

SUMMARY

An investigation on development and control of a filamentous sludge

The development of a filamentous organism in an activated sludge in principle may originate from two conditions:

1. favourable conditions in the liquor outside the activated sludge floc (in case of overloading f.i. with carbohydrates);
2. favourable conditions at the site of the bacteriological process i.e. in the floc in case of low loadings with f.i. domestic waste.

In an oxidation ditch with filamentous sludge it was established that the filaments disappeared if the oxygen input was reduced to such an extent that nitrification was inhibited *completely* and purification was not complete. The filaments reappeared when the oxygen input was increased again.

In a bacteriological investigation it is shown that the filaments are of *Escherichia Coli*, the intestinal bacterium, which shows filamentous growth at pH < 6.0. This type of growth is favoured by CO₂ and a low oxygen tension. These conditions favourable for growth of *E.coli* in its filamentous form are created in an activated sludge floc when nitrification takes place and carbonaceous substances are available.

The control of this type of filamentous bulking is possible by the application of a schedule of operation in which the oxidation of the carbonaceous substances and the process of nitrification proceed one after the other.

The advantages of the so called discontinuous type of the oxidation ditch system are pointed out (a.o. an automatic removal of 90-95 % of the nitrogen).

Een onderzoek over oorzaak en bestrijding van een licht actief slib*)

Inleiding

Wanneer bij het actief slibproces zich moeilijkheden voordoen, dan is dit vrijwel steeds bij de scheiding van het slib en het gezuiverde water.

Het feit, dat na een halve eeuw ervaring met actief slib-inrichtingen, die moeilijkheden er in een niet onbelangrijk aantal gevallen nog steeds zijn, wijst er op, dat we met een ingewikkeld probleem te maken hebben. Het is niet alleen een lastig probleem, het is ook één van de belangrijke problemen in de techniek en wetenschap van de afvalwater-zuivering.

Een slecht bezinkbaar slib maakt het bedrijven van een actief slibinstallatie tot een weinig voldoende gevende bezigheid, wanneer telkens weer hoeveelheden slib met het effluent worden afgevoerd.

Het ontbreken van kennis over de oorzaken van het ontstaan van het lichte slib en dientengevolge het ontbreken van deugdelijke richtlijnen bij de bestrijding en het voorkomen ervan, heeft invloed bij het tot stand komen van een ontwerp voor een zuiveringsinstallatie. In een aantal gevallen zal de nabezinking van een actief slibinrichting extra ruim worden gedimensioneerd, in andere gevallen zal het een van de factoren kunnen zijn, die een ontwerper doen afzien van de toepassing van het actief slibproces en de voorkeur doen uitgaan naar het minder kwetsbare maar ook minder doeltreffende filterbed.

Er zijn verschillende soorten licht slib. Wie hierover goed wil zijn ingelicht, leze het artikel van Pipes in „Advances in Applied Microbiology” van 1967.

In deze voordracht zullen we ons uitsluitend bezighouden met de meest voorkomende vorm van licht slib, n.l. die veroorzaakt door een overmatige groei van draadvormige bacteriën.

Alvorens een onderzoek hierover aan te vangen is het van belang na te gaan door welke oorzaken het vele tot dusverre verrichte werk zo weinig inzicht in het vraagstuk heeft gebracht. Als voornaamste oorzaak dient de historische ontwikkeling te worden genoemd.

Een van de eerste publikaties over licht slib (Morgan and

Beck 1928) betreft een actief slibinrichting in de Verenigde Staten van Noord-Amerika, waar met het afvalwater grote hoeveelheden glucose, afkomstig van klandestiene stokerijen werden toegevoerd. In het onderzoek van Ruchhoft en Watkins werd *Sphaerotilus* als de draadvormer gevonden. Ongeveer te zelfde tijd bleek, dat in het laboratorium een normaal actief slib tot draadvorming kon worden gebracht, door het te voeden met een afvalwater rijk aan koolhydraten, b.v. glucose of lactose. Sindsdien zijn in het laboratorium talrijke onderzoeken verricht met licht slib, dat op deze wijze was verkregen.

Door al deze onderzoeken en ervaringen is men er toe gekomen *Sphaerotilus* als de veroorzaker van het draadvormige slib te beschouwen. Toen dan ook, bij het meer en meer toepassen van het actief slibproces de ervaring werd opgedaan, dat ook bij afwezigheid van grote hoeveelheden koolhydraat het euvel van draadvorming kan optreden, werd ook in deze gevallen van een *Sphaerotilus* slib gesproken. Dit is in grote trekken zo gebeven, al is er zo langzamerhand wel twijfel ontstaan, of in deze gevallen de draadvormige bacterie steeds *Sphaerotilus* is.

Na het voorgaande ligt het voor de hand bij het onderzoek over licht slib een scheiding te maken tussen de gevallen, waarbij in het afvalwater koolhydraten in belangrijke hoeveelheid aanwezig zijn en die waarin dit niet het geval is. De directe aanleiding tot het onderzoek was een geval van licht slib in de oxydatiesloot van de Psychiatrische Inrichting „Sancta Maria” bij Noordwijkerhout. Deze oxydatiesloot werd in 1961 in gebruik genomen en heeft vanaf het begin moeilijkheden met licht slib gegeven. De vorming van het normale zware slib bleef uit.

De oxydatiesloot van de inrichting „Sancta Maria” is ontworpen voor 1500 inw. eq. De belasting bedraagt ook 1500 inw. eq. Vanuit het oogpunt van BOD/vlok belasting gerekend, hebben we te maken met een zwak belaste actief slibinrichting.

