

Reductie van Salmonella, E.coli, coliformen en faecale streptokokken door chloring van effluenten in rioolwaterzuiveringsinstallaties te Elburg en Harderwijk

1. Inleiding

Met het oog op de recreatie wordt sinds enkele jaren in de rioolwaterzuiveringsinstallaties te Elburg en Harderwijk gedurende de zomermaanden chloring van effluenten toegepast, teneinde verontreiniging van het Veluwemeer met faecale bacteriën te verminderen. Bovendien worden in de installatie te Elburg fosfaten uit het afvalwater verwijderd met behulp van FeCl_3 , al of niet gecombineerd met een Al-verbinding.

In de hierna te beschrijven onderzoeken

gegevens omtrent de rioolwaterzuiveringsinstallatie te Harderwijk en de desinfectie-installatie zijn te vinden in een publicatie van Bos, v. d. Hucht en Oldenkamp [1]. In de installatie te Elburg vindt de biologische zuivering plaats met behulp van oxydatiebedden en een aansluitende beluchting. De belasting bedraagt op het ogenblik ca. 63.000 i.e. Ter verwijdering van het fosfaat werd in deze installatie vanaf juli 1972 ijzerchloride aan het actief slibproces toegevoegd en wel in wisselende hoeveelheden. In 1973 werd vanaf februari tot 25 juni en na 3 november een dosering van 60 l FeCl_3 (41 gw %) per uur toegepast, hetgeen overeenkomt met een dosering van ca. 20 mg Fe (III) per liter afvalwater. Van 25 juni t/m 3 november werd aan de helft van het afvalwater 30 l FeCl_3 (41 gw %) per uur gedoseerd; aan de resterende helft werd een met de tijd toenemende hoeveelheid van een aluminiumverbinding (AVR. 60 - 210 mg/l) toegevoegd.

Voor de desinfectie van het effluent werd eveneens chloorbleekloog gebruikt. Het gebruik van werkzaam chloor bedroeg hier ca. 2 g per m^3 afgevoerd effluent, d.w.z. minder dan 50 % van de in Harderwijk gedoseerde hoeveelheid. De variatie in chloorbleekloogverbruik was in Elburg betrekkelijk gering. Nadere gegevens omtrent de rioolwaterzuiveringsinstallatie te Elburg en meer in het bijzonder over de fosfaatverwijdering zijn te vinden in een publicatie van Karper en Dirkzwager [2].

2.1.2. Bemonstering

In beide installaties werden zowel in 1972 als in 1973 11 maal influent en effluent bemonsterd. In 1973 werden tevens monsters effluent na chloring genomen. Bij Harderwijk werden in het randmeer, 50 m oostelijk en 150 m westelijk van het lozingspunt van het effluent, monsters water verzameld. Bij Elburg geschiedde dit aan het einde van de afvoersloot, die het effluent in het randmeer loost. Bovendien werden van beide plaatsen monsters bodemslib rond het lozingspunt van het effluent onderzocht. Wat de watermonsters betreft, werd ca. 500 ml per monster in flessen verzameld, van bodemslib 100 - 150 g. Met uitzondering van het influent werden alle bemonsteringen uitgevoerd in flessen met Na-thiosulfaat (2 ml - 0,1 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), teneinde het eventueel nog aanwezige vrije chloor te binden.

2.2. Methodes

De monsters influent en bodemslib werden alleen op Salmonella, de overige monsters op Salmonella, E.coli, coliformen en faecale streptokokken onderzocht. De kwantitatieve

bepaling vond plaats met behulp van de MPN (Most Probable Number)-methode. Het chloorgehalte werd bepaald in de monsters effluent na chloring, in de monsters water uit het randmeer 50 m oostelijk van het lozingspunt bij Harderwijk en uit het einde van de afvoersloot van de installatie te Elburg.

