

# Groen proceswater: zuivering brouwerijprocesafvalwater met microalgen

## Resultaten onderzoek 2013

Auteurs:

Wim van Dijk, PPO-agv Wageningen UR

Arnout van Diem, Algae Food & Fuel

Patrick Doornbusch, Heineken Nederland

Saskia Grobben, PPO-agv Wageningen UR

Gertjan Kleinhout, Heineken Nederland

Arthur Kroon, Algae Food & Fuel

Rommie van der Weide, PPO-agv Wageningen UR



# Groen proceswater: zuivering brouwerijprocesafvalwater met microalgen

Resultaten onderzoek 2013

Auteurs:

Wim van Dijk, PPO-agv Wageningen UR

Arnout van Diem, Algae Food & Fuel

Patrick Doornbusch, Heineken Nederland

Saskia Grobber, PPO-agv Wageningen UR

Gertjan Kleinhout, Heineken Nederland

Arthur Kroon, Algae Food & Fuel

Rommie van der Weide, PPO-agv Wageningen UR

© 2014 Wageningen, ACRRES – Wageningen UR

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen of enige andere manier zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van ACRRES-Wageningen UR.

ACRRES – Wageningen UR is niet aansprakelijk voor eventuele schadelijke gevolgen die kunnen ontstaan bij gebruik van gegevens uit deze uitgave.

Projecttitel: Groen proceswater

Projectnr: 3250237600

Dit project is mede mogelijk gemaakt door:



ACRRES – Wageningen UR

Adres : Edelhertweg 1, Lelystad  
: Postbus 430, 8200 AK Lelystad  
Tel. : 0320 - 29 11 11  
Fax : 0320 - 23 04 79  
E-mail : [info@acrres.nl](mailto:info@acrres.nl)  
Internet : [www.acrres.nl](http://www.acrres.nl)

# Inhoudsopgave

SAMENVATTING.....	5
1 INLEIDING.....	9
2 RESULTATEN KUUBSREACTOREN ZOETERWOUDE .....	11
2.1 Reactoropstelling.....	11
2.2 Resultaten stikstof- en fosforverwijdering.....	12
2.3 Conclusie.....	15
3 EFFECTEN BEWAREN UASB-EFFLUENT .....	17
3.1 Inleiding.....	17
3.2 Resultaten bewaarproef 1 .....	17
3.3 Resultaten bewaarproef 2 .....	20
3.4 Conclusie.....	22
4 EFFECT VAN PH OP ALGENGROEI .....	23
4.1 Inleiding.....	23
4.2 Proefopzet- en uitvoering.....	23
4.3 Resultaten .....	23
4.4 Conclusie.....	25
5 EFFECT STARTDICHTHEID ENT .....	27
5.1 Inleiding.....	27
5.2 Proefopzet en -uitvoering.....	27
5.3 Resultaten .....	27
5.4 Conclusie.....	29
6 EFFECT VAN LICHTSTERKTE EN MENGSNELHEID IN DE KUUBSREACTOR.....	31
6.1 Inleiding.....	31
6.2 Te testen factoren .....	32
6.3 Proefuitvoering.....	33
6.4 Resultaten .....	36
6.5 Conclusie.....	39
7 EFFECT VAN UITGEHONGERDE ALGEN .....	41
7.1 Inleiding.....	41
7.2 Proefopzet en -uitvoering.....	41
7.3 Resultaten .....	42
7.4 Conclusie.....	45
8 AANBEVELINGEN VERVOLGONDERZOEK.....	47
9 REFERENTIES.....	49



## Samenvatting

In 2012 is het project Groen Proceswater gestart. Hierin worden de mogelijkheden van zuivering van brouwerijprocesafvalwater met behulp van microalgen onderzocht. Dit wordt gedaan in een samenwerkingsverband van Heineken Nederland BV, Algae Food & Fuel en WUR-Acrres. Na perspectiefvolle resultaten bij labproeven zijn eind 2012 op de Heineken-locatie in Zoeterwoude twee kuubsreactoren geïnstalleerd om op grotere schaal de zuivering met algen te onderzoeken. Het onderzoek in 2013 omvatte de monitoring en het testen en verbeteren van de kuubsreactoren in Zoeterwoude en ondersteunend onderzoek dat door WUR-ACRRES in Lelystad is uitgevoerd. De resultaten van beide onderdelen worden beschreven in onderhavig rapport.

### Reactoren Zoeterwoude

Afgelopen jaar is de pilot met het kweken van algen met afvalwater van de brouwerijlocatie Zoeterwoude geslaagd. Dit is de eerste inline pilot in de wereld waarbij met LED verlichting op 1000 L schaal algen zijn gekweekt met brouwerijafvalwater als nutriëntenbron. De algenreactoren blijven groen, verbeteren de waterkwaliteit en verwijderen 99% van de opgeloste minerale stikstof ( $\text{NH}_4$ ). Hiermee is het eerste doel bereikt, namelijk een aantal weken de algenreactoren on site en inline met de afvalwaterzuivering mee te laten draaien, met een (vooral voor stikstof) goed verwijderingsrendement. Ook de aanvankelijke technische problemen met de installaties zijn opgelost.

De algendichtheid in de 1000 L reactor was lager dan verwacht en daardoor is de verwijdering van fosfor lager dan bij de eerdere labproeven op 2 L schaal bij de WUR. Belangrijke factoren om in de pilot nog beter resultaat te behalen zijn: reactorontwerp (licht, menging), doorstroomsnelheid, wegfilteren van biologische grazers en gecontroleerd oogsten van algen om lichtverdeling optimaal te houden.

Doordat de algengroei onvoldoende was, zijn in de loop van 2013 een aantal aanpassingen doorgevoerd in de opstelling. Er is een extra tussenopslagvat voor het te zuiveren effluent geplaatst. Labonderzoek toonde aan dat door het effluent een korte periode te bewaren er een afbraak plaatsvindt van organisch materiaal en daardoor de stikstof en fosfor beter beschikbaar komt voor de algen. Daarnaast is de hoeveelheid licht verhoogd (4 lampen i.p.v. 1, maximaal vermogen van 180 naar 720 W) en is een watermantel geplaatst rondom de lampen (gelijkmatiger lichtverdeling in groter volume van de reactor).

In Tabel S1 zijn de resultaten samengevat voor de periode waarin de zojuist genoemde aanpassingen zijn doorgevoerd. De verblijftijd bedraagt vijf dagen. Met name na het aanbrengen van de watermantel eind september steeg zowel het stikstof- als het fosforverwijderingsrendement. Voor stikstof bedroeg deze 70-80% bij een gehalte van 8-10 mg N totaal/l in het reactoreffluent. Verder bleek dat de ammonium (de opneembare stikstofbron voor de algen) vrijwel volledig werd verwijderd. Voor fosfor werd een verwijderingsrendement behaald van 30-40% bij een fosforgehalte 4-5 mg P/l.

Wat betreft het N-en P-gehalte was het resultaat qua grootte orde vergelijkbaar met de huidige aerobe zuivering. De toekomstige eisen voor lozing op het oppervlaktewater worden nog niet gehaald. In vergelijking met de in 2012 uitgevoerde proeven met de 2 L chemostaat was de verwijdering vooral bij fosfor lager. Om te voldoen aan toekomstige lozingseisen moeten de N-en P-gehalten verder worden teruggebracht naar respectievelijk 3-5 mg N/l en 0,5-1 mg P/l.

Tabel S1. Resultaat algenzuivering (COD-, N-totaal en P-totaalgehalte in effluent en verwijderingsrendement) in de kuubsreactor na het aanbrengen van de vier lampen met de watermantel in vergelijking met het resultaat van de 2 L chemostaat (onderzoek 2012), het resultaat van de huidige aerobe zuivering en de toekomstige streefwaarden voor lozing op het oppervlaktewater.

	Kuubsreactor			2 L chemostaat <sup>1</sup>	
	COD	N-totaal	P-totaal	N-totaal	P-totaal
Resultaat algenzuivering					
- Gehalten (mg/l)	120-150	8-10	4-5	3-4	1-2
- Verwijderingsrendement (%)	60-70	70-80	30-40	80-90	80-90
Huidige aerobe zuivering, mg/l	48	9.5	4	9.5	4
Streefwaarde voor lozen, mg/l	100	3-5	0.5-1	3-5	0.5-1

<sup>1</sup> lab opstelling, onderzoek uitgevoerd in 2012

Gedurende het voorjaar en de zomer waren er problemen met grazers in de algenreactoren die veel algen eten en met name tijdens de vertering veel stikstof en fosfor weer uitscheiden waardoor er naast een lage algendichtheid ook lage verwijderingsrendementen gemeten werden. De grazerdruk was in de hierboven beschreven meetperiode echter relatief laag, de grazeraantallen worden verlaagd met een simpele filtratiestap die door een timer geregeld wordt. Sinds de filtratie zijn de algenreactoren continu groen.