Naar aanleiding van de moeilijkheden met het lichte slib,

*) Lezing gehouden op de najaarsvergadering 1968 van de NVA op 17 oktober te Utrecht.

die de gedachten deden opkomen, dat de O₂-toevoer te gering zou kunnen zijn, was al spoedig een tweede beluchtingsrotor bijgeplaatst. Sindsdien is het zeker, dat ook de zuurstoftoevoer voldoende is. Nadat was vastgesteld dat zowel volume als O₂-toevoer van de oxydatiesloot in orde waren, was een volgend punt van overweging of er iets bijzonders met de samenstelling van het afvalwater aan de hand kon zijn. Het afvalwater is het huishoudelijke afvalwater van de Psychiatrische Inrichting. In de keuken is een aardappelschilmachine geïnstalleerd. Zoals bekend kan hiervan een vrij grote hoeveelheid aardappelmeeel worden afgevoerd. Voorts heeft de inrichting een eigen wasserij. Was van buiten wordt niet aangevoerd. T.o.v. volkomen normaal huishoudelijk afvalwater kunnen in dit afvalwater de hoeveelheid zetmeel en de hoeveelheid vetzuren wat verhoogd zijn, maar in beginsel willen we het afvalwater toch als een gewoon huishoudelijk afvalwater beschouwen. We nemen aan, dat de bedrijfsomstandigheden als normaal beschouwd mogen worden.

De vraag waarop we in dit onderzoek het antwoord zouden willen vinden luidt dan: Hoe kan het in deze oxydatiesloot onder normale of ogenschijnlijk normale bedrijfsomstandigheden tot draadvorming komen?

Inrichting van het onderzoek

Wanneer in een actief slib een draadvormige bacterie tot ontwikkeling komt, kunnen we denken aan twee mogelijkheden.

1. De ontwikkeling kan het gevolg zijn van gunstige omstandigheden voor het draadvormend organisme in de vloeistof buiten de vlokken. Men kan denken, dat dit geval zich voor doet wanneer grotere hoeveelheden glucose worden toegevoegd en de omstandigheden zo zijn, dat deze niet direct door de vlokken worden opgenomen of geadsorbeerd.

2. Een tweede mogelijkheid zou kunnen zijn, dat de milieuomstandigheden in de vlok door een of andere oorzaak gunstig worden voor een in draadvorm groeiende bacterie. Dit zou van toepassing kunnen zijn in die omstandigheden waarbij de toegevoerde organische stoffen in korte tijd aan de vlok worden geadsorbeerd en het gehele bacteriologische gebeuren zich in en op de vlok afspeelt.

Wij zijn van de gedachte uitgegaan, dat deze tweede mogelijkheid van toepassing zou kunnen zijn in ons geval. Het afvalwater is min of meer normaal, de vlokbelasting is gering.

Wanneer we hiervan uitgaan, dan is het van belang zo veel mogelijk te weten over het milieu in de vlok en hoe dit van de omstandigheden afhankelijk is. Dit vlokmilieu wordt in hoge mate bepaald door de stofwisselingsprodukten, die bij de bacteriologische processen in de vlok worden gevormd. Die stofwisselingsprodukten diffunderen uit de vlok in de omringende vloeistof. Veranderingen in het vlokmilieu zullen zich aftekenen in de samenstelling van het effluent. Maar daarbij moeten we er wel mede rekening houden, dat op de plaats van het ontstaan van de stofwisselingsprodukten, dus in de vlok, de invloed van die produkten veel groter kan zijn dan in het effluent; kleine variaties in de samenstelling van het effluent kunnen een aanwijzing zijn voor belangrijk grotere variaties in het milieu in de vlok.

Met de in het voorgaande ontwikkelde gedachtengang als achtergrond, werd het onderzoek naar de oorzaak van het optreden van licht slib in de oxydatiesloot „Sancta Maria” als volgt opgezet.

1. Gedurende lange tijd zullen 2 maal per week eigenschappen van het slib en een aantal gegevens van het effluent worden bepaald. Daarbij zal in het bijzonder de invloed van een wisseling in de zuurstoftoevoer worden nagegaan, daar de zuurstoftoevoer van zo grote betekenis is voor het verloop van de bacteriologische processen.

2. Geprobeerd zal worden de draadvormige bacterie in rein-cultuur te verkrijgen en de fysiologische eigenschappen ervan te bepalen.

Daarna zal onderzocht worden of door het met elkaar in verband brengen van de verkregen gegevens het antwoord kan worden verkregen op de vraag waardoor het in de oxydatiesloot „Sancta Maria” tot draadvorming kan komen.

Het oxydatiesloot-onderzoek

Het voornaamste resultaat van het eerste gedeelte van het onderzoek waarin naar een eventueel verband werd gezocht tussen de samenstelling van het effluent, de bezinkbaarheid (dus draadvorming) van het slib en de zuurstoftoevoer is weergegeven in afb. 1.

In de perioden aangegeven door de opgevulde gedeelten van de onderste horizontale lijn was de toevoer van zuurstof zodanig, dat er gedeeltelijke of volledige nitrificatie van de ammoniak plaats vond. In deze perioden is de bezinkbaarheid slecht of verslechtert in toenemende mate (hoge slibindex).

In de perioden aangegeven door de open gedeelten in de horizontale lijn is de zuurstoftoevoer zoveel geringer geweest, dat er geen nitrificatie kon plaatsvinden. Het gehalte aan ammoniumstikstof bereikt dan een maximale waarde van ongeveer 50 mg N/l. Duidelijk blijkt, dat in zulk een periode de bezinkbaarheid van het slib snel verbetert en de slibindex normale waarden bereikt.

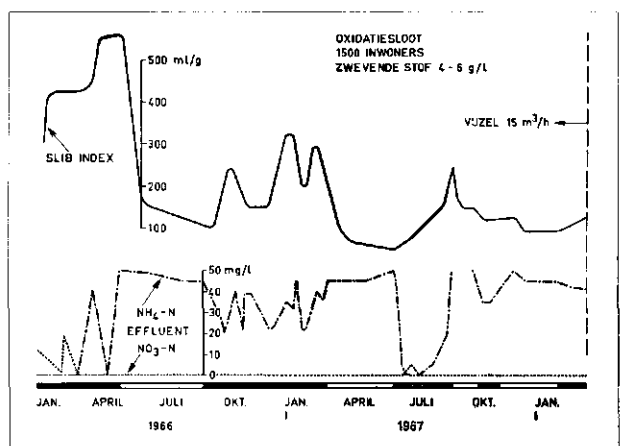
Niet aangegeven is een duidelijk verband tussen O₂-toevoer en het bicarbonaat-gehalte van het effluent en een minder duidelijk verband met de pH van het effluent. Bij afwezigheid van nitrificatie bedraagt het bicarbonaatgehalte 500-600 mg/l, bij volledige nitrificatie 300 mg/l als HCO₃ berekend.

