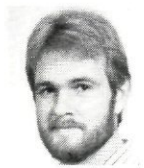


De bacteriologische kwaliteit en het AOC-gehalte van grondwater na biologische nitraatverwijdering

Inleiding

In het grondwater dat wordt gebruikt voor de productie van drinkwater wordt een toename in het nitraatgehalte waargenomen. Verwacht wordt dat 25% van de winningen van de Nederlandse waterleidingbedrijven in de toekomst met nitraatproblemen zal worden geconfronteerd [Van Beek, 1984]. Bij het ontbreken van alternatieve bronnen voor de drinkwaterproductie zal bij een



W. A. M. HIJNEN
KIWA
Nieuwegein



J. C. KRUIJTHOF
KIWA
Nieuwegein



D. VAN DER KOOIJ
KIWA
Nieuwegein

dreigende overschrijding van de maximaal toelaatbare concentratie van 50 mg nitraat/l in het uitgaande water een nitraatverwijdering in de zuivering moeten worden opgenomen.

Nitraat kan uit water worden verwijderd met fysisch-chemische technieken zoals ionenwisseling, hyperfiltratie en elektro-dialyse. De biologische verwijderingsmethoden (denitrificatie) verdienen echter de voorkeur door de beperkte vorming van afvalstoffen [Schipper, 1984]. Bij de biologische processen wordt nitraat door bepaalde bacteriesoorten onder anoxische condities (zuurstofloos) omgezet in stikstofgas. Bij deze omzetting is een energiebron nodig en wordt biomassa gevormd (box 1). Autotrofe bacteriën benutten anorganische verbindingen, zoals waterstof of elementair zwavel als energiebron en CO₂ als koolstofbron. Op verschillende plaatsen wordt autotrofe denitrificatie voor de drinkwaterbereiding onderzocht of toegepast [Blecon *et al.*, 1983; Gros *et al.*, 1986; Kruijthof *et al.*, 1985; Schippers *et al.*, 1987]. Ook wordt gebruik gemaakt van heterotrofe denitrificerende bacteriën, waarbij organische verbindingen als ethanol en methanol dienen als energie- en koolstofbron [Böckle *et al.*, 1984; Philipot, 1982; Richard en Leprince, 1980; Roennefahrt, 1986; Hall *et al.*, 1985; Germonpré, 1987].

Samenvatting

Toepassing van biologische processen voor de verwijdering van nitraat uit grondwater kan leiden tot relatief grote aantallen bacteriën en hoge concentraties afbreekbare verbindingen in het behandelde water. Verwijdering van deze bacteriën en verbindingen is noodzakelijk om groei van bacteriën en hogere organismen tijdens opslag en distributie van het water te voorkomen. Uitvoerig onderzoek is verricht naar de aanwezigheid van bacteriën en nagroei-bevorderende verbindingen (AOC) in grondwater, waaruit met behulp van het zwavel/kalksteenproces (capaciteit 35 m³/h) nitraat is verwijderd. Ditzelfde onderzoek is tevens verricht bij twee bedrijfsinstallaties, waarbij waterstof respectievelijk ethanol dienen als energiebron voor de bacteriën, die nitraat uit het water verwijderen.

De biologische nitraatverwijdering bleek steeds een aanzienlijke toename van het aantal bacteriën en het AOC-gehalte in het water te veroorzaken. Bodempassage via open infiltratie, toegepast na het zwavel/kalksteenproces, veroorzaakte een sterke en afdoende reductie van deze bestanddelen in het gedenitrificeerde grondwater. Wel traden in de open infiltratievijver verstoppingsproblemen op, die gedeeltelijk werden veroorzaakt door het hoge gehalte bacteriemateriaal en AOC in het water.

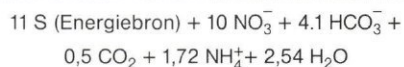
Voorts is gebleken dat een enkelvoudige filtratie van het gedenitrificeerde water na het waterstof- respectievelijk ethanolproces een onvoldoende reductie van het aantal bacteriën en het AOC-gehalte veroorzaakte. Nader onderzoek zal zich moeten richten op het ontwerpen en definiëren van de procescondities van een bovengrondse nabehandeling waarmee water wordt geproduceerd dat voldoet aan de microbiologische eisen en geen (micro)biologische problemen veroorzaakt bij opslag en distributie.

Het bacteriemateriaal, dat bij het denitrificatieproces wordt gevormd (box 1), zal zich voor een deel ophopen in de reactor. Hierdoor kan de weerstand plaatselijk toenemen, waardoor de efficiency van het proces nadelig wordt beïnvloed. Gedeeltelijk zal dit bacteriemateriaal eveneens in het behandelde water geraken en het aantal bacteriën in

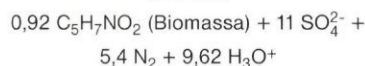
het grondwater sterk verhogen. Als gevolg hiervan en mogelijk mede door de aanwezigheid van resten van een toegevoegde organische energiebron of tussenproducten van microbiële afbraakprocessen neemt ook het gehalte gemakkelijk assimileerbare organische koolstofverbindingen (AOC) in het water toe. Om te voorkomen dat bij opslag en distributie van dit water een ongewenste vermeerdering van bacteriën en hogere organismen optreedt, is een nazuivering vereist. Voor het ontwerpen en het formuleren van de procescondities van deze nazuivering is onderzoek nodig naar de effecten van het denitrificatieproces en de nazuivering op de bedoelde waterkwaliteitsparameters. In dit artikel wordt een onderzoek beschreven naar de samenstelling van het grondwater na passage van een laagbelast mengbed van zwavel en kalksteen en een daarop volgende bodempassage. Tevens is de invloed van twee in het buitenland opgestelde bedrijfsinstallaties op de watersamenstelling bepaald.

Box 1 - Stoichiometrische vergelijkingen.

Autotrofe denitrificatie met Zwavel/Kalksteen

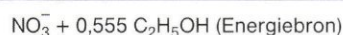


geeft

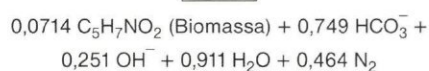


0,16 mg biomassa per mg NO₃⁻

Heterotrofe denitrificatie met Ethanol



geeft



0,13 mg biomassa per mg NO₃⁻

De onderzochte processen

Het zwaartepunt van het onderzoek naar de toepassing van de denitrificatieprocessen door KIWA heeft tot dusver gelegen bij de behandeling door middel van passage door een laagbelast bed van zwavel/kalksteen, een proces dat is bestudeerd bij pompstation Dr. Van Heek van NV Waterleidingmaatschappij

Oostelijk Gelderland (WOG) in het Montferland. Onderzoek is uitgevoerd met een proefinstallatie (0,035 m³/h) en een demonstratie-installatie (DEMO-installatie; 35 m³/h), die in december 1986 is opgestart. Het nitraatgehalte van 70 à 80 mg/l werd gedurende een looptijd van twee jaar gemiddeld met 90% verlaagd. Halverwege deze looptijd is de verblijftijd in de reactor verhoogd door een verdubbeling van de zwavel/kalksteen hoeveelheid. Het water behandeld met de DEMO-installatie werd geïnfiltreerd en teruggewonnen na een verblijf van circa twee maanden in de ondergrond.

De beide installaties en de gegevens over nitraatverwijdering en de overige procesprestaties zijn uitvoerig beschreven door Kruithof *et al.*, [1988] en Van der Hoek *et al.*, [1990].

De bacteriologische en de chemische samenstelling van het grondwater behandeld met de proefinstallatie is eerder beschreven [Hijnen *et al.*, 1988]. De resultaten van het microbiologische onderzoek bij de DEMO-installatie worden in dit artikel besproken. Naast het onderzoek naar de watersamenstelling bij het zwavel/kalksteen proces is éénmalig de watersamenstelling na twee andere biologische processen voor de verwijdering van nitraat uit grondwater geanalyseerd. Monsters zijn genomen van het proces met heterotrofe bacteriën in een vastbed-reactor gevoed met ethanol opgesteld in Frankrijk [Ravarini *et al.*, 1988] en een proces met autotrofe bacteriën in een lamellen-reactor gevoed met waterstof opgesteld in Duitsland [Hellekes en Rutten, 1986]. Beide processen worden op bedrijfsschaal toegepast. In box 2 zijn de flowschema's van de onderzochte processen weer-gegeven.