## Onderzoek WUR Lelystad

### *Bewaring effluent*

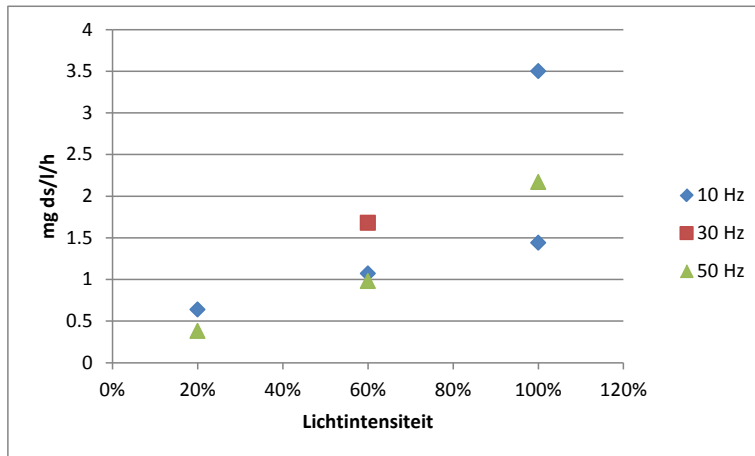
Via labproeven is nagegaan wat het effect is van een korte bewaarperiode op de samenstelling van het effluent. Bewaring van het UASB-effluent bij kamertemperatuur leidde na een week tot een daling van het N- en P-gehalte, dat waarschijnlijk een gevolg is van bezinking van zwevende delen in het effluent. In één van de twee proeven nam ook het COD-gehalte en het aandeel minerale N in de totale N toe. Dit duidt op afbraak van organisch materiaal. Inmiddels is in de opstelling in Zoeterwoude een tussenopslagvat opgenomen.

### *Lichtonderzoek*

Parallel aan het onderzoek in Zoeterwoude zijn met een vergelijkbare kuubsreactor van de WUR in Lelystad batchtesten uitgevoerd met verschillende combinaties van lichtintensiteit (20%, 60% en 100% van maximaal vermogen van 720 W) en mengsnelheid van de reactormixer (10, 30 en 50 Hz). In deze reactor hebben de vier lampen nog geen watermantel.

De uitkomsten (Figuur S1) laten zien dat verhoging van lichtvermogen van 145 (20%) naar 430 (60%) en 720 W (60%) leidde tot een significante verhoging van de groeisnelheid van de algencultuur. Gemiddeld over de lichtintensiteiten was er sprake van een negatief effect van mixersnelheid. Dit effect was echter niet significant. De gerealiseerde groeisnelheid liep uiteen van 0.3 tot ruim 3 mg ds/l/h. Om met name de fosfor volledig te verwijderen is bij een verblijftijd van 5 dagen in de reactor een groeisnelheid vereist van 5-6 mg ds/l/h.





Figuur S1. Effect van lichtintensiteit (% van maximaalvermogen van 720 W) en mengsnelheid reactormixer (10, 30 en 50 Hz) op de groeisnelheid van de algen (groeisnelheid afgeleid van verloop optische dichtheid (OD) en relatie tussen OD en biomassaconcentratie cultuur)

#### Effect van uithongeren

In eerdere proeven, uitgevoerd door Lorena Madriz (stagiair Algae Food & Fuel), werd een relatief hoge N- en P-opnamesnelheid gevonden bij algen die waren opgekweekt onder N- en P-arme omstandigheden (hierna uitgehongerde algen genoemd). Omdat er in die proeven geen referentie van niet uitgehongerde algen was meegenomen, is een bakkenproef uitgevoerd waarin die referentie wel was opgenomen.

De proef liet zien dat het uithongeren van algen leidde tot een significant verhoogde N- en P-afname in het groeimedium. Het effect was het sterkst in de eerste uren. In die periode bedroeg de  $\text{NH}_4\text{-N}$  en  $\text{PO}_4\text{-P}$  opnamesnelheid van de uitgehongerde algen respectievelijk 0,8 mg N/l/h en 0,2 mg P/l/h. Bij de niet uitgehongerde algen nam het gehalte vrijwel niet af. Voor beide culturen veranderde de optische dichtheid en het drogestofgehalte van de cultuur vrijwel niet. Wel was het drogestofgehalte van de uitgehongerde cultuur significant hoger dan bij de niet uitgehongerde cultuur (200 versus 170 mg ds/l).

#### Effect pH op algengroei

De minder goede groei van de algen in de kuubsreactoren kan ook een gevolg zijn van een negatieve interactie met bacteriën die zich in het effluent bevinden. De concurrentiepositie van algen ten opzichte van bacteriën is mogelijk te verbeteren door verhoging van de pH. In een schudflessenproef is nagegaan of de algengroei kan worden bevorderd door een hogere pH.

Een pH hoger dan 8 leidde tot een duidelijk mindere algengroei en biedt derhalve geen handvat om de algengroei in de kuubsreactor te verbeteren.



### *Startdichtheid bij doorspoelen*

Bij de opstart van de reactor zal bij een voldoende dichtheid in de reactor het doorspoelen worden aangezet. De vraag hierbij is wat de optimale dichtheid is om dit te doen. In theorie zal de startdichtheid niet van invloed zijn op de uiteindelijke eindconcentratie aan algen. Deze wordt bepaald door de groeiomstandigheden in het reactorvat. Wel kan het zijn dat er sprake is van een interactie met aanwezige bacteriën waardoor er bij een te lage beginconcentratie de algen toch kunnen uitspoelen. Het effect van beginconcentratie is onderzocht met een chemostaatproef.

De algendichtheid bij de start van het doorspoelen bleek in een 2I-chemostaat bleek niet van invloed op het N- en P-verwijderingsrendement.

# 1 Inleiding

In 2012 is het project Groen Proceswater gestart. Hierin worden de mogelijkheden van zuivering van brouwerijprocesafvalwater met behulp van microalgen onderzocht. Dit wordt gedaan in een samenwerkingsverband van Heineken Nederland BV, Algae Food & Fuel en WUR-ACRRES.

In het bierbrouwproces ontstaat procesafvalwater, dat moet worden gezuiverd om het uiteindelijk te mogen lozen op het oppervlaktewater. Het procesafvalwater bevat nutriënten (COD, stikstof, fosfor, spoorelementen) en warmte (ca. 30°C). De huidige wijze van afvalwater zuiveren (anaerobe UASB gevolgd door aerobe actieve slibzuivering) is kostbaar, energie-intensief en functioneel te beperkt (onvoldoende fosforverwijdering) om aan de toekomstige lozings-eisen te voldoen. Deze wijze van zuiveren produceert slib als biomassa, hetgeen een negatieve waarde in het handelsverkeer heeft. Daarnaast gaat fosfor voor de voedingsketens verloren, omdat dit ofwel via de slibverwerking wordt vernietigd, ofwel op het oppervlaktewater wordt geloosd. Recycling is gewenst, omdat fosfor een essentieel voedings-element is voor voedselproductie en de huidige bron, fosfaaterts, eindig is.

Een interessante optie is om na te gaan of het laatste deel van de afvalwaterzuivering kan worden uitgevoerd door in het effluent van de UASB reactor algen te laten groeien (m.b.v. een geschikte licht- en CO<sub>2</sub>-bron). De algenzuivering vervangt hiermee de aerobe nazuivering.

De gevormde algenbiomassa heeft voedings- c.q. voederwaarde (eiwit, mineralen en onverzadigde vetzuren). Bovendien nemen de algen fosfor op, zodat deze met de algenbiomassa naar de voedingsketen wordt gerecycled. Met de restwarmte die al in het afvalwater aanwezig is kunnen zonder extra inspanning optimale groeitemperaturen voor algen worden gecreëerd. Door te streven naar een gebalanceerde opname van nutriënten is het wellicht mogelijk om schoon water te produceren. Bovendien komt er bij het brouwen naast rookgas met CO<sub>2</sub> ook nog schone CO<sub>2</sub> vrij die beide als koolstofbron voor de algen kunnen dienen.

Doel van het project is te onderzoeken in welke mate het procesafvalwater kan worden gezuiverd door algen, door vast te stellen welke algensoorten in staat zijn in dit water te groeien, welke algenproductie hierbij mogelijk is en wat dan de hierbij behorende effluentsamenstelling van de algenreactor is en hoe de geproduceerde algenbiomassa optimaal tot waarde kan worden gemaakt

In 2012 is door WUR-ACRRES op labschaal met behulp van een 2 L-doorstroomreactor de stikstof- en fosforverwijdering in procesafvalwater (UASB-effluent) door algen onderzocht. De resultaten waren perspectiefvol. Het verwijderingsrendement (voor zowel stikstof als fosfor) liep uiteen van circa 50% bij een verblijftijd van ruim een dag tot circa 90% bij een verblijftijd van circa 6 dagen.