2.2.1. Onderzoek op Salmonella

Voor-ophoping van resp. 5 x 10, 5 x 1 en 5 x 0,1 ml bodemslib vond plaats in gebufferd peptonwater (RIV no. 11.435) gedurende 18 - 20 uur bij 37 °C. Van het water werden, indien grote aantallen (> 2400 k/100 ml) salmonellae waren te verwachten (zoals in influent), resp. 5 x 1, 5 x 0,1 en 5 x 0,01 ml onderzocht. Indien kleine aantallen (< 2 k/100 ml) werden verwacht (zoals in het water uit het randmeer), werd slechts 5 x 10 ml onderzocht. Van het voorophopingsmedium werd steeds 10 ml in 100 ml tetrathionaatbouillon vlg. Muller-Kaufmann (RIV no. 11.410) gebracht en bij 43 °C bebroed. Na 24 en 48 uur werd uitgestreken op briljantgroen-fenolrood-agar (RIV no. 11.190). Deze selectieplaat werd gedurende 18 - 20 uur bij 37° bebroed. Verdachte kolonies werden biochemisch en serologisch onderzocht. Sero- en faagtypering vond plaats in het Nationaal Salmonella Centrum (dr. P. A. M. Guinée).

2.2.2. Onderzoek op E.coli

Van ieder monster werd in vijfvoud 10, 1 en 0,1 ml gebracht in resp. 100, 10 en 10 ml Eijkmanse vloeistof (RIV no. 25.130). Indien grote aantallen (> 2400 k/100 ml) werden verwacht, werden hogere verdunningen ingezet. Bebroeding vond plaats bij $44,0 \pm 0,5$ °C in een broedstof. Na 24 en 48 uur werd materiaal uit buizen met gasvorming ter bevestiging overgeënt in briljantgroen-gal-lactose-bouillon (RIV no. 11.320) en in tryptonwater (RIV no. 11.580). Indien zuur-, gas- en indolvorming na 24 uur bebroeding bij $44,0 \pm 0,5$ °C bij de bevestiging werd waargenomen, werd de betreffende buis als positief aangemerkt. Op deze wijze werd het aantal kiemen per 100 ml met behulp van de MPN-methode bepaald.

2.2.3. Onderzoek op coliformen

Aankweek vond eveneens plaats in vijfvoud met 10, 1 en 0,1 in resp. 50, 10 en 10 ml formaat-glutamaatmedium (RIV no. 11.040). Waar nodig werden hogere verdunningen ingezet. De flesjes resp. buizen werden bij 37 °C in een broedstof bebroed, waarna ze na 24 en 48 uur op gasvorming werden gecontroleerd. Ter bevestiging werd overgeënt in briljantgroen-gal-lactose-bouillon,



PROF. DR. E. H. KAMPELEMACHER
hoofd van het Laboratorium voor Zoönosen en Levensmiddelenmicrobiologie, Rijks Instituut voor de Volksgezondheid



DR. A. W. FONDS
Wetenschappelijk Hoofd-ambtenaar, Laboratorium Bodem, Water, Lucht, Rijks Instituut voor de Volksgezondheid



MW. L. M. VAN NOORLE JANSEN
laboratoriumhoofdassistent, Laboratorium voor Zoönosen en Levensmiddelenmicrobiologie, Rijks Instituut voor de Volksgezondheid

werd getracht een inzicht te verkrijgen over de reductie van bacteriën in beide installaties tengevolge van de biologische zuivering (1972) en de defosfatering, maar vooral tengevolge van de toegepaste chloring. Bovendien werden bemonsteringen uitgevoerd op enkele plaatsen in de omgeving van de lozingspunten in het Veluwemeer, om het effect van het effluent op de bacteriologische gesteldheid van het Veluwemeer na te gaan.

