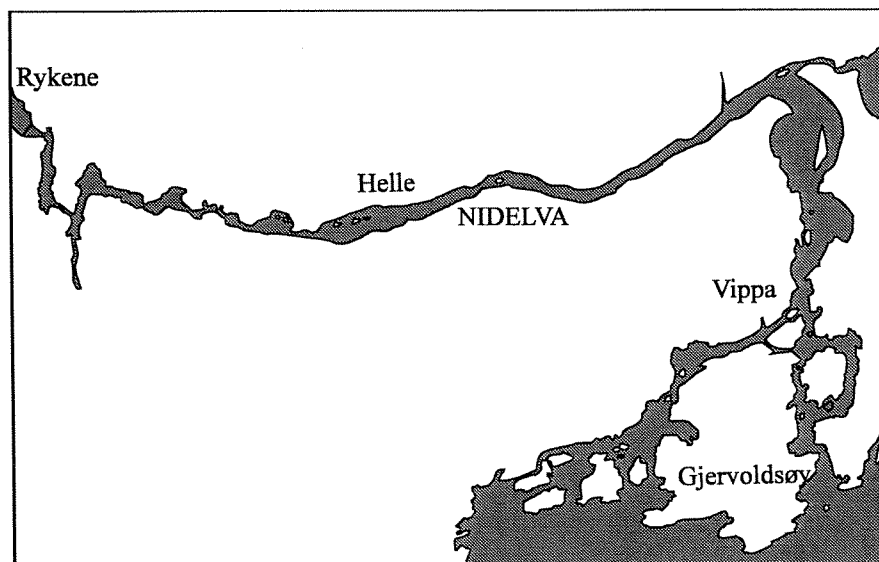


0-93171

Bakteriologisk undersøkelse i Nidelva sommeren 1994

Analyse av *Klebsiella*, fekale streptokokker og termotolerante koliforme bakterier i avløpsvann fra tremassebedrift og i ellevann



NIVA - RAPPORT

Norsk institutt for vannforskning  NIVA

Prosjektnr.: O-93171	Undernr.:
Løpenr.: 3232	Begr. distrib.:

Hovedkontor	Sørlandsavdelingen	Østlandsavdelingen	Vestlandsavdelingen	Akvaplan-NIVA A/S
Postboks 173, Kjelsås	Televeien 1	Rute 866	Thormøhlensgt 55	Søndre Tollbugate 3
0411 Oslo	4890 Grimstad	2312 Ottestad	5008 Bergen	9000 Tromsø
Telefon (47) 22 18 51 00	Telefon (47) 37 04 30 33	Telefon (47) 62 57 64 00	Telefon (47) 55 32 56 40	Telefon (47) 77 68 52 80
Telefax (47) 22 18 52 00	Telefax (47) 37 04 45 13	Telefax (47) 62 57 66 53	Telefax (47) 55 32 88 33	Telefax (47) 77 68 05 09

Rapportens tittel: Bakteriologisk undersøkelse i Nidelva sommeren 1994. Analyse av <i>Klebsiella</i> , fekale streptokokker og termotolerante koliforme bakterier i avløpsvann fra tremassebedrift og i ellevann.	Dato: 15/3/95	Trykket: NIVA 1995
	Faggruppe: Gen. vassdragsundersøk.	
Forfatter(e): Tone Jacobsen	Geografisk område: Arendal, Aust-Agder	
	Antall sider: 20	Opplag:

Oppdragsgiver: Arendal kommune og Rygene-Smith & Thommesen A/S.	Oppdragsg. ref.:
--	------------------

Ekstrakt: <p>Avløpsvann fra tremassebedriften Rygene-Smith & Thommesen A/S og vannmasser fra Nidelva ble analysert for termotolerante koliforme bakterier, <i>Klebsiella</i> og fekale streptokokker i juni - august 1994. Prøvene ble tatt i forbindelse med utprøving av det bakteriedrepende midlet Busan 1072 LO i tremassebedriften. Bakteriocidet hadde kun kortvarig effekt på bakteriemengden, og etter oppstart av bedriften etter fellesferien kunne det ikke spores effekter av midlet.</p> <p>Mengden TCB og <i>Klebsiella</i> i avløpsvannet varierte mellom 400 000 og 250 mill. I ellevannet varierte bakteriemengden mellom 0 og 300 000 TCB /100 ml. Bakterieinnholdet var stort sett lavt i fellesferien når det ikke ble tilført avløpsvann til elva. Identifisering av bakteriekulturene med et biokjemisk analysesett bekreftet at TCB -koloniene i både ellevannet og i avløpsvann fra bedriften bestod av termotolerante <i>Klebsiella</i>. Mengden fekale streptokokker var lav i ellevannet (< 10 FS/100 ml), men noe høyere i avløpsvannet (opptil 5000 FS/100 ml).</p>

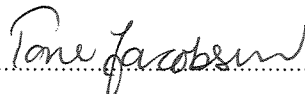
4 emneord, norske

1. *Klebsiella* sp.
2. Termotolerante bakterier
3. Tremassebedrift
4. Badevannskvalitet

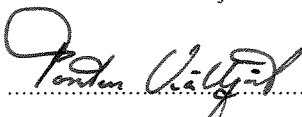
4 emneord, engelske

1. *Klebsiella* sp.
2. Termotolerant bacteria
3. Pulp mill
4. Bathing water

Prosjektleder


Tone Jacobsen

For administrasjonen


Torsten Källqvist

ISBN-82-577-2741-5

NIVA Sørlandsavdelingen

O-93171

**BAKTERIOLOGISK UNDERSØKELSE I
NIDELVA SOMMEREN 1994**

**Analyse av Klebsiella, fekale streptokokker og termostabile koliforme bakterier i
avløpsvann fra tremassebedrift og i ellevann**

Forord

Foreliggende rapport er utarbeidet av Norsk institutt for vannforskning, Grimstad, på oppdrag fra Arendal kommune og Rygene-Smith & Thommesen A/S. Rapporten omhandler en undersøkelse av bakterieinnholdet i Nidelva og i tremassebedriften Rygene-Smith & Thommesen A/S sommeren 1994. Undersøkelsen ble gjennomført i samarbeid med Arendal kommune v/Erik Andreassen (miljøvernleder), Anne-Sofie Syvertsen (helsesjef) og Dag Tønseth (teknisk etat), Rygene Smith & Thommesen v/ Thor Thommesen og Odd Sandtveit, og Fylkets Miljøvernnavdeling v/Eva Boman.

Hensikten med undersøkelsen var å dokumentere virkningen av slimbekjempingsmiddel på vekst av Klebsiella hos Rygene-Smith & Thommesen A/S, og å overvåke tilstanden i elva. Utprøving av slimbekjempingsmidler, beregning av doser og installering av utstyr er gjort av Lars Johnsen i firmaet Stein Hansen A/S.

Innsamling av vannprøver ble foretatt av Skjærgårdsvakten og av undertegnede. Prøvene ble innsamlet samtidig med badevannsundersøkelsen.

Alle bakterieanalysene er utført hos Næringsmiddeltilsynet i Aust-Agder, ved Anita Fremmerlid og Kathe Kristiansen. Vi takker dem begge for godt samarbeid samt råd og vink underveis.