Vervolgens zijn eind 2012 op de Heineken-locatie in Zoeterwoude 2 kuubsreactoren geïnstalleerd om op grotere schaal de zuivering met algen te onderzoeken. Het onderzoek in 2013 omvatte de monitoring en het testen en verbeteren van de kuubsreactoren in Zoeterwoude en ondersteunend onderzoek dat door WUR-ACRRES in Lelystad is uitgevoerd. De resultaten van beide onderdelen worden beschreven in onderhavig rapport.



## 2 Resultaten kuubsreactoren Zoeterwoude

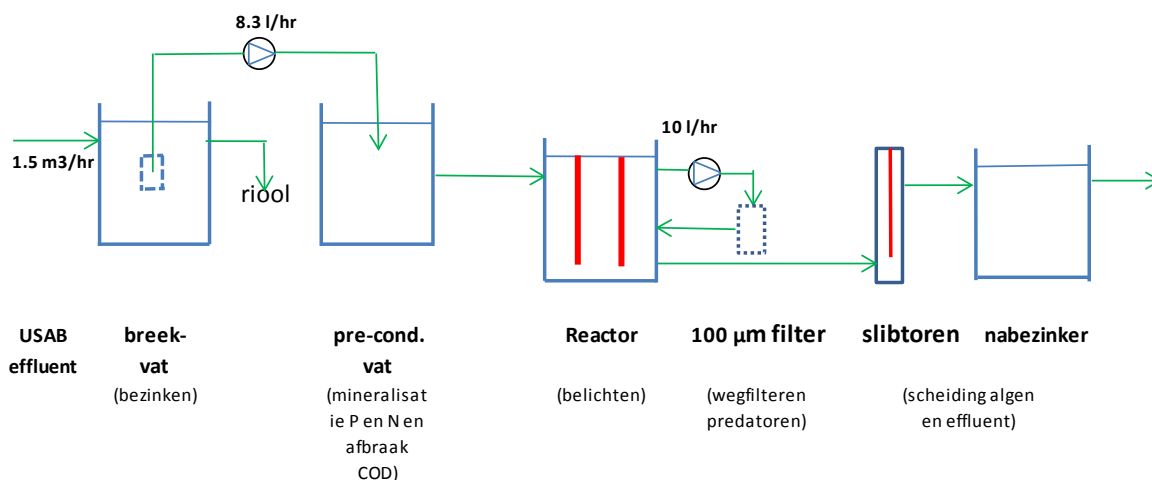
### 2.1 Reactoropstelling

Eind 2012 zijn op de Heineken-locatie in Zoeterwoude twee kuubsreactoren geïnstalleerd. De reactoren worden gevoed met UASB-effluent direct afkomstig uit de vergister. Normaliter wordt dit water in de afvalwaterzuivering gezuiverd alvorens het geloosd mag worden. De afvalwaterzuivering wordt hier dus vervangen door zuivering door algen en productie van te verwaarden algenbiomassa. Als kweekstelsel is gekozen voor een doorstroomprincipe hetgeen betekent dat er dagelijks een bepaalde hoeveelheid UASB-effluent wordt toegevoegd en eenzelfde hoeveelheid reactorinhoud wordt afgevoerd. Belichting vindt plaats via een centraal geplaatste LED-lamp voorzien van 50 cm LED-strips met een vermogen van 180 W. De reactor wordt gemengd door middel van een mixer. De pH-regeling vindt plaats via CO<sub>2</sub>-toediening.

In Figuur 1A is de opstelling schematisch weergegeven. Het UASB-effluent wordt vanuit de UASB-reactor aangevoerd naar een opslagvat (breekvat). Dit gebeurt met een debiet van 1,5 m<sup>3</sup>/h zodat de inhoud van het breekvat elke drie kwartier wordt ververs. Door dit hoge debiet is er continu vers effluent beschikbaar voor het algenkweekstelsel.

Vanuit het breekvat wordt er continu effluent naar de reactoren gepompt. Aanvankelijk gebeurde dit rechtstreeks. In april is tussen het breekvat en de algenreactor echter een tussenopslagvat (preconditioneervat) geplaatst. Dit is gedaan, omdat uit bewaarproeven die door WUR-ACRRES zijn uitgevoerd, bleek dat door een extra bewaarperiode van het UASB-effluent het COD-gehalte daalde en een deel van de organische stikstof en fosfor werd afgebroken (zie hoofdstuk 3). Hierdoor zijn de stikstof en fosfor beter beschikbaar voor de algen.

Het UASB-effluent wordt vanuit het breekvat in het preconditioneervat gepompt (8,3 l/h, 200 l per dag). Vervolgens loopt het gepreconditioneerde effluent op vrij verval naar de algenreactor en van daaruit naar de bezinktoren en nabezinkvat. De gemiddelde verblijftijd in zowel het preconditioneervat als de reactor bedraagt 5 dagen.



Figuur 1A. Schematische weergave algenkweekinstallatie Zoeterwoude.



Figuur 1B. Algenkweekopstelling Zoeterwoude.

## 2.2 Resultaten stikstof- en fosforverwijdering

In Tabel 1 zijn de analyseresultaten weergegeven van het Heineken-lab in de eerste helft van mei waarin zowel het breekvat als het preconditioneervat zijn bemonsterd. Hieruit blijft dat de extra bewaartijd heeft geleid tot een lager COD-, Ntotaal- en P-totaalgehalte. Dit is waarschijnlijk het gevolg van bezinking. Daarnaast nam ook het aandeel minerale N in totale N toe van 27 naar 40%. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door mineralisatie tijdens de bewaarperiode.

Tabel 1. Gemiddeld COD-, Ntotaal- en P-totaalgehalte (mg/l) en aandeel minerale N ( $NH_4-N + NO_3-N$ ) in totale N (%) in breekvat en preconditioneervat in de periode 3 mei tot 17 mei 2013.

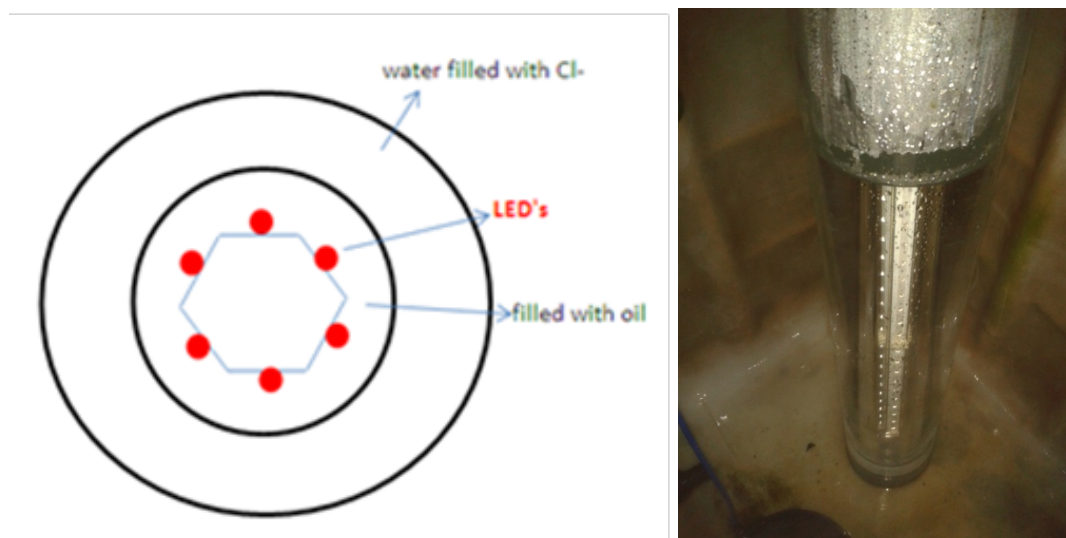
	COD (mg/l)	Ntotaal (mg/l)	Aandeel Nm in Ntotaal (%)	Ptotaal (mg/l)
Breekvat	796	45	27	9.3
Preconditioneervat	498	33	40	8.0

Gedurende het voorjaar en de zomer waren er problemen met grazers in de algenreactoren. Deze eten algen en beïnvloeden daardoor de nutriëntenverwijdering negatief. Om het probleem op te lossen is een grazerfilter (100  $\mu$ m) geplaatst (zie Figuur 1A). De reactorinhoud wordt continu door het filter gehaald (debiet 240 l per dag). Na deze aanpassing bleef de grazerdruk relatief laag en de filtratie zorgt ook voor resuspensie van algenvlokken. Het is echter wel van belang de grazerdruk goed te blijven



monitoren, omdat uit andere algenpilots is gebleken dat de grazerdruk soms seizoensgebonden lijkt op te treden.