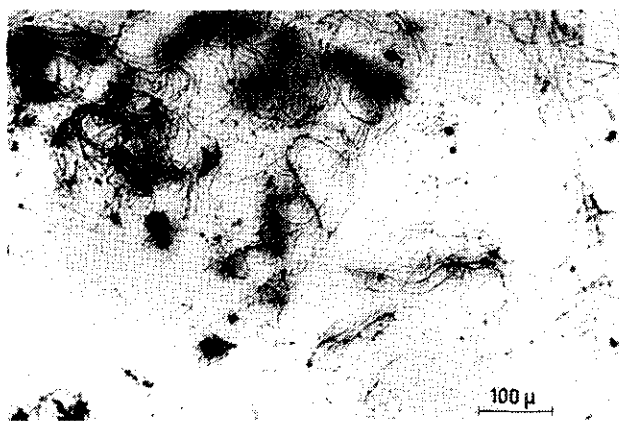
Voorts moet nog worden vermeld, dat in de perioden met gedeeltelijke of volledige nitrificatie het effluent volledig biologisch is gezuiverd met COD-waarden beneden de 80 mg/l. In de perioden met verlaagde O₂-toevoer, waar nitrificatie volledig afwezig was, werd slechts een onvolledige zuivering verkregen. Van de ongeveer 900 mg COD influent werd nog 120 tot 200 mg/l in het effluent teruggevonden. Telkens wanneer dan, door het verhogen van de zuurstoftoevoer, werd getracht een volledige zuivering te verkrijgen, ging dit gepaard met het opnieuw optreden van nitrificatie en het weer tot ontwikkeling komen van de draadvormige bacterie.

Als resultaat van dit eerste gedeelte van het onderzoek werd dus het inzicht verkregen, dat er duidelijk verband bestaat tussen het optreden van nitrificatie en de groei van de draadvormige bacterie.

Aanwijzingen voor een dergelijk verband werden reeds eerder gevonden, nl. in 1964 door Johnson en Schröpfer en in 1967 in Berlijn door Hünerberg en Sarfert.

Afb. 1 - Toevoer afvalwater continu, nitrificatie leidt tot draadvorming.





Afb. 2 - Het slib van de oxydatiesloot bij het begin van het onderzoek.

Het bacteriologisch onderzoek

We gaan nu over tot het tweede gedeelte van het onderzoek, het bacteriologisch gedeelte.

In afb. 2 zien we de toestand van het slib in de oxydatiesloot zoals deze was bij het begin van het onderzoek. Dit materiaal werd in uiteenlopende verdunningen uitgezaaid op nutrient glucose agar en op een glucose peptonagar. Bij microscopisch onderzoek van de gegroeide koloniën konden geen draadvormers worden gevonden. Dit veranderde toen er toe werd overgegaan het entmateriaal niet op de agar uit te strijken maar in de agar te verdelen. Dan werd bij de in de agar gegroeide koloniën regelmatig een aantal draadvormers aangetroffen. Wanneer deze koloniën weer op een agarplaat werden gebracht, groeide de bacterie in de vorm van staafjes van 2-4 μ waarbij een enkel stukje van wat grotere lengte. Dit laatste, maar vooral de draadvormige groei in de agar, deed ons vermoeden dat hoewel de geïsoleerde bacterie geen draadvormige groei meer vertoonde, het toch de gezochte bacterie zou kunnen zijn, die onder de speciale omstandigheden in de agar en in de vlok draadvormige groei kan vertonen. Welke speciale omstandigheden kunnen dit zijn? De aan de vlok toegevoerde zuurstof wordt verbruikt en er wordt CO_2 gevormd. De zuurstofspanning in de vlok is dus laag en het gehalte aan CO_2 hoog.

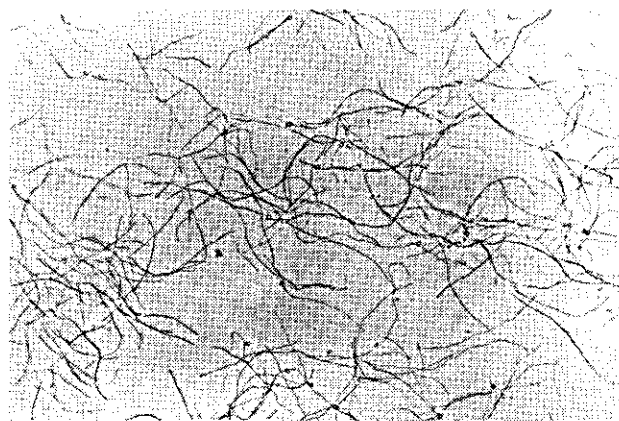
Toen in overeenstemming hiermede de kolfjes en platen met de geïsoleerde bacterie in een atmosfeer werden geplaatst rijk aan CO_2 en arm aan O_2 , nl. bij 90 % CO_2 en 10 % lucht, werd een prachtige draadgroei verkregen. We begrijpen nu meteen ook waarom de koloniën in de agar draadvorming kunnen vertonen. De zuurstof wordt verbruikt en wordt niet zo heel snel weer aangevuld, koolzuur wordt gevormd en diffundeert ook niet zo heel snel weg.

De allereerste vraag is nu vanzelfsprekend, welke is deze merkwaardige bacterie. Het bleek, dat we te doen hadden met de gewone coli bacterie, *Escherichia coli*, van de darmflora, die in huishoudelijk afvalwater in grote hoeveelheden voorkomt. (afb. 3)

Bij verder onderzoek bleek, dat de voornaamste voorwaarde, waaraan voldaan moet zijn wil *E.coli* in draadvorm groeien, is, dat de pH niet veel hoger is dan 6.—, bij voorkeur nog iets lager. De draadvormige groei wordt begunstigd door de aanwezigheid van glucose en door de aanwezigheid van CO_2 . Dit laatste zeker vanwege het verband met de pH, maar misschien heeft CO_2 als zodanig ook nog wel een bevorderende invloed. Ook een lage O_2 -spanning bevordert zoals al vermeld, de draadgroei, wellicht doordat zure stoffwisselingsprodukten, azijnzuur b.v., niet zo vlot worden geoxydeerd en bijdragen tot het omlaag brengen van de pH.