Grimstad, 15/3/95

Tone Jacobsen

INNHold

INNHold	3
1. SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER	4
2. INNLEDNING	5
2.1. Bakgrunn	5
2.2. Mål	5
2.3. Områdebeskrivelse	5
2.4. Ulike bakterietyper i vann	7
2.5. Tidligere undersøkelser	7
2.6. Tiltak for å redusere bakterieveksten	7
3. PRØVETAKINGSPROGRAM	8
3.1. Testing av slimbekjempingsmiddel	8
3.2. Kontrollanalyser	8
3.3. Identifisering av termotolerante bakterier i Nidelva	8
3.4. Analysemetoder	9
4. RESULTATER OG DISKUSJON	9
4.1. Forholdet mellom antall bakterier i bassenget og i ellevannet	9
4.2. Testing av slimbekjempingsmiddel og kontrollanalyser	12
4.3. Bakterietyper	13
4.4. Tilførsler av kloakk fra kloakkpumpestasjoner	14
4.5. Utvikling 1990 - 1994	14
5. FORSLAG TIL VIDERE UNDERSØKELSER	15
6. HENVISNINGER	16
7. APPENDIKS	17
Oversikt over overløp fra pumpestasjoner sommeren 1994	17
Vannføringsdata ved prøvetakingstidspunktene i 1994	17
Fekale streptokokker i Nidelva i 1993	17
Klassifisering av badevannskvalitet (Statens Helsetilsyn 1994)	18
Busan 1072 LO	19

1. SAMMENDRAG OG KONKLUSJONER

Sommeren 1994 ble det gjennomført en bakteriologisk undersøkelse i Nidelva. Undersøkelsen ble gjort for å dokumentere effekter av slimbekjempingsmidlet Busan 1072 LO på avløpsvannet til tremassebedriften Rygene-Smith & Thommesen A/S. Kraftig vekst av *Klebsiella* sp i en sedimenteringstank for avløpsvann medfører høye bakterietall i elva nedstrøms bedriften, og gir utslag i de årlige badevannsundersøkelsene.

Prøver fra sedimenteringstanken og fra elva nedstrøms tremassebedriften ble tatt gjennom hele sommersesongen (13. juni - 22. august), og testet for termotolerante koliforme bakterier (TCB), *Klebsiella* og fekale streptokokker (FS).

Før tilsetting av slimbekjempingsmidlet var det høye bakterietall av TCB og *Klebsiella* i sedimenteringsbassenget (over 300 000 bakterier/100 ml) og i elva nedstrøms bedriften (ca. 35 000 bakterier/100 ml). Lave verdier av fekale streptokokker viser at TCB 'ene ikke hadde fekal opprinnelse. I løpet av tre uker med tilsetting av Busan ble mengden TCB og *Klebsiella* i elva redusert til ca. 5000/100 ml. Bakterietallet sank ytterligere i løpet av fellesferien da det ikke var tremasseproduksjon. Etter fellesferien økte mengden TCB og *Klebsiella* i elva til 30 - 60 000 bakterier /100 ml til tross for kontinuerlig tilsetting av Busan. Det var ikke tegn til reduksjon i bakteriemengden da prøvetakingen ble avsluttet i slutten av august. Resultatene tyder på at slimbekjempingsmidlet ikke hadde bakteriedrepende virkning i perioden etter fellesferien (bakteriene hadde trolig utviklet resistens overfor biocidet), og at bakteriene fortsatte å vokse etter utslipp til elvevannet.

Ved videre identifisering av termotolerante bakteriekulturer fra sedimenteringsbassenget, ble kun *Klebsiella cf. pneumonia* påvist. I elvevannet ble det påvist enkelte andre bakterietyper i tillegg til *Klebsiella*, men det ble ikke påvist *E.coli*.

Utprøving av nye metoder for å redusere tilførselen av bakterier til Nidelva bør følges av bakteriologiske undersøkelser for å dokumentere virkningen. Videre bør badevannsovervåkingen i Nidelva baseres på fekale streptokokker for å unngå forstyrrelser fra *Klebsiella* i analysene. Noen av stasjonene bør imidlertid fortsatt analyseres for TCB og *Klebsiella* for å overvåke mengden termotolerante bakterier (potensielt sykdomsfremkallende).

2. INNLEDNING

2.1. Bakgrunn

Årlige badevannsundersøkelser i nedre del av Nidelva ved Arendal har gjennom flere sommersesonger vist relativt høye konsentrasjoner av "termotolerante koliforme bakterier" (TCB). Kloakkutslipp er sanert, men det har ikke vært påvist klare reduksjoner i bakteriemengdene etter saneringen. Bakteriekonsentrasjonene har variert gjennom sommeren, men har ofte vært på flere hundre bakterier pr. 100 ml (badevannsundersøkelsene, Fylkesmannen i Aust-Agder). I henhold til Statens Helsetilsyn (1994) og SFT (1994) vannkvalitetsnormer for friluftsbad, har badevannskvaliteten i nedre Nidelva vært *mindre god* og *ikke akseptabel* i perioder. Nidelva er mye brukt nettopp til friluftsinnteresser, både i forbindelse med de to campingplassene langs elva og lokale og tilreisende båtturister.

Sommeren 1992 og 1993 utførte NIVA tilleggsundersøkelser av bakterieinnholdet (TCB) i Nidelva for å finne kilden til de høye bakteriekonsentrasjonene (Jacobsen 1993, 1994). Prøver ble tatt gjennom badesesongen i nedre del av Nidelva, og konsentrert rundt mulige tilførselskilder. I 1993 ble det i tillegg analysert for *Klebsiella*, som kan forekomme i store mengder i treforedlingsindustrien. Man fant at hovedmengden av de termotolerante bakteriene i Nidelva trolig var *Klebsiella*, og at kilden til bakteriene var tremassebedriften på Rykene. Det er kjent at termotolerante *Klebsiella* kan opptre i de vanlige testene for tarmbakterier og gi feilaktig inntrykk av kloakkpåvirkning (SIFF 1989).

Arendal kommune ved miljøvernrådgiver Erik Andreassen og Rygene-Smith & Thommesen A/S henvendte seg til NIVA Sørlandsavdelingen for å få gjennomført oppfølgende undersøkelser av bakterieforholdene sommeren 1994. Samtidig kontaktet Rygene-Smith & Thommesen A/S firmaet Stein Hanssen A/S for å finne metoder for å redusere bakterieveksten i sedimenteringsbassenget.

2.2. Mål

Hovedmålene med undersøkelsen har vært:

- Overvåke bakterieforholdene i Nidelva
- Dokumentere effekten av gjennomførte tiltak for å redusere bakteriemengden i elva
- Foreta nærmere identifisering av termotolerante bakterier i Nidelva.