2. Materiaal en methodes

2.1. Materiaal

2.1.1. Beschrijving van installaties en toegepaste desinfectie

In de installatie te Harderwijk vindt biologische zuivering met behulp van oxydatiebedden plaats. De huidige belasting van de installatie bedraagt ca. 90.000 i.e. Voor de desinfectie van het effluent wordt chloorbleekloog toegepast, waarvan het werkzaam chloorgehalte 150 g per liter bij een soortelijk gewicht van 1,2 bedraagt. Het chloorbleekloogverbruik varieert, maar gemiddeld wordt ca. 6 g werkzaam chloor per m^3 effluent gebruikt. Nadere technische

die gedurende 24 uur bij 37 °C werd bebroed. Indien zuur- en gasvorming werd waargenomen, werd de desbetreffende buis als positief aangemerkt. Op deze wijze werd als onder 2.2.2 beschreven het aantal kiemen per 100 ml bepaald.

2.2.4. Onderzoek op faecale streptokokken
Voor dit onderzoek werden eveneens in vijfvoud 10, 1 en 0,1 ml onderzocht en wel in resp. 25, 10 en 10 ml azide-bouillon (RIV no. 25.190). Na bebroeding gedurende 48 uur bij 37 °C werd materiaal uit flesjes c.q. buisjes die groei vertoonden, ter bevestiging uitgestreken op dextrose-azide-agar (RIV no. 16.105), die bij 37 °C gedurende 48 uur werd bebroed.

Bij twijfel werd een Grampreparaat gemaakt, de katalasereactie uitgevoerd, de haemolyse nagegaan en de groei bij 45 °C bepaald. Op deze wijze werd als onder 2.2.2. beschreven het aantal kiemen per 100 ml bepaald.

2.2.5. Bepaling van het chloorgehalte

Het chloorgehalte werd ter plaatse bepaald met de orthotolidine-methode voor totaal werkzaam chloor [3]. De kleur werd ontwikkeld in een regageerbuis en daarna vergeleken met een reeks standaardkleuroplossingen overeenkomend met 0,05 - 2,0 mg werkzaam chloor per liter. De vergelijkingen werden visueel verricht zonder interpolatie, d.w.z. het gehalte werd opgegeven van die standaardkleur, die het dichtst bij de ontwikkelde kleur kwam.

3. Resultaten

3.1. Salmonella-onderzoek en de invloed van de biologische zuivering

Van begin augustus tot half september 1972 en tussen half juni en half september 1973 is getracht een indruk te verkrijgen over het voorkomen van Salmonella in de influenten en de effluenten van de beide installaties, over de reductie door het biologische zuiveringsproces met behulp van de MPN-bepaling en over de invloed van de lozing van het effluent op het randmeer. In tabel I is de frequentieverdeling weergegeven van de MPN's in de influenten en effluenten van beide installaties in 1972 en 1973.

In tabel II zijn de resultaten van het kwalitatieve Salmonella-onderzoek in en bij de rioolwaterinstallaties van Harderwijk en Elburg in 1972 en 1973 samengevat.

3.2. Onderzoek in 1973 naar de invloed van de chlooring

Aangezien chlooring van effluenten in beide installaties alleen gedurende de zomermaanden

TABEL I - Frequentie van de MPN's van Salmonella in de rioolzuiveringsinstallaties van Harderwijk en Elburg 1972 - 1973.

MPN per 100 ml		< 10	10 - 10 ²	10 ² - 10 ³	10 ³ - 10 ⁴	> 10 ⁴
Harderwijk	1972					
	influent	—	—	—	7	4
	effluent voor chlooring	—	—	2	8	1
	1973					
	influent	—	—	—	2	9
	effluent voor chlooring	—	—	4	7	—
Elburg	1972					
	influent	2	—	—	2	9
	effluent voor chlooring	—	—	4	7	—
	1973					
	influent	—	—	3	4	4
	effluent voor chlooring	1	4	5	1	—

TABEL III - Invloed van chlooring op de bacteriologische gesteldheid van effluent in Harderwijk en Elburg 1973.

