zijn planten protozoën zich voort door deling; ook komen geslachtelijke processen voor. Onder gunstige omstandigheden kunnen vele protozoën zich afsluiten van de buitenwereld. De cysten die zo gevormd worden, zijn bestand tegen veel extremer omstandigheden dan door het actieve individu ooit doorstaan zouden kunnen worden [23, e.a.].

In de loop van de tijd zijn de protozoën op verschillende manieren ingedeeld. Een algemeen aanvaarde taxonomie be-

staat nog niet. Wij zullen hier als voorbeeld de indeling bespreken zoals Hawkes [18] die aangeeft. In hoofdlijnen stemt zijn indeling overeen met die van de meeste anderen [23, 26]. Deze taxonomie is gebaseerd op de diversiteit in morfologie, de wijze van voortbewegen en de methode van voedselvergaan. We noemen hier alleen de voor de waterzuivering van belang zijnde groepen.

Volgens Hawkes [18] kunnen we het phylum der protozoën verdelen in drie klassen, namelijk die der *Rhizopoda*, waartoe o.a. de Amoeba's behoren, die zich voortbewegen m.b.v. pseudopodia (d.w.z. uitstulpen en intrekken), vervolgens de klasse der *Flagellata* (= *Mastigophora*), die zich voortbewegen m.b.v. één of meerdere flagellen. Deze klasse wordt verdeeld in twee subklassen, te weten die der *Phytomastigina*, die chlorophyl bevatten, en die der *Zoömastigina*, die dat niet bezitten. Tenslotte de klasse der *Ciliophora*, die zich gedurende tenminste één fase van hun leven kunnen voortbewegen d.m.v. ciliën. Tot de laatst genoemde klasse behoort de subklasse der *Ciliata*, die hun gehele leven in het bezit zijn van ciliën, en de subklasse der *Suctorina*, die alleen in een larvaal stadium ciliën bezitten en als volwassen individu vastzitten en tentakels hebben. De subklasse der *Ciliata* is de groep die het meest talrijk optreedt in zuiveringsprocessen. Tot de *Ciliata* worden gerekend de orde der *Holotricha*, protozoën die hun ciliën uniform verdeeld hebben over de cel, de *Heterotricha* die tussen de „gewone” ciliën in banden gerangschikte steviger ciliën bezitten, en verder de orde der *Hypotricha*, afgeplatte ciliaten die aan de ventrale zijde bij wijze van poten stijve ciliën bezitten. Tenslotte nog de *Peritricha*, of de zgn. klokdiertjes, gesteelde (vastzittende) klokvormige cellen.

Enige ecologische principes

Zoals we reeds opmerkten, gaat het in wezen bij waterzuivering om eliminatie en afbraak van organisch materiaal, een biologisch proces. Aangezien organismen in afvalwater niet als rein cultuur voorkomen, maar in gemeenschappen met een variërende complexiteit waarin de verschillende organismen elkaar en hun milieu beïnvloeden, ligt hier een werkterrein voor de ecologie. De ecologie immers bestudeert de wisselwerking tussen de organismen onderling en hun milieu.

Op de zuivering zijn als bij alle biolo-

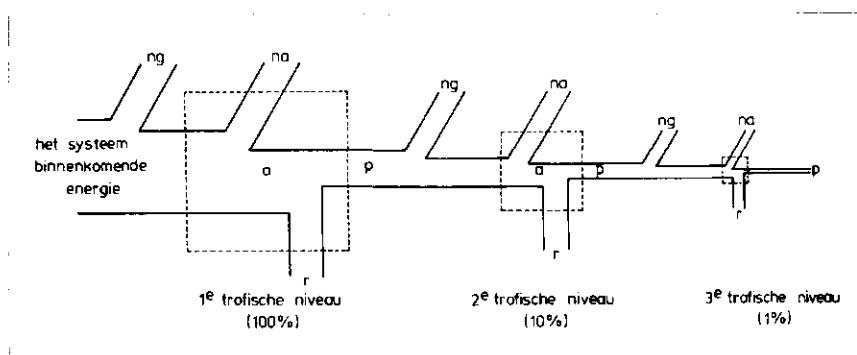
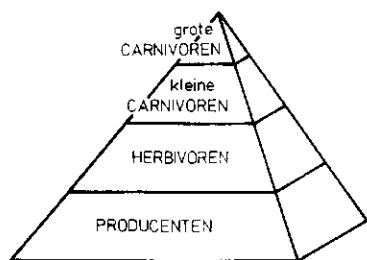
*) Dit artikel is een samenvatting van een literatuurstudie die verricht werd in het kader van de ingenieursstudie waterzuivering aan de Landbouwhogeschool te Wageningen.

gische processen een aantal *milieufactoren* van invloed, die we grofweg kunnen indelen in fysische (temperatuur, licht, enz.), chemische (pH, voedingszoutconcentratie, zuurstofgehalte, enz.) en biotische factoren. Onder biotische factoren verstaat men dan die factoren die werken op het niveau van de relaties tussen de organismen, zoals bijv. competitie om voedsel, predator-prooi relaties, commensalisme, enz.