2.3. Områdebeskrivelse

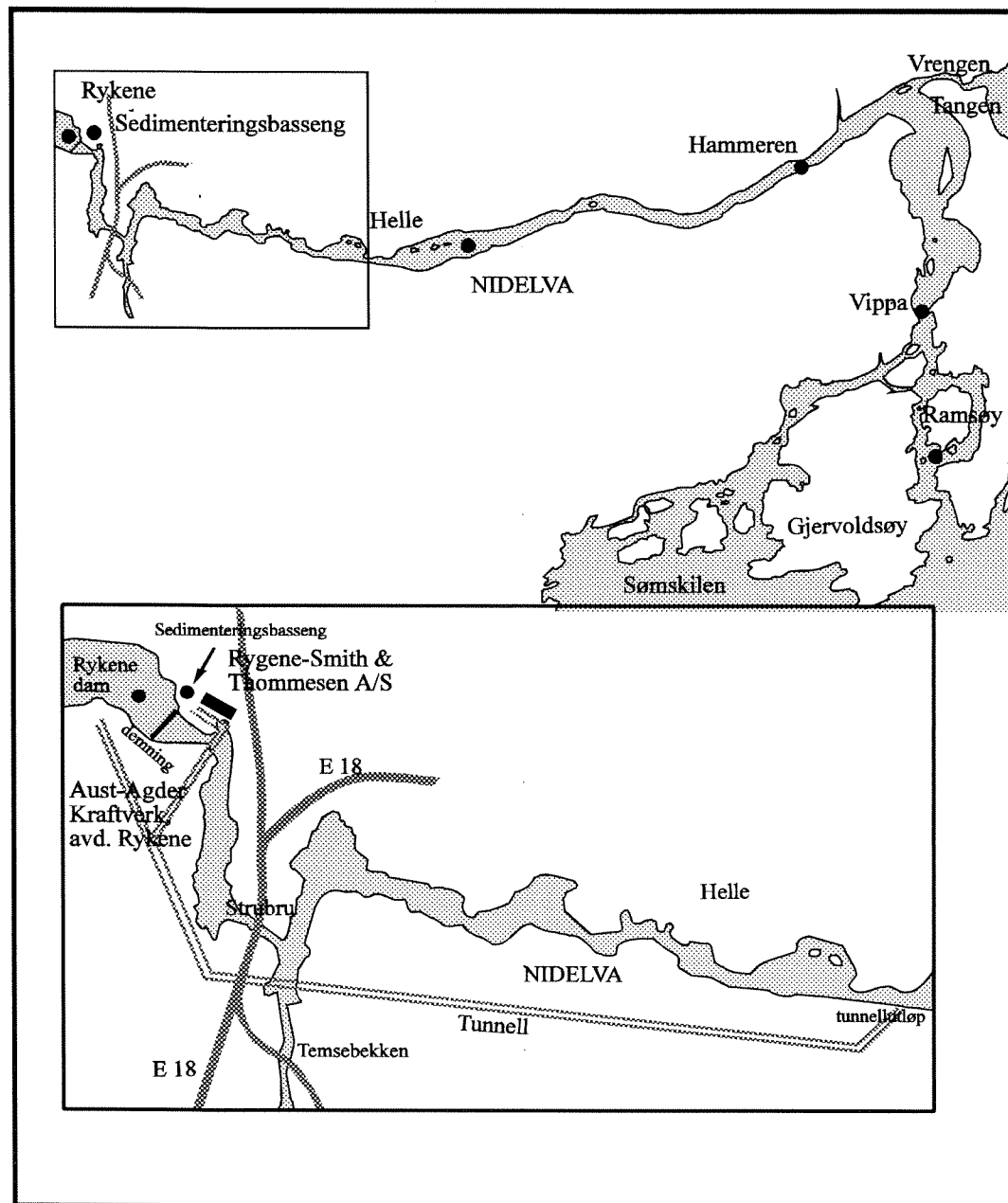
Området som inngår i denne undersøkelsen er nedre delen av Nidelva, fra Rykene til utløpet ved Gjervoldøy, vest for Arendal (Figur 1). Minstevannføring i Nidelva om sommeren er ca 40 m³/sek. men kan komme opp i 170 m³/sek. i flomperioder. I juni, juli og august 1994 varierte vannføringen fra 40 - 77 m³/s (opplysninger fra Aust-Agder Kraftverk, avd. Rykene).

Elva er demmet opp ved kraftverket på Rykene og hovedvannmassene blir ført gjennom kraftverket via en tunnel til Helle, noen hundre meter nedstrøms Rykene. I det opprinnelige elveleiet mellom Rykene og Helle er vannføringen redusert til 5 m³/s. Fra Helle til Nidelvas utløp ved Gjervoldøy følger vannmassene elveleiet.

Tremassebedriften Rygene-Smith & Thommesen A/S ligger på den andre siden av elva for kraftverket. Alt avløpsvann fra produksjon av tremasse blir ført til et stort utendørs sedimenteringsbasseng (900 m³)

før det slippes ut i tunnelen. Det brukes ikke kjemikalier til produksjonen av tremasse, men prosessen foregår under høye temperaturer, som medfører relativt høy temperatur i bassenget (30 - 37°C om sommeren). I tillegg til rester fra selve produksjonen av tremasse, tilføres bassenget friske bark og flisrester fra avbarkingsprosessen. Forholdene ligger derfor til rette for utvikling av termotolerante *Klebsiella*. Sedimenteringsbassenget ble satt i drift i 1993, og fjerner 95% av det sedimenterbare materiale (store flis- og tremasserester). Vannets oppholdstid er ca. 6 timer, og gjennomsnittlig utslipp fra bassenget er 2.8 m³ pr. min.

Det er ingen større kloakkutslipp til nedre del av elva, men det er enkelte mindre direkteutslipp og overløp fra kloakkpumpestasjoner. Se Jacobsen (1993 og 1994) for nærmere beskrivelse av området og forurensningstilførsler.



Figur 1. Nedre del av Nidelva. Stasjonsplassering ved bakteriologiske analyser.

2.4. Ulike bakterietyper i vann

Den mest brukte metoden for påvisning av kloakkforurensning i vann er å måle innholdet av termotolerante bakterier (TCB). Denne metoden blir også brukt i alle badevannsundersøkelsene i fylket. Normalt vil hoveddelen av de termotolerante koliforme bakteriene (TCB) være *Escherichia coli*, den vanligste tarmbakterien i varmblodige dyrs tarmflora (inkl. menneskers). *E. coli* kan ikke formere seg utenfor tarmen, og dør raskt. Påvisning av TCB i vann gir derfor indikasjon på fersk fekal forurensning.

I enkelte tilfeller kan nær beslektede bakterier til *E. coli* komme frem ved analysen for termotolerante koliforme og gi feilaktig inntrykk av kloakkforurensning. *Klebsiella pneumoniae* er en naturlig nedbryter av tremateriale, og kan forekomme i store konsentrasjoner i avløp og prosessvann fra treforedlingsindustrien. Ved høye temperaturer kan *Klebsiella* bli termotolerant og fremkommer da i analysemetoder for TCB (Ormerod 1987, Hendry et al. 1982, Sparell et al. 1986, Caplenas et al. 1981, Niemelä et al. 1982). *Klebsiella* er potensielt sykdomsfremkallende (SIFF 1989).

Fekale streptokokker er tarmbakterier som også finnes i stort antall i varmblodige dyrs tarmflora, men som fremkommer ved andre analysemetoder enn for de koliforme. Analyse av disse bakteriene kan benyttes i de tilfeller hvor man mistenker andre bakterier enn tarmbakterier å gi utslag i testene for termotolerante koliforme bakterier.

2.5. Tidligere undersøkelser

Det er tidligere gjort flere undersøkelser i Nidelva. De bakteriologiske undersøkelsene omfatter årlige badevannsprøver f.o.m. 1989 (Fylkesmannen i Aust-Agder, Miljøvern avdelingen) og tilleggsundersøkelser for å finne kilder og årsaker til bakteriene i elva (Jacobsen 1993, Jacobsen 1994). I tillegg foreligger det et notat på konsekvenser av redusert minstevannføring (Hindar 1990) og en rapport på avrenning fra barkfyllinger ved Rykene (Hindar & Grande 1988).

Tilleggsundersøkelsen i 1993 omfattet bakterieanalyser fra flere stasjoner i Nidelva. Analysene viste store verdier for både TCB og *Klebsiella*, og at størstedelen av de termotolerante bakteriene som ble registrert denne sommeren trolig var av typen *Klebsiella* (Jacobsen 1994). Bakteriene kom fra sedimenteringsbassenget til Rygene-Smith & Thommesen A/S, som med høyt fiberinnhold og høye temperaturer gir gode forhold for vekst av *Klebsiella*. Sedimenteringsbassenget ble først tatt i bruk i 1993, samme året som bakteriemengden i Nidelva økte kraftig.

