

Toxiciteitstesten voor afvalwater t.a.v. biologische zuivering

De in de praktijk meest voorkomende reden voor het doen van toxiciteitsonderzoek in afvalwater is gericht op het goed functioneren van een biologische waterzuivering. Alhoewel andere storende factoren zoals overbelasting, drijfslibvorming, regenwaterafvoer etc. in de praktijk meestal van groter belang zijn, kan men verwachten dat met het toenemend aantal industriële afvalstromen die op een biologische zuivering worden aangesloten, de kans op vergiftigingen stijgt.

Veel afvalwater wordt thans nog niet

a. Het effluent wordt troebel t.g.v. afgestorven bacteriën, die niet meer aan de actief slibvlok blijven zitten en t.g.v. de vergiftiging van protozoën, die vrij zwemmende bacteriën eten.

b. Het zuurstofverbruik daalt.

c. De zuiveringsgraad daalt.

d. De bezinkbaarheid van het slib wordt slechter.

e. Het gehalte NO_3^- in het effluent daalt en het gehalte NH_3 stijgt.

f. Er treedt extra schuimvorming op.

2. Chronische vergiftiging

Hierbij is de invloed van het vergif te gering om direct waarneembare gevolgen te hebben. Er kan langzame ophoping van giftige stoffen optreden waardoor na verloop van tijd een schadelijke concentratie ontstaat of het evenwicht in de populatie wordt verstoord waardoor er op den duur bepaalde gevolgen waarneembaar worden (Choi et al, 1974). De effecten zijn meestal gelijk als bij de acute vergiftiging maar door de geleidelijkheid moeilijker waarneembaar. Het trage verloop van het vergiftigingsproces bij chronische vergiftiging kan als volgt verklaard worden. De giftige stof ondergaat een ontgiftingsproces dat op den duur niet voldoende is.

Ontgiftiging kan plaatsvinden door diverse mechanismen:

a. adsorptie aan de slibvlok; hierdoor wordt de concentratie in vloeistof lager;

b. absorptie; opname in de cel en binding aan eiwitten, interne secretie in vacuolen of celwanden;

c. biologische afbraak tot CO_2 en H_2O ;

d. biotransformatie, bijv. omzetting tot slecht oplosbare stoffen, hydrolyseringen, substituties, vorming van glycosiden etc.;

e. chemische complexatie, bijv. binding aan sulfiden, eiwitten, humuszuren etc.

De werking van de gifstof

In de meeste gevallen berust de werking van een gifstof op het blokkeren van een of ander enzym waarmee het een binding aangaat. Hiermee is echter de gifstof tevens uit het water weggenomen. Daarom is er vaak een goede relatie tussen de giftigheid en de hoeveelheid gif per hoeveelheid biomassa. Toch is dit niet algemeen. Bij een zgn. competitieve inhibitie concurreert de gifstof met het normale substraat om de actieve plaats van het enzym te bezetten. Een directe relatie tussen de giftigheid en de concentratie per volume is dan een gevolg.

In tabel I is uiteengezet bij welke concentratie allylthiourem (ATU) er 50 resp. 95 % remming optreedt van nitrificerende

bacteriën in het actief slib. Hieruit blijkt dat de noodzakelijke concentratie om deze remming te geven niet constant is en niet evenredig toeneemt met een toenemend slibgehalte. Mogelijk wordt dit veroorzaakt door de snellere ontgiftiging bij hogere concentraties slib.

TABEL I.

Slibgehalte		concentratie ATU (mg/l)			
g/l		50 % inhibitie		95 % inhibitie	
I	II	I	II	I	II
0,4		0,8		1,2	
0,6	0,6	0,8	1,2	1,5	1,5
1,0	1,0	1,6	1,0	2,8	1,5
2,0	2,0	1,7	1,0	3,0	2,7
	4,0		2,4		6,0

Alhoewel er wel voorbeelden zijn van chronische vergiftiging door accumulatie, zijn deze gevallen in actief slib toch minder algemeen. Wel algemeen voorkomend zijn de kleine storingen die kettingreacties teweegbrengen en populatie verschuivingen tot gevolg hebben (Alexander 1971).

Een voorbeeld van een dergelijke verstoring is de afbraak van sommige detergenten.