Heel vaak zijn de fysische en chemische milieufactoren in de waterzuivering bestudeerd los van hun biologische context, dit door een al dan niet bewust hanteren van het oude mechanisch-chemische concept.

De zuivering van afvalwater kan beschouwd worden als het resultaat van de activiteit van organismen t.a.v. één component van hun milieu, namelijk de in het water aanwezige afvalstoffen. De verandering (zuivering) die hierdoor in het milieu optreedt, kan ongunstig zijn voor de populatie die deze verandering teweeg bracht en gunstig voor een andere, die de eerste vervangt. De herhaling van dit proces van constante verandering van het milieu door de organismen zelf, resulteert in een opeenvolging van dominante soorten, een verschijnsel dat bekend staat als *successie*. Successie kan optreden in relatie tot de tijd (bijv. in de loop van de seizoenen) of in relatie tot de afstand (toenemende zuiverheid van een rivier stroomafwaarts van een lozingspunt, of de toenemende zuiverheid van het water in een oxidatiebed gaande van boven naar beneden). In het algemeen kan men in een levensgemeenschap een *zgn. trofische structuur* ontdekken, d.w.z. men kan de organismen indelen al naar gelang hun zgn. trofische niveau. Op het laagste niveau bevinden zich meestal de producenten, organismen die m.b.v. chlorofyl organische stof kunnen synthetiseren, dat tot voedsel dient voor de hogere niveaus. Het volgende niveau wordt bezet door de primaire consumenten, herbivoren in dit geval, die op hun beurt weer geconsumeerd worden door consumenten van de tweede orde, die weer tot voedsel dienen . . . enz. (zie afb. 1). In zo'n voedselketen wordt de materie

Afb. 1 - Voorbeeld van de trofische structuur van een levensgemeenschap.



Afb. 2 - Een gesimplificeerd energiestroomdiagram (naar 31).

ng = energie die door de organismen niet te gebruiken is.
na = energie die niet assimileerbaar is voor de betreffende organismen.
p = netto productie, beschikbaar voor het volgende niveau.
r = respiratie.
a = door de organismen geassimileerde energie.

als voedsel doorgegeven van een lager naar een hoger niveau. De biomassa op elk trofisch niveau wordt beperkt door de hoeveelheid die op het niveau eronder geproduceerd wordt. Uiteindelijk wordt de grootte van de pyramide beperkt door de grootte van de basis, d.w.z. door de hoeveelheid energie die het systeem binnenkomt. Een ander belangrijk punt is dat de overgang van een lager naar een hoger niveau energie kost. Het zoeken van voedsel, de opbouw van nieuwe cellen, kortom alle levensprocessen, kosten energie. Deze energie wordt geleverd door oxidatie van organische stof uit het lagere niveau door de organismen in het hogere niveau (zie afb. 2).

Bij het proces van de zuivering gelden dezelfde principes. De zuiverende rol van bacteriën ligt niet alleen in het feit dat ze de organische stof opnemen in hun cellen, maar juist in het feit dat ze deze organische stof gebruiken als voedingsstof, en die afbreken tot een lager energieniveau. Bij deze eerste schakel van een eventuele voedselketen wordt een groot deel van de organische stof omgezet in water, koolzuur en energie. Het is duidelijk dat elke mogelijke verlenging van de keten met meerdere schakels bijzonder nuttig is als het gaat om eliminatie van organische stoffen, immers bij elke stap verdwijnt een groot deel als energie uit het systeem, energie die nodig was om de levensprocessen van de organismen in deze schakel op gang te houden. In afb. 3 is een voorbeeld getekend van een voedselpyramide zoals die in een actief-slibinstallatie theoretisch zou kunnen bestaan. Wat de rol van de protozoën in de praktijk is, zullen we hierna nagaan.

De rol van protozoën bij de zuivering

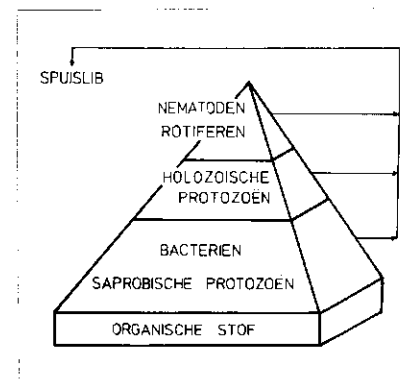
Het is algemeen aanvaard dat de aanwezigheid van grote aantallen ciliaten in een zuiveringsinstallatie een indicatie is voor het goed functioneren ervan. Als er grote populaties protozoën aanwezig zijn is het effluent over het algemeen van goede kwaliteit. Het is echter van

belang te onderzoeken of protozoën alleen maar indicator zijn van de zuiveringstoestand, of dat zij meehelpen deze zuivering te bewerkstelligen.