MPN per 100 ml in effluent		< 10	10-10 ²	10 ² -10 ³	10 ³ -10 ⁴	10 ⁴ -10 ⁵	10 ⁵ -10 ⁶	10 ⁶ -10 ⁷	10 ⁷ -10 ⁸
Harderwijk	na chlooring								
	Salmonella	—	—	4	7	—	—	—	—
	E.coli	—	—	—	—	—	4	7	—
	coliformen	—	—	—	—	—	1	9	1
	faec. streptokokken	—	—	—	—	—	9	2	—
	na chlooring								
	Salmonella	10	—	1	—	—	—	—	—
	E.coli	—	4	5	1	—	1	—	—
	coliformen	—	3	6	1	—	—	1	—
	faec. streptokokken	9	1	—	—	1	—	—	—
Elburg	voor chlooring								
	Salmonella	1	4	5	1	—	—	—	—
	E.coli	—	—	—	—	2	2	7	—
	coliformen	—	—	—	—	1	2	4	4
	faec. streptokokken	1	—	—	1	6	3	—	—
	na chlooring								
	Salmonella	9	1	1	—	—	—	—	—
	E.coli	2	2	3	2	—	—	2	—
	coliformen	1	—	2	4	—	2	2	—
	faec. streptokokken	7	—	2	—	1	1	—	—

TABEL IV - Logarithmen van de reductiefactoren van Salmonella, E.coli, coliformen en faecale streptokokken ten gevolge van chlooring van de effluenten in Harderwijk en Elburg.

Installatie	restchloorgehalte	Salmonella	E.coli	coliformen	faecale streptokokken	
Elburg (E)	< 0,05	1,40	0,12	0,77	0	
	< 0,05	> 2,62	3,04	2,34	2,20	
	< 0,05	> 2,22	2,93	1,21	> 1,81	
	0,05	> 2,22	3,40	2,78	> 3,00	
	0,05	1,19	0,65	0,15	0,62	
	0,05	> 1,53	3,87	2,89	3,85	
	0,05	> 1,00	3,53	3,52	4,08	
	0,05	< 0,73	0,15	0	0,83	
	(E)	0,10	> 0,95	3,39	2,50	—
	(E)	0,10	—	3,81	2,85	—
Harderwijk (H)	0,10	> 2,12	4,46	4,40	> 4,39	
	(H)	0,25	> 2,39	3,16	4,16	5,00
	(H)	0,30	> 3,24	4,00	4,13	4,80
	(E)	0,40	> 1,00	> 3,35	> 4,06	> 3,00
	(H)	0,40	> 2,81	3,55	4,20	> 4,39
	(H)	0,50	> 2,20	> 5,15	4,35	> 4,39
	(H)	0,50	> 2,81	4,40	3,62	5,22
	(H)	0,70	1,93	5,12	5,16	3,67
	(H)	0,70	> 3,24	3,07	3,75	4,39
	(H)	0,70	> 2,74	4,45	4,77	5,04
(H)	0,80	> 2,93	4,35	4,65	6,36	
(H)	1,50	> 2,39	4,55	3,32	> 4,68	

— = niet gedaan

TABEL II - Aantallen geïsoleerde Salmonella-typen in en bij de rioolwaterzuiveringsinstallaties in Harderwijk en Elburg 1972 en 1973.