De ophoping door adsorptie is aanvankelijk in evenwicht met de afbraak en de giftigheid blijft gering. Toenamen van de lozing

kan dit evenwicht verstoren, daardoor stijgt de giftigheid en blijft de afbraak achter,

de concentratie in de oplossing stijgt en daardoor de remming van de afbraak t.g.v.

de giftigheid. Dit loopt op den duur uit op een enorme schuimvorming waardoor het slib gefloeteerd wordt en de afbraak nog

verder geremd. Een dergelijke evenwichtsverstoring kan in principe door allerlei oorzaken in gang gezet worden (Swisher, 1970).

Een andere bekende storing is het optreden van draadvormende bacteriën. Indien normaal de groeisnelheid van vlokvormende bacteriën groter is dan die van draadvormende dan zullen de draadvormers nooit de overhand krijgen. Een selectieve remming brengt de draadvormers in het voordeel. Een overmaat aan draadvormers zou

bijv. door excretie van andere remmende stoffen de groei van de vlokvormers nog sterker kunnen remmen. Daardoor ontstaat dan licht slib en de slibafvoer moet noodzakelijkerwijs opgevoerd worden. De algehele belasting stijgt waardoor de positie van de draadvormers nog verder wordt versterkt.

Dergelijke kettingreacties als gevolg van een geringe verstoring zijn wellicht algemener in de natuur en in het actief slib dan meestal wordt gedacht. Ze hebben tot gevolg dat verschuivingen in de populatie sprongsgewijs verlopen. De grilligheid in het gedrag van actief slib onder 'normale' omstandigheden is wellicht een gevolg van 'normale' verstoringen, zoals regen, zonlicht, temperatuur, seizoen etc.

DRS. J. BLOK

Akzo Research Laboratories
Arnhem, The Netherlands
Corporate Research Department

DR. W. F. TEN BERGE

Akzo Research Laboratories
Arnhem, The Netherlands
Corporate Research Department

biologisch gezuiverd en in dat geval zal het ontvangende oppervlaktewater kans op vergiftiging lopen. Het moet te verwachten zijn dat de lozing van ongezuiverd afvalwater in de toekomst tot de zeldzaamheden gaat behoren, desalniettemin is voorlopig het oppervlaktewater nog bedreigd door kans op vergiftigingen.

Toxiciteitstesten dienen relevant te zijn voor het bio-systeem dat beschermd moet worden. Voor afvalwater heeft men dus te maken met slib uit zuiveringsinstallaties en met rivier organismen, zoals bijv. algen, eencelligen, kleine kreeftjes, insecten en vissen. Gezien de variabiliteit binnen deze biosystemen is het niet mogelijk één test te doen die overal en altijd op dezelfde manier geïnterpreteerd kan worden.

In dit overzicht worden een aantal methodes voor de meting van acute toxiciteit voor zuiverings-slib besproken met de bedoeling hieruit een keus te maken voor één of meer te normaliseren methodes.

Vergiftiging van zuiverings-slib

Alhoewel scherpe grenzen in de biologie meestal niet te trekken zijn, kan men voor het gemak onderscheid maken tussen acute vergiftiging en chronische vergiftiging.

1. Acute vergiftiging

Hierbij is de inwerking van de giftige stof zo direct dat vrij kort na de toevoeging één of meer van de onderstaande gevolgen duidelijk waarneembaar zijn.

Een eenvoudige laboratoriumtest voor dergelijke verschijnselen is vrijwel uitgesloten. Daarom kan men zich beter beperken tot testmethodes voor acute toxiciteit.

Meetmogelijkheden

Het meten van acute toxiciteit komt in de praktijk neer op het meten van vitaliteit. Daarbij wordt een gestoorde vitaliteit vergeleken met de normale vitaliteit.

De meest relevante uiting van vitaliteit van waterzuiveringsslib is natuurlijk het doen verdwijnen van substraat ofwel afvalstof uit het water. Men kan echter ook andere uitingen van vitaliteit gebruiken voor het meten van toxiciteit.

Het levensproces van saprofytische bacteriën is te verdelen in een energie leverende biochemische reactieketen, waarbij in dit geval uit organische stof CO_2 wordt afgesplitst en waterstof wordt overgedragen op zuurstof, en een energie vragende biochemische reactieketen waarbij brokstukken van de organische stof worden gesynthetiseerd tot nieuwe biomassa.