Lloyd [25] opperde dat het belang van de protozoën in overeenstemming moest zijn met de enorme aantallen die op kunnen treden. Lackey [21] telde in 1 ml losgemaakte film uit een oxidatiebed 200.000 exemplaren; Barker [4] telde verdeeld over een jaar 25 keer het aantal protozoën dat aanwezig was in 1 cm² film en vond een gemiddelde van 1150 ciliaten. Voor een bepaald geval, waarin de ciliaat *Chilodon* dominant was, berekende hij dat 1/18 deel van het oppervlak bezet was door ciliaten, wat erop neer zou komen dat het gehele oppervlak elke paar seconden bestreken zou worden door de ciliaten. Ook in actief-slib kunnen enorme aantallen optreden. Brown [7] noemt aantallen van 5000-20.000/ml, Curds c.s. [13] vermelden aantallen van 20.000 tot 200.000/ml als normaal voorkomend in de praktijk (deze getallen suggereren een grotere variatie dan in werkelijkheid optreedt, aangezien de protozoën sterk in grootte verschillen).

Hausman [17] concludeerde dat één *Opercularia* (een ciliaat) tijdens periodes

Afb. 3 - Trofische structuur van de levensgemeenschap in een actief-slibinstallatie (theoretisch, naar 18).



van actieve voeding ongeveer 120 bacteriën per minuut consumeert. Gezien de enorme aantallen resulteert dit in een enorme „consuming power” van de protozoënpopulatie als geheel [25]. In ieder geval zou het vreten van bacteriën wel één van de belangrijkste functies van protozoën zijn, concludeerden velen [6, 25 e.a.].

Diverse auteurs toonden aan dat protozoën kunnen leven van dode organische stof en dat zij troebel water helder kunnen maken [3, 32, 33, 36]. Sommige onderzoekers gingen zelfs zover te stellen dat in de eerste plaats protozoën verantwoordelijk zijn voor de zuivering [33]. Zij werkten echter met reïncultures en toonden niet méér aan dan dat zowel verschillende protozoën als bacteriën in reïncultuur de zuivering van afvalwater kunnen bewerkstelligen. Voor de praktijk konden geen conclusies getrokken worden.

Andere onderzoekingen leken aan te tonen dat protozoën een belangrijke rol spelen bij de vlokvorming in het actief-slibproces [5, 32]. Bacteriën die normaal niet vlokten, deden dit wél na toevoeging van protozoën. Barker [6] concludeert hieruit dat, hoewel bekend is dat vele bacteriën in reïncultuur vlokvormers zijn, de gemengde cultures in afvalwater geen of minder efficiënte vlokking vertonen in afwezigheid van protozoën.

Een andere relatie tussen bacteriën en protozoën waarvan men het bestaan vermoedde in verband met de efficiëntie van de zuivering is de volgende. Cutler en Bal [15] toonden aan dat de snelheid van stikstoffixatie door *Azotobacter* veel hoger was als er protozoën aanwezig waren in de cultures, dan wanneer met uitsluitend bacteriën gewerkt werd. Deze waarneming werd door anderen bevestigd en ook Meiklejohn [29] die de protozo *Colpidium* als predator van de bacteriën gebruikte, vond bij haar onderzoek naar ammoniaproductie uit eiwitten een grotere activiteit bij de aanwezigheid van protozoën. Liebmann [22] noemt een reeks van auteurs die van mening zijn dat een belangrijke functie van protozoën in het zuiveringsproces ligt in het feit dat ze de bacteriepopulatie onder de „verzadigingsgrens” houden, waardoor de populatie in de groei-fase blijft, jong blijft, sneller deelt en zo een grotere „Umsatz” heeft. Liebmann voert tegen dit denkbeeld aan dat er z.i. van een vermindering van het aantal bacteriën nooit een positieve werking kan uitgaan op de zuivering. Hij vergeet hierbij dat het ervan afhangt in welke groeifase de bacteriën zich bevinden (lag fase, exponentiële groei, stationaire fase, enz. Mc Kinney [26] stelt dat de meeste installaties werken tussen de fase van de afnemende groei en de endogene fase. Als nu protozoën in deze fase de bacteriën wegvreten, stijgt de hoeveelheid voedsel per bacterie. Hawkes [18] vermeldt dat de groeisnelheid van micro-organismen, juist in een gebied waar de

oplossing niet met voedingsstoffen verzadigd is (dus in de fase van de afnemende groei) de delingssnelheid evenredig is met de nutriëntenconcentratie. Hieruit volgt dat het goed mogelijk is, dat predatie door protozoën leidt tot een verhoogde activiteit van de bacteriën.

Lloyd [25] suggereerde dat de continue beweging van de flagellen en ciliën niet alleen dient om een continue voedselstroom naar de protozoën te garanderen, maar ook om het water te aereren. Als we met Hawkes [18] het aeratieproces verdelen in vier stappen, namelijk 1. overdracht van de atmosferische zuurstof in het water; 2. overdracht van de in het water opgeloste zuurstof aan het oppervlak van de cel; 3. diffusie door de celwand en 4. adsorptie aan het enzym, dan is het duidelijk dat de laatste twee stappen gereguleerd worden door de eigenschappen van de cel zelf en dat het succes van de eerste stap afhankelijk is van de technische voorzieningen in de installatie. Het is bij de tweede stap dat de protozoën een rol kunnen spelen. Juist door de enorme aantallen die voor kunnen komen, kan de invloed aanzienlijk zijn, of zoals Lloyd [25] het zegt: „it is as though all the surface of the media were covered by an infinite multitude of small waterwheels”.