2.6. Tiltak for å redusere bakterieveksten

Våren 1994 testet Stein Hanssen A/S ulike slimbekjempingsmidler på avløpsvannet fra Rygene-Smith & Thommesen A/S for å finne egnede metoder for å begrense veksten av *Klebsiella*. Det ble valgt å fokusere på slimbekjempingsmidlet Busan 1072 LO, som var det mest effektive middelet.

Kontinuerlig tilsetning av slimbekjempingsmiddelet startet onsdag 15. juni 1994. I første omgang ble det tilsatt ca. 20 ppm (ca. 32 ml/min) til pumpekummen i renseriet (avbarkingsprosess). Vann fra renseriet føres videre til sedimenteringsbassenget. To uker senere (30. juni) ble doseringen flyttet til selve sedimenteringsbassenget og man økte mengdene til 25 ppm.

Etter fire uker med kontinuerlig tilsetning av biocid, begynte fellesferien hvor det ikke var produksjon ved bedriften. Sedimenteringsbassenget ble tømt og rengjort, og det ble ikke tilført mere produksjonsvann til elva. Fellesferien varte fra 11. til 29. juli.

Produksjonen startet opp igjen da fellesferien var slutt. Tilsetning av biocid startet umiddelbart.

3. PRØVETAKINGSPROGRAM

Undersøkelsen ble gjennomført i perioden 13. juni til 22. august 1994 (uke 24 - 34) på stasjoner vist i Figur 1.

3.1. Testing av slimbekjempingsmiddel

Vannprøver ble tatt fra sedimenteringsbassenget og fra elvevannet (Vippa) både før og etter tilsetning av slimbekjempingsmiddelet for å etterprøve effektiviteten av det valgte midlet. Prøvene ble analysert for TCB, *Klebsiella* og fekale streptokokker (Tabell 1).

Tabell 1. Prøvetakingsprogram ved testing av slimbekjempingsmiddel. Analyser av TCB, *Klebsiella* og fekale streptokokker.

		Prøvetakingsstasjoner:	
		Sedimenteringsbasseng	Vippa
Før tilsetning	13/6	✓	✓
Etter tilsetning	20/6	✓	✓
Etter tilsetning	27/6	✓	✓

3.2. Kontrollanalyser

Gjennom sommeren ble det tatt kontrollanalyser av utløpsvannet fra sedimenteringsbassenget og av elvevannet. Kontrollene ble gjort for å vurdere bekjempningsmidlets virkning over tid og ved høye sommertemperaturer. Prøvene ble analysert for TCB, *Klebsiella* og fekale streptokokker. Tilsammen seks stasjoner ble undersøkt tre ganger i løpet av sommeren. I tillegg foreligger det ukentlige TCB-analyser fra badevannsundersøkelsen. En av stasjonene ble lagt til utløpsrenna fra sedimenteringsbassenget og resten til strekningen mellom Rykene og Vippa (Figur 1). Samme stasjonsnett som ved badevannsundersøkelsen ble benyttet.

3.3. Identifisering av termotolerante bakterier i Nidelva

Fra tidligere undersøkelser i Nidelva er det klare indikasjoner på at en stor andel av de termotolerante bakteriene som måles i elva ikke er *E.coli*, men *Klebsiella*. Det ble derfor benyttet et biokjemisk identifikasjonssystem for bakteriefamilien *Enterobacteriaceae* (MICRO-ID) for å kunne identifisere bakteriene i badevannsundersøkelsen. Bakteriene ble først dyrket på ulike medier for å få frem *Klebsiella* og termotabile koliforme bakterier (se nedenfor). Bakteriekolonier ble deretter plukket ut og videre testet for biokjemiske reaksjonsmønstre. Gjennom en slik test skal det være mulig å skille mellom

ulike *Klebsiella*-arter, *E. coli*, *Enterobacter* eller andre bakterier i *Enterobacteriaceae*-familien.

3.4. Analysemetoder

Bakterieanalysene ble utført etter standard analysemetoder:

- Termotolerante koliforme bakterier: NS 4792 m/verifisering (standard membranfiltermetode på m-FC medium ved 44°C).
- *Klebsiella sp.*: Dyrking på m-Kleb agar etter fremgangsmåte i Ormerod 1987.
- Fekale streptokokker: NS 4793 m/verifisering (membranfiltermetode).

Kolonier fra m-FC agar og m-Kleb agar ble rendyrket og videre testet med MICRO-ID, et biokjemisk identifikasjonssystem for bakteriefamilien *Enterobacteriaceae*.

Alle analysene er utført av Næringsmiddeltilsynet i Aust-Agder.

4. RESULTATER OG DISKUSJON

4.1. Forholdet mellom antall bakterier i bassenget og i ellevannet

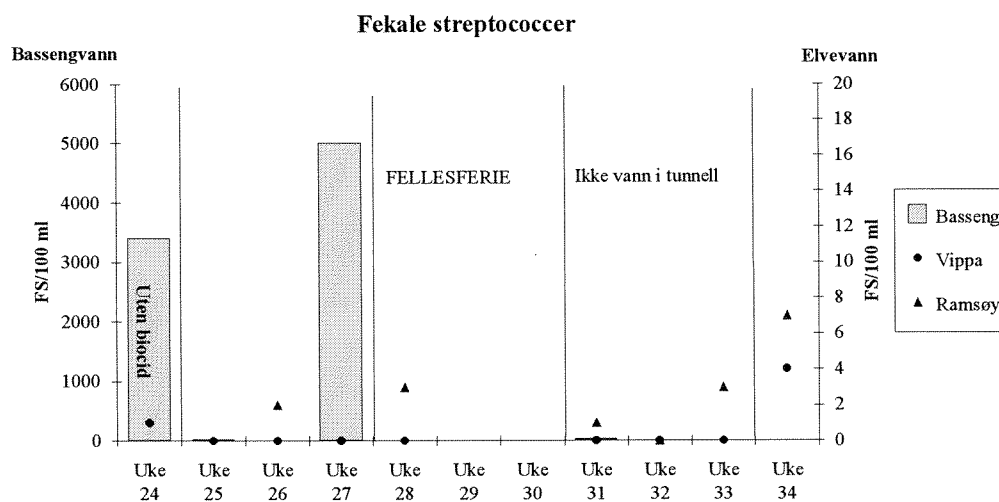
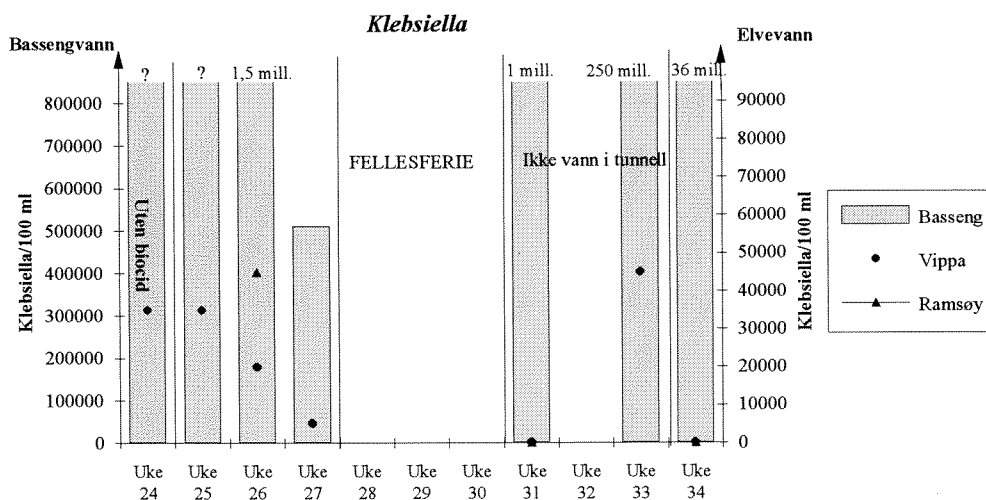
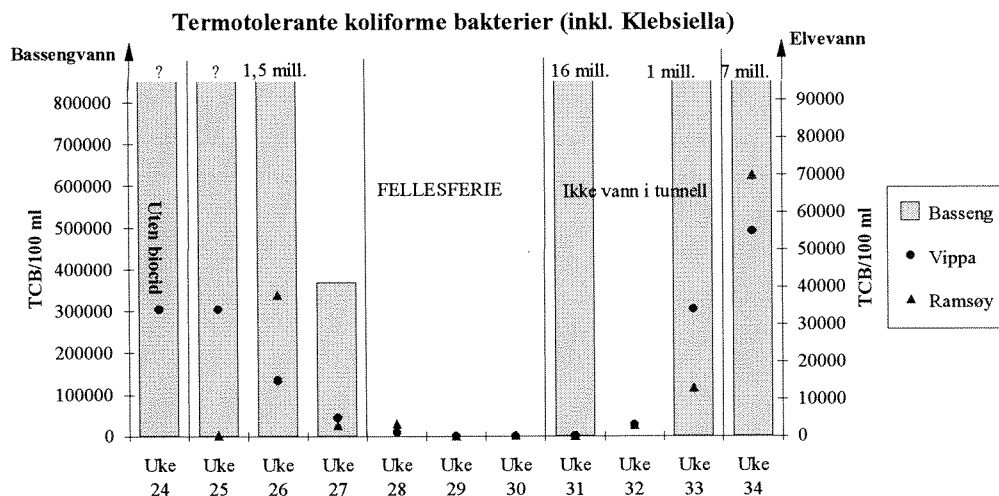
Analyseresultatene er vist nedenfor i Tabell 2 og Figur 2. Sedimenteringsbassenget hadde gjennomgående høyere bakteriekonsentrasjoner enn ellevannet, men forskjellene varierte gjennom prøvetakingsperioden.