De nieuw gevormde biomassa geeft op den duur aanleiding tot celdeling. In andere termen kunnen we ook spreken van substraat oxydatie en groei. Alhoewel beide processen door de energetische koppeling meestal parallel verlopen, waarbij gemiddeld ca. 35 % van de organische stof wordt geoxideerd en 65 % wordt gebruikt voor synthese, kan in bepaalde gevallen een discrepantie ontstaan. Zo kan de groei en celdeling geremd worden zonder directe storing van het zuurstofverbruik, maar ook het zuurstofverbruik kan gestimuleerd of geremd worden zonder onmiddellijke gevolgen voor de groei.

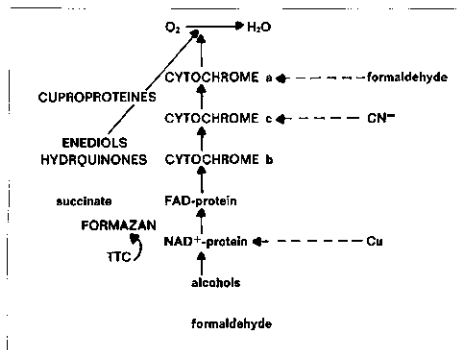
Samenvattend kan het meten van toxiciteit berusten op het meten van

- biomassa toename;
- oxydatie processen;
- substraat afname.

De resultaten uit deze toxiciteitsmetingen hoeven niet à priori met elkaar in overeenstemming te zijn. Bovendien zullen de metingen van deze processen om praktische redenen in een verschillend milieu over een andere tijd en met andere technieken uitgevoerd worden, waardoor de onderlinge vergelijkbaarheid slecht is.

Biomassa toename

In een voedingsoplossing of op een agar worden bacteriën geënt. Na verloop van tijd ontstaat een troebeling t.g.v. de bacteriecellen. Deze troebeling wordt gemeten. Hierbij kan men vergelijken met de troebeling van een controle inoculatie of men kan in een verdunningsreeks de grens zoeken waarbij juist geen troebeling meer



Afb. 1 - Elektronen transport ketens in saprofytische bacteriën.

optreedt. Deze concentratie noemt men de *minimum inhibitie concentratie*. Dit kan men doen met diverse geïsoleerde bacteriesoorten of met een mengsel zoals het actief slib.

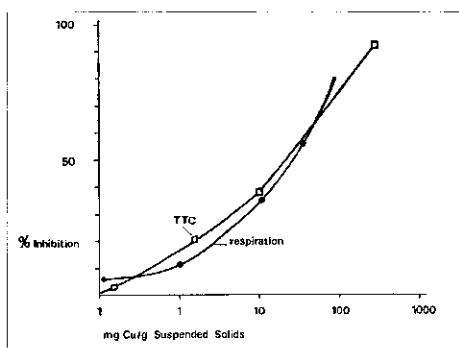
De meting berust op het waarnemen van 100 % groeiemming. Subtoxische effecten zoals een verschuiving van de karakteristieke groeiselheidsconstanten worden natuurlijk niet bemerkt. Volgens een wetsvoorstel in de Bundesrepubliek wordt dié verdunning gezocht waarbij de remming juist waarneembaar is. Het spreekt vanzelf dat dit criterium veel gevoeliger ligt, terwijl het aan de troebelheidsmeting hogere eisen stelt. Deze troebelheidsmeting is evenwel niet erg nauwkeurig. De incubatietijd is meestal ca. 24 hr. (Bemessungsgrundlage ABG 1974).

Meting van biologische oxydatieprocessen

Biologische oxydatie kan eenvoudigheds-halve gezien worden als elektronenoverdracht van substraat naar zuurstof. Dit gebeurt niet in een enkele reactie zoals bij verbranding, maar in verschillende reactiestappen. Hiervoor zijn doorgaans meerdere substraat-afhankelijke wegen mogelijk, zoals in afb. 1 wordt geïllustreerd.