Het bepalen van de watersamenstelling

Bacteriën in het water

De biomassa, die wordt gevormd bij het denitrificatieproces, bestaat uit bacteriën die geen gevaar opleveren voor de volksgezondheid. Alhoewel bij de bacteriologische parameters de aandacht vooral zal uitgaan naar een bepaling van het totaal aantal bacteriën in het water is het ook van belang vast te stellen of, en in welke mate, het proces de in het Waterleidingbesluit [1983] genoemde bacteriologische parameters beïnvloedt. Bacteriën van de coligroep (NEN 6553), faecale streptococci (NEN 6564) en sporen van sulfietreducerende clostridia (NEN 6567) als indicatoren voor faecale verontreiniging zijn bepaald in het effluent van de zwavel/kalksteen-reactor. Ook is aandacht besteed aan de aanwezigheid

van *Aeromonas* bacteriën (NEN 6263). De overheid heeft voor deze bacterie een signaleringswaarde van 20 kolonievormende eenheden (KVE)/100 ml in het water 'af pompstation' aangegeven. De koloniegetallen van heterotrofe bacteriën zijn bepaald bij 22 °C en bij 37 °C op glucose-gistextract-agar (respectievelijk NEN 6560 en NEN 6550). Aangezien deze parameters slechts een beperkte indruk geven van het totale aantal kolonievormende bacteriën in het water is tevens het koloniegetal op verdunde bouillon agar bij 25 °C (VBA 25) [Van der Kooij *et al.*, 1981] bepaald.

Ook met deze bepaling kan overigens slechts een beperkt deel van de denitrificerende bacteriën in het behandelde grondwater worden bepaald, omdat:

- niet alle heterotrofe bacteriën (bijvoorbeeld *Hyphomicrobium* spp.) en zeker niet de autotrofe bacteriën zoals *Thiobacillus denitrificans* kunnen groeien op het VBA medium;
- veel bacteriën in water waarschijnlijk aanwezig zijn in de vorm van aggregaten van meerdere cellen, die op de vaste media worden geteld als één kolonievormende eenheid (KVE).

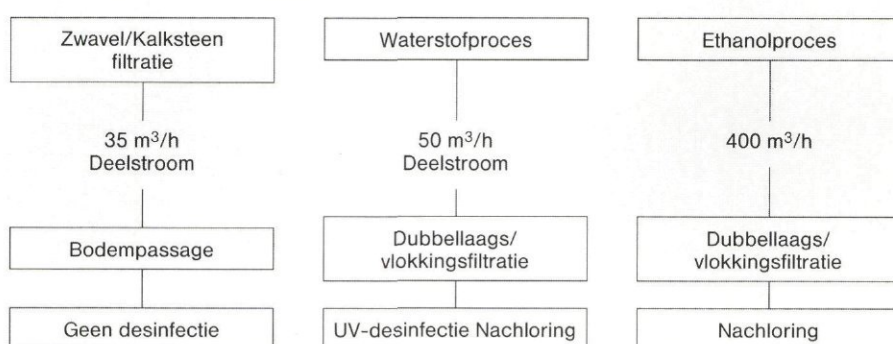
De bepaling van het aantal autotrofe bacteriën in water met behulp van vaste voedingsmedia is lastiger dan van de heterotrofe bacteriën, met name omdat de levensvatbaarheid van deze micro-organismen onder de kweekcondities vrij laag is (< 10%). Een alternatieve techniek voor het bepalen van het totaal aantal bacteriën in het gedenitrificeerde water is de directe microscopische telling. Deze werkwijze was ten tijde van dit onderzoek nog niet operationeel. Vanwege bovenstaande overwegingen is bij dit onderzoek een analysetechniek toegepast, die voor de drinkwatermicrobiologie nieuw is. Door middel van de

Box 3 - De AOC-bepaling.

De zogenaamde AOC-bepaling is een methode voor het meten van het gehalte gemakkelijk Assimileerbare Organische Koolstof in water en is ontwikkeld om de mate van bacteriegroei in drinkwater tijdens distributie te kunnen voorspellen [Van der Kooij, 1979]. De bepaling berust op het meten van het groeimaximum van een geselecteerde reïncultuur van bacteriën in een watermonster, waarin de van nature aanwezige bacteriën door pasteurisatie zijn gedood. Het AOC-gehalte wordt berekend uit het groeimaximum, uitgedrukt in Kolonievormende Eenheden (KVE) per ml, en de opbrengsfactor (KVE/mg C) van de reïncultuur voor acetaat. Het gehalte wordt weergegeven als gewichtshoeveelheid (mg of µg) acetaat-C equivalenten per liter. Voor het bepalen van groepen van verbindingen, die bijdragen aan het AOC-gehalte, worden verschillende teststammen gebruikt. *Pseudomonas fluorescens* stam P17 is als 'alles eter' in staat te groeien op aminozuren, carbonzuren, koolhydraten en aromatische zuren en *Spirillum* sp. stam NOX is gespecialiseerd in carbonzuren, waaronder oxaalzuur. Voor de AOC-bepaling wordt meestal een gemengde ent van stam P17 en NOX toegepast.

bepaling van het gehalte bacteriële adenosinetrifosfaat (ATP) in water kan binnen een uur een indruk worden verkregen van de hoeveelheid actief bacteriemateriaal. De ondergrens van deze bepaling bedraagt 1 picogram (10⁻¹² gram) per ml monster. ATP is een verbinding die in elke levende cel aanwezig is voor de opslag en het transport van energie. De concentratie in de cel hangt onder andere af van de grootte en de fysiologische condities van de cel. In de literatuur wordt een gemiddeld gehalte van 10⁻¹⁶ gram per bacteriecel genoemd [onder andere Webster *et al.*, 1986]. Dit betekent dat de ondergrens van de bepaling ligt op een niveau van 10⁴ cellen/ml. De ATP-bepaling is in box 4 beschreven.

Box 2 - De onderzochte processen.



Organische verbindingen
Het TOC-gehalte (mg C/l) van het (niet voorgefiltreerde) water is bepaald met de Technicon AAI analyser (UV-destructie) met een reproduceerbaarheid van 0,1 mg C/l. Colloïdale gesuspendeerde deeltjes kleiner dan 0,6 mm (kleinste diameter capillair) zijn meebepaald. De AOC-bepaling is uitgevoerd zoals beschreven in box 3.

De samenstelling van het water na het denitrificatieproces

Het zwavel/kalksteen proces
Bij de proefinstallatie met gesloten kolommen werden geen bacteriën van de coligroep, faecale streptococci en sporen van sulfietreducerende clostridia in het behandelde water aangetoond. In het effluent van de DEMO-installatie, opgesteld in het open veld daarentegen waren deze micro-organismen regelmatig aanwezig (tabel I), hoogstwaarschijnlijk door introductie van buitenaf (vogels). *Aeromonas* bacteriën waren in het opgepompte grondwater niet aanwezig, maar wel in het behandelde water van de proef- en de DEMO-installatie [Hijnen *et al.*, 1988], (afb. 1). De mediaanwaarde van het *Aeromonas*-aantal in het effluent van de DEMO-installatie over de looptijd van twee jaar was 500 KVE/100 ml (tabel I). Het voorkomen van hoge *Aeromonas*-aantallen in het gedenitrificeerde grondwater en de toename van dit aantal in de eerste 350 dagen van de looptijd zijn vermoedelijk het gevolg van de in de reactor optredende ophoping van denitrificerende bacteriën. Aangetoond is dat *Aeromonas hydrophila* in staat is te groeien op lage concentraties organische verbindingen afkomstig van (dood) bacteriemateriaal [Van der Kooij en Hijnen, 1988]. Uit dit onderzoek blijkt dat deze groei eveneens optreedt onder anaërobe omstandigheden. Een daling van het *Aeromonas*-aantal met een factor 10 à 100 na ongeveer 370 dagen (afb. 1) viel samen met de verdubbeling van de verblijftijd van het water in de reactor. Na verloop van tijd nam het *Aeromonas*-aantal in het behandelde water weer toe.