Mengden avløpsvann som kontinuerlig føres fra sedimenteringsbassenget hos Rygene-Smith & Thommesen A/S til tunnelen er 2,8 m³/min (0,047 m³/sek). Normal minstevannføring i tunnelen om sommeren er ca. 40 m³/sek. Det tilsier at bassengvannet blir fortynnet minst 850 ganger hvis det blandes fullstendig med ellevannet. I flomperioder vil prosessvannet kunne fortynnes over 3500 ganger. I resultatene nedenfor er bakteriemengden i elva ved flere anledninger adskillig høyere enn en slik fortynning skulle tilsi. Det kan enten skyldes ujevn blanding av vannmassene eller at bakteriene (*Klebsiella*) formerer seg videre i ellevannet etter de har sluppet ut av bassenget. Tidligere undersøkelser har ikke funnet andre større kilder til bakteriene i Nidelva enn sedimenteringsbassenget.

Tabell 2. Bakteriemålinger i Nidelva sommeren 1994.

UKE	Dato		STASJONER					
			Basseng	Rykene	Helle	Hammeren	Vippa	Ramsøya
TERMOTOLERANTE KOLIFORME BAKTERIER (TCB) Inkl. Klebsiella								
Uke 24	13/6	Ikke biocid	> 0.03 mill.	-	-	-	34 000	-
Uke 25	20/6	Tilsetting av biocid	>0.3 mill.	110	> 300	> 300	34 000	> 300
Uke 26	27/6	↓	1.5 mill.	30	190 000	100 000	15 000	38 000
Uke 27	5/7	↓	0.37 mill.	70	220	4 000	5 000	3 000
Uke 28		<i>Fellesferie</i>	-	400	180	300	1 000	3 400
Uke 29		<i>(ingen produksjon)</i>	-	100	100	40	30	100
Uke 30			-	0	10	0	20	130
Uke 31*	1/8	Tilsetting av biocid	16 mill.	<10	20	< 10	50	30
Uke 32*	8/8	↓	-	40	> 3001	> 3001	> 3001	> 3000
Uke 33*	15/8	↓	1 mill.	30	25 000	23 000	34 000	13 000
Uke 34	22/8	↓	7 mill.	80	300 000	250 000		55 000
			70 000					
KLEBSIELLA sp.								
Uke 24	13/6	Ikke biocid	> 0.03 mill.	-	-	-	25 000	-
Uke 25	20/6	Tilsetting av biocid	> 0.3 mill.	-	-	-	35 000	-
Uke 26	27/6	↓	1.5 mill.	10	170 000	150 000	20 000	45 000
Uke 27	5/7	↓	0.5 mill.	-	-	-	5000	-
Uke 28	11/7	<i>Fellesferie</i>	-	-	-	-	-	-
Uke 29		<i>(ingen produksjon)</i>	-	-	-	-	-	-
Uke 30			-	-	-	-	-	-
Uke 31*	1/8	Tilsetting av biocid	1 mill.	< 10	10	< 10	10	30
Uke 33*	15/8	↓	250 mill.	-	-	-	45 000	-
Uke 34*	22/8	↓	36 mill.	?	?	?	?	?
FEKALE STREPTOKOKKER								
Uke 24	13/6	Ikke biocid	3400	-	-	-	1	-
Uke 25	20/6	Tilsetting av biocid	26	-	-	-	0	-
Uke 26	27/6	↓	0	0	0	1	0	2
Uke 27	5/7	↓	5000				0	-
Uke 28	11/7	<i>Fellesferie</i>	-	1	0	0	0	3
Uke 29		<i>(ingen produksjon)</i>	-	-	-	-	-	-
Uke 30			-	-	-	-	-	-
Uke 31*1/8-2/8		Tilsetting av biocid	30	1	1	0	0	1
Uke 32*	8/8	↓	-	1	1	0	0	0
Uke 33*	15/8	↓	-	0	1	0	0	3
Uke 34	22/8	↓	-	9	10	0	4	7

Tilsetting av biocid: tilsettingsstedet flyttet fra renseri (avbarking) til sedimenteringstanken i uke 27.
Fellesferie: uke 28-30. Ingen produksjon ved Rygene-Smith & Thommesen A/S.
 * Ikke vannføring gjennom tunnelen



Figur 2. Antall TCB, Klebsiella og fekale streptokokker i sedimenteringsbassenget og i elva (Vippsø og Ramsøy) sommeren 1994.

4.2. Testing av slimbekjempingsmiddel og kontrollanalyser

Før og etter tilsetning av biocid

Før tilsetning av biocid (uke 24) viste målinger av TCB og *Klebsiella* høye verdier ved Vippa (Tabell 2). Dette var forventet ut fra fjorårets resultater hvor det ble funnet forhøyde bakteriekonsentrasjoner det meste av sommeren. De to første prøvene av bassengvannet ble ikke tilstrekkelig fortynnet til at mengden kunne anslås, men det var trolig flere millioner bakterier pr. 100 ml i sedimenteringsbassenget. Analysene bekreftet at det var over 300 000 bakterier /100 ml, men ikke hvor mye. I grafene ovenfor (Figur 2) er de to målingene markert med spørsmålstejn.