De bacteriën van de groep pseudomonas, die een groot deel van de bacteriepopulatie in een zuiveringsinstallatie vormen, beschikken naast het cytochromensysteem ook

Afb. 2 - Giftigheid van koper volgens de TTC-test □ en de respiratie remmingstest ●



over cuproproteïnen, die elektronen van het substraat direct op zuurstof kunnen overdragen.

Tabel II geeft een overzicht van de redox-potentia's van enkele ademhalingsystemen. Verschillende methodes zijn in gebruik om de biologische oxydatie te meten.

TABEL II - Redox potentia's van enige ademhalings redox koppels.

acetaalaldehyde/acetaat	— 0,60 V
H_2/H^+	— 0,40 V
NADH/NAD^+	— 0,32 V
Formazan/TTC	— 0,20 V
FADH_2/FAD	— 0,18 V
cytochrom b $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$	+ 0,12 V
cytochrom c $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$	+ 0,23 V
cytochrom a $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$	+ 0,29 V
Cuproproteïnes $\text{Cu}^+/\text{Cu}^{2+}$	+ 0,35 V
$\text{H}_2\text{O}/\frac{1}{2}\text{O}_2$	0,80 V

1. Meting van de formazanvorming uit triphenyltetrazoliumchloride (TTC).

(Klapwijk et al. 1974, Voorlopig voorschrift Norm Commissie zware metalen)

Men werkt hierbij het liefst in anaeroob milieu. Er is dan geen zuurstof aanwezig, waarop de elektronen van het substraat overgedragen kunnen worden. Indien er een andere elektronenacceptor aanwezig is, zoals TTC, dan worden de elektronen op deze kunstmatige acceptator overgedragen. Er wordt formazan gevormd met een duidelijke meetbare kleur. Aangezien de standaardredoxpotentiaal van TTC iets hoger ligt dan die van de NAD-dehydrogenase, meet men uitsluitend de NAD-dehydrogenase activiteit. Indien men in aëroob milieu cyanide toevoegt, zijn de cytochromen en cuproproteïnes geblokkeerd en kunnen geen elektronen meer doorgegeven worden naar de zuurstof. De elektronen kunnen echter nog wel van NAD H op TTC overgebracht worden, omdat de NAD-dehydrogenase slechts weinig beïnvloed wordt door CN^- ionen.

Ook het omgekeerde is mogelijk, een remming in de TTC-test en een normale respiratie. In dit geval is de NAD-dehydrogenase geblokkeerd, maar kunnen diverse bacteriën via de cuproproteïnen toch het substraat oxyderen.

Uit afb. 2 blijkt dat de giftigheid van koper in deze test en de respiratieremmingstest, die verderop ter sprake zal komen, redelijk overeenkomt, indien uitgedrukt in mg koper/gram biomassa.

De nadelen van de TTC-test vergeleken met de respiratieremmingstest worden echter duidelijk geïllustreerd door de resultaten van giftigheidstesten met formaline en cyanide (tabel III). Er blijkt geen enkele overeenkomst tussen beide methodes. Hieruit kan men besluiten, dat de TTC-test voor dergelijke stoffen onbruikbaar is als acute toxiciteitstest. In het algemeen is de TTC-test minder toepasbaar, omdat slechts een

TABEL III - Resultaten van toxiciteitstesten met cyanide en formaline in actief slib volgens de TTC-test en de respiratietest.

	% Inhibition (resp. stimulation)	
	TTC-test	Respiration test (6 g SS/l)
mg CN ⁻ /g SS		
25	0	100
10	0	100
1	0	100
0,5	0	100
0,1	0	80
mg Formalde- hyde/g SS		
36	— 38	35
18	— 23	28
9	— 11	13
1,8	— 16	0
0,18	0	0

enkel enzym getest wordt, terwijl alle enzymen uit de ademhalingsketen belangrijk zijn. Als methode om het gehalte vitale organismen in een actief slib te vergelijken met dat in een ander actief slib is de TTC-test overigens zeer bruikbaar.

2. Redoxpotentiaal meting met resazurine (diazoresorcinol) of methyleen blauw (NEN 3235.5.1)

Evenals bij de reductie van TTC tot formazan gebeurt, wordt er bij de reductie van methyleen blauw of van resazurine waterstof uit de biochemische reactieketen onttrokken. Methyleen blauw wordt echter door de opgeloste zuurstof weer onmiddellijk geoxideerd. Een reductie gepaard gaande met ontkleuring kan dan ook alleen maar plaatsvinden als het water anaeroob is geworden.