Ook de koloniegetallen bepaald bij 22 °C en 37 °C namen toe als gevolg van het denitrificatieproces (tabel I). De mediaanwaarden lagen duidelijk boven de in het Waterleidingbesluit [1983] genoemde niveaus voor drinkwater in het leidingnet (100 respectievelijk 10 KVE/ml). Het koloniegetal bepaald bij 22 °C was minder dan 0,1% van het aantal bepaald op verdunde bouillon agar (VBA 25). Dit koloniegetal nam met een factor 100 à

Box 4 - De ATP-bepaling.

De enzymatische bepaling van bacteriële ATP in water

Adenosinetrifosfaat (ATP)

100 µl monster wordt gemengd met 100 µl Nucleotide Releasing Agent NRB

12 seconden wachttijd: vrijkomen van ATP uit bacteriecel

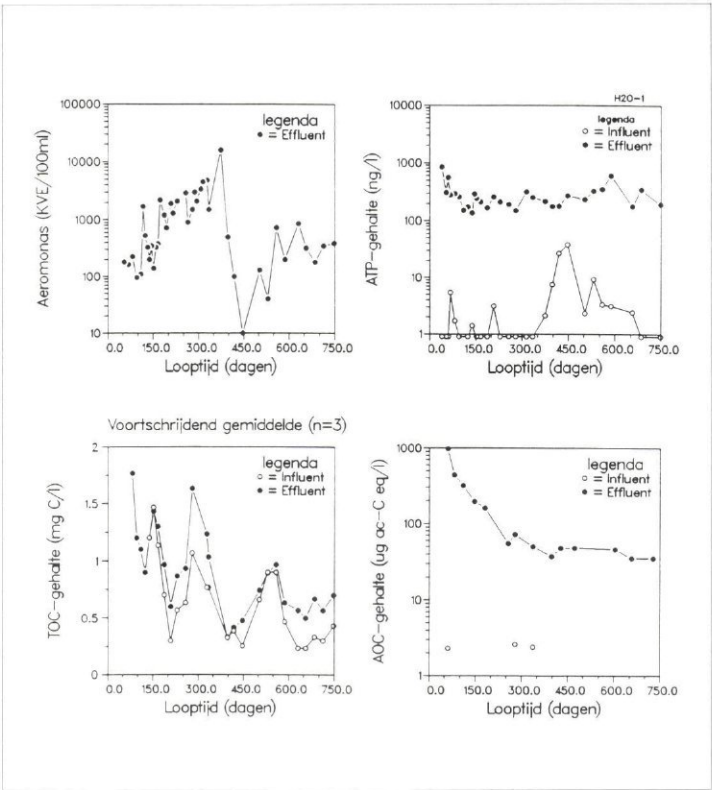
Toevoegen van 100 µl Luciferine-Luciferase Enzymcomplex

Biochemische reactie gedurende 10 seconden waarbij licht vrijkomt

Lichtproductie wordt gemeten met Luminometer

Met gemeten hoeveelheid licht en ijklijn: berekening van ATP-concentratie (10⁻⁹ g/l)

Afb. 1 - *Aeromonas* aantal, ATP-, AOC-, en TOC-gehalte in grondwater voor en na de DEMO-installatie van het zwavel/kalksteen-proces te Montferland; verdubbeling van de contacttijd na 370 dagen.



TABEL I – Overzicht van de microbiologische samenstelling van het grondwater behandeld met de demonstratie-installatie van het zwavel/kalksteenproces in Montferland over de totale onderzoeksperiode van 2 jaar.

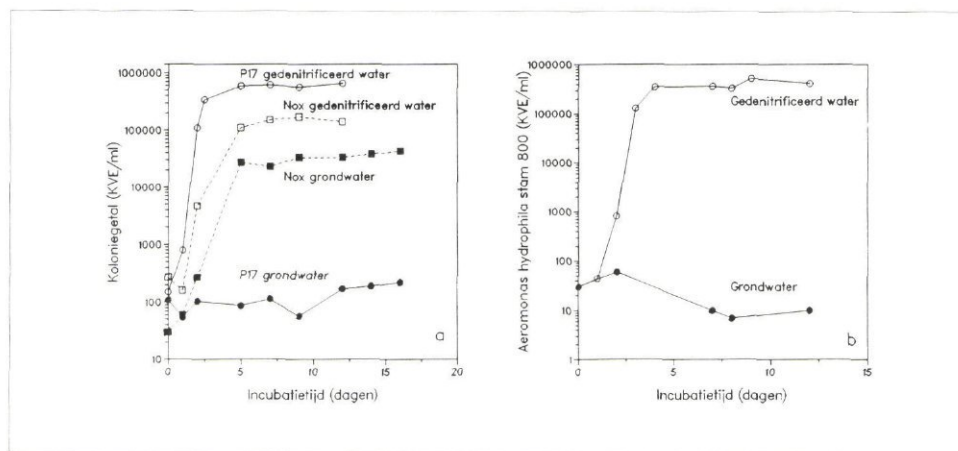
Parameter		Eis waterleiding-besluit	n ^a	Percentage (%) over-schrijdingen			Min. ^a	Max. ^a
				eis	Mediaan ^a			
Bacteriën van de coligroep	(KVE/100 ml)	< 1/300 ml	27	52	1	< 1		50
Faecale streptococci	(KVE/100 ml)	< 1/300 ml	16	44	< 1	< 1		62
Sporen van sulfietreducerende clostridia	(KVE/100 ml)	< 1/100 ml	16	25	< 1	< 1		3
<i>Aeromonas</i>	(KVE/100 ml)	20/100 ml ^b	43	98	500	10	1,6 x 10 ⁴	
Koloniegetal bij 22 °C	(KVE/ml)	100/ml ^c	32	66	250	11	1,6 x 10 ⁴	
Koloniegetal bij 37 °C	(KVE/ml)	10/ml ^c	19	53	9	1	4 x 10 ³	
Koloniegetal VBA 25 °C	(KVE/ml)	– ^d	43	–	9,3 x 10 ⁴	8,1 x 10 ³	7,5 x 10 ⁵	

^a n = aantal monsters; mediaan = 50%; min. = minimum en max. = maximum;

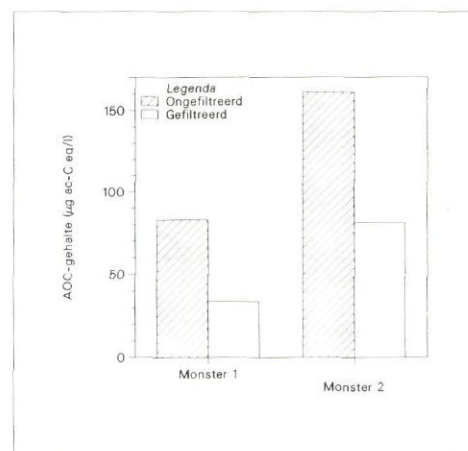
^b signaleringwaarde;

^c geometrisch jaargemiddelde in distributiegebied;

^d geen eis.



Afb. 2 - Groei van de AOC-stammen *Pseudomonas fluorescens* stam P17 en *Spirillum* spp stam NOX in grondwater voor en na het zwavel/kalksteenproces (a) en (b). Groei van *Aeromonas hydrophila* stam 800 in het gedenitrificeerde water.



Afb. 3 - Het AOC-gehalte in het gedenitrificeerde water vóór en na filtratie over een glasvezelfilter met een poriegrootte van 1 µm.