Det var ingen umiddelbar reduksjon i TCB/*Klebsiella*-mengden etter tilsetning av biocid. Først 2-3 uker etter tilsetningen ble det registrert reduksjon i bakteriemengden, og reduksjonen ble registrert både i sedimenteringsbassenget og ved Vippa (Tabell 2, Figur 2). Ved Vippa ble bakteriemengden redusert fra ca. 30 000 til 5000 i løpet av tre uker. Bakterietallene for TCB og *Klebsiella* var tilnærmet like, som tyder på at *Klebsiella* dominerte TCB analysene. Videre identifisering av bakteriene bekreftet dette (se kap 4.3). Det er uvisst om den noe forsinkede nedgangen i bakteriemengden skyldes et annet tilsetningssted de to første ukene.

Mengden fekale streptokokker var stort sett lav både før og etter tilsetning av biocid. Enkelte høye verdier i bassenget (3000 - 5000 FS/100 ml) kan tyde på moderat oppvekst av fekale streptokokker i perioder, men man vil ikke kunne få liknende vekst som for *Klebsiella*. Tarmbakterier har andre vekstbetingelser, og er ikke tilpasset miljøer utenfor dyrs tarm. De forhøyde streptokokk-verdiene kan også skyldes interferens fra andre bakterie-typer, på samme måte som *Klebsiella* opptrer i TCB analysene. Også i 1993 ble det kun registrert en moderat overvekst av fekale streptokokker mens det var > 30 000 TCB og *Klebsiella* i bassenget (Jacobsen 1994). Lave verdier av fekale streptokokker i elvevannet viser at streptococcene i bassenget har lite å si for elva, og at bakteriemengden i elva ikke skyldes kloakkutslipp.

Fellesferien

Etter fire uker med prøvetaking begynte fellesferien med stopp i all produksjon ved bedriften. Sedimenteringsbassenget ble tømt og rengjort, og det ble ikke tilført mer avløpsvann til elva fra bedriften. Det ble ikke tatt bakterieprøver gjennom dette prosjektet i fellesferien, men resultater fra de ukentlige badevannsmålingene foreligger (Tabell 2). Målingene viser lave tall i forhold til før fellesferien. Badevannskvaliteten kan klassifiseres til *mindre egnet / ikke egnet* første uke av fellesferien, men med akseptabel badevannskvalitet de to siste ukene (*godt egnet/egnet*). Dette viser igjen at de høye bakterietallene i elva er knyttet til produksjon ved bedriften.

Etter fellesferien

Etter fellesferien ble tremasseproduksjonen starter opp igjen, og biocidtilsetningen ble samtidig satt igang. Kraftverkets vannføring gjennom tunnelen ble samtidig stanset p.g.a vedlikeholdsarbeid, og hovedvannmassene ble ført over det gamle elveleiet. Dvs. at det eneste vannet som ble tilført tunnelen var prosessvann fra bedriften (2,8 m³/min). Tunnelen går under elveleiet, og kan således romme store mengder vann som ikke blir ført ut i elva.

Allerede første uken etter fellesferien var det høye bakterietall i sedimenteringsbassenget (Tabell 2). Det ble målt 16 mill TCB og 1 mill *Klebsiella* pr. 100 ml prøve. Bakterietallet i selve elvevannet var imidlertid lavt, og var innenfor kravet til godt badevann (< 100 TCB/100 ml). To uker etter fellesferien var det fremdeles flere millioner bakterier (pr. 100 ml) i bassenget, og bakterietallet ved Vippa hadde nå

økt til 34-45 000 bakterier/100 ml. Dette er samme nivå som før tilsetning av biocid (uke 24). Det kan tyde på at bakteriene utviklet resistens mot biocidet og at noe prosessvann kom ut av tunnelen til tross for liten vannføring og stort volumkapasitet inni tunnelen. Antall fekale streptokokker var lavt.

Det ble tatt ekstra vannprøver i forbindelse med oppstart av tunnelen i midten av august (Tabell 3). Bakteriemålingene viste svært høye bakterietall (opptil 230 000/100 ml) i elva 9 timer etter gjenåpning av tunnelen, og betydelig lavere tall ett døgn etter (< 10 000 /100 ml). Det kan tyde på at mye bakterieholdig vann har blitt spylt ut og deretter blitt fortynnet.

Etter en uke med normal vannføring i tunnelen var det imidlertid svært høye bakterietall i hele Nidelva med flere hundre tusen bakterier pr. 100 ml. ved Helle og Hammeren, og ca 50 000 ved Vippa. (Tabell 3, Figur 2). Bakteriekoloniene fra denne uken skilte seg ut fra tidligere analyser, og var hverken typiske *Klebsiella* eller *E. coli* (Kap. 4.3).

Analysene fra sedimenteringsbassenget viste store variasjoner i både bakteriekonsentrasjon og forholdet mellom TCB og *Klebsiella*. Bakteriene er trolig knyttet til det organiske materialet, som kan gi store utslag i det analyserte volumet. Stor fortynning av prøvene forsterker forskjellene.

Tabell 3. Bakteriekonsentrasjoner (TCB) ved oppstart av tunnel i uke 33.

Uke	Dato		Basseng	Rykene	Helle	Hammeren	Vippa	Ramsøy
33	15/8	Ikke vannføring i tunnel	1 mill.	30	25 000	23 000	34 000	13 000
33	17/8	Ca. 9 timer etter gjenåpning av tunnelen			35 000	230 000	80 000	
33	18/8	Ett døgn etter			2 000	3 000	8 000	
34	22/8	Fem døgn etter	7 mill	80	300 000	250 000	55 000	70 000

4.3. Bakterietyper

I midten av juni ble bakteriekulturer fra to av stasjonene dyrket videre og koloniene testet med MICRO-ID. I vann fra Vippa ble det påvist tre ulike bakterietyper, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. og *Shigella* sp. (Tabell 4). I sedimenteringsbassenget ble det kun påvist *Klebsiella*. At det ikke ble påvist *E. coli* i noen av prøvene viser at bakteriene ikke stammer fra kloakk. Analysene viste at *Klebsiella*-bakteriene mest sannsynlig var *K. pneumonia*, som er den vanligste arten i avløpsvann fra treforedlingsbedrifter.

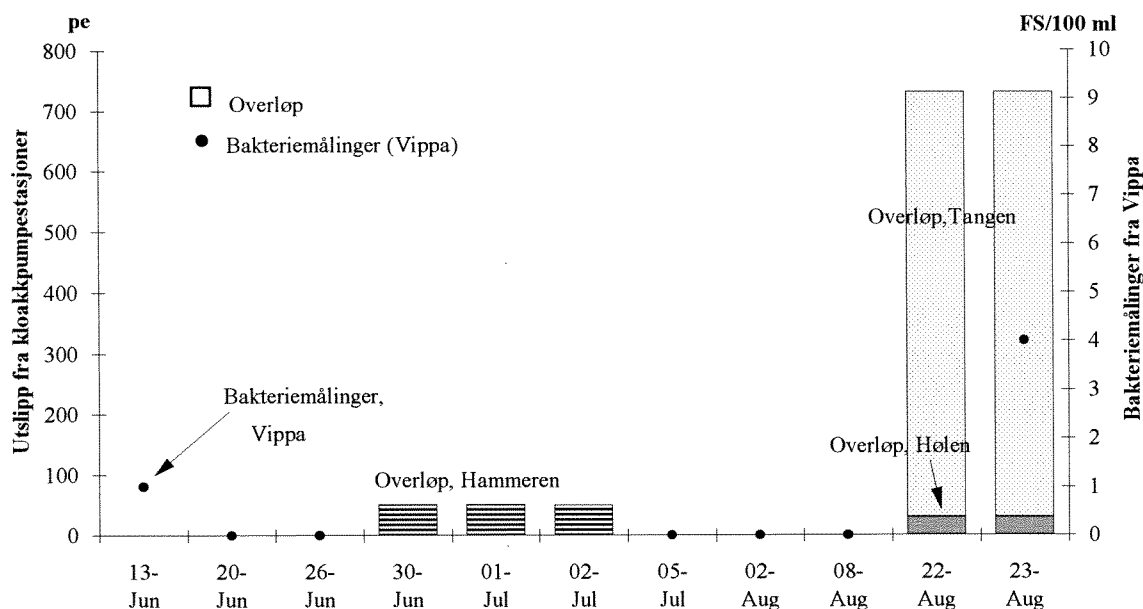
I siste uke av august viste bakteriekoloniene på m-Kleb agar en annen morfologi enn ved tidligere analyser. Ved videre testing av rendyrkede kolonier fra både m-Kleb agar og m-FC agar med MICRO-ID, ble det hverken påvist *Klebsiella* eller *E. coli* (Tabell 3). Årsaken til dette er ikke klart, men det kan tyde på at på at bakteriene har utviklet resistens eller endret egenskaper på andre måter. Det er lite trolig at det har vært oppvekst av en annen type bakterie som har utkonkurrert *Klebsiella* på så kort tid.