Resazurine wordt in twee stappen gereduceerd van blauw via rood tot kleurloos. De reductie tot rood is niet reversibel m.b.v. opgeloste zuurstof en deze verloopt dan ook onafhankelijk van de opgeloste zuurstof. De tweede stap is wel reversibel met zuurstof en vindt dan ook alleen plaats in anaeroob milieu.

Deze reacties zijn aantrekkelijk vanwege de eenvoud. Afhankelijk van de gebruikte hoeveelheid biomassa kan deze test binnen enkele uren tot een dag informatie over toxiciteit verschaffen.

3. Zuurstofverbruiksmetingen

Zoals reeds opgemerkt, bestaat er een relatie tussen zuurstofverbruik en substraatverwijdering. Om dit te meten moet men het zuurstofverbruik splitsen in endogene respiratie; d.w.z. van binnenuit gereguleerd en onafhankelijk van de voedingsstoffen die van buitenaf toegediend worden; en de exogene respiratie d.w.z. de extra respiratie t.g.v. substraatoxydatie afhankelijk van de concentratie van voedingsstoffen. Beide respiratie processen zijn gevoelig voor vergiftiging maar in geheel verschillende

mate. Bovendien kan de endogene respiratie gestimuleerd worden t.g.v. een zwakke vergiftiging. Er worden twee methodes toegepast om de twee processen te splitsen. In het ene geval ent men met zo'n geringe hoeveelheid biomassa dat de endogene respiratie te verwaarlozen klein is.

Door groei op substraat ontstaat wel nieuwe biomassa die geleidelijk aan meer endogene respiratie gaat vertonen. Gedurende een typische groei proef, zoals die in feite bij een BOD bepaling gebeurt, wordt een overheersende exogene respiratie vervangen door een endogene respiratie.

Door aanwezigheid van giftige stoffen kan de helling in het exponentiële groeigebied kleiner worden of de periode van exponentiële groei schuift op. Tijdens de incubatie periode kan er afbraak van de giftige stof optreden zodat de groei voornamelijk in de laatste dagen valt. M.b.v. een respirometer is dit allemaal te bestuderen omdat een volledige groeicurve wordt verkregen.

De klassieke BOD₅ bepaling laat meestal verstek gaan omdat het ene meetpunt na 5 dagen onvoldoende informatie geeft.

De andere methode gaat uit van een grote hoeveelheid biomassa. De endogene respiratie wordt bepaald door een incubatie zonder voedingsstoffen. De waarde hiervan wordt van de andere meetwaarden afgetrokken. In het eenvoudigste geval brengt men slib met afvalwater in een gesloten flesje en meet na diverse tijden de zuurstof concentratie. Veel eleganter is de Warburg techniek waarmee sommige mensen redelijk nauwkeurig kunnen werken. Ook m.b.v. de sapromat kan men de respiratie van slib meten (Bridié, 1969; Steinecke, 1968).

Een nadeel van deze methoden is dat snelveranderende respiratiesnelheden niet eenvoudig te meten zijn. De Warburg apparatuur is niet zelf registrerend en de sapromat geeft slechts eens per uur een meetwaarde.

M.b.v. een open respirometer kan veel intensiever belucht worden. Daardoor kan met onverdund slib binnen 15 minuten een goed omschreven respiratiesnelheid gemeten worden. Deze meting kan men dan herhalen met toevoeging van giftige stoffen (Blok 1973, 1974).

Belangrijkste voordeel van toxiciteitsmeting m.b.v. een dergelijke respirometer is de snelheid en de mogelijkheid tot automatisering. Bij verschillende grote industrieën in West Europa zijn automatische toximeters volgens het principe van de respiratiemeting in gebruik of in ontwikkeling.

3.1. Automatische toximeters

De diverse automatische toximeters die ontwikkeld zijn berusten vrijwel allemaal op hetzelfde principe. Een cultuur van micro-organismen met een actieve respiratie

wordt in contact gebracht met een rioolwatermonster. Als een giftige stof die in het rioolwater voorkomt de respiratie remt, wordt dit geregistreerd als een toename in de zuurstofconcentratie en eventueel in een alarm omgezet. De uitvoering van dit meetprincipe kan in detail verschillen waarbij vooral de batchmethode verschilt van de continuummethode.