	HARDERWIJK										ELBURG							Totaal	
	1972					1973					1972		1973						
	influent	effluent	randmeer Oost	randmeer West	bodemslib	influent	effluent voor chlooring	effluent na chlooring	randmeer Oost	randmeer West	bodemslib	influent	effluent	influent	effluent voor chlooring	effluent na chlooring	einde-afvoersloot		bodemslib
S. agona	2	1	—	1	1	1	1	—	—	—	—	—	—	3	1	1	1	1	14
S. anatum	9	9	1	3	6	9	10	1	1	1	8	—	—	7	2	1	1	2	71
S. bareilly	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. blockley	1	6	—	—	1	4	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	14
S. bormum	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
S. braenderup	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1
S. brandenburg	—	1	—	2	2	—	—	—	—	1	—	3	2	2	4	1	1	2	21
S. bredeny	3	7	2	1	8	5	8	—	1	2	3	1	1	—	—	—	—	—	42
S. eimsbuettel	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	1	5
S. emek	—	1	—	—	1	—	—	—	—	—	—	1	2	—	—	—	—	—	5
S. enteritidis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1
S. fresno	—	2	—	—	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5
S. give	—	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
S. heidelberg	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	2	2	—	—	—	—	—	5
S. infantis	2	1	—	—	5	—	—	—	—	—	1	1	1	2	3	1	1	1	19
S. java	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	1
S. kottbus	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. lexington	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. livingstone	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
S. montevidео	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	1	—	—	1	—	—	—	—	4
S. oranienburg	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	2
S. panama	3	5	1	1	5	1	2	1	—	—	—	—	1	2	—	—	—	—	22
S. senftenberg	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	3
S. thompson	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	1	1	—	—	—	—	—	—	4
S. typhi murium	7	7	1	2	5	2	—	—	—	1	1	2	3	3	5	—	—	—	39
S. typhimurium var. copenhagen	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—	—	3
S. worthington	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1
Salmonella v. d. B. groep	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	3	1	—	—	—	—	5
Salmonella v. d. E. groep	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	1
Totaal	28	46	6	11	43	24	25	2	2	6	16	14	16	26	16	4	4	7	296

plaatsvindt, is de invloed hiervan op de bacteriologische gesteldheid van effluenten en van het randmeer (water en slib) tussen half juni en half september 1973 onderzocht.

In tabel III zijn de resultaten van 11 onderzoeken in de beide installaties samengevat. Hierbij zijn de frequentieverdelingen van de kiemcijfers van Salmonella, E.coli, coliformen en faecale streptokokken, in effluenten vóór en na chlooring opgenomen.

In tabel IV zijn de logaritmen van de reductiefactoren van Salmonella, E.coli, coliformen en faecale streptokokken ten gevolge van chlooring van de effluenten van beide installaties weergegeven.

3.3. Onderzoek in 1973 naar het chloorgehalte in gechloord effluent en in het water, waarin dit wordt geloosd

Het chloorgehalte van het effluent na chlooring in Harderwijk varieert van 0,05 mg/l tot 1,5 mg/l, terwijl in het randmeer slechts éénmaal 0,10 mg/l terug werd gevonden.

In Elburg bedroeg het chloorgehalte van effluent na chlooring slechts éénmaal 0,40

mg/l. Aan het einde van de afvoersloot werd toen 0,10 mg/l gevonden. Verder werden in het effluent na chlooring 0,10 mg/l of minder en aan het einde van de afvoersloot 0,05 mg/l of minder gevonden.

4. Bespreking der resultaten

Uit tabel I blijkt in de eerste plaats, dat er met de influenten een geregelde afvoer van salmonellae naar de beide installaties plaatsvindt. Bij Harderwijk werden in 1972 $2,2 \cdot 10^3$ tot $3,5 \cdot 10^4$ kiemen per 100 ml en in 1973 $7,0 \cdot 10^3$ tot $9,2 \cdot 10^4$ kiemen per 100 ml aangetoond. Bij Elburg varieerden deze waarden in 1972 tussen 4,5 en $9,2 \cdot 10^3$ kiemen per 100 ml, in 1973 tussen $2,4 \cdot 10^2$ en $1,6 \cdot 10^5$ kiemen per 100 ml.

Het is daarbij zeer merkwaardig, dat in 1973 in Elburg haast evenveel salmonellae en een even groot aantal typen in het ongechloorde effluent werden gevonden als in Harderwijk, waar meer pluimveebedrijven op de riolering zijn aangesloten dan waar ook in Nederland. In Elburg is de aansluiting van zojuist genoemde bedrijven zo goed als te verwaarlozen.