1.000 toe tot 10^4 à 10^6 KVE/ml (tabel I). Het ATP-gehalte van het grondwater lag over het algemeen beneden 5 ng/l en steeg tengevolge van het denitrificatieproces tot gemiddeld circa 250 ng ATP/l (afb. 1). Het totaal aantal levende bacteriën in het water kan op basis van dit gehalte geschat worden op $2,5 \times 10^6$ cellen/ml. De mediaanwaarde van het aantal kolonievormende heterotrofe bacteriën bepaald op het VBA-medium was $9,3 \times 10^4$ KVE/ml en vormde minder dan 10% van dit geschatte aantal cellen. Het verschil in bacterieconcentratie tussen beide parameters (ATP en VBA 25) is vermoedelijk veroorzaakt door de samenstelling van de bacteriepopulatie in het gedenitrificeerde water, die voornamelijk zal bestaan uit *Thiobacillus denitrificans*. Dit organisme vormt geen kolonie op het VBA-medium, maar levert wel een bijdrage aan het ATP-gehalte. Er werd een toename waargenomen van het gehalte organische koolstof in het water (afb. 1). Het TOC-gehalte steeg gemiddeld met 0,2 à 0,3 mg C/l. Het gehalte aan gemakkelijk assimileerbare organische koolstof (AOC) in het behandelde water nam in de eerste fase van de looptijd sterk toe en bedroeg 40% van het TOC-gehalte. Na verloop van tijd daalde het AOC-gehalte tot waarden lager dan 50 µg ac-C eq/l (afb. 1). In het grondwater werd de hoogte van het AOC-gehalte voornamelijk bepaald door de groei van stam NOX, de teststam die gespecialiseerd is in het benutten van carbonzuren (afb. 2). Het AOC-gehalte in het gedenitrificeerde grondwater daarentegen bestond voornamelijk uit verbindingen die met voorkeur door de 'alles eter' *Pseudomonas fluorescens* stam P17 worden opgenomen. Het AOC-gehalte van dit water nam met circa 50% af door filtratie over een 1 µm glasvezel-

filter (afb. 3). Hieruit kan worden opgemaakt dat, naast opgeloste verbindingen ook verbindingen afkomstig van biomassa van invloed zijn op het AOC-gehalte. Bacteriemateriaal is deels colloïdaal ($< 1 \mu\text{m}$) en deels als zwevende stof ($> 1 \mu\text{m}$) in het water aanwezig (afb. 4). Uit onderzoek is gebleken dat *Aeromonas hydrophila* stam 800 goed groeit op lage concentraties (µg/l) verbindingen afkomstig van bacteriemateriaal [Van der Kooij en Hijnen, 1988]. De sterke groei van deze stam in het gedenitrificeerde water wijst eveneens op de aanwezigheid van deze verbindingen.

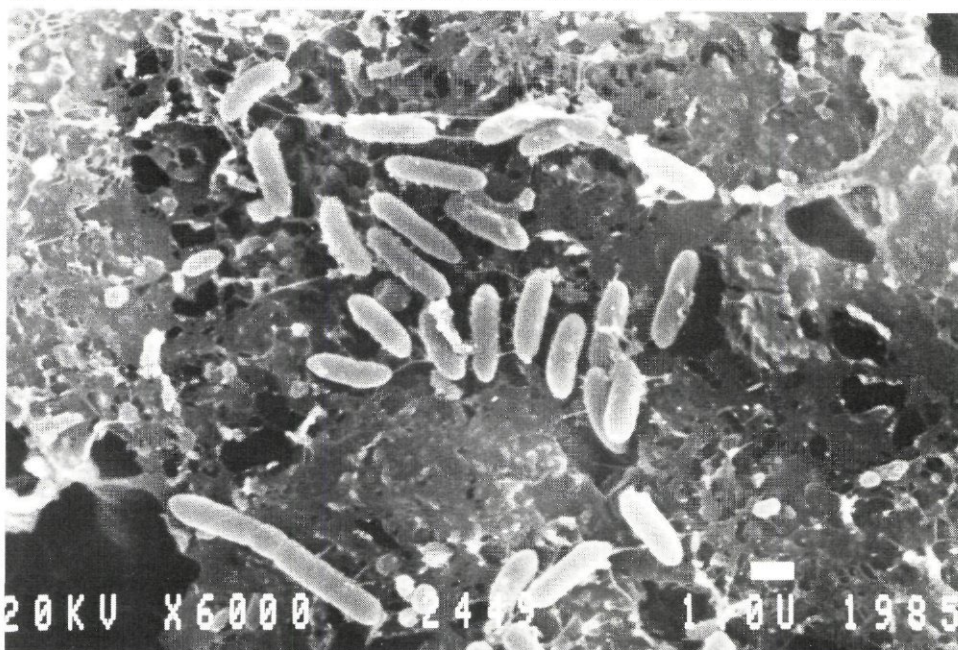
De gemiddelde toename van het TOC-gehalte door het denitrificatieproces was 0,25 mg C/l. Wanneer deze toename geheel zou zijn veroorzaakt door levend

bacteriemateriaal dan zou op grond van de in de literatuur genoemde verhouding tussen het gehalte ATP en organisch koolstof in bacteriën ($\text{TOC}/\text{ATP} = 250$) [Karl, 1980], een gemiddeld ATP-gehalte in het water worden verwacht van circa 1.000 ng/l. Het waargenomen niveau was echter gemiddeld 250 ng/l (25%). Het verschil kan worden verklaard uit het feit dat een deel van de TOC bestaat uit dood celmateriaal dat geen ATP bevat.

Denitrificatie met waterstof of ethanol

In tabel II zijn de resultaten vermeld van enkele oriënterende metingen in water na denitrificatie door middel van het waterstofproces en na denitrificatie met ethanol. Ter vergelijking zijn in deze tabel de gegevens van de zwavel/kalksteen-reactor opgenomen. Bij het zwavel/

Afb. 4 - Opname gemaakt met een elektronenmicroscop van bacteriën op het oppervlak van een zwavelkorrel.

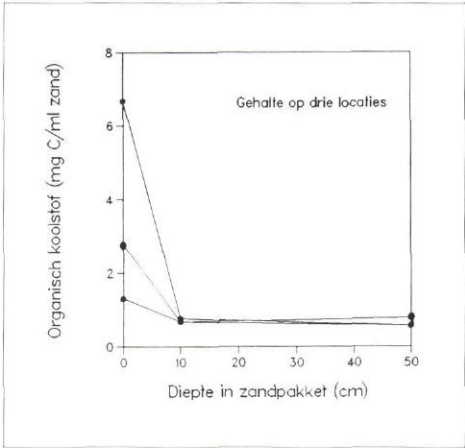


kalksteen-proces is het beeld van de watersamenstelling gebaseerd op een lange periode van continue filtratie, terwijl de andere processen, die frequent worden teruggespoeld, zijn bemonsterd op één moment in de looptijd. Uit de gegevens blijkt dat de onderzochte processen een aanzienlijke toename van het gehalte bacteriemateriaal veroorzaakten. De koloniegetallen bepaald bij 22 en 37 °C van het behandelde water waren hoog en verschilden onderling sterk. Deze koloniegetallen bedroegen over het algemeen maximaal 10% van het totaal aantal heterotrofe kolonievormende bacteriën bepaald op het VBA-medium. Evenals bij de autotrofe processen met zwavel en waterstof bedroeg het aantal heterotrofe kolonievormende bacteriën

monsters of groei beperking door onvoldoende fosfaat en/of sporelementen in het water. Nader onderzoek naar de bepaling van het AOC-gehalte in water na een heterotroof denitrificatieproces met ethanol is noodzakelijk.

Nabehandeling van het gedenitrificeerde grondwater

Infiltratie en bodempassage
De infiltratie van het grondwater behandeld met het zwavel/kalksteen-proces in een open vijver verliep niet zonder problemen. Biogene ontharding door overmatige algenbloei (in de eerste fase van infiltratie) en later de sterke toename van de troebelheid door de vorming van slecht oplosbare polysulfiden en elementair zwavel veroor-



Afb. 5 - Organische koolstof gehalte van het zand op een aantal diepten in het infiltrerend zandoppervlak van de verstopte infiltratievijver na het zwavel/kalksteenproces.

TABEL II - De samenstelling van het grondwater na behandeling met het zwavel/kalksteenproces (onderzoekperiode van 2 jaar) en na twee andere denitrificatieprocessen (eenmalige meting).