Bij de batchmethode is er een meetcyclus. De micro-organismen worden eerst uit een voorraad cultuurvat in een gesloten meetcel gebracht, daarna wordt rioolwater toegevoegd en de opname van zuurstof wordt gedurende enige tijd (ca. 15 min.) gemeten. De curve moet geïnterpreteerd worden, waarbij eventueel een computer gebruikt wordt. Het meetvat wordt daarna geleegd en een nieuwe cyclus begint (Jüermann et al, 1967, Bakker 1974, Blok 1973).

Bij de continu methodes worden de bacteriën uit een continu cultuur samen met rioolwater door een gesloten vat gepompt waarin het mengsel een bepaalde verblijftijd heeft. De zuurstofconcentratie in die mengkamer zal normaal laag zijn omdat het zuurstofverbruik hoog is en er geen andere zuurstoftoevoer is dan via de instromende vloeistof. Zodra er een giftige stof in het rioolwater aanwezig is, stijgt de O₂ concentratie hetgeen onmiddellijk in een alarm omgezet kan worden (van Axt 1972, 1973). In een variant hierop van Solyom (1975) wordt een soort oxydatiebed gebruikt zonder luchttoevoer. Daardoor is geen apart cultuurvat meer nodig maar wel duurt het enige uren voordat de kolom met micro-organismen zich heeft hersteld van een vergiftiging.

Door BASF medewerkers is een toximeter gebouwd, gebaseerd op een model van een zuiveringsinstallatie. Daarbij wordt continu belucht zodat het zuurstofverbruik gemeten kan worden in een periode zonder beluchting. Door Blok is een respirometer/toximeter ontwikkeld, waarbij actief slib voortdurend wordt belucht maar discontinu afvalwater krijgt. Hierdoor wordt behalve de toxiciteit ook een soort BOD gemeten (Blok, 1973). Een dergelijke respirometer is ontwikkeld door Brouzes (1969) waarbij m.b.v. een computer niet alleen de toxiciteit geregistreerd wordt maar zelfs de gehele installatie gestuurd wordt. Hierbij wordt de beluchting en de surplus slib verwijdering aangepast aan de vuillast en de activiteit van de bacteriën.

Het toepassen van automatische toximeters heeft natuurlijk alleen zin als er iets met de informatie gedaan kan worden. Zo kan er bijv. op een alarmering een calamiteitsbassin geopend worden om het giftige water op te slaan en daarna weer langzaam te lozen. Ook zou het kunnen zijn dat een effluent op het oppervlaktewater geloosd

wordt i.p.v. in een zuiveringsinstallatie. Een andere zinvolle actie is het om met de gegevens over toxiciteit een bedrijf te saneren. Hierbij kunnen dan maatregelen worden genomen om te voorkomen dat het lozen van giftige stoffen weer gebeurt. Bezwaren tegen de automatische toximeters richten zich vooral tegen de interpretatie. Het is moeilijk een correlatie te bepalen tussen de effluent BOD van een zuiveringsinstallatie en de respiratieremming van een monocultuur van *Pseudomonas fluorescens*. Een overbelaste verkeerd bedreven zuiveringsinstallatie met korte verblijftijd reageert zeer zeker anders op een vergiftiging dan een oxydatie sloot.

Vele acuut giftige stoffen worden in een zuiveringsinstallatie afgebroken zonder nadelige gevolgen. Ook zijn er nog wel technische problemen. De betrouwbaarheid van doseerpompjes, de vervuiling van slangen etc., de pH controle, de houdbaarheid van de zuurstofelektroden en de automatische gegevensverwerking zijn een paar voorbeelden van punten waarop de automatische toximeters nog kinderziektes vertonen.