Doordat de algengroei onvoldoende was zijn in de periode augustus-september 2013 bij één reactor (FB04) een aantal aanpassingen doorgevoerd die gericht waren op verbeteren van de hoeveelheid en verdeling van het licht. Op 19 augustus zijn er 4 lampen geplaatst (i.p.v. 1). Hiermee steeg het maximale vermogen van 180 naar 720 W. Aanvankelijk stonden deze lampen op 60% van het vermogen (432 W) om te veel opwarmen van de reactor te voorkomen. Op 6 september zijn de lampen op maximaal vermogen gezet (totaal 720 W), door de inmiddels lagere omgevingstemperatuur bleek de temperatuur goed beheersbaar. Op 24 september is een watermantel geplaatst rondom de lampen (Figuur 2). Doel hiervan is een gelijkmatiger lichtverdeling in een groter volume van de reactor. Ook worden hiermee zones met zeer hoge lichtintensiteiten (foto-inhibitie) verminderd.



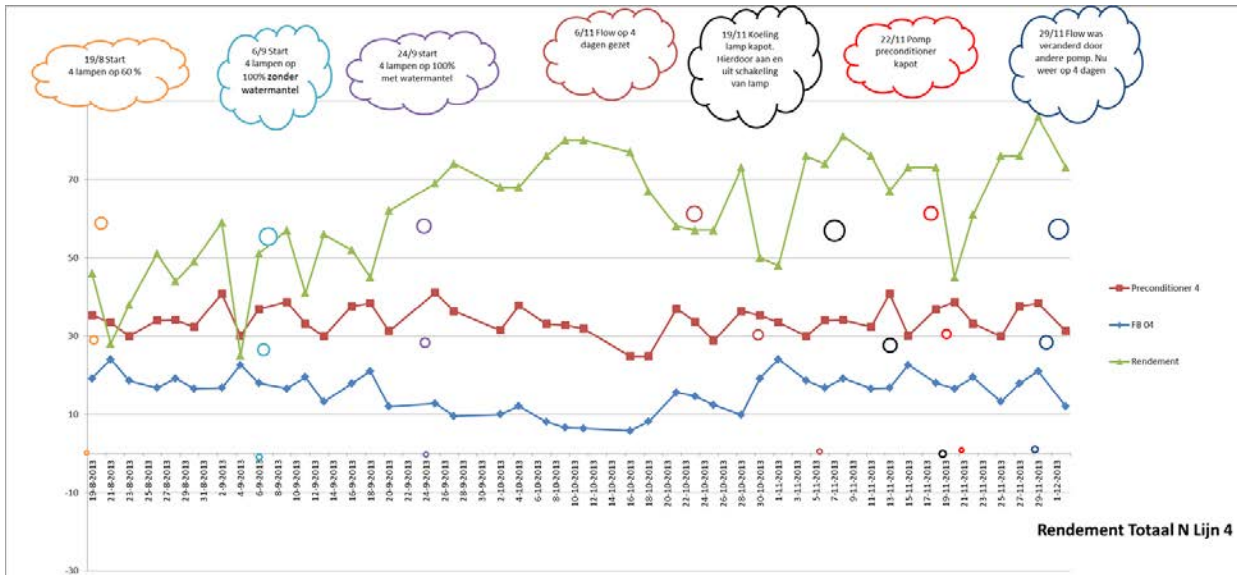
Figuur 2. LED-lamp met mantel.

In Figuren 3 t/m 5 is het verloop van het N-totaal-,  $\text{NH}_4\text{-N}$ - en P-totaalgehalte weergegeven in de periode waarin de zojuist genoemde aanpassingen zijn doorgevoerd. Tevens is het verwijderingsrendement weergegeven. Deze is gedefinieerd als het verschil in N/P-gehalte tussen influent en effluent van de reactor gedeeld door het N/P-gehalte in het influent.

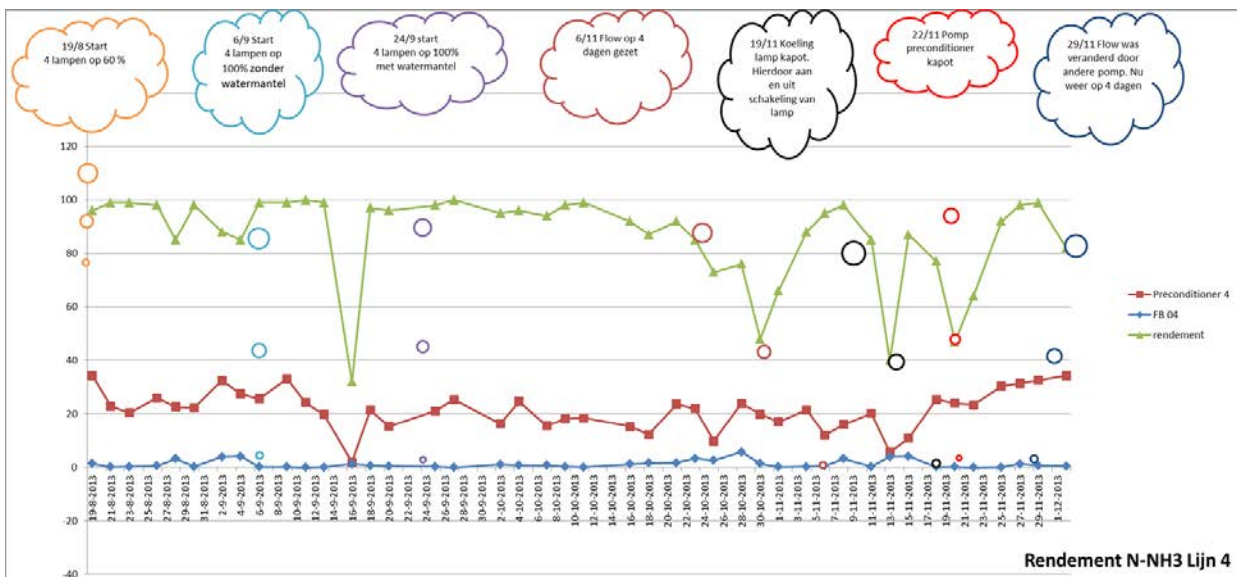
Zoals reed eerder aangegeven bedraagt de verblijftijd in de reactor vijf dagen. Met name na het aanbrengen van de watermantel eind september steeg zowel het stikstof- als het fosforverwijderingsrendement. Voor totaalstikstof bedroeg deze 70-80% bij een gehalte van 8-10 mg N totaal/l in het reactoreffluent. Verder blijkt dat de ammonium (de opneembare stikstofbron voor de algen) vrijwel volledig werd verwijderd. Voor fosfor werd een verwijderingsrendement behaald van 30-40% bij een fosforgehalte 4-5 mg P/l in het reactoreffluent.

Vanaf begin november is de verblijftijd verlaagd naar 4 dagen. De reden hiervoor was om de stikstofbeschikbaarheid te verhogen. De  $\text{NH}_4\text{-N}$  werd bij een verblijftijd van 5 dagen bijna volledig verwijderd waardoor er mogelijk sprake is van N-limitatie en hierdoor de P-

verwijdering wordt beperkt. Uit Figuur 4 blijkt dat bij een verblijftijd van 4 dagen het  $\text{NH}_4$ -gehalte weer toenam. Echter, door een aantal storingen in het systeem (uitval pomp en lamp) is het lastig om daaruit conclusies te trekken voor de N- en P-verwijdering. Globaal beeld is wel dat na de storingen (vanaf 22 november) de N-en P-verwijdering weer toenam tot het niveau dat in oktober werd behaald.

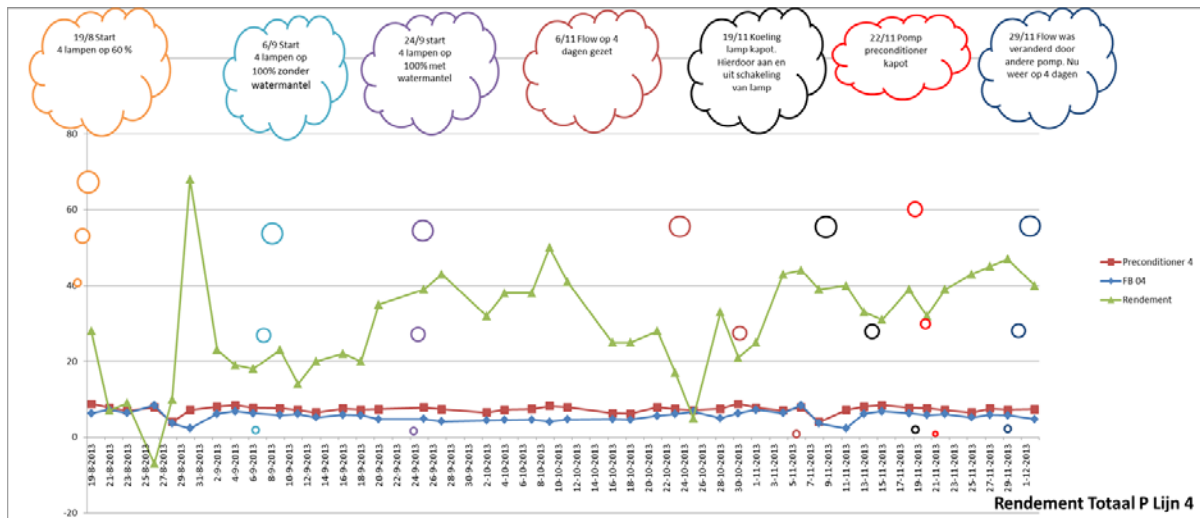


Figuur 3. Verloop N-totaalgehalte (mg/l) in preconditioneervat 4 en reactor FB 04 en N-verwijderingsrendement (%).