Tabell 4. Identifisering av bakteriekolonier fra mFC-agar og m-Kleb-agar.

Dato	Prøve	Påviste bakterietyper
13.06.94	Sedimenteringsbasseng	<i>Klebsiella</i> sp. (mest sanns. <i>Klebsiella pneumoniae</i>)
13.06.94	Vippa	<i>Klebsiella</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp og <i>Shigella</i> sp.
22.08.94	Sedimenteringsbasseng	?
22.08.94	Helle	?

4.4. Tilførsler av kloakk fra kloakkpumpestasjoner

Det har ikke vært større utslipp av kloakk fra kloakkpumpestasjoner i den aktuelle prøvetakingsperioden som kan ha bidratt til det høye antallet termotolerante bakterier i elva. Mengden fekale streptokokker har variert fra 0-4 FS/100 ml som kan betraktes som bakgrunnsnivå. Figuren nedenfor viser antall fekale streptokokker i Nidelva og tilførsler av kloakk fra pumpestasjoner i den aktuelle perioden (Figur 3).

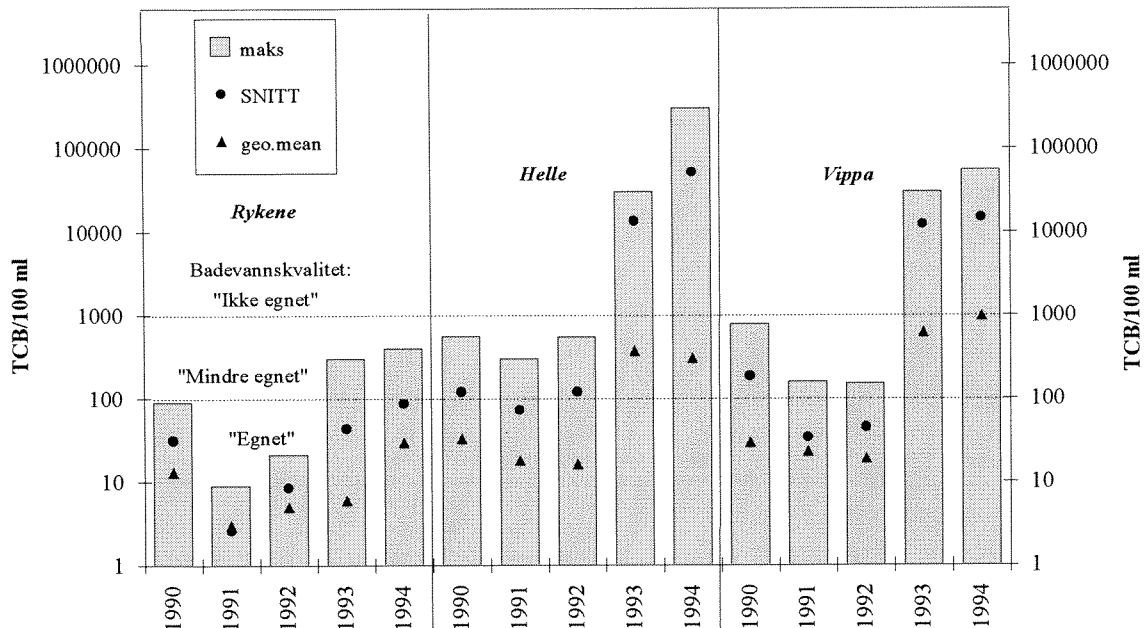


Figur 3. Tidspunkt for overløp ved kloakkpumpestasjoner og målt bakteriemengde i elvevannet (fekale streptokokker).

4.5. Utvikling 1990 - 1994

Før byggingen av sedimenteringsbassenget i 1993 var badevannskvaliteten i Nidelva stort sett "god" eller "mindre god", vurdert etter helsevesenets nye kvalitetsnormer for tarmbakterier (Statens Helsetilsyn 1994). Gjennomsnittet i målingene varierte mellom 50 - 200 TCB/100 ml ved Helle og Vippa (Figur 4). I 1993 og 1994 var det en kraftig økning i bakterieinnholdet, som medførte en "ikke akseptabel

badevannskvalitet" hvis resultatene vurderes etter normen for tarmbakterier. Økningen i antall TCB sammenfaller med installering av sedimenteringsbasseng, og skyldes gode vekstforhold for *Klebsiella* i bassenget. Det har også vært en svak økning i mengden TCB på Rykene, oppstrøms tremassebedriften, uten at årsaken til dette er kjent.



Figur 4. Utvikling av bakteriesituasjonen i Nidelva fra 1990 til 1994. Logaritmisk skala.

5. FORSLAG TIL VIDERE UNDERSØKELSER

For å unngå problemet med at *Klebsiella*-bakterier dukker opp i badevannundersøkelsen i Nidelva og gir inntrykk av kloakkforurensning, bør det analyseres for fekale streptokokker. Kvalitetskriteriene for bedømming av badevannskvalitet gjelder også for fekale streptokokker (Statens Helsetilsyn 1994). Noen stasjoner bør også omfatte analyse av TCB og *Klebsiella* for å kunne følge med på *Klebsiella*-mengdene i elva. Noen av disse stasjonene bør ligge på tidligere undersøkte stasjoner, f.eks Helle og Vippha.

Testing av nye metoder for å begrense bakterieveksten i sedimenteringsbassenget bør følges opp med bakterieanalyser for å dokumentere effektene. Prøvene bør tas både før og etter igangsetting av tiltak, og omfatte analyser av TCB, *Klebsiella* og fekale streptokokker. Prøvene tas om sommeren når det er grunnlag for vekst av bakterier i vannet.