Parameters		Upflow langzaam zwavel/kalksteen filtratie	Waterstofproces in 5 reactoren met lamellen		Ethanolproces in vast filterbed (downflow)	
		Mediaan	1 ^b	5 ^b	1 ^c	3 ^c
Koloniegetal bij 22 °C	(KVE/ml)	250 ^a	3,2 x 10 ⁴	3,1 x 10 ⁴	2,6 x 10 ³	8,2 x 10 ³
Koloniegetal bij 37 °C	(KVE/ml)	9 ^a	99	1,5 x 10 ³	1	1
Koloniegetal VBA 25 °C	(KVE/ml)	9,3 x 10 ⁴ ^a	7,1 x 10 ⁴	4,1 x 10 ⁵	1,3 x 10 ⁵	1,2 x 10 ⁵
<i>Aeromonas</i>	(KVE/100 ml)	550 ^a	2	43	15	22
ATP-gehalte	(ng/l)	250	1.065	863	322	224
Toename TOC-gehalte	(mg C/l)	0,3	0,2	0,3	3,6	3,0
AOC-gehalte	(µg ac-C eq/l)	35-983 ^d	194	155	151	318

^a Mediaan-waarde als vermeld in tabel I;
^b Reactor 1 en 5: respectievelijk eerste en laatste reactor van het proces;
^c Reactor 1 en 3: parallel geschakeld;
^d Minimum en maximum.

op het VBA-medium in het water behandeld met het ethanolproces slechts een kleine fractie (< 10%) van het totaal aantal levende cellen geschat met de ATP-bepaling. Dit aantal kan in het gedenitrificeerde water bij de onderzochte processen geschat worden op 10⁶ à 10⁷ per ml. De aanwezigheid van *Aeromonas* bacteriën in het gedenitrificeerde water bij alle installaties sluit aan bij de waarneming, dat deze bacterie voorkomt op plaatsen met een ophoping van biomassa. De beide autotrofe processen (zwavel/kalksteen en waterstof) leidden tot een duidelijke verhoging van het TOC-gehalte (0,2 à 0,3 mg C/l). Een sterkere toename (3 à 3,6 mg C/l) is waargenomen na het ethanolproces en bestond mogelijk voor een belangrijk deel uit ethanol. De fractie gemakkelijk assimileerbare organische koolstof, gemeten met de AOC-bepaling, was in dit water gering (4 en 10% van het TOC-gehalte) in vergelijking tot deze fractie in het water na de twee autotrofe processen (tot 100%). Dit lage percentage kan zijn veroorzaakt door een te laag groei maximum van de reïncultures bij de AOC-bepaling als gevolg van verdamping van ethanol bij de pasteurisatie van de

zaakten verstoppingen [Van der Hoek *et al.*, 1990]. Onderzocht wordt of deze problemen zijn op te lossen door aanpassing van de bedrijfsvoering van het denitrificatieproces. Het hoge AOC-gehalte van het gedenitrificeerde water (afb. 1) en het aangevoerde bacteriemateriaal leverden ook een bijdrage aan de verstopping. Aangetoond is dat verstopping door bacteriegroei reeds bij een lage AOC-concentratie (10 µg ac-C eq/l) optreedt [Hijnen en Van der Kooij, 1990]. Bij het infiltratieproces vindt accumulatie

van organische koolstof in de eerste millimeters van het infiltrerend zandoppervlak plaats. In de oppervlaktelaag van de bodem van de infiltratievijver zijn gehalten organisch koolstof gemeten (afb. 5), die in orde van grootte overeenkomen met de waarden bepaald in zand van door bacteriegroei verstopte experimentele zandfilters [Hijnen en Van der Kooij, 1990]. Onderzoek zal worden uitgevoerd naar de reductie van het AOC- en het ATP-gehalte in het gedenitrificeerde water vóór infiltratie door een voorinfiltratie in een gedraineerd grofkorrelig zandpakket. De bodempassage bleek een effectieve wijze van nabehandeling gezien de goede bacteriologische kwaliteit van het opgepompte water (tabel III). De in het gedenitrificeerde grondwater aanwezige indicator parameters voor faecale verontreiniging (tabel I) werden nagenoeg volledig verwijderd. Of de enkele faecale streptococci, die werden waargenomen en overigens niet zijn bevestigd, afkomstig waren uit het gedenitrificeerde water is onduidelijk. De mediaanwaarden van de koloniegetallen bepaald bij 22 en 37 °C waren ruimschoot beneden de in tabel I

TABEL III - De samenstelling van het met de DEMO-installatie behandelde grondwater na ondergrondse nabehandeling (het onderzochte water (uit de putten 2 en 3), bestond voor een deel uit behandeld water en een deel vers grondwater).

Parameter	n ^a	Percentage overschrijdingen van de eis			
		Mediaan ^a	Min. ^a	Max. ^a	
Bacteriën van de coligroep	43	2,3	< 1	< 1	1
Faecale streptococci	25	16	< 1	< 1	9
Sporen van sulfiet reducerende clostridia	25	< 4	< 1	< 1	< 1
<i>Aeromonas</i>	66	1,5	< 1	< 1	1
Koloniegetal bij 22 °C	47	< 2	3	1	96
Koloniegetal bij 37 °C	28	24	< 1	< 1	1
Koloniegetal bij VBA 25 °C	75	-	340	27	2.300
ATP-gehalte	41	-	< 1	< 1	8
AOC-gehalte	6	-	3	1,3	5,2

^a n = aantal monsters; mediaan = 50%; min. = minimum en max. = maximum.

genoemde maximaal toelaatbare waarden. Het koloniegetal bepaald op het VBA-medium, het ATP-gehalte, en het AOC-gehalte in het opgepompte grondwater waren laag en lagen op het niveau zoals waargenomen in het grondwater voor het denitrificatieproces.

Bovengrondse nabehandeling

Ter vergelijking van de effecten van de nabehandeling bij de drie onderzochte processen op het gehalte bacteriemateriaal en organisch koolstof zijn in afb. 6 de waarden van de belangrijkste parameters na de diverse stadia van de behandeling weergegeven. Benadrukt wordt, dat de metingen bij het waterstof- en ethanolproces slechts eenmalig zijn uitgevoerd en dat de nabehandeling bij deze processen niet is geoptimaliseerd voor de parameters toegepast in dit onderzoek.

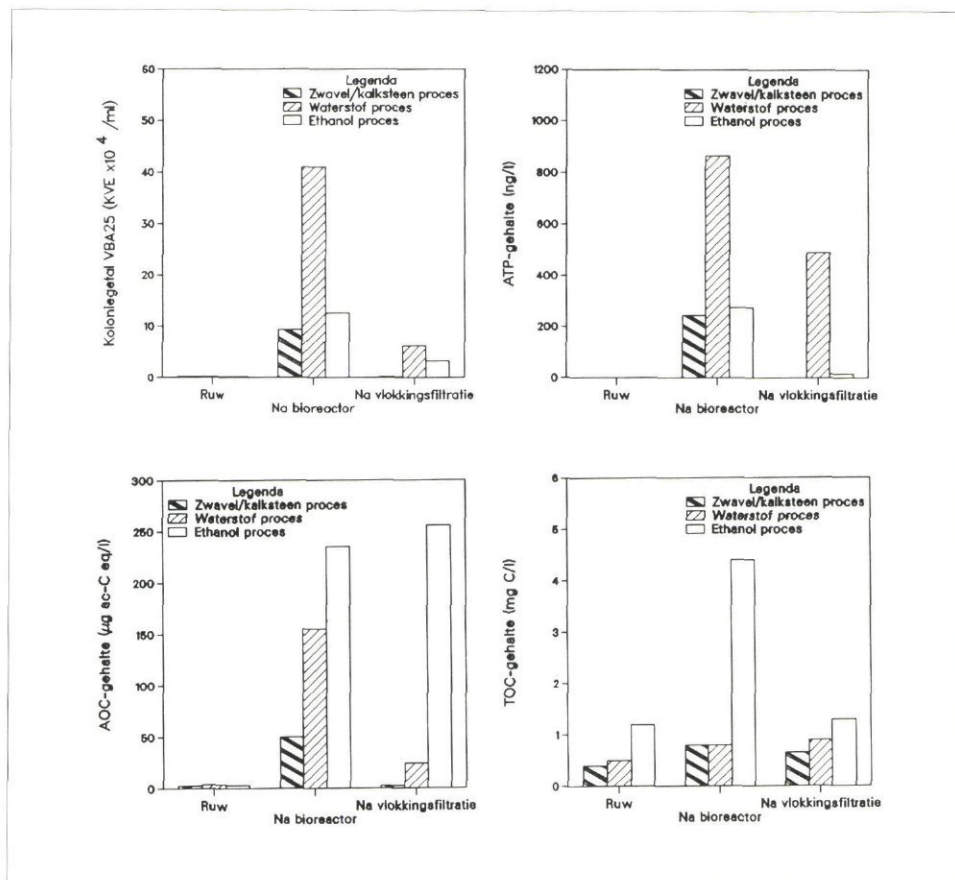
Bij het waterstof- en het ethanolproces werd als bovengrondse nabehandeling een dubbellaags-vlokkingsfiltratie toegepast. Het nafilter bij het waterstofproces had op het moment van monstername een spoelfrequentie van éénmaal per 48 uur. Deze frequentie is (onafhankelijk van dit onderzoek) later gewijzigd in éénmaal per 24 uur.