4. Substraat verwijdering

De methoden toegepast om de substraatverwijdering te meten zijn te verdelen in enerzijds batchmethoden en anderzijds continu- of semicontinuumethoden. Bij deze laatste maakt men in wezen een model van een zuiveringsinstallatie. Men werkt met twee opstellingen waarbij één als controle dienst doet. Een belangrijk effect bij dit soort proeven is het optreden van adaptatie. Door biologische afbraak daalt de concentratie van het gif. Hierdoor weet men op een gegeven ogenblik niet meer wat men nu eigenlijk meet. De nauwkeurigheid is bovendien gering doordat de spreiding in de zuiveringsgraad van de controleproef reeds vrij groot is. De relevantie met betrekking tot de praktijk lijkt vrij groot, alhoewel dit erg afhangt van de manier waarop het gif in de praktijk geloosd wordt: continu of discontinu. Bij de batchgewijs uitgevoerde proeven is deze adaptatie invloed veel minder en gezien de praktische situatie is de relevantie niet veel slechter.

Een nadeel van dit soort batchproeven is de noodzaak met vrij hoge substraat dosering te werken, omdat door adsorptie en absorptie aan actief slib een groot deel van het substraat snel uit de oplossing verdwijnt. Men moet dus zoveel substraat toevoegen dat een meetbare hoeveelheid in de oplossing overblijft. Vooral met industrieel afvalwater betekent dit heel vaak dat er *substraat-inhibitie* optreedt. Dit wil zeggen dat er remming van de afbraak optreedt omdat de concentratie van de voedingsstoffen zelf te hoog is.

Indien de afbraak in de praktijk normaal verloopt kan een dergelijke hoge concentratie nooit optreden en is dan ook niet relevant. Wanneer men hier bovenop nog de remming door andere toxische stoffen wil meten wordt het wel erg gecompliceerd. Het belangrijkste bezwaar tegen meten van de substraat verwijdering via TOC, BOD of COD analyses is echter dat de gedode bacteriën zelf een enorme secundaire verontreiniging kunnen geven. Daardoor meet men het effect van een vergiftiging twee keer, eenmaal de verminderde substraat verwijdering en eenmaal de secundaire verontreiniging.

5. Remming van de nitrifikatie

Bij de bovenstaande bespreking is steeds de remming van de organische stofafbraak in beschouwing geweest. Alleen voor acute toxiciteit zijn een aantal testen mogelijk, maar voor allerlei andere spectaculaire storingen die algemeen in de praktijk voorkomen is geen eenvoudige laboratoriumtest te bedenken. In de praktijk blijkt dat een acute vergiftiging van zuiveringsslib tot nog toe tot de zeldzame gebeurtenissen behoort. De enorme buffercapaciteit, de sterke verdunning en de ontgiftingsprocessen zijn meestal voldoende om een acute vergiftiging te voorkomen. In die gevallen waar wel sprake is van storing gaat het vrijwel altijd om een remming van de nitrifikatie, d.w.z. de omzetting van NH_3 tot NO_3 . Het is bekend dat nitrificerende bacteriën veel gevoeliger zijn voor de vergiftiging met allerlei organische stoffen. Bovendien is de groeisnelheid van deze bacteriën veel trager en daardoor duurt herstel van het nitrifikatieproces na een storing ook veel langer. Dit komt doordat ze cremoautoroof zijn, d.w.z. voor de vorming van celbestanddelen moet CO_2 gereduceerd worden tot $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Het omgekeerde proces levert aan de saprofytische bacteriën hun energie. De autotrofe nitrificerende bacteriën moeten dus een groot deel van hun energie uit stikstofoxydatie besteden aan reductie van CO_2 . De nitrificerende bacteriën zijn bovendien sterk pH- en temperatuurgevoelig. Vanwege de langzame groei is nitrifikatie meestal beperkt tot actief slib installaties met een slibbelasting lager dan 0,2 g BOD/g D.S. slib-dag. Deze installaties komen er, ook vanwege andere voordelen steeds meer. Ook de nitrifikatie in het oppervlaktewater is een belangrijk onderdeel van het zelfreinigend vermogen. Nitrifikatie is een stap die gevolgd kan worden door denitrifikatie waardoor de stikstof gasvormig ontwijkt en zodoende kan een belangrijke schakel in de eutrofiëring bestreden worden.