Het verband tussen de tot dusver verkregen resultaten

Met het onderzoek zijn we nu een heel eind in de gewenste richting gekomen. Er is een verband vastgesteld tussen het optreden van de draadvormer in de oxydatiesloot en de ge-



Afb. 3 - Draadvormige groei van de geïsoleerde bacterie (*E.coli*).

deeltelijke of volledige nitrificatie van de ammonium-stikstof; er is een draadvormer in reincultuur geïsoleerd waarvan we denken dat het de draadvormer van het slib zou kunnen zijn; de identiteit is vastgesteld als *E.coli*. De fysiologische eigenschappen van *E.coli* zijn bekend. Er is dan nu het ogenblik aangebroken, te onderzoeken of de tot dusverre verkregen resultaten met elkaar in verband kunnen worden gebracht.

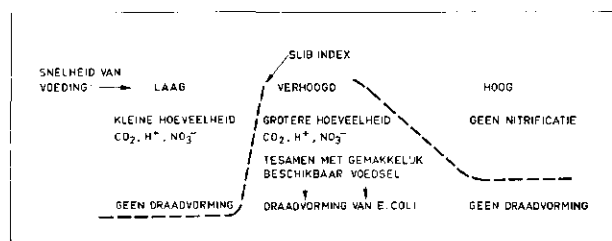
Bij het ademhalingsproces wordt in de vlok CO_2 gevormd. Bij het optreden van nitrificatie wordt uit het NH_4HCO_3 een water- en een koolzuurmolecuul gevormd, het overblijvende NH_3 wordt geoxydeerd tot het sterke salpeterzuur en nog een watermolecuul. Dit heeft een sterke pH-verlaging in de vlok tot gevolg.

Een van de eigenschappen van *E.coli* is, dat een zuur milieu vrij goed wordt verdragen. De meeste bacteriën van de normale flora van een actief slibvlok, (*Pseudomonadaceae*, *Corynebacteraceae*, *Achromobacteraceae* (Allen 1944, Van Gils 1964, Adamse 1966) groeien niet beneden pH 6.— *E.coli* groeit dan nog goed en groeit dan in draadvorm. Bovendien heeft *E.coli* de eigenschap bij lage O_2 -spanning het nitraat als H_2 -acceptor te kunnen gebruiken. Het nitraat kan daarbij zelfs tot ammonium worden gereduceerd.

In de afb. 4 is voorgesteld hoe de toestand in de actief slibvlok kan zijn. Aangenomen is, dat de toevoer van zuurstof constant is en dat een nitrificerende flora aanwezig is. Wanneer aan de vlok slechts weinig voeding wordt toegevoerd, dan zijn de hoeveelheden CO_2 en salpeterzuur die ontstaan, gering. Wanneer voldoende bufferend vermogen aanwezig is, daalt de pH in dit geval niet beneden het gevaarlijke punt en treedt geen draadvorming van coli op.

Wanneer de hoeveelheden voeding groter zijn en dus de hoeveelhedengevormd CO_2 en salpeterzuur groter en bovendien dan ook de hoeveelheid O_2 , die aan de vlok wordt toegevoerd sterk wordt aangesproken, dan zijn de omstandigheden gunstig voor draadvorming. Het gevaar wordt vergroot door de aanwezigheid van gemakkelijk aantastbare voeding als glucose, waaruit als eerste produkt azijnzuur wordt gevormd. Uitdrukkelijk zij echter vastgesteld, dat de

Afb. 4 - Situatie in de vlok bij verschillende snelheden van voeding (snelheid van O_2 -toevoer constant, een nitrificerende flora aanwezig).



draadvorming ook kan optreden zonder de aanwezigheid van een gemakkelijk aantastbaar koolhydraat. Bij nog een grotere toevoer van de voeding naar de vlok wordt de O_2 -behoefte voor de afbraak van de koolstofhoudende verbindingen zo groot, dat voor de nitrificerende bacteriën geen O_2 beschikbaar is, er wordt geen salpeterzuur gevormd, een zo sterke pH-verlaging, dat draadvorming door coli kan optreden blijft uit.

Deze voorstelling is in overeenstemming met de ervaringen, die in de literatuur worden vermeld, nl. dat in actief slib inrichtingen er géén gevaar voor draadvorming bestaat in een gebied van lage en in een gebied van hoge BOD/vlok belasting, maar wel in een middengebied. In afb. 4 is dat door een curve voor de slibindex weergegeven.

Plaats en vorm van de curve worden verschillend aangegeven. Dit behoeft niet te verwonderen. Een verschil in O_2 -toevoer zal hier zeker van invloed zijn. Bovendien is er nog een omstandigheid van veel grotere invloed in het spel, nl. de wijze waarop de voeding wordt toegevoerd die maakt, dat de BOD/vlok belasting slechts een factor van secundaire betekenis is. We komen hierover te spreken in een later gedeelte van de voordracht, dat handelt over de gezondmaking van het lichte slib.

Het tot dusver medegedeelde kunnen we als volgt kort samenvatten:

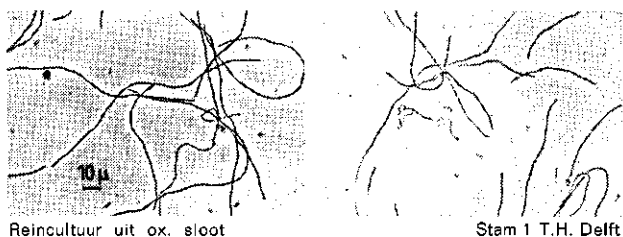
1. door nitrificatie ontstaat in de vlok een lage zuurheidsgraad, doordat een deel van het bicarbonaat wordt weggenomen en het sterke salpeterzuur wordt gevormd.
2. wanneer tegelijk met de nitrificatie voedingsstoffen beschikbaar zijn, dan worden de omstandigheden gunstig voor de groei van *E.coli*, die minder gevoelig is voor een lage zuurheidsgraad dan de meeste bacteriën van de normale actief slib flora.
3. onder de genoemde omstandigheden groeit *E.coli* als een draadvormige bacterie.

Voor zover we kunnen bezien is deze eenvoudige en duidelijke voorstelling in overeenstemming met de feiten.