De belasting van dit nafilter met bacteriemateriaal was hoog en het ATP-gehalte nam slechts met ongeveer 50% af.

Ondanks een sterke afname van het AOC-gehalte nam het TOC-gehalte nog enigszins toe. Deze waarneming en het hoge rest ATP-gehalte (overeenkomend met meer dan 10⁶ bacteriën/ml) wijzen op een hoog gehalte bacteriemateriaal in het nabehandelde water.

Bij het ethanolproces werd het nafilter belast met water met een hoog TOC-gehalte, vermoedelijk voor een belangrijk deel bestaande uit ethanol. Alhoewel het TOC-gehalte afnam tot het niveau van het ruwe water bleef in het AOC-gehalte hoog. Het gehalte bacteriemateriaal (ATP) nam sterk af (> 90%) door de nabehandeling, maar was evenals het AOC-gehalte in het nabehandelde water hoger dan in het ruwe water.

Bij het Waterstofproces bestond de nadesinfectie uit een UV-desinfectie en een chloordosering, waarna het water als deelstroom (20%) werd opgemengd met het ruwe water. Dit water ondergaat een snelfiltratie (ontijzing en ontmanging) en een beluchting (CO₂-verwijdering). Het nabehandelde water van het Ethanolproces werd na desinfectie met chloor gedistribueerd. Volgens de beheerders van beide bedrijfsinstallaties kon met de nadesinfectie van het gedenitrificeerde en nabehandelde water worden voldaan aan de in de wet voorgeschreven eisen voor



Afb. 6 - Het koloniegetal op het VBA-medium en het TOC-, ATP- en AOC-gehalte van het water na de diverse stadia van de onderzochte processen (geen kolom: gehalte beneden analysegrens); bij het zwavel/kalksteenproces zijn de mediaanwaarden vermeld en bij de andere processen het gemiddelde van de waarnemingen bij een éénmalig onderzoek.

de bacteriologische kwaliteit van drinkwater. (Micro)biologische problemen in het leidingnet van deze pompstations zijn niet waargenomen.

Uit de resultaten van deze oriënterende metingen blijkt dat de enkelvoudige filtratie, zoals toegepast na de denitrificatieprocessen met waterstof en ethanol, het gehalte bacteriemateriaal en het AOC-gehalte in het water afkomstig uit de bioreactor, niet afdoende verlaagde. De AOC-concentraties in het nabehandelde water waren hoger dan 10 µg ac-C eq/l, de waarde die voor drinkwater 'af pompstation' is aanbevolen om (micro)biologische problemen als gevolg van nagroei tijdens opslag en distributie van het water te voorkomen [Van der Kooij en Hijnen, 1983]. De ATP-waarden van 20 à 400 ng/l in het nabehandelde water duiden op een relatief hoge belasting van het leidingnet met bacteriemateriaal. Het kan niet worden uitgesloten dat met een optimalisatie van de bedrijfsvoering van de enkelvoudige filtratie, gericht op de verlaging van het niveau van beide parameters, een verbeterde samenstelling van het behandelde water kan worden bereikt. Wordt het denitrificatieproces toegepast op een deelstroom met een

hoog nitraatgehalte, zoals bij het waterstofproces, dan levert ook menging met niet gedenitrificeerd grondwater een bijdrage aan het bereiken van de gewenste watersamenstelling.

Conclusies

Uit de resultaten van dit onderzoek blijkt – dat het denitrificatieproces, zowel met een anorganische als met een organische energiebron, bij de verwijdering van nitraat uit grondwater leidt tot een toename van het gehalte bacteriemateriaal en gemakkelijk assimileerbare organische koolstof (AOC) in het water. Bij een 'open' proces in de buitenlucht dient bovendien rekening gehouden te worden met de introductie van bacteriën van faecale herkomst. Een relatief sterke toename van het aantal bacteriën in het water is waargenomen met de koloniegelden op Glucose-Gistextract Agar en op verdunde bouillon agar. De toename van het gehalte bacteriële adenosinetri-fosfaat (ATP) wijst op een nog hoger aantal bacteriën in het gedenitrificeerde water, omdat bacteriën die niet in staat zijn kolonies te vormen op de bovengenoemde media wel een bijdrage leveren aan het ATP-gehalte.

- Bij alle onderzochte denitrificatieprocessen is, in meer of mindere mate, een toename van het aantal *Aeromonas* bacteriën waargenomen. Deze toename is hoogstwaarschijnlijk het gevolg van de aanwezigheid van hoge concentraties biomassa in de filters.
- Het gehalte gemakkelijk assimileerbare organische koolstof (AOC) wordt door het denitrificatieproces sterk verhoogd. Dit wordt veroorzaakt door de toename van het gehalte bacteriemateriaal in het water en de aanwezigheid van verbindingen, die door micro-organismen bij anaerobe processen worden gevormd. Bij de heterotrofe processen levert een rest-concentratie van de energiebron ook een (belangrijke) bijdrage.
- Veranderingen van de gehalten bacteriemateriaal en (afbreekbare) organische stoffen (inclusief rest substraat) in het water leiden tot variaties van het TOC-gehalte. Gezien het lage concentratie niveau van afbreekbare organische verbindingen waarbij nagroei van bacteriën wordt waargenomen ($\mu\text{g C/l}$) blijven metingen van het AOC en ATP gehalte nodig voor een nauwkeurige analyse van het water.
- Bodempassage van het gedenitrificeerde water gaat gepaard met een sterke reductie van de aantallen bacteriën en het AOC-gehalte in het water. Bij het toepassen van een dergelijke nabehandeling dient echter rekening gehouden te worden met verstoppingsverschijnselen in het infiltratiepand.
- Uit het oriënterend onderzoek uitgevoerd bij het waterstof- en ethanolproces is gebleken dat de enkelvoudige vlokingsfiltratie op moment van monsternamen het bacteriemateriaal en het AOC-gehalte niet voldoende verwijderde. Door optimalisatie van de bedrijfsvoering is mogelijk een beter resultaat te bereiken. Het is echter onwaarschijnlijk dat met een dergelijke enkelvoudige nafiltratie de vereiste waterkwaliteit kan worden bereikt.

Verder onderzoek

In het kader van het VEWIN-speurwerkproject 'Nitraatverwijdering' zal het zwaartepunt van het onderzoek in de komende twee jaar liggen op het ontwikkelen en operationeel maken van een heterotroof denitrificatieproces in een vastbed reactor met ethanol als energie- en C-bron, gevolgd door een bovengrondse nazuivering. Zoals uit de beschreven resultaten blijkt is het van groot belang om de microbiologische kwaliteit van het gedenitrificeerde water goed te analyseren. Nader onderzoek is nodig naar de aanwezigheid van ongewenste

bacteriën (onder andere *Aeromonas* en *Pseudomonas* spp.) in het water na de diverse stadia van de zuivering. Alle beschreven analysetechnieken worden in het laboratorium uitgevoerd. Het bacteriemateriaal is als colloïdaal materiaal in water aanwezig en met de microbiologische analyses, die in dit onderzoek zijn toegepast, wordt alleen de levende fractie gemeten. Fysische analysetechnieken zoals troebelheid en de Membraanfiltratie-Index [MFI; Schippers en Verdouw, 1979] kunnen mogelijk als aanvullende metingen op locatie snel een indruk geven over het totale gehalte bacteriemateriaal in het behandelde grondwater. Aandacht is ook nodig voor de bepaling van het AOC-gehalte na denitrificatie met ethanol. Als blijkt dat ethanol niet wordt meebepaald bij de AOC-bepaling moet een methode voor analyse van lage concentraties van deze verbinding in water worden ontwikkeld. Ethanol is een gemakkelijk assimileerbare organische verbinding, waarvan de concentratie in het nabehandelde water, op grond van de advieswaarde voor het AOC-gehalte van drinkwater, lager moet zijn dan $10 \mu\text{g C/l}$. De genoemde parameters zullen worden toegepast in het onderzoek met als doel ontwerpcriteria voor een goede nazuivering te formuleren, waarmee bacteriologisch betrouwbaar drinkwater kan worden geproduceerd dat geen aanleiding geeft tot (micro)biologische problemen bij opslag en distributie.