Recent onderzoek

Zoals gezegd vele hypothesen, maar weinig zekerheid omtrent de functie die protozoën hebben in de praktijk van de waterzuivering. Wel is duidelijk dat zij in eerste instantie een geringe rol spelen bij de afbraak van de organische stof. Hoewel sommige protozoën, speciaal *Rhizopoda* en *Flagellata* op dit niveau met bacteriën concurreren, is gebleken dat zij deze concurrentie niet aan kunnen [28]. Flagellaten en rhizopoden zijn in een goed lopende installatie zeldzaam [18].

Het is de laatste jaren vooral het Water Pollution Research Laboratory in Stevenage, Engeland, geweest waar onder leiding van dr. C. R. Curds het zo noodzakelijke onderzoek gedaan wordt dat de vele hypothesen moet toetsen. Hij ontwikkelde in model-actief-slibinstallaties slib zonder protozoën en ging het effect na van het toevoegen van normaal in actief slib voorkomende protozoën [13]. De modelinstallaties werden eerst twee maanden met protozoënvrij slib bedreven gedurende welke periode het effluent zeer troebel was. Deze troebelheid bleek grotendeels te wijten aan vrij zwemmende bacteriën. Na twee maanden werd aan de helft van de modelinstallaties ciliaten toegevoegd. De eenheden zonder protozoën gingen door met het afleveren van een troebel effluent. Het effluent van de installaties met protozoën onderging een „dramatische” verbetering van de kwaliteit, gemeten aan BOD₅, concentratie gesuspendeerd materiaal, aantal levenskrachtige

bacteriën en de concentratie aan opgeloste organische stof. Dit suggereerde dat voor de produktie van een hoogwaardig effluent een grote ciliatenpopulatie noodzakelijk is.

Nog steeds was er echter geen antwoord op het waarom van deze verbetering. Het was nog niet uit te maken of de verbetering te wijten was aan consumptie van de bacteriën door de ciliaten of dat zij werden uitgevlokt door de vlok-vormende activiteit van de protozoën. De significante daling van de BOD en meer nog van de concentratie aan opgeloste organische stof, geven aan dat er na toevoegen van ciliaten meer organisch materiaal verwijderd wordt. Of dit te wijten is aan een directe consumptie door de ciliaten, dan wel door een indirect effect dat de predatie heeft op de bacteriën-activiteit (het zgn. verjongingseffect) is uit deze experimenten nog niet uit te maken.

Uit onderzoek naar de vreetkinetiek van ciliaten [9, 12] bleek de omvang van de protozoënpopulaties recht evenredig toe te nemen met het aantal geconsumeerde bacteriën. Uit de vreesnelheid die in deze experimenten gemeten werd, kon geconcludeerd worden dat de verwijdering van bacteriën uit het effluent heel goed door predatie kan geschieden.

Mede op grond van het feit dat de meeste van de in de praktijk aangetroffen protozoën bij een goed lopende installatie ciliaten zijn [10, 18], die zich voeden met bacteriën (en daarnaast een aantal soorten die protozoën vreten), is de conclusie gerechtvaardigd dat de belangrijkste functie van de protozoën ligt in het wegvreten van bacteriën. Dit is in de eerste plaats gunstig omdat hierdoor de in de installatie aanwezige voedselketen langer wordt, hetgeen om hiervoor al genoemde redenen gunstig is (geringere spuislibproduktie). Op deze wijze spelen protozoën ook een belangrijke rol bij de verwijdering van ziektekiemen uit het water [14, 20]. (Möse [30] vermeldt ook het onschadelijk maken van sommige virussen door toevoeging van *Tetrahymena pyriformis* aan cultures).

Belang voor de praktijk

Wat is nu het belang van deze kennis voor de praktijk? Veel onderzoek is nog nodig, maar onze huidige kennis lijkt wel voldoende om al ingeslagen wegen die moeten leiden tot een beter uitbuiten van protozoën bij de zuivering, te kunnen beoordelen.