***E.coli* als veroorzaker van licht actief slib**

Wanneer we nu het beeld van de vlok met draden (afb. 2) nog eens bezien, dan moeten we dus aannemen, dat de erin voorkomende draden colibacteriën zijn. De colibacterie is een bacterie waar heel veel onderzoeken mede zijn verricht; en is eigenlijk niet anders bekend dan als een al of niet beweeglijk staafje van 2-4 μ lengte. Wel is bekend, dat korte kettinkjes kunnen worden gevormd van een aantal cellen, maar een draadvormige groei als in dit beeld, moet

Afb. 5 - Draadvormige groei van 4 stammen (*E.coli*).

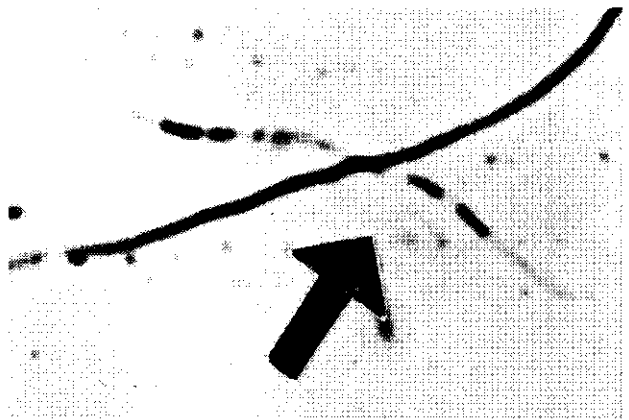
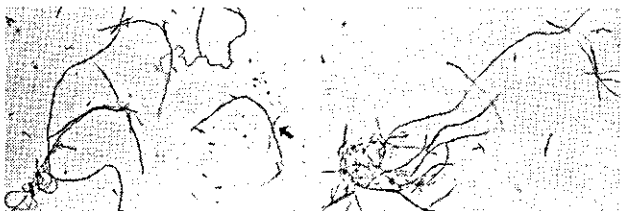


Escherichia Coli

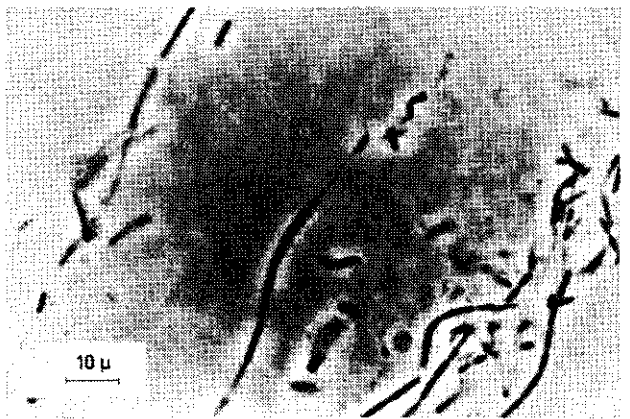
Gist glucose fosfaat 10% lucht + 90% CO_2 20°C, pH 5.0

Type stam NCTC 9001 ATCC 11775

Stam 28 T.H. Delft



Afb. 6 - Stukje van een *E.coli* draad met lege gedeelten.



Afb. 7 - Reincultuur van *Sphaerotilus Natans*.

een ieder hoogst wonderlijk, welhaast onaanneemlijk voorkomen.

Het kan niet uitblijven of bij U en bij mij wordt dan de twijfel geboren, en komen er vragen op als:

Zou die geïsoleerde bacterie wel rein zijn?

en zo ja, is het dan wel *E.coli*

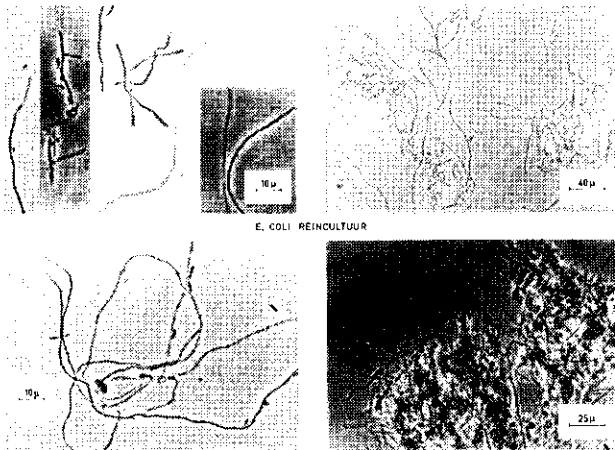
en als het coli is, wat voor wonderlijke stam is het dan wel en tenslotte

Zou het toch niet een andere draadvormige bacterie kunnen zijn?

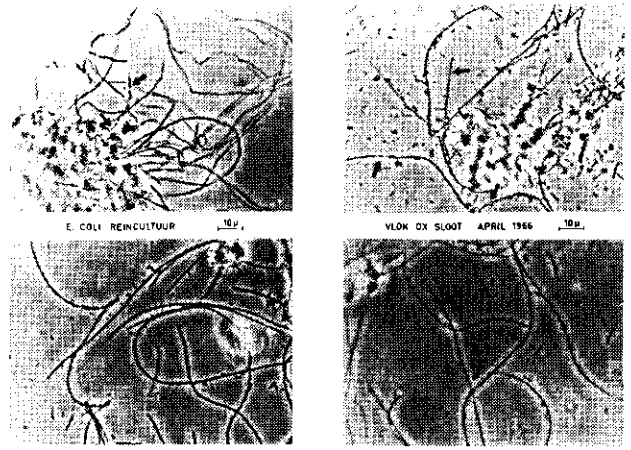
Deze twijfel wil ik proberen weg te nemen. In afb. 5 zien we de draadvormige groei van 4 stammen van *E.coli*, nl. die, welke geïsoleerd werd uit de oxydatiesloot van de inrichting Sancta Maria, 2 stammen van *E.coli*, die zich al lange jaren als echte coli's bevinden in de verzameling van het Laboratorium voor Microbiologie van de TH in Delft en de „type strain" van de Amerikaanse en Engelse collectie. Alle 4 stammen vertonen in een gistglucosebicarbonaat-oplossing bij pH 5-6, in een atm. van CO_2 en lucht deze draadvormige groei.