Verantwoording

Het beschreven onderzoek maakt deel uit van het door de VEWIN aan het KIWA opgedragen speurwerkprogramma. Het onderzoek aan het zwavel-kalksteenproces vormde een onderdeel van een studie naar de toepassing van dit proces die in samenwerking met de NV Waterleidingmaatschappij Oostelijk Gelderland en de Stichting Waterlaboratorium Oost wordt uitgevoerd. Dank is verschuldigd aan de Centre en Recherche de la Compagnie Générale des Eaux (Parijs) en de Stadtwerke Mönchengladbach GmbH (Duitsland), die het mogelijk hebben gemaakt het onderzoek aan het ethanol-respectievelijk het waterstofproces uit te voeren. C. Koning, F. L. M. Donker en H. W. van der Klift hebben zorg gedragen voor de technische ondersteuning bij het voorbereiden en uitvoeren van de werkzaamheden.

Literatuur

Beek, C. G. E. M. van (1984). Nitraat in het onttrokken grondwater. In: Nitraat en drinkwatervoorziening. KIWA-mededeling nr. 84, Nieuwegein, november 1984.

Blecon, N., Gillet, M., Martin, G. et Philipot, J. M. (1985). *Procédé de dénitrification biologique par Thiobacillus denitrificans sur soufre-maërl*. Revue Française des Sciences de l'eau 2, 267-279.

Böckle, R., Rohman, U. und Sontheimer, H. (1984). *Denitrifikation in biologisch arbeitenden Aktivkohlefiltern*. In: Neue Technologien in der Trinkwasserversorgung. DVGW-Schriftenreihe Wasser nr. 105, 153-178.

Germonpré, R. (1987). *Etudes des diverses possibilités d'élimination des nitrates dans les eaux de surface*. Wat. Supply 6, 63-70.

Gros, H., Schnoor, G. and Rutten, P. (1986). *Nitrate removal from ground water by autotrophic micro-organisms*. Wat. Supply 4, 11-21.

Hall, T., Walker, R. A. and Zabel, T. F. (1985). *Nitrate removal from drinking water - progress selection and design*. Proceedings of the congress 'Nitrates dans les eaux', octobre 1985, Paris.

Hellekes, R. und Rutten, P. (1986). *Betrieb und Überwachung einer Denitrifizierungsanlage mit Wasserstoff*. Voordracht op wetenschappelijk colloquium in Bochum.

Karl, D. M. (1980). *Cellular nucleotide measurements and applications in microbial ecology*. Microbiol. Rev. 44, 739-796.

Kruihof, J. C. Paassen, J. A. M. van, Hijnen, W. A. M., Dierx, H. A. L. and Bennekom, C. A. van (1985). *Experiences with nitrate removal in the eastern Netherlands*. Proceedings of the congress 'nitrates dans les eaux', octobre 1985, Paris.

Kruihof, J. C., Bennekom, C. A. van, Dierx, H. A. L., Hijnen, W. A. M., Paassen, J. A. M. van and Schippers, J. C. (1988). *Nitrate removal from groundwater by sulphur/limestone filtration*. Wat. Supply 6, 207-219.

Philipot, J. M. (1982). *Traitement biologique des eaux usées urbaines et potables: l'intérêt de la fixation des bactéries sur support*. Aqua, nr. 5, 28-30.

Ravarini, P., Coutelle, J. et Damez, F. (1988). *L'usine de Denmémont une unité de dénitrification-nitrification à grande échelle*. TSM-l'eau 83, 235-240.

Richard, Y. et Leprince, A. (1980). *L'azote dans le traitement des eaux potables les traitements biologiques*. TSM-l'eau 4, 167-181.

Roennefahrt, K. W. (1986). *Nitratentfernung bei der Trinkwasseraufbereitung mittels heterotroph aquatischer Mikroorganismen in Festbettreaktoren*. In: Neue Technologien in der Trinkwasserversorgung. DVGW-Schriftenreihe Wasser nr. 106, 169-179.

Schippers, J. C. (1984). *Behandeling*. In: Nitraat en drinkwatervoorziening. KIWA-mededeling nr. 84, Nieuwegein, november 1984.

Schippers, J. C., Kruihof, J. C., Mulder, F. G. en Lieshout, J. W. van (1987). *Nitraatverwijdering met langzame zwavel/kalksteenfiltratie*. H₂O 20, 1987, 30-34.

Hoek, J. P. van der, Schippers, J. C., Kruihof, J. C., Hijnen, W. A. M., Mulder, F. G. en Bennekom, C. A. van (1990). *Nitraatverwijdering met langzame zwavel/kalksteenfiltratie op demonstratieschaal*. H₂O (23) 1990, nr. 26, p. 710-715.

Kooij, D. van der (1979). *Ontwikkeling van een methode om de nagroei van bacteriën in drinkwater te bepalen*. H₂O 12, 1979, 164-166.

Kooij, D. van der, Hijnen, W. A. M. en Oranje, J. P. (1981). *Vermeerdering van bacteriën in drinkwater*. H₂O 14, 1981, 317-322.

Kooij, D. van der, Visser, A. and Hijnen, W. A. M. (1982). *Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water*. J. Am. Water Works Assoc. 74, 540-545.

Kooij, D. van der en Hijnen, W. A. M. (1983). *Verwijdering van organische stoffen door micro-organismen bij filtratie*. H₂O 13, 1983, 306-311.

Kooij, D. van der and Hijnen, W. A. M. (1988). *Nutritional versatility and growth kinetics of an*

teel ook uitgevoerd, om de bedrijfszekerheid en flexibiliteit van het proces te verhogen. Het zwavel/kalksteenproces is thans geschikt voor toepassing op praktijkschaal.

Verantwoording

Het deel van het onderzoek naar nitraat-verwijdering uit grondwater met zwavel/kalksteen filtratie dat door KIWA wordt uitgevoerd vindt plaats in het kader van het VEWIN-speurwerkprogramma.

Het onderzoek wordt uitgevoerd in nauwe samenwerking met de Waterleiding-maatschappij Oostelijk Gelderland, waarvan de heren ing. B. J. Mijnaerends, H. F. Wisselink en ir. H. A. L. Dierx een bijdrage leverden, en in nauwe samenwerking met de Stichting Water-laboratorium Oost.

Van het KIWA droegen de heren F. L. M. Donker, ing. R. C. M. Jong en ir. J. W. N. M. Kappelhof bij aan het project.