6. HENVISNINGER

- Caplenas, N.R., M.S. Kanarek and P.Dufour 1981. Source and extent of *Klebsiella pneumoniae* in the paper industry. *Appl. Environ. Microbiology*, 779-785.
- Fylkesmannen i Aust-Agder 1991. Badevannsundersøkelsen i Aust-Agder 1990. *Rapport nr. 2. 1991. ISSN 0800.8523. 35 pp.*
- Fylkesmannen i Aust-Agder 1993. Badevannsundersøkelser i Aust-Agder 1992. *Notat nr. 1. 1993.*
- Fylkesmannen i Aust-Agder 1994. Badevannsundersøkelse i Aust-Agder 1993. *Notat nr. 1-1994.*
- Hendry, G.S., S. Janhurst and G. Horsnell 1982. Some effects of pulp and paper wastewater on microbiological water quality of a river. *Water Research, Vol. 16, no. 7, pp. 1291-1295. July 1982. 3 Tab, 20 Ref.*
- Hindar, Atle og Magne Grande 1988. Avrenning fra barkfyllinger ved Rykene i nedre del av Nidelva, Aust-Agder. NIVA rapport nr. 2077. 32 s.
- Hindar, Atle 1990. Konsekvenser av redusert minstevannføring fra Nelaug i Arendalsvassdraget. NIVA notat. O-89177.
- Jacobsen, T. 1993. Undersøkelse av bakterieinnholdet i Nidelva 1992. *NIVA-notat. O-92 126.*
- Jacobsen 1994. Bakteriologisk undersøkelse i Nidelva, Aust-Agder 1993. NIVA-rapport 3029, 20 s.
- Niemalä, S.I. and P. Väätänen 1982. Survival in lake water of *Klebsiella pneumoniae* discharged by paper mill. *Appl. envir. microbiol.* 264-269.
- Norsk Standard 4792. Vannundersøkelse. Termotolerante koliforme bakterier og presumptiv *E. coli*. Membranfiltermetode. 1. utg. mai 1990.
- Norsk Standard 4793. Vannundersøkelse. Fekale streptokokker. Kolonitellingsmetode. 1. utg. mai 1990.
- Ormerod, K.S. 1987. Hygienisk vannkvalitet. Belastning med *Klebsiella*- bakterier fra treforedlingsindustri. *NIVA-rapport F-509. 54 s.*
- SFT 1994. Klassifisering av miljøkvalitet i fjorder og kystfarvann. Virkninger av tarmbakterier. SFT-veiledning 94:09, TA 1003/1994.
- SIFF 1989. Generelt om drikkevann. G5. Smittestoffer som kan overføres via vann. Statens Institutt for Folkehelse. ISSN 0800-7195. 42 s.
- Sparell, L., L. Karlsson and G. Linfors 1986. *Klebsiella* in paper mill recipients. *Vatten (Stockholm). 1986. Vol. 42, no. 3, s. 227-231.*
- Statens Helsetilsyn 1994. Vannkvalitetsnormer for friluftsbad. Friluftsbad - badevann. Vedlegg til Rundskriv IK-21/94.

7. APPENDIKS

Oversikt over overløp fra pumpestasjoner sommeren 1994.

Pumpestasjon	Dato	Antall timer/døgn	Overløp	
			Pumpestasjonens belastning	Beregnet utslipp (max)
Hammeren (Munkestø)	29/6 - 4/7	3 døgn	51 pe	153 pe
Hølen (Hisbukta)	16/9	7 t	1600 pe	466 pe
(Lauheia)	22/8	4 døgn	30 pe	120 pe
Vrengen	22/8	4 døgn	700 pe	2800 pe
Tangen (overløp til elva)	2/6	4 døgn	100 pe	400 pe
(overløp til Hølen)	2/6	4 døgn	40 pe	160 pe
Vippa	5-17/9	3,5 døgn	800 pe	2800 pe
Natvigverven	17/9	2 t	60 pe	5 pe
Utneskrysset (Børsevika)	20/8-17/9	3 døgn	130 pe	390 pe

Vannføringsdata ved prøvetakingstidspunktene i 1994.

Dato	Vannføring, m ³ /min
13.6.94	71
20.6.94	55
27.6.94	66
05.7.94	54
11.7.94	50
01.8.94	41
08.8.94	40
15.8.94	44
17.7.94	39
18.7.94	40
22.7.94	42

Fekale streptokokker i Nidelva i 1993

Uke	Dato	Basseng	Helle	Vippa
Uke 30	20/7	-	0	4
Uke 31	2/8	6	2	2
Uke 31	4/8	400	2	2
Uke 32	9/8	20	6	2
Uke 32	11/8	270	3	4
Uke 33	16/8	120	2	2
Uke 33	18/8	30	1	0

Klassifisering av badevannskvalitet (Statens Helsetilsyn 1994).

Parameter	God	Mindre god	Ikke akseptabel
TCB/ fekale streptokokker pr. 100 ml.	< 100	100 - 1000	> 1000
Siktedyp, m	> 2	1 - 2	< 1
Turbiditet	< 2	2-5	> 5

Vurdering av den hygieniske vannkvaliteten (bakterier) bør baseres på minst 10 ulike prøvetakinger, spredd over badesesongen. 90% av tallene innen en tidsperiode skal ligge under de gitte verdiene. De øvrige 10% skal ligge innenfor neste tilstandsklasse.



BUCKMAN LABORATORIES

1072LO-8-12-E
A 37 G

BUSAN 1072LO

- * Combination of two highly effective microbicides
- * Broad-spectrum control of fungi and bacteria
- * Cost effective

Busan 1072LO is used to control bacterial and fungal slime. This product combines the two highly effective microbicides methylene bis(thiocyanate) and 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole, both of which are widely used for microorganism control in pulp and paper mills. In combination they make a potent, broad-spectrum slimicide. Besides slime control, Busan 1072LO is effective for wood chip and pulp preservation and for the manufacture of mold-resistant paper and paperboard. Busan 1072LO is allowed for use in the manufacture of paper and paperboard under 21 CFR § 176.300 of the Food and Drug Administration regulations.

Busan 1072LO can be fed directly from the shipping containers by chemical metering pumps. To ensure adequate mixing of the product with the substrate, Busan 1072LO should be added at a point of vigorous agitation.

Your Buckman representative can recommend a program of coordinated deposit control that will optimize the efficiency of your mill. Specific dose rates of Busan 1072LO and points of application will depend upon your particular system and the problems you have there.

BENEFITS of BUSAN 1072LO TREATMENT

This combination microbicide has produced excellent broad-spectrum control of microbial deposit problems in mills that have had severe slime-related problems. Its use has resulted in increased production, reduced downtime, improved paper quality, and reduced customer complaints.

Along with superior products, Buckman Laboratories provides you with excellent technical service. Our field representatives and staff of microbiologists and chemists are experienced in the problems of the papermaker.

PRODUCT CHARACTERISTICS

- Active ingredients: methylene bis-(thiocyanate) 5 %
- 2-(thiocyanomethylthio)benzothiazole 5 %
- Inert ingredients 90 %
- Density at 25°C 1.05 g/ml
- Approx. vol./kg 952 ml
- Flashpoint (PMCC) 82°C
- pH (100 ppm in dist. water) 5-7

PACKAGING and HANDLING

Busan 1072LO is a liquid packed in non-returnable drums and bulk containers. Concentrated Busan 1072LO is corrosive to mild steel.

Refer to the Material Safety Data Sheet

for suitable materials of construction for handling this product.

Improper handling of this product can be injurious to workers.

Observe all precautions listed on the label and in the Material Safety Data Sheet.

Recommendations given in this bulletin are based on tests to be reliable. However, the use of the product is beyond the control of Buckman Laboratories, and no guarantee, expressed or implied, is made as to the effects of such or the results to be obtained if not used in accordance with directions or established safe practice. The buyer must assume all responsibility, including injury or damage, resulting from misuse of the product as such, or in combination with other materials. This bulletin is not to be taken as a license to operate under or recommendation to infringe any patent.

NIVA



Norsk institutt for vannforskning

Postboks 173 Kjelsås, 0411 Oslo

Telefon: 22 18 51 00 Fax: 22 18 52 00

ISBN 82-577-2741-5