Dubach [16] rapporteert over een tweetraps biologische zuiveringsinstallatie voor huishoudelijk afvalwater. Hierbij werd de 1e trap zwaar belast bij een korte verblijftijd en 75-85% van de BOD₅ verwijderd, gemeten aan het ongefiltreerde effluent. In het gefiltreerde monster was 85-95% verdwenen, wat erop wijst dat de BOD die overblijft na de 1e trap vooral veroorzaakt wordt

door vrij zwemmende bacteriën en gesuspendeerd materiaal. Het zeer troebele effluent van de 1e trap leidt men in een zeer goed van zuurstof voorziene 2e trap. Hierbij worden volgens Dubach [16] ideale omstandigheden gecreëerd voor bacteriënvretende protozoën. Hij vermeldt dat er 7 installaties van dit type functioneren, variërend in grootte van 2000 - 40.000 i.e. en dat ze allemaal een hoogwaardig effluent afleveren, minder slib produceren, goed bestand zijn tegen stootbelasting en relatief weinig oppervlak nodig hebben (0,5 m²/i.e.). Zijn resultaten zijn, evenals die van Lindner [24] die ook met tweetrapsinstallaties werkte en ongeveer dezelfde voordelen noemt als Dubach, in overeenstemming met onze kennis van de functie van protozoën. De bacteriën nemen de organische stof op, die voor een deel geoxideerd en voor een ander deel omgezet wordt in nieuw bacteriemateriaal, de protozoën vreten de bacteriën.

De kennis over de optimale omstandigheden voor protozoën is nog gering. Liebmann [23] e.a. vermelden dat vooral de hoeveelheid beschikbaar voedsel en de zuurstofconcentratie van belang zijn. Beneden O₂ concentraties van 0,5 mg/l ondervinden protozoën schade. Meestal zorgt men voor een minimumconcentratie van 3-4 mg/l, omdat anders in de nabezinktank direct anaerobe toestanden optreden. Ook moet er gelet worden op het voorkomen van toxische stoffen. Zo kunnen kleine ammoniakconcentraties dodelijk zijn voor protozoën.

Interessant is verder dat Curds en Cockburn [10] in actief-slib een soort vonden die zodanig is uitgerust, dat hij in staat is draadvormige organismen (schimmelhiften, draadvormige bacteriën) te vreten. Verder onderzoek zal uit moeten wijzen of m.b.v. deze organismen in bepaalde gevallen misschien een oplossing te vinden is voor het probleem van het zwelslib.

Oxidatiebedden

De hierboven vermelde resultaten zijn ontleend aan experimenten met actief-slibinstallaties. Hoe staat het met de rol van protozoën in oxidatiebedden? Een aantal functies van protozoën in actief-slib zijn natuurlijk ook van belang in oxidatiebedden, zoals bijv. de aeratie op microniveau. Het wegvreten van bacteriën is hier behalve uit energetische overwegingen, ook van groot belang voor het functioneren van het systeem. In de eerste plaats vormen protozoën in oxidatiebedden geen eindpunt van de voedselketen, maar dienen zij weer als voedsel voor bijv. rotiferen en nematoden en deze weer voor crustaceën, insecten, e.d. Zij zijn dus van groot belang als schakel in de voedselketen [5]. In de tweede plaats is de predatie, het wegvreten van bacteriehuidjes, in laagbelaste oxidatiebedden de reden dat de kanaaltjes niet dichtgroeien. In hoogbe-

laste bedden wordt de filmdikte in de eerste plaats gereguleerd door fysische oorzaken (uitschuring), maar ook hier is begrazing van belang. Meestal denkt men hierbij aan grotere dieren die in het bed leven, maar er is in dit opzicht geen verschil tussen de werking van protozoën en die van de predatoren van hogere trofische niveaus.

Protozoën als indicator

Liebmann [23] noemt protozoën en daarvan vooral de ciliaten, de meest waardevolle indicatororganismen van zijn saprobiesysteem. Vele protozoën die in vervuilde rivieren leven, komen ook voor in zuiveringsinstallaties. Ook werd het spoedig duidelijk dat de soortenverdeling in de installatie afhankelijk is van de werkomstandigheden. Zo worden in actief-slibinstallaties, die een effluent van hoge kwaliteit produceren, de protozoënpopulaties gedomineerd door ciliaten, terwijl in minder goed functionerende installaties flagellaten de bovenaan voeren. Het is dan ook niet verwonderlijk dat men probeerde de saprobiesystemen toe te passen op de kunstmatige zuivering, of trachtte nieuwe systemen te ontwerpen om het functioneren van installaties te beoordelen.