Literatuur

- Beek, C. G. E. M. van (1984). *Nitraat in het onttrokken grondwater*. In: *Nitraat en drinkwater-voorziening*. KIWA Mededeling nr. 84, Nieuwegein, november 1984.
- Bennekom, C. A. van (1987). *Kwaliteitsveranderingen van grondwater als gevolg van uitspoeling van meststoffen*. H₂O 20, 194-199.
- Blecon, G. (1985). *Dénitrification autotrophique par Thiobacillus denitrificans sur soufre - Aspects microbiologiques et mise au point technologique*. Thèse présentée devant l'université de Rennes I, 1e 8 Juillet 1985.
- Buisman, C. J. M. (1989). *Biotechnological sulphide removal with oxygen*. Proefschrift Landbouw-universiteit Wageningen.
- Donker, F. L. M., Jong, R. C. M., Kappelhof, J. W. N. M. en Hijnen, W. A. M. (1989). *Onderzoek naar reinigingsmethoden voor de ksd-reactor*. KIWA rapport SWE 89.024, Nieuwegein, november 1989.
- Harremoës, P., Cour Jansen, J. la en Kristensen, G. H. (1980). *Practical problems related to nitrogen bubble formation in fixed film reactors*. Prog. Wat. Technol. 12, 253-269.
- Hijnen, W. A. M. en Kooij, D. van der (1989). *Verstopping van infiltratieputten onder invloed van het gehalte assimileerbare organische koolstof (AOC) van het water*. In: *Diepinfiltratie, de theorie*. KIWA Mededeling nr. 106, Nieuwegein, mei 1989.
- Hijnen, W. A. M., Koning, D., Kruithof, J. C. en Kooij, D. van der (1988). *The effect of bacteriological nitrate removal on the concentration of bacterial biomass and easily assimilable organic compounds in ground water*. Water Supply 6, 264-273.
- Hijnen, W. A. M. en Kooij, D. van der (1990). *Verstopping van infiltratieputten door bacteriegroei onder invloed van het AOC-gehalte in het water*. H₂O 23, 142-149.
- Hijnen, W. A. M., Kruithof, J. C. en Kooij, D. van der (1990). *De bacteriologische kwaliteit en het AOC-gehalte van grondwater na biologische nitraatverwijdering*. H₂O (23) 1990, nr. 26, p. 720-726.
- Kruithof, J. C., Bennekom, C. A. van, Dierx, H. A. L., Hijnen, W. A. M., Paassen, J. A. M. van en Schippers, J. C. (1988). *Nitrate removal from ground water by sulphur/limestone filtration*. Water Supply 6, 207-217.
- Martin, G. en Blecon, G. (1983). *Dénitrification*

autotrophique sur mélange mearl-soufre. Aqua 2, 66-67.

Pfennig, N. en Biebl, H. (1976).

Desulfuromonas acetoxidans gen. nov. and sp. nov., a new anaerobic, sulphur reducing, acetate oxidizing bacterium. Archives Microbiology 110, 3-12.

Schippers, J. C. (1984). *Behandeling*. In: *Nitraat en drinkwatervoorziening*. KIWA Mededeling nr. 84, Nieuwegein, november 1984.

Schippers, J. C., Kruithof, J. C., Mulder, F. G. en Lieshout, J. W. van (1987). *Nitraatverwijdering met langzame zwavel/kalksteenfiltratie*. H₂O 20, 30-34.

Soares, M. I. M., Belkin, S. en Abeliovich, A. (1988). *Biological groundwater denitrification: laboratory studies*. Wat. Sci. Technol. 20, 189-195.

● ● ●

Bacteriologische kwaliteit en AOC

• Slot van pagina 726

Aeromonas hydrophila strain isolated from drinking water Appl. Environ. Microbiol. 54, 2842-2851.

Webster, J. J., Hampton, G. J., Wilson, W. C.,

Ghiorse, W. C. and Leach, F. R. (1985).

Determination of microbial cell numbers in subsurface samples. Ground Water 23, 17-25.

Hijnen, W. A. M., Koning, D., Kruithof, J. C. and Kooij, D. van der (1988). *The effect of bacteriological nitrate removal on the concentration of bacteriological biomass and easily assimilable organic carbon compounds in ground water*. Wat. Supply 6, 265-273.

Hijnen, W. A. M. en Kooij, D. van der (1990). *Verstopping van infiltratieputten door bacteriegroei onder invloed van het AOC-gehalte van het water*. H₂O 23, 1990, 142-149.

● ● ●

Hoge zinkgehalten

• Slot van pagina 734

Conclusie

Wij concluderen dat zowel laterale als verticale, nog onvoldoende bekende, processen een rol spelen bij de verontreiniging van het grondwater met zink in het onderzochte gebied. Ook in de literatuur is weinig bekend over de beweeglijkheid van zink in het grondwater, noch over het effect van hoge zinkgehalten op het ecosysteem. Verder onderzoek naar de processen die een rol kunnen spelen bij zink-verontreiniging van het grondwater is daarom gaande. Hierover zal binnenkort gerapporteerd worden.

Literatuur

- Andresen, A. M., Johnson, A. H. and Siccama, T. G. (1980). *Levels of lead, copper and zinc in the forest floor in the north-eastern United States*. J. Environ. Qual 9: 293-296.
- Arends, B. G., Sloot, H. A. van der, and Duijvenboden, W. van (1987). *Influence of acidification on the concentration of less common trace elements in Dutch groundwater*. In: Duijvenboden, W. van and Waageningh, H. G. van (red., 1987). *Vulnerability of soil and groundwater to pollutants*. Proceedings and Information 38, TNO Committee of Hydrological Research, Den Haag, pp. 527-534.
- Beyer, W. N., Miller, G. W. and Cromartie, E. J. (1984). *Contamination of the O₂ soil horizon by zinc*

smelting and its effect on woodlouse survival. J. Environ. Qual. 13: 247-251.

Bosmans, H. and Paenhuys, J. (1980).

The distribution of heavy metals in the soils of the Kempen. Pédologie, 30 (2): 191-223.

Miller, W. P. and McFee, W. W. (1983).

The distribution of Cd, Zn, Cu and Pb in soils of industrial northwestern Indiana. J. Environ. Qual. 12: 29-33.

Edelman, Th. and Bruin, M. de (1986). *Background values of 32 elements in Dutch topsoils, determined with non-destructive neutron activation analysis*.

In: Assink, J. W. and Brink, W. J. van den (red., 1986). *Contaminated Soil*. Nijhoff, Dordrecht, pp. 89-99.

Parkel, G. R., McFee, W. W. and Kelly, J. M.

(1978). *Metal distribution in forested ecosystems in urban and rural northwestern Indiana*. J. Environ. Qual. 7: 337-442.

Pedroli, G. B. M. (1990). *Classification of shallow groundwater types in a Dutch coversand area*. J. Hydrol. 115: 361-375.

Pedroli, B. and Wijk, A. J. van (1988).

Stripper Aa-gebied rijp voor bodemsanering door hoge zinkgehalten in grondwater? H₂O 1988, (21) 10: 270-273.

Pedroli, G. B. M., Maasdam, W. A. C. and Verstraten, J. M. (1990). *Zinc in poor sandy soils and associated groundwater. A case study*. Sci. Total Environ. 91: 59-77.

Scokart, P. O., Meeus-Verdinne, K. and Borger, R. de (1983). *Mobility of heavy metals in polluted soils near zinc smelters*. Water Air Poll. 20: 451-463.

● ● ●

Schoonmaak Middellandse Zee kost ruim f 27 miljard

De schoonmaak van de Middellandse Zee gaat ruim 27 miljard gulden kosten. Dat blijkt uit onderzoek van TNO, in opdracht van de Wereldbank en de Europese Investeringsbank. Volgens F. de Walle van TNO in Delft zal de schoonmaak waarschijnlijk over een periode van 15 tot 20 jaar worden uitgesmeerd. Van Nederland, dat lid is van beide banken, zal ook een bijdrage worden verwacht in de sanering. Een 'zachte schatting' daarvan komt uit op anderhalf miljard gulden. Nederland draagt indirect, via de grote aantallen toeristen, bij aan de vervuiling van het water bij de kusten van Griekenland, Italië, Spanje en Frankrijk. Volgens het onderzoek van TNO dient op de eerste plaats aandacht gegeven te worden aan de verbetering van zuiveringsinstallaties voor afvalwater. Deze klus zou bij voorkeur binnen vijf jaar geklaard dienen te zijn. Door de lozing van stikstof en fosfaat via het afvalwater is bij veel kustwater sprake van overmatige algengroei. De Wereldbank wil in haar projecten de komende tijd meer nadruk leggen op milieuthema's. Behalve de Middellandse Zee staan ook de Sahel en de tropische regenwouden op de agenda. De verdeel-sleutel voor Nederland komt uit op een bijdrage van 3 tot 4 procent per project (ANP).