Uw bijzondere aandacht wil ik vragen voor het stukje draad aangegeven door de pijl in de type strain cultuur. In afb. 6 is dit stukje nog eens vergroot weergegeven. Het is alsof we hier te maken hebben met enkele bacteriën in een schede. Nu is het juist de groei van bacteriën in een schede, die bij het microscopiseren geldt als een typisch kenmerk voor *Sphaerotilus*. In afb. 7 een opname van *Sphaerotilus* waarin die gedeeltelijke lege scheden duidelijk zijn te zien.

In afb. 8 zien we weer *E.coli*. We zien hier ook weer draadstukken, die doen denken aan gedeeltelijke lege scheden, maar ook geheel lege draden die aan lege scheden doen denken. Het lijkt niet onmogelijk, dat deze vormen van



Afb. 8 - *E. coli* in draadvorm.



Afb. 9 - Vergelijking van een reinocultuur van *E. coli* met de vlok van de oxydatiesloot.

E. coli hebben bijgedragen tot een verwarring met *Sphaerotilus*.

In afb. 9 een vergelijking tussen een reinocultuur van *E. coli* en de vlok van de oxydatiesloot Sancta Maria. In beide de voor *E. coli* bij lage pH typische groei.

Na deze afb. en in aansluiting aan het eerder medegedeelde, lijkt het gerechtvaardigd *E. coli* als de draadvormer in de oxydatiesloot Sancta Maria te beschouwen.

Na dit vastgesteld te hebben, is er toch nog één heel belangrijk punt, dat om opheldering vraagt.

Voor de groei van *E. coli* in draadvorm is een lage zuurheidsgraad een vereiste. Wanneer we nu even denken aan het beeld van de Sancta Maria vlok met de vele draden buiten de vlok in een vloeistof van pH 7.— tot 7.5, dan lijkt het in hoge mate onwaarschijnlijk, dat voor de groei van die draden de pH in de vlok bepalend is.

Het zoeken naar een verklaring hiervoor brengt ons bij de wortels van het werkelijke gebeuren.

Het blijkt, dat de draadvormige groei van *E. coli* door een aantal onderzoekers al eerder is waargenomen. *E. coli* blijkt nl. ook draad te vormen onder invloed van phenethyl alcohol (Berrah en Konetzka (1964)) en bij een hoge hydrostatische druk (500 atm.) zoals gevonden door Zobell en Cobet (1964). Voorts is gevonden, dat draadvormige groei van *E. coli* kan worden verkregen door bestraling (Adler en Hardigree (1964)).

Het belangwekkende van deze onderzoeken is, dat in de beide eerstgenoemde gevallen de draadvormige groei gepaard gaat met een stopzetten van de DNA productie in de bacteriecel. Dit DNA (deoxyribonucleïnezuur) is een bestanddeel van de celkern, niet van het cytoplasma van de cel.

Ook bij bestraling is het de celkern, die het eerst wordt beschadigd.

De volgende gedachtengang dringt zich nu op:
door lage pH geen DNA-productie
dan geen kerndeling
en dus ook geen celdeling.

Uit de biochemie is voorts bekend dat DNA-productie (in de celkern) en RNA-productie in het cytoplasma onafhankelijk van elkaar op de uitwendige omstandigheden reageren. Bij het stopzetten van de DNA-productie, kan de vorming van RNA en de celgroei nog doorgaan. We krijgen groei zonder deling, dus een lange cel, een draadvormige cel.

Er is niet veel fantasie voor nodig, om nu het beeld te zien van een actief slibvlok met lage pH, waarin een *E. coli* bacterie. De bacterie groeit als draad uit de vlok. De kern blijft bij de lage pH in de vlok en kan niet delen.

Het is van belang te vermelden, dat in de genoemde onderzoeken behalve *E. coli* ook enkele andere bacteriën onder

de omstandigheden van het onderzoek draadgroei vertoonden. Dit doet het in beginsel mogelijk schijnen, dat in een actief slibvlok behalve *E. coli* nog andere bacteriën in draadvorm kunnen worden verwacht.

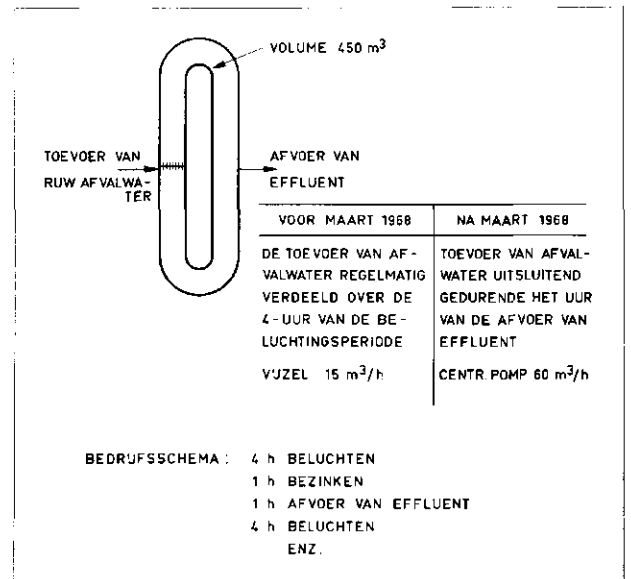
Na dit uitzicht op een veld voor zuiver wetenschappelijk onderzoek, moeten we nu terugkeren naar de moeilijkheden van de praktijk en proberen op grond van het verkregen inzicht het slib in de oxydatiesloot van de inrichting Sancta Maria gezond te krijgen.

Het gezond maken van het lichte *E. coli* slib

De groei van *E. coli* in draadvorm treedt op wanneer in een vlok ammonium wordt geoxydeerd en organische koolstofverbindingen tegelijkertijd beschikbaar zijn. Deze situatie was in de oxydatiesloot van de inrichting „Sancta Maria” aanwezig (afb. 10). Het afvalwater werd gedurende de 4 uren beluchtingsperiode continu toegevoegd, afbraak van de organische koolstofverbindingen en nitrificatie van de ammonium vonden tegelijkertijd plaats.