Figuur 4. Verloop  $\text{NH}_4$ -N-gehalte (mg/l) in preconditioneervat 4 en reactor FB 04 en  $\text{NH}_4$ -N-verwijderingsrendement (%).





Figuur 5. Verloop P-totaalgehalte (mg/l) in preconditioneervat 4 en reactor FB04 en P-verwijderingsrendement %).

## 2.3 Conclusie

Na aanpassingen van het algenkweekstelsel (tussenopslagvat, meer lampen en watermantel om lamp) werd stikstofverwijderingsrendement behaald van 70-80% bij een gehalte van 8-10 mg N totaal/l in het reactoreffluent. Verder bleek dat de ammonium (de opneembare stikstofbron voor de algen) vrijwel volledig werd verwijderd. Voor fosfor werd een verwijderingsrendement behaald van 30-40% bij een fosforgehalte 4-5 mg P/l in het reactoreffluent.



## 3 Effecten bewaren UASB-effluent

### 3.1 Inleiding

Zoals eerder aangegeven was de algengroei in de kuubsreactor minder goed dan in de 2 L-chemostaat. Eén van de verschillen tussen beide kweeksystemen is dat bij de 2 L-chemostaat het UASB-effluent langer in de opslag heeft gestaan alvorens het is gevoed aan de reactor. Mogelijk vinden tijdens de opslag nog omzettingen plaats die de algengroei kunnen bevorderen zoals bijvoorbeeld afbraak van organisch materiaal. Deze afbraak leidt tot een hoger aandeel minerale N en P en daardoor tot een hogere N- en P-beschikbaarheid voor algengroei. Daarnaast worden mogelijk ook vetzuren afgebroken, die belemmerend kunnen zijn voor algengroei. Verder zou door de opslag ook de bacteriële activiteit kunnen afnemen.

Via een tweetal laboratoriumproeven is nagegaan welke veranderingen in samenstelling plaatsvinden gedurende de opslag.

### 3.2 Resultaten bewaarproef 1

In een eerste proef is UASB-effluent verzameld van twee aftappunten: de aftapkraan bij de UASB-reactor en de aftapkraan in de ruimte waar de algenreactoren staan. Beide effluënten zijn zowel gekoeld (circa 4 °C) als bij kamertemperatuur in potten weggezet.

In de bewaarpotten is wekelijks het stikstof- en fosforgehalte bepaald. De bepalingen zijn in enkelvoud uitgevoerd, wel is de proef uitgevoerd op twee locaties (Lelystad en Zoeterwoude). In Zoeterwoude is tevens gekeken naar het COD-gehalte en het gehalte aan vetzuren. In Lelystad is tevens nagegaan wat het effect is van centrifugeren en filteren voorafgaand aan de monsternamen.

De bepalingen zijn gedaan in het ruwe effluent zoals dat ook de algenreactor ingaat. Voorafgaand aan de monsternamen zijn de potten goed geschud.

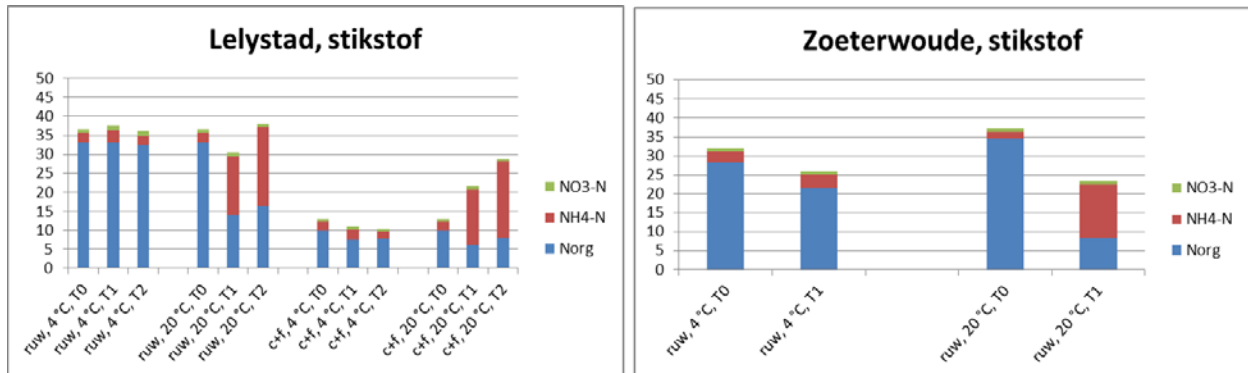
Omdat de effecten bij beide aftappunten vergelijkbaar waren zijn in dit rapport de resultaten gemiddeld. De resultaten zijn weergegeven in Figuur 6 (stikstof) en Figuur 7 (fosfor).

Gemiddeld over beide locaties bevatte het effluent ruim 35 mg N totaal per liter en bijna 8 mg P totaal per liter. Het aandeel minerale N ( $\text{NH}_4 + \text{NO}_3$ ) bedroeg circa 10%, het aandeel ortho-P (alleen bepaald in Lelystad) circa 40%. Wordt voorafgaand aan de bepalingen het effluent eerst gecentrifugeerd en gefilterd, dan daalt het N totaal- en P totaal-gehalte naar respectievelijk 13 mg N en 3.5 mg P per liter (Figuur 6). Dit geeft aan dat een belangrijk deel van de N en P aanwezig is in zwevende delen.

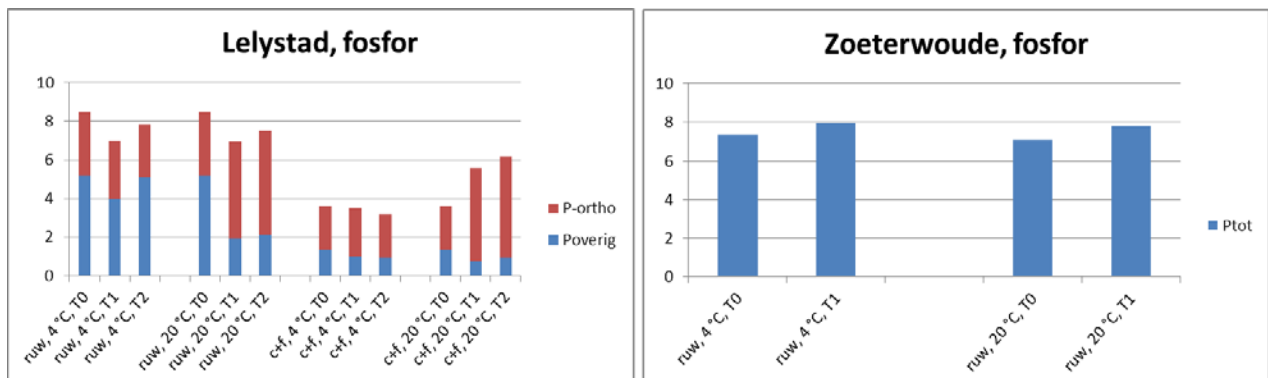
Bewaring bij 4 °C leidde in Lelystad niet tot wezenlijke veranderingen in N totaal- en P totaalgehalte en het aandeel minerale N en P. In Zoeterwoude daalde het N totaalgehalte wat, terwijl het P totaalgehalte gelijk bleef. Ook wanneer het effluent eerst wordt gecentrifugeerd en gefiltreerd leidde dit niet tot duidelijke veranderingen gedurende het bewaren.

Bij bewaring bij kamertemperatuur steeg het aandeel minerale N van circa 10% naar 60%. Ook het aandeel ortho-P steeg, van circa 40% naar 70%. Door de hogere temperatuur zal een deel van het aanwezige organische materiaal zijn gemineraliseerd waardoor het aandeel minerale N en P stijgt. Worden de monsters eerst gecentrifugeerd en gefiltreerd dan steeg het aandeel minerale N en P eveneens, maar tevens het N totaal- en P totaalgehalte. Dit komt waarschijnlijk doordat door de afbraak van organische

materiaal het  $\text{NH}_4\text{-N}$ -gehalte en het ortho-P-gehalte stijgt. Deze zitten in oplossing en worden niet afgecentrifugeerd en gefiltreerd.