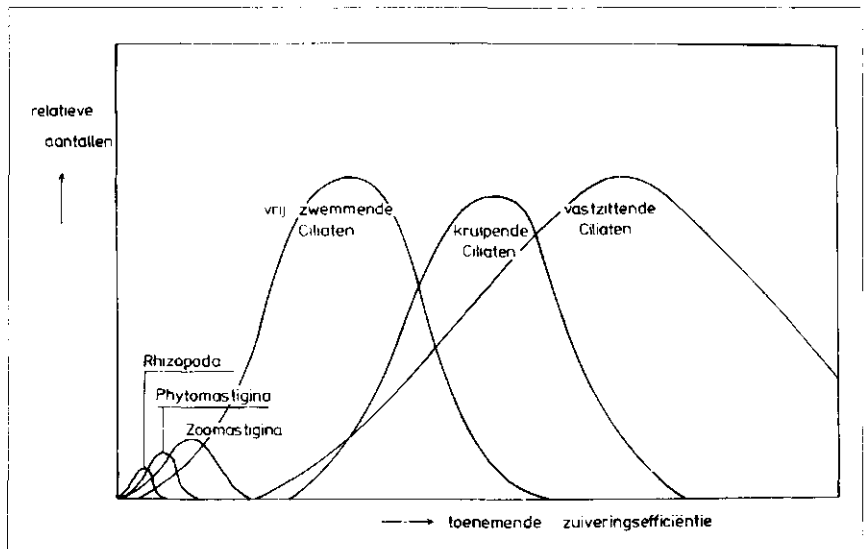
Ardern en Lockett [1] waren waarschijnlijk de eersten, die tabellen publiceerden, waarin zij de kwaliteit van het effluent van een actief-slibinstallatie relateerden aan het voorkomen van bepaalde protozoëngenera. Hun waarnemingen werden door anderen bevestigd (o.a. [2, 3, 5]). Men ontdekte dat er een soort successie bestond, die voortschreed met de graad van zuivering die bereikt werd. In een goed lopend oxidatiebed was deze successie in één installatie te zien, de verschillende actief-slibinstallaties stabiliseerden zich op één niveau. Afb. 4 laat zien dat rhizopoden en flagellaten gerelateerd zijn aan een beginfase van zui-

vering, zij zijn karakteristiek voor het slib in een slecht functionerende installatie, d.w.z. de gemiddelde situatie in de installatie komt niet verder dan dit beginstadium. In een oxidatiebed kan men ze bovenin aantreffen. Vrijzwemmende ciliaten karakteriseren een beter werkend slib, terwijl aan het medium (vlokken, vulmateriaal) vastzittende ciliaten (*Peritricha*) erop wijzen dat een goede zuivering bereikt wordt.

In het algemeen gaat deze kwalitatieve relatie wel op. Er zijn echter uitzonderingen. In de eerste plaats varieert de gevoeligheid van de soorten binnen de diverse klassen en ook binnen de vele genera nog aanzienlijk. Zo kunnen bepaalde soorten *Amoeba* en *Arcella* (beiden *Rhizopoda*) gerelateerd worden aan een beter functionerend slib dan afb. 4 zou suggereren [18]. Hoe groot de variatie binnen één geslacht kan zijn, blijkt uit het geslacht *Vorticella*, dat algemeen beschouwd wordt als indicator voor een slib in piekconditie. Dit is inderdaad waar als het gaat om *V. campanula* en *V. nebulosera* var. *similis*. Het is minder waar voor *V. convallaria* en perse onjuist voor *V. microstoma* [8]. Verder schuilt er een gevaar in het feit dat vele soorten leven onder wijd verschillende omstandigheden. Hierdoor is het onmogelijk om uit het voorkomen van één indicatorsoort conclusies te trekken. We moeten kijken naar de gehele gemeenschap.

Waarom zouden we kijken naar protozoën? Het grote voordeel van biologische kwaliteitsbeoordeling is dat deze informatie geeft over de milieuomstandigheden over langere tijd en dus niet, zoals bij de chemische, alleen iets zegt over de kwaliteit op het moment van de monstername. Daarnaast noemt Liebmann [23] als voordeel het feit dat de biologische kwaliteitsbeoordeling meestal met groter snelheid kan gebeuren dan de chemische, en goedkoper is.

Afb. 4 - Successie van protozoën bij toenemende zuiveringsefficiëntie (naar 18 en 28).



Het is bekend dat de kwaliteit van het effluent van dag tot dag varieert, wat ondermeer te wijten is aan variatie van de hydraulische en organische belasting. Curds en Cockburn [11] zijn van mening dat de protozoënpopulaties niet reageren op deze variaties, maar dat zij meer gerelateerd zijn aan de gemiddelde effluentkwaliteit. Zij verwachten dat alleen op een drastische stijging van de concentratie toxische stoffen de protozoënpopulatie abrupt zal reageren. Ook hier is het voordeel van de biologische kwaliteitsbeoordeling dat men informatie verkrijgt over langere termijn.

De factoren die de verspreiding reguleren van individuele soorten in een installatie zijn nog onvoldoende bekend om een volstrekt zeker oordeel over de slibkwaliteit te verkrijgen. Deze onzekerheid neemt niet weg dat als men in staat is om de aanwezige ciliaten redelijk te determineren (en dat hoeft met de tabel die Curds [8] geeft van de gewoonlijk in actief-slib aangetroffen ciliaten geen onoverkomelijke moeilijkheid te zijn), dit een sterke aanwijzing vormt voor het al dan niet goed functioneren van de installatie en dus kan helpen bij een juist bedrijf.

Uit recent onderzoek van Curds en Cockburn [11] bleek in actiefslibinstallaties het totaal aantal soorten en ook de verdeling van peritriche, holotriche en hypotriche ciliaten gerelateerd te zijn aan de slibbelasting. De grootste aantallen soorten vond men in installaties met een slibbelasting tussen 0,2 en 0,3 g BOD₅ per gram droge slibstoffen per dag. Men vond hierbij een min of meer uniforme verdeling over de drie groepen. Hoger belast slib bevatte minder soorten; in het gebied van 0,3 - 0,6 g/g.dag in hoofdzaak *Peritricha*, bij de hoogste belastingen ongeveer evenveel *Holotricha* als *Peritricha*. Flagellaten werden alleen aangetroffen in zwaar belast slib.