Indien men verder bedenkt dat de giftigheid van ammoniak voor vis reeds bij 0,2 - 2

ppm ligt, terwijl huishoudelijk afvalwater 30 - 60 ppm NH_3 bevat dan is het belang van nitrifikatie duidelijk. Maar ook voor diegenen waarvoor iets pas belangrijk is als het om de economie gaat, moet de heffing via de rijksformule op het lozen van Kjehdahl stikstof een reden zijn om nitrifikatie hoog te waarderen.

Het meten van de nitrifikatie is eenvoudig met behulp van een goed nitrificerend slib. Hiertoe kan men uitgaan van een slib uit een oxydatiesloot o.i.d. (Downing et al, 1969). Een nadeel hiervan is de fluctuatie van de slibkwaliteit en de aanwezigheid van saprofytische organismen, die de organische stof en eventueel de gifstof afbreken (zie tabel I). Een dergelijk praktisch slib levert misschien wel relevante informatie maar men weet niet wat men meet. Dit is op eenvoudige wijze op te lossen door in het laboratorium nitrificerende bacteriën te kweken zonder toevoeging van organische stof. Een zeer actief nitrificerend slib is op deze manier erg eenvoudig op vrijwel constante kwaliteit te houden.

Uitgaande van dit slib kan men schudcultures inzetten met allerlei giftige stoffen in concentratie reeksen. Na enige uren kan reeds ca. 100 mg NO_3 per liter gevormd zijn. Het verdient aanbeveling als controle ook een proef met gemengd nitrificerend en saprofytisch slib in te zetten. Hierdoor krijgt men een indruk of de giftige stof inderdaad afgebroken wordt.

Conclusies

Uit de diverse mogelijkheden die er zijn om acute toxiciteit voor bacteriën in zuiverings slib te meten, kan een keus gemaakt worden

- 1e. Een snelle respirometrische methode als waarschuwingssysteem tegen ernstige calamiteiten.

- 2e. Een nitrifikatie remmingsproef vanwege de grotere gevoeligheid der nitrificerende bacteriën en vanwege het belang van nitrifikatie.

Aan de andere methoden kleven veel bezwaren ondanks het feit dat enkele door de eenvoud erg aantrekkelijk lijken. Het verder uitwerken tot een tweetal normen samen met het NNI kan zonder al te veel onderzoek ter hand worden genomen.

Literatuur

- Axt, G., Vom Wasser 1972, pag. 299-310.
 Axt, G., Vom Wasser 1973, pag. 409-414.
 Alexander, M., Microbial ecology 1971, John Wiley & Sons, New York.
 Bemessungsgrundlage, Abwasser Abgaben Gesetz Bundesrepublik West Deutschland 1974.
 Blok, J., H_2O (20), 524-6, 1973).
 Blok, J., Water Research 8 (1), 11-18, (1974).
 Choi, H. et al, Distribution of PCB's in an aerated biological oxidation wastewater treatment

system. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology Vol. 11, No. 1, 1974.

Downing, A. L., Tomlinson, T. G. and Truesdale, G. A., J. Inst. Sew. Purif. 1964.

NEN, 3235. 5.1.

Klapwijk, A., Drent, J. en Steenvoorden, J. H. A. M. van, Water Research 8 (2), 121-125, (1974).

Voorlopig voorschrift voor de TTC-test van de Norm Commissie 'Zware metalen'.

Swisher, R. D., Surfactant Biogradation page 184, 1970. Marcel Dekker, New York.

Jübermann, O., Krause, G., Schulte, F. J. (1967).

Zweckmässige Durchführung von Respirationsmessungen zur automatischen Kontrolle von Abwässern. Vom Wasser 34; 261-280.

Steinecke, H. (1968). Automatische BSB-Messung und Registrierung unterschiedlich vorbehandelter Abwasserproben. Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft 34.

Bridié, A. L. A. M. (1969). Determination of biochemical oxygen demand with continuous recording of oxygen uptake. Water Research Vol. 3, pp. 157-165.

Bakker, 1974. DSM persoonlijke mededeling.

Blok, 1973. Intern Akzo rapport: First experiences with an automatic respirometer BM.R. 73/3-4.

Verkrijgbaar op verzoek.

Solyom, P. 1975. Continuous monitoring of acute-toxic substances in waste water.

2nd International Congress on Industrial Waste Water and Wastes Stockholm.

BASF, 1975. Persoonlijke mededeling.