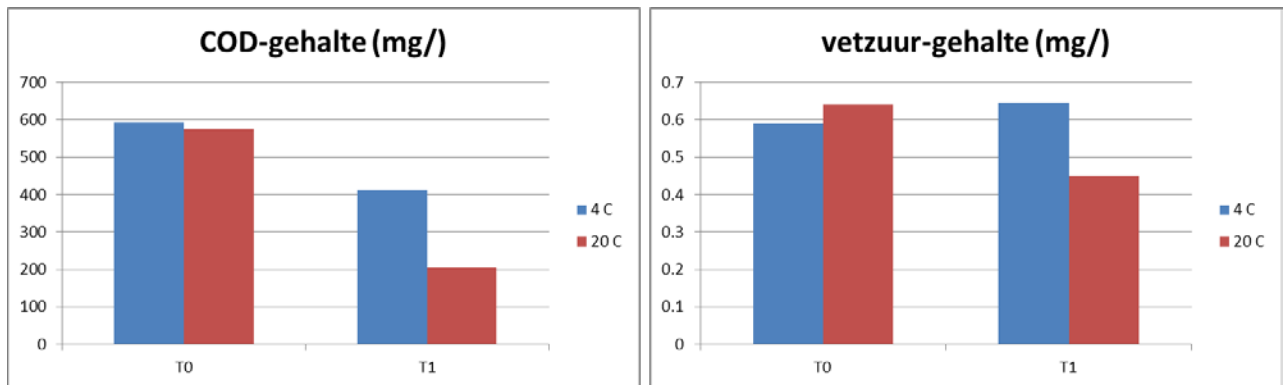
Figuur 6. Verloop  $\text{NH}_4\text{-N}$ -,  $\text{NO}_3\text{-N}$  en Norg-gehalte bij bewaring van UASB-effluent bij 4 °C en 20 °C in Lelystad en Zoeterwoude. In Lelystad zijn de gehalten gemeten in zowel ruw effluent (ruw) als na centrifugeren en filteren (c+f), in Zoeterwoude alleen in ruw effluent. De metingen vonden plaats bij de start van de bewaarperiode (T0) en na 1 (T1) en 2 weken (T2, alleen Lelystad).



Figuur 7. Verloop  $\text{PO}_4\text{-P}$  (alleen Lelystad) en P-totaalgehalte bij bewaring van UASB-effluent bij 4 °C en 20 °C in Lelystad en Zoeterwoude. In Lelystad zijn de gehalten gemeten in zowel ruw effluent (ruw) als na centrifugeren en filteren (c+f), in Zoeterwoude alleen in ruw effluent. De metingen vonden plaats bij de start van de bewaarperiode (T0) en na 1 (T1) en 2 weken (T2, alleen Lelystad).

In Zoeterwoude is tevens het COD-gehalte en vetzurengehalte gemeten (Figuur 8). Het COD-gehalte nam door bewaring duidelijk af. Het effect was het sterkst bij een bewaartemperatuur van 20 °C.

Het vetzuurgehalte leek bij bewaring bij 20 °C wat te dalen.



Figuur 8. Verloop COD-gehalte (links) en vetzuurgehalte (rechts) bij bewaring van UASB-effluent bij 4 °C en 20 °C (Zoeterwoude). De metingen vonden plaats bij de start van de bewaarperiode (T0) en na 1 week (T1).

### 3.3 Resultaten bewaarproef 2

In de eerste proef is gekeken naar de verandering van samenstelling van het UASB-effluent na één en twee weken bewaren. Na één week bleek er bij kamertemperatuur al sprake te zijn van een behoorlijke afbraak (COD, organische N en P). Dit roept de vraag op of een nog kortere periode ook voldoende is. Daarom is een tweede bewaarproef gedaan met een korte bewaarduur. Evenals bij de eerste keer is er zowel een proef ingezet in Zoeterwoude als in Lelystad.

In Tabel 2 zijn de bewaarobjecten weergegeven. Bij B1 is het effluent weggezet in een pot bij een temperatuur 20 °C en wordt er voorafgaand aan het nemen van een sample voor de metingen goed geschud. Bij B2 is er niet geschud. Hiermee kan worden nagegaan in hoeverre er door bezinking N en P wordt verwijderd uit het bewaarmonster. Bij B3 is de verandering in samenstelling gevolgd in de chemostaat (alleen Lelystad). Met dit object wordt inzicht verkregen in de veranderingen die optreden bij verblijf in de chemostaat. Naast afbraak van organisch materiaal kan er hier ook sprake zijn van ammoniakvervluchtiging. In de chemostaat vond pH-regulatie plaats via CO<sub>2</sub>-toediening (setpunt pH 7).

Tabel 2. Bewaarobjecten tweede bewaarproef.

Code	Bewaring in:	Wel/niet schudden voorafgaand aan nemen sample voor metingen	Bewaartemperatuur
B1	Pot	Ja	20 °C
B2	Pot	Nee	20 °C
B3 <sup>1</sup>	Chemostaat	Ja	30 °C

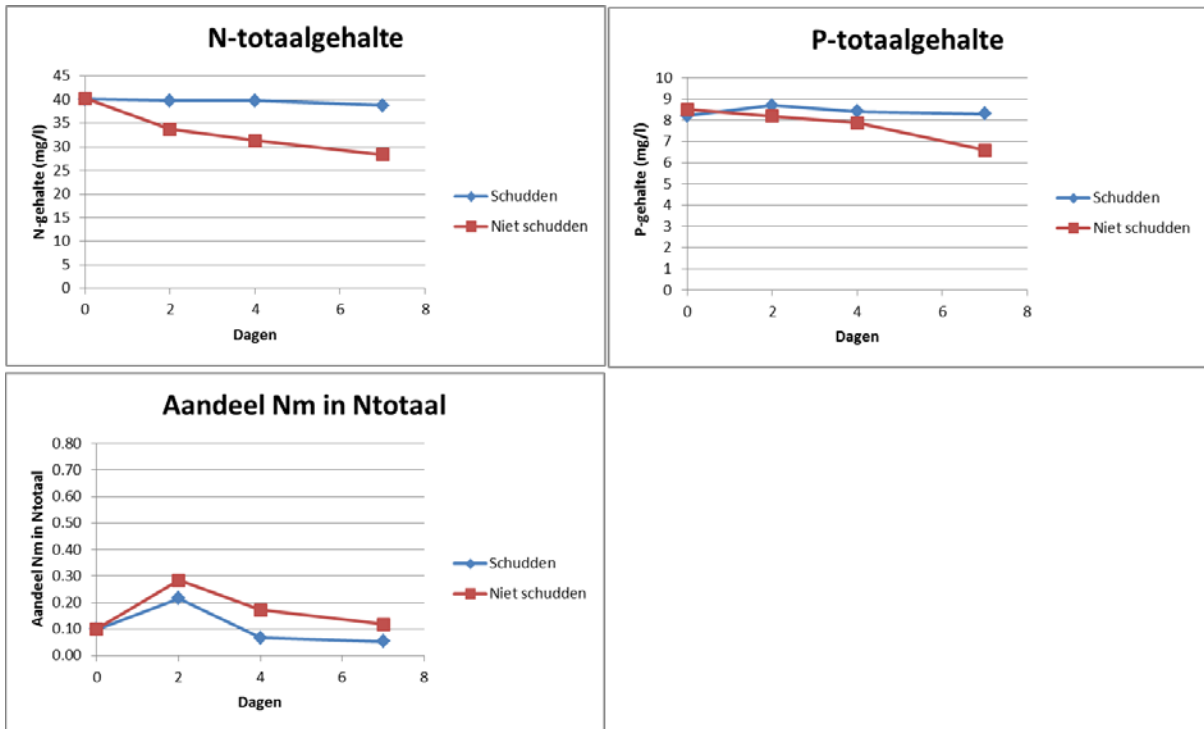
<sup>1</sup> Alleen in Lelystad

In Figuur 9 is het verloop van het Ntotaal- en Ptotaalgehalte tijdens de bewaring weergegeven gemiddeld over de locaties Lelystad en Zoeterwoude. Zowel het Ntotaal- als Ptotaalgehalte namen af indien voorafgaand aan de bemonstering niet wordt geschud. Na een week bedroeg de afname respectievelijk 12 mg N per l (30%) en 1.9 mg P per l (23%). Dit is waarschijnlijk een gevolg van bezinking van slibdeeltjes. In tegenstelling tot de eerste proef werd geen duidelijke stijging in het aandeel minerale N in totaal-N waargenomen.