In hetzelfde onderzoek deden Curds en Cockburn [11] een poging de kwaliteit van het effluent te relateren aan de aan-

wezige ciliaten. Zij verdeelden de effluënten in vier categorieën (0 - 10, 11 - 20, 21 - 30, en meer dan 30 mg BOD₅/l). Met de door hen ontworpen methode bleken zij in staat in 83 % van de onderzochte gevallen de kwaliteit van het effluent op grond van de in de installatie aanwezige protozoënpopulatie in de juiste categorie te plaatsen.

Scherb [34] vermeldt eveneens een interessant geval. Volgens hem kan men aan de hoogte van de ribben op de pantserachtige pellicula van *Aspidisca costata* zien in hoeverre nitrificatie optreedt. Hoe sterker de ribben uitgegroeid zijn, hoe groter de nitraatconcentratie. In hoeverre resultaten als deze voor de praktijk van belang zijn, zal nog moeten blijken.

Doordat in oxidatiebedden stratificatie optreedt, kan hier niet zo eenvoudig de kwaliteit van het effluent afgelezen worden uit de in de installatie voorkomende protozoën. Het hangt er maar van af van welke plaats uit het oxidatiebed het monster genomen is, op grond waarvan beoordeeld moet worden. Bovenin het bed leven de soorten die indicatief zijn voor ongezuiverd afvalwater, onderin die voor schoner water. Als het oxidatiebed een zeer diverse levensgemeenschap van micro- en macro-organismen bevat, kan dit zeker beschouwd worden als indicatie voor een goed functioneren.

Veel onderzoek zal nog nodig zijn om de waarde die de protozoën als indicatoren ongetwijfeld hebben, volledig uit te buiten bij het bedrijven van zuiveringsinstallaties. Daartoe is het van belang dat op de installaties routinematig de protozoënpopulaties gedetermineerd worden.

Samenvatting

We hebben een poging gedaan om uit gegevens gevonden in de literatuur een overzicht te geven van de rol van protozoën in de waterzuivering. Behalve aan de functie die protozoën hebben in het proces van de zuivering is aandacht be-

steed aan hun rol als indicator voor het functioneren van een installatie. Er is vrij veel literatuur beschikbaar, het meeste onderzoek komt echter niet veel verder dan het stellen van een aantal hypothesen. Het noodzakelijke veld- en laboratoriumwerk om deze hypothesen te toetsen is nog maar net op gang gekomen.

T.a.v. de rol van protozoën in het proces van de zuivering kan men het volgende concluderen:

1. Protozoën zijn in de eerste plaats van belang als consumenten van de bij de afbraak van de organische stof actieve bacteriën. Dit is o.a. van belang voor de helderheid van het effluent en voor de slibproductie.
2. Waarschijnlijk heeft de predatie op de bacteriën een stimulerend effect op de groei van deze bacteriën (een „verjongingseffect”) waardoor de turn-oversnelheid verhoogt wordt.
3. De beweging van flagellen en ciliën is waarschijnlijk van belang voor de menging op microniveau.
4. Waarschijnlijk bevorderen protozoën de vlokvorming in actiefslib. Vooral naar de laatste drie punten is nog onvoldoende onderzoek gedaan.

T.a.v. de rol van protozoën als indicator kunnen we concluderend het volgende zeggen:

- In de saprobiesystemen spelen protozoën, en daarvan de ciliaten een zeer belangrijke rol.
- Men kan bij de biologische kwaliteitsbeoordeling nooit afgaan op het voorkomen van één of enkele indicatorsoorten, maar men moet altijd de gehele gemeenschap in ogenschouw nemen.
- Recent onderzoek heeft aangetoond dat men op grond van de aanwezige protozoënpopulaties het functioneren van een actiefslibinstallatie redelijk betrouwbaar kan vaststellen.