De reductie van salmonellae door middel van de biologische zuivering was in 1973 in beide installaties vrijwel gelijk (zie

tabel I), ondanks het feit dat in Elburg voor de defosfatering verschillende chemicaliën aan het rioolwater worden toegevoegd. Het is overigens niet duidelijk, waarom de reductie in Harderwijk gedurende de onderzoeksperiode 1972 aanzienlijk minder goed was. Tussen het aantal aangevoerde kiemen en de reductie ten gevolge van de biologische zuivering is geen duidelijke correlatie te vinden. Overigens komt deze reductie overeen met gegevens verkregen in andere installaties, waar meestal een reductie van ca. 2 decimalen voor salmonellae is waargenomen. Wat de chlooring betreft, deze werkt ten opzichte van darmbacteriën bijzonder gunstig. Met één enkele uitzondering (Harderwijk) werden bij chloorgehalten boven 0,10 mg/l geen Salmonella-kiemen in 50 ml effluent gevonden. Ook werden in Elburg, ondanks verscheidene dagen met een restgehalte van slechts 0,05 mg/l chloor of minder en bij een aanvoer van 10^2 - 10^4 salmonellae per 100 ml, deze kiemen maar tweemaal in het 'gechloord' effluent teruggevonden (zie tabel IV). Gezien het verschil in chloordosering in de beide installaties was het overigens moeilijk vergelijkende onderzoeken betreffende de relatie chlooring en reductie van

Salmonella-kiemen op de juiste wijze te interpreteren. De werkelijke reductie van salmonellae kon niet nauwkeurig worden bepaald, aangezien deze kiemen na chloring vrijwel niet meer in het effluent konden worden aangetoond. De gegevens van tabel IV doen vermoeden dat deze reductiefactoren niet veel zullen afwijken van die voor E.coli, coliformen en faecale streptokokken. Dat Salmonella-kiemen af en toe in monsters water uit het randmeer komen (zie tabel II), zou verklaard kunnen worden door andere lozingen (bijv. van campings, particuliere woningen) in het randmeer of door lozing op dagen met een lagere chloordosering (bijv. in Harderwijk lager dan 0,05 mg/l). Wat het voorkomen van salmonellae in slib betreft, is het bekend, dat deze kiemen in dit substraat lang kunnen overleven. Zij zouden dus afkomstig kunnen zijn uit perioden, waarin geen chloring van effluenten plaatsvindt (half september - begin mei).

De overeenkomst tussen de reductie van resp. E.coli, coliformen en faecale streptokokken door vrij chloor is opvallend (tabel IV). Opmerkelijk is dat bij lage restchloorgehalten (< 0,10 mg/l) de reductiefactoren sterk variëren. Indien 0,25 mg chloor per l of meer aantoonbaar is in het effluent, dan bedraagt de reductie meestal ruim 4 decimalen, terwijl de hoogte van de chloorconcentratie dan geen invloed meer schijnt te hebben. De reductie door chloring is overigens onafhankelijk van het aantal aangevoerde kiemen.

5. Samenvatting

Door de toevoeging van chloorbleekloog aan effluenten in de rioolwaterzuiveringsinstallaties te Harderwijk en Elburg wordt een zeer aanzienlijke reductie van darmbacteriën verkregen. Dit betekent, dat Salmonella-kiemen, die in een hoeveelheid van ca. 10⁴ per 100 ml met het influent worden aangevoerd, na een biologische zuivering met ca. 1,5 decimalen worden gereduceerd en na deugdelijke chloring niet meer aantoonbaar zijn in 100 ml effluent. Wat dit laatste betreft moet getracht worden een restchloorgehalte van tenminste 0,10 mg/l te bereiken.

Literatuur

1. Bos, J., Jucht, H. P. v. d. en Oldenkamp, S.A.: *Ervaringen met de desinfectie-installatie van de rioolwaterzuiveringsinstallatie te Harderwijk*. H₂O, 5 (1972) 225 - 229.
2. Karper, R. en Dirkzwager, A. H.: *Onderzoek inzake de fosfaatverwijdering uit afvalwater te Elburg en Harderwijk*. H₂O, 6 (1973) 212 - 220.
3. Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water, 13th edition (1971), pag. 117.