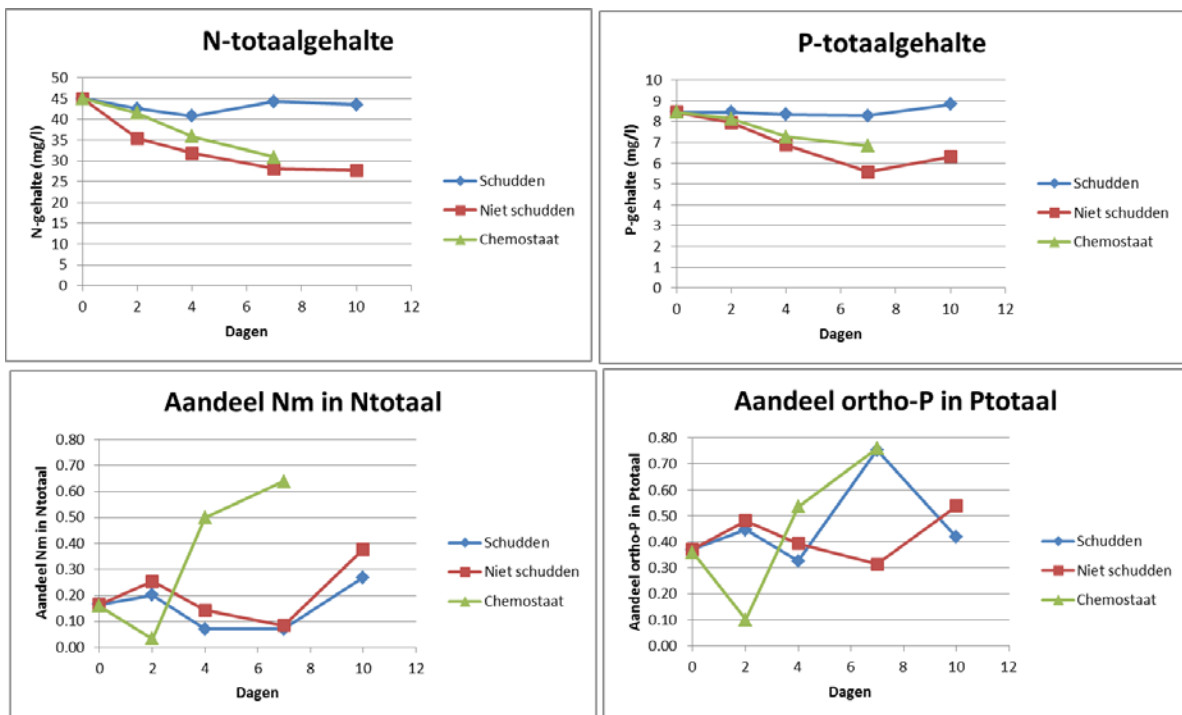
In Figuur 10 zijn de resultaten van alleen de proef in Lelystad weergegeven. Naast het wel en niet schudden voorafgaand aan de bemonstering is daar het UASB-effluent tevens bewaard in het chemostaatvat. De proef is daar ook een aantal dagen langer doorgezet. Opvallend is dat ook bij bewaring in het chemostaatvat zowel het Ntotaal- als Ptotaalgehalte daalde, terwijl het vat continu wordt geroerd. Mogelijk is het roeren niet intensief genoeg waardoor er toch sprake kan zijn geweest van bezinking van slibdeeltjes. Bij stikstof kan ook nog enige ammoniakverluchtiging meespelen.

Het aandeel minerale N in totaal-N was in het chemostaatvat bij de latere metingen duidelijk hoger dan bij het de in de potten bewaarde effluent. Dit kan samenhangen met de hogere temperatuur in de chemostaat (30 °C t.o.v. 20 °C bij de andere objecten) waardoor het organische materiaal sneller afbreekt.

Het aandeel ortho-P vertoonde een grillig verloop, waardoor er minder gemakkelijk een trend kan worden vastgesteld.



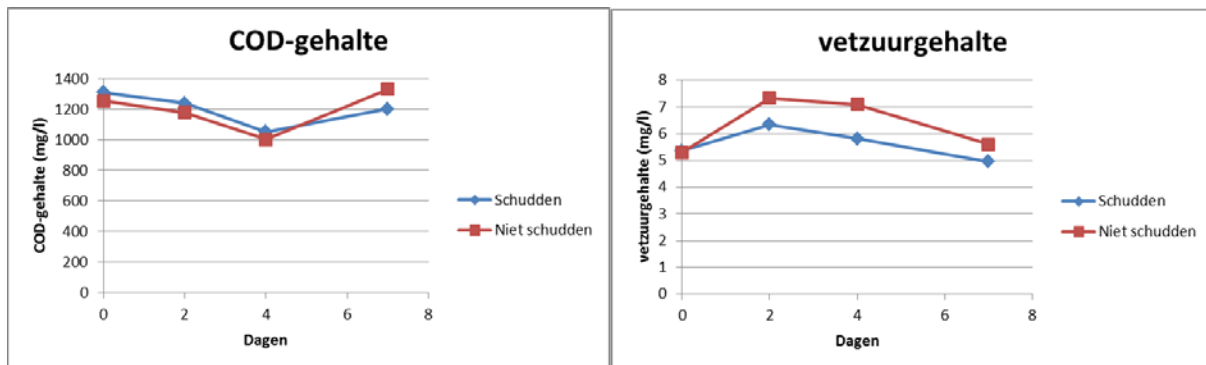
Figuur 9. Verloop Ntotaal- en Ptotaalgehalte en aandeel minerale N in Ntotaal (fractie) tijdens de bewaring van UASB-effluent bij 20 °C bij wel en niet schudden voorafgaand aan de bemonstering (gemiddelde van Lelystad en Zoeterwoude).



Figuur 10. Verloop Ntotaal- en Ptotaalgehalte, aandeel minerale N in Ntotaal en aandeel ortho-P (fractie) in totaal P tijdens de bewaring van UASB-effluent bij 20 °C bij wel en niet schudden voorafgaand aan de bemonstering en bij bewaring in chemostaatvat (meetwaarden Lelystad).



In Zoeterwoude is evenals in de eerste proef tevens het COD-gehalte en het vetzuurgehalte van het effluent gemeten (Figuur 11). Het COD-gehalte daalde de eerste dagen, maar bij de laatste meting was het gehalte weer hoger. Het vetzuurgehalte leek eerst licht te stijgen, waarna het na een week weer vergelijkbaar was met de waarde bij aanvang van de proef. In vergelijking met de eerste proef (Figuur 8) was zowel het COD-gehalte als het vetzuurgehalte hoger.



Figuur 11. Verloop COD-gehalte (links) en vetzuurgehalte (rechts) bij bewaring van UASB-effluent bij 20 °C bij wel en niet schudden voorafgaand aan de bemonstering (Zoeterwoude).

### 3.4 Conclusie

Bewaring van het UASB-effluent leidde tot daling van het N- en P-gehalte, dat waarschijnlijk een gevolg is van bezinking van zwevende delen in het effluent. In één van de twee proeven nam ook het COD-gehalte en het aandeel minerale N in de totale N toe. Dit duidt op afbraak van organisch materiaal en meer beschikbaar komen van mineraal en dus opneembaar N en P.

## 4 Effect van pH op algengroei

### 4.1 Inleiding

De minder goede groei van de algencultuur in de kuubsreactoren kan ook een gevolg zijn interactie met bacteriën die zich in het effluent bevinden. De concurrentiepositie van algen ten opzichte van bacteriën is mogelijk te verbeteren door verhoging van de pH. In de kuubsreactor (en ook in de eerder uitgevoerde chemostaatproeven) wordt de pH tussen 7 en 7,5 gehouden door toediening van CO<sub>2</sub>. In een schudflessenproef is nagegaan of de algengroei kan worden bevorderd door een hogere pH.

### 4.2 Proefopzet- en uitvoering

Uit eerdere ervaringen is gebleken dat het UASB-effluent een sterk bufferende werking heeft. Daarom is de proef uitgevoerd in erlenmeyers waarbij de pH indien gewenst kan worden bijgesteld.

Er is uitgegaan van de volgende pH-instellingen in het UASB-effluent: 7 – 8 – 9 – 10 – 11. Alle behandelingen (5 pH-instellingen) zijn in 2-voud uitgevoerd.

De proef is uitgevoerd met de Acrres-mix, die opgekweekt is in 3N-medium tot een dichtheid van circa 10<sup>5</sup> cellen per ml. Deze verse entcultuur is vervolgens toegevoegd aan het UASB-effluent in een verhouding 1:10 (1 deel ent en 9 delen effluent, respectievelijk 20 ml en 180 ml). Daarna is met natronloog cq. zoutzuur het mengsel op de gewenste pH gebracht.