Literatuur

1. Arden, E. en Lockett, W. T., *Laboratory tests for ascertaining the condition of activated sludge*. J. Inst. Sew. Purif. (1936) 1 : 212 - 215.
2. Baines, S., Hawkes, H. A., Hewitt, C. H. en Jenkins, S. H., *Protozoa as indicators in activated sludge treatment*. Sew. Ind. Wastes (1953) 25 : 1023 - 1033.
3. Barritt, N. W., *The ecology of activated sludge*. Ann. Appl. Biol. (1940) 27 : 151.
4. Barker, A. N., *The seasonal incidence, occurrence and distribution of protozoa in the bacteriably process of sewage disposal*. Ann. Appl. Biol. (1942) 29 : 23 - 33.
5. Barker, A. N., *The ecology and function of protozoa in sewage purification*. Ann. Appl. Biol. (1946) 33 : 314 - 325.
6. Barker, A. N., *Some microbiological aspects of sewage purification*. J. Proc. Inst. Sew. Purif. (1949) 7 - 22.
7. Brown, T. J., *A study of protozoa in a diffused air activated sludge plant*. J. Inst. Sew. Purif. (1965) 4 : 375 - 378.
8. Curds, C. R., *An illustrated key to the British freshwater ciliated protozoa commonly found in activated sludge*. Water Pollution Research Technical Paper no. 12, Ministry of Technology, London (1969).
9. Curds, C. R. en Cockburn, A., *Studies on the growth and feeding of Tetrahymena pyriformes in axenic and monoxenic culture*. J. Gen. Microbiol. (1968) 54 : 343 - 358.
10. Curds, C. R. en Cockburn, A., *Protozoa in biological sewage-treatment processes. I. A survey of the protozoan fauna at British percolating filters and activated sludge plants*. Water Research (1970) 4 : 225 - 236.
11. Curds, C. R. en Cockburn, A., *Protozoa in biological sewage treatment processes. II. Protozoa as indicator in the activated sludge process*. Water Research (1970) 4 : 237 - 249.
12. Curds, C. R. en Cockburn, A., *Continuous monoxenic culture of Tetrahymena pyriformis*. J. Gen. Microbiol. (1971) 66 : 95 - 108.
13. Curds, C. R., Cockburn, A. en Dyke, J. M. van, *An experimental study of the role of ciliated protozoa in the activated sludge process*. Wat. Poll. Control (lond) (1968) 67 : 312-327.
14. Curds, C. R. en Fey, G. I., *The effect of ciliated protozoa on the fate of Escherichia coli in the activated sludge process*. Water Research (1969) 3 : 853 - 867.
15. Cutler, D. W. en Bal, D. V., *The influence of protozoa on the process of nitrogen fixation by Azotobacter chroococcum*. Ann. Appl. Biol. (1926) 13 : 516.

16. Dubach, M., *Über eine Weiterentwicklung der zweistufig-biologischen Abwasserreinigung*. Uit: Liebmann, Münchener Beiträge, (1968) 52 : 319 - 330.
17. Hausman, L. M., *Studies on the biology of sewage disposal*. 2nd Ann. Rep. Sewage Substations, Bull. N. J. Agric. Exp. Sta. (1923) 390 : 28.
18. Hawkes, H. A., *The ecology of waste water treatment*. Pergamon Press, Oxford (1963).
19. Jahn, T. L. en Jahn, F. F., *How to know the protozoa*. Brown Comp. Publ. Dubique, Iowa (1949).
20. Kabler, P., *Removal of pathogenic micro-organisms by sewage treatment processes*. Sew. Ind. Wastes (1959) 31 : 1373 - 1382.
21. Lackey, J. B., *Sprinkling filter bed studies*. Bull. N. J. Agric. Exp. Sta. (1925) 427 : 41.
22. Liebmann, H., *Handbuch der Frischwasser und Abwasserbiologie*, II, Oldenbourg, München (1960).
23. Liebmann, H., *Handbuch der Frischwasser und Abwasserbiologie*, I, Oldenbourg, München (1962).
24. Lindner, W., *Das zweistufige Belehungsverfahren in der Abwasserreinigung*. Thomasverlag, Kempen Niederheim (1957).
25. Lloyd, L., *Animal life in sewage purification processes*. J. Inst. Sew. Purif. (1945) 119 - 139.
26. Mc Kinney, R. E., *Activity of micro-organisms in organic waste disposal aerobic processes*. Appl. Microbiol., Baltimore (1957) 5 : 166 - 187.
27. Mc Kinney, R. E., *Microbiology for sanitary engineers*, Mc Graw Hill, New York (1962).
28. Mc Kinney, R. E. en Gram, A., *Protozoa and activated sludge*. Sew. Ind. Wastes (1956) 28 : 1219 - 1231.
29. Meiklejohn, J., *The effect of Colpidium on ammonia production by soil bacteria*. Ann. Appl. Biol. (1932) 19 : 584.
30. Möse, J. R., *Inaktivierung von Viren durch Abwasser Protozoen*. Arch. Hyg. Bacteriol. (1970) 154 : 319-HW/788.
31. Odum, E. P. *Ecology*. Holt, London (1971).
32. Pillay, S. C. en Subramanyan, V., *The role of protozoa in the activated sludge process*. Nature, Lond. (1942) 150 - 525.
33. Pillay, S. C. en Subramanyan, V., *The role of protozoa in aerobic purification of sewage*. Nature, Lond. (1944) 154 : 179 - 180.
34. Scherb, K., *Zur Biologie des belebtes Schlammes*. Inaug. Diss. Naturw. Fakultät, München (1956).
35. Stockvis, C. J., *Protozoen und Selbstreinigung*. Arch. f. Hygiene, bd. 71.
36. Sudgen, B. en Lloyd, L., *The clearing of turbid waters by means of the ciliate Carchesium: a demonstration*. J. Proc. Inst. Sew. Purif. (1950) 16 - 26.