Geprobeerd moest dus worden of het bedrijfsschema zo zou kunnen worden veranderd dat de oxydatie van de koolstofverbindingen en de oxydatie van de ammonium niet tegelijkertijd kunnen verlopen. Dit werd bereikt door de vijzel (4 hr à 15 m³/h) te vervangen door een centrifugaal-

Afb. 10 - Toepassing van het verkregen inzicht bij de bestrijding van het lichte slib (oxydatiesloot, vlokbelasting 0,04-0,05).



pomp van 60 m³/h. Deze pomp is in werking gedurende het uur, dat de afvoer geopend is. Door het grote volume van de sloot (450 m³) vindt daarbij geen kortsluiting tussen aan- en afvoer plaats.

Bij het begin van de dan volgende beluchtingsperiode worden de ingebrachte 60 m³ afvalwater in weinige minuten gemengd met de inhoud van de sloot. Op dat ogenblik is de zuurstofbehoefte zo hoog, dat voor de nitrificerende flora geen zuurstof beschikbaar is. Alle toegevoerde zuurstof wordt gebruikt voor de oxydatie van de koolstofverbindingen. Voor nitrificatie is pas weer zuurstof beschikbaar in de tweede helft van de beluchtingsperiode wanneer de overgrote hoeveelheid van de toegevoerde koolstofverbindingen is geoxydeerd of is vastgelegd in bacterielichamen.

Na deze verandering in het bedrijfsschema bleek het nu wél mogelijk de zuurstoftoevoer te verhogen en volledige nitrificatie te verkrijgen (afb. 11), zonder dat een toeneming van de draadvorming werd waargenomen. Integendeel, de aanwezige draden verdwenen, de slibindex werd langzamerhand normaal.

Het nitraat, dat wordt gevormd aan het eind van de beluchtingsperiode, wordt gedurende de grote zuurstofbehoefte in het begin van de volgende beluchtingsperiode volledig gedenitrificeerd. Het nitraat-gehalte van het effluent blijft daardoor laag. Een eenvoudige overweging leert, dat het gehalte aan nitraatstikstof maximaal

$$\frac{60}{450} \times \text{ca. } 50 \text{ mg/l} = 6\text{-}7 \text{ mg/l kan bedragen.}$$

We kunnen vaststellen, dat door het toepassen van het in het onderzoek verworven inzicht, we er in geslaagd zijn dit geval van draadvorming door E.coli onder controle te krijgen. Maar daarmee is het onderzoek niet ten einde.

In het begin van de voordracht is als een van de mogelijkheden voor het woekeren van een draadvormige bacterie, de aanwezigheid van niet omgezette voedingsstoffen in het actief slibmengsel genoemd. In het bijzonder koolhydraten zijn in dit opzicht gevaarlijk.

Nu in de oxydatiesloot van de inrichting „Sancta Maria” telkens een grote hoeveelheid afvalwater tegelijk wordt toegevoerd waarbij niet alle voedingsstoffen onmiddellijk worden opgenomen, dienen we met de mogelijkheid rekening te houden, dat een ander draadvormig organisme te voorschijn kan komen. Het is inderdaad zo, dat na het geheel verdwijnen van de E.coli draden, er nu Sphaerotilus draden te voorschijn gaan komen. Er moet worden afgewacht of dit ernstig wordt. Het lijkt mogelijk, dat de ontwikkeling ervan kan worden teruggedrongen door het afvalwater i.p.v. in 4 porties per 24 uur in b.v. 8 porties te doseren.

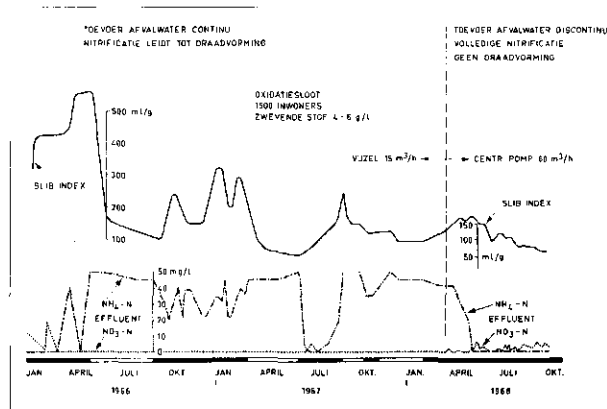
Voordelen van de discontinue toevoer van afvalwater in een oxydatiesloot

In tabel I zijn de resultaten vermeld, zoals die nu met het huidige bedrijfsschema in de oxydatiesloot van de inrichting „Sancta Maria” worden bereikt. Het zijn de resultaten van een onderzoek waarin de gehele stroom afvalwater ook die van het effluent gedurende 5 weken continu werden bemonsterd. De analyses geven nauwkeurig de gemiddelde samenstelling. De BOD verwijdering bedraagt meer dan

TABEL I - Sancta Maria oxydatiesloot

Gemiddelde samenstelling over de periode 24/6 - 29/7 1968 (gemiddelde dagelijkse aanvoer 152 m³).

	influent	effluent
COD ppm	873	51
Cl	148	147
Totaal N	64,5	3,5
Totaal P	13,2	5,4
BOD ₅	485 ± 10 % (berekend uit COD)	4 (bepaald in overvloedig effluent)



Afb. 11.

99 %, van de stikstof is 95 % verwijderd. Deze bijzondere resultaten waren aanleiding de voordelen van het discontinue bedrijfsschema bij elkaar te zetten. Het schema kan als een basisschema worden beschouwd. Verschillende varianten zijn mogelijk.

De voordelen zijn:

1. BOD verwijdering zeer dicht bij 100 % (enige uren beluchten zonder toevoer afvalwater).
2. Een COD verwijdering van 90-95 %.
3. Lage zwevende stofgehalten in het effluent (bezinking in stilstaand water).
4. Optimale hygiënische hoedanigheid van het effluent.
5. Automatische denitrificatie van 90-95 % (geen noodzaak voor extra chemisch onderzoek).
6. Geen gevaar voor draadvorming door Coli.
7. Geen gevaar voor drijfslib door denitrificatie.
8. Maximale mineralisatie van het slib.

Voor deze lijst van voordelen wil ik in het bijzonder de aandacht vragen van diegenen, die met een te bouwen kleine of grote zuiveringsinstallatie een zo goed mogelijk resultaat willen bereiken alsook van hen, die verantwoording dragen voor de juiste besteding van de gelden, die met de bouw van die zuiveringsinrichtingen zijn gemoed. Ook zij, die oppervlakte water beheren, zullen aan deze voordelen niet zonder meer voorbij willen gaan.

Slotbeschouwing

In het onderzoek is vastgesteld, dat in het actieve slib van de oxydatiesloot van de Psychiatrische Inrichting Sancta Maria het tot draadvorming kon komen door E.coli. Of dit al of niet gebeurt, wordt bepaald door het milieu in de vlok. Het voor draadgroei van E.coli vereiste milieu ontstaat wanneer afvalwater continu wordt toegevoerd aan actief slib in een „complete mixing” situatie en daarbij voldoende zuurstof wordt toegevoerd voor het gelijktijdig verlopen van de oxydatie van de koolstof- en stikstofverbindingen.

Deze situatie is niet zeldzaam voor het bedrijf van een oxydatiesloot. Op grond hiervan kan het dan ook waarschijnlijk worden geacht, dat het optreden van een draadvormig coli slib in oxydatiesloten vaker zal voorkomen. Dit is inmiddels door twee verdere gevallen bevestigd. In het ene geval betreft het een oxydatiesloot in de gemeente Ter Aar. Evenals in de oxydatiesloot van de Psychiatrische Inrichting „Sancta Maria”, verkreeg dit slib na het overgaan op een meer discontinue voeding in enkele maanden tijd een normale slibindex. Na een terugval naar een hoge slibindex, is deze nu weer normaal. Definitieve resultaten moeten worden afgewacht.

In het andere geval, een oxydatiesloot in Engeland, is het microscopisch beeld duidelijk dat van een coli-slib. Tot

heden kon daar nog niet tot een discontinue voeding worden overgegaan.

Het is van belang na te gaan of ook in een actief slibinrichting, waar de vlokbelasting hoger is dan in een oxydatiesloot draadvorming door *E.coli* kan optreden. Vooral, wanneer we bedenken, dat door het verhogen van het percentage retourslib, door het verdelen van de toevoer van afvalwater over een groot gedeelte van de beluchtingstank en door het weglaten van tussenwanden min of meer een toestand van „complete mixing” kan ontstaan, lijkt dit niet zo onwaarschijnlijk.

In de voordracht werd aangegeven, dat men niet te ver kan gaan met het principe van discontinue voeding. Wanneer een toestand ontstaat, dat niet alle voedsel in korte tijd door de vlok wordt opgenomen, kan opnieuw draadvorming optreden, ditmaal door het tot ontwikkeling komen van *Sphaerotilus*.

Deze voorgaande overwegingen doen het beeld ontstaan, dat bij het bedrijven van een actiefslibinrichting met beleid tussen twee gevaren zones moet worden gekoerst. Gelukkig leert de ervaring, dat in de meeste gevallen de doorvaart niet zo heel nauw is. Maar wel moeten we ermede rekenen, dat de plaats van de doorvaart wordt bepaald door de inrichting van de installatie, door het toegepaste bedrijfsschema, door de vlokbelasting en door de zuurstoftoevoer.

De breedte van de doorvaart zal vooral worden beheerst door de samenstelling van het afvalwater. Een hoog gehalte aan gemakkelijk aantastbare koolhydraten, zal de doorvaart aan beide kanten vernauwen, daar zowel de draadvorming van *E.coli* als de groei van *Sphaerotilus* erdoor worden bevorderd.

De toekomst zal leren of het gegeven beeld in alle opzichten juist is en of het verkregen inzicht een deugdelijke leidraad kan zijn bij de bestrijding en het voorkómen van het draadvormige actieve slib.

Voor het verkrijgen van meer ervaring hieromtrent zijn installaties nodig, die met draadvormig slib te kampen hebben. Het zij mij daarom toegestaan diegenen, die het beheer over

zulk een oxydatiesloot of actief slibinrichting voeren, te verzoeken dit aan het Instituut voor Gezondheidstechniek TNO te willen melden, teneinde te overleggen of gezamenlijk getracht kan worden het slib gezond te maken.

Slotwoord

Een groot gedeelte van het jarenlange onderzoek is uitgevoerd in een praktijk installatie op 40 km afstand van ons Instituut. Het is geheel te danken aan het vrijwillig opgenomen, toegewijde, dagelijkse toezicht van de bedrijfsleider van de wasserij van de Psychiatrische Inrichting „Sancta Maria”, de heer A. Venema, dat dit onderzoek goed kon verlopen en betrouwbaar kon zijn.

Literatuur

- Adamse, A. D. (1966), *Bacteriological studies on Dairy Waste Activated Sludge*. Thesis Wageningen. H. Veenman en Zonen N.V. Wageningen.
- Adler, H. J. and Hardigree Alice, A. J., *Bacteriology* 87, 720.
- Allen, L. A. (1944), *The J. of Hyg.* 43, 424-431.
- Aubel, E. (1938), *C. R. Séances Soc. Biol.*, 128, 45-46.
- Berrah, G. and Konetzka, W. A. (1964), *J. Bacteriology* 83, 738.
- Van Gils, H. W. (1964), *Bacteriology of activated sludge*. Thesis Wageningen. W. D. Meinema N.V., Delft.
- Hünerberg, K. and Sarfert, T. (1967), *GWF* 108, 966-969. *GWF* 108, 1197-1205.
- Johnson, W. K. and Schroepfer, G. J. (1964), *J.W.P.C.F.* 36, 1015-1036.
- Morgan, E. H. and Beek, A. J. (1928), *Sew. Works J.*, 1, 46-51.
- Pipes, W. O. (1967), *Advances in Applied Microbiology* vol. 9, page 185-234.
- Ruchhoff, C. C. and Watkins, J. H. (1928), *Sew. Works J.*, 1, 52-58.
- Taniguchi, S., Sato, R. and Egami, F. (1956), „*Inorganic nitrogen metabolism*” 87-108. Ed. McElroy W. D. and Bentley Glass. The Johns Hopkins Press, Baltimore.
- Zobell, C. E. and Cobet, A. B. (1964), *J. Bacteriology* 87, 709.