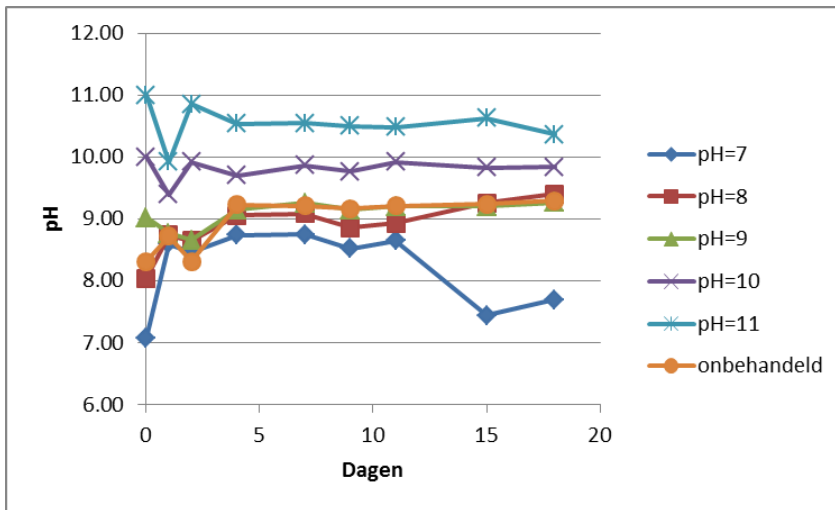
Er is tevens een onbehandeld object meegenomen (geen pH-aanpassing en geen algencultuur toegevoegd).

### 4.3 Resultaten

#### **pH-bijstelling**

De pH is dagelijks (op werkdagen) gemeten en indien nodig is de pH bijgesteld met natronloog of zoutzuur. Uit Figuur 12 blijkt de bufferende werking van het effluent. Hierin is de pH weergegeven vlak voor het stellen naar de gewenste pH. Bij de lagere pH-instellingen (7 en 8) liep de pH in het begin van de proef iedere keer op naar een waarde tussen 8 en 9. De hogere pH-waarden bleven beter op peil, hoewel ook hier iedere keer moest worden bijgesteld, maar de pH-daling was qua omvang minder sterk dan de stijging na stellen op lage pH.

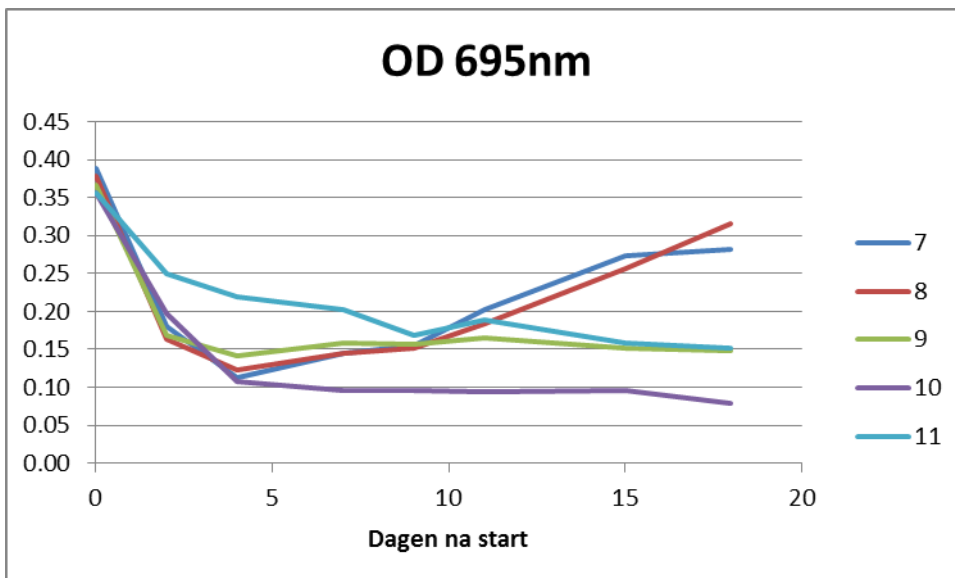
Opgemerkt moet worden dat de pH maar op één moment van de dag is gemeten. Hierdoor is niet bekend hoe snel de pH na het stellen binnen een dag veranderde.



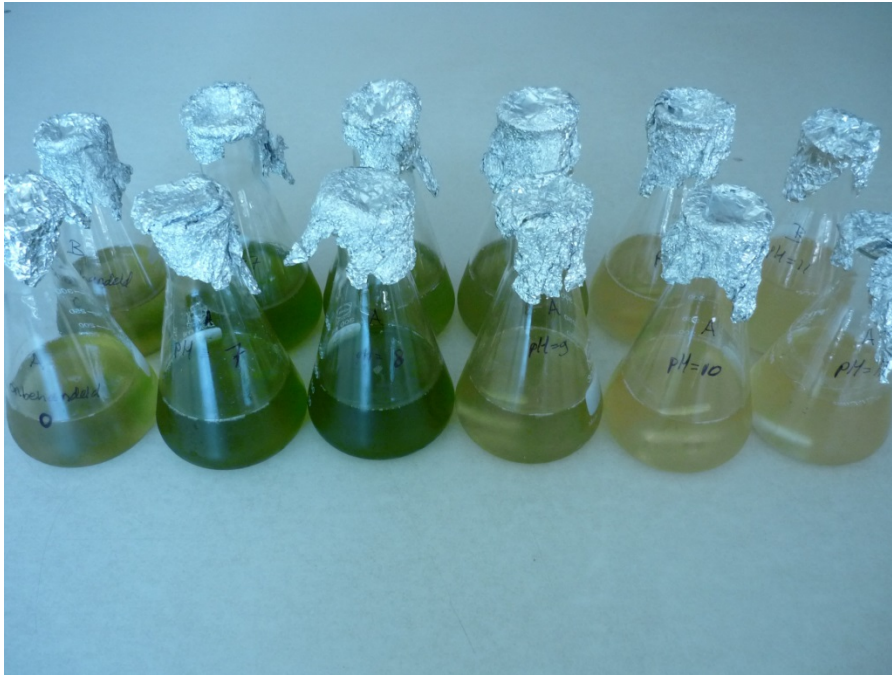
Figuur 12. *pH-niveau vlak voor stellen van de pH op de gewenste pH-niveaus (op dag 0 pH na stellen weergegeven).*

### Algen groei

De algengroei is gevolgd door de optische dichtheid te meten (Figuur 13). Het effluent heeft van zichzelf al een kleur en is ook wat troebel en heeft daardoor al een bepaalde OD-waarde. In het begin van de proef nam deze af bij alle objecten. Aan het einde van de proefperiode nam de OD van de objecten met instelling op de lagere pH (7 en 8) duidelijk toe. Deze kolven werden ook duidelijk groen (Figuur 14). Bij instelling op de hogere pH's was er vrijwel geen sprake van algengroei.



Figuur 13. *Effect van pH-niveau op de optische dichtheid van de algencultuur.*



Figuur 13. Bij hoge pH's is er geen sprake van algengroei.

## 4.4 Conclusie

Een ingestelde pH hoger dan 8 leidde tot een duidelijk mindere algengroei en biedt derhalve geen handvat om de algengroei in de kuubsreactor te verbeteren.



## 5 Effect startdichtheid ent

### 5.1 Inleiding

In Zoeterwoude worden de algenreactoren als volgt stapsgewijs aangeënt:

1. 50 L opkweekvat: 10 L Acrres-mix+ 40 L UASB-effluent
2. Kuubsreactor: 50 L uit opkweekvat + 950 L UASB-effluent

Na stap 2 zal bij een voldoende dichtheid in de reactor het doorspoelen worden aangezet. De vraag hierbij is wat de optimale dichtheid is om dit te doen. In theorie zal de startdichtheid niet van invloed zijn op de uiteindelijke eindconcentratie aan algen in de reactor. Deze wordt bepaald door de groeiomstandigheden in het reactorvat. Wel kan het zijn dat er sprake is van een negatieve interactie met aanwezige bacteriën waardoor er bij een te lage beginconcentratie de algen toch kunnen uitspoelen. Het effect van beginconcentratie is onderzocht met een chemostaatproef.

### 5.2 Proefopzet en -uitvoering

Eerst is een algenmix (hierna uitgangsmix genoemd) gemaakt die is gebruikt voor het maken van de startdichtheden (verduunningen) voor de proef. Hiervoor zijn 2 chemostaatvaten gevuld met 2 l bestaande uit 400 ml Acrres-mix (opgekweekt op 3N-medium) en 1600 ml pre conditioneer effluent (hierna effluent genoemd). Hiermee wordt stap 1 in Zoeterwoude nagebootst.

Tijdens de opkweekfase van de uitgangsmix zijn de beide chemostaatvaten niet doorspoeld. Er is wel geroerd en de pH-controle heeft aangestaan.

Bij een voldoende groene uitgangsmix is de inhoud van de beide chemostaatvaten bij elkaar gedaan en gemengd. Vervolgens zijn de volgende verduunningen gemaakt (hieronder uitgedrukt als verduunningen van de uitgangsmix met effluent) en in drie chemostaatvaten gedaan:

- Chem 1: 5% (100 ml uitgangsmix en 1900 ml effluent)
- Chem 2: 50% (1000 ml uitgangsmix en 1000 ml effluent)
- Chem 3: 100% (2000 ml uitgangsmix)

Vervolgens zijn de 3 chemostaten tegelijkertijd op doorspoelen gezet met een verblijftijd van 5 dagen. Dat betekent 400 ml/dag cq. 17 ml/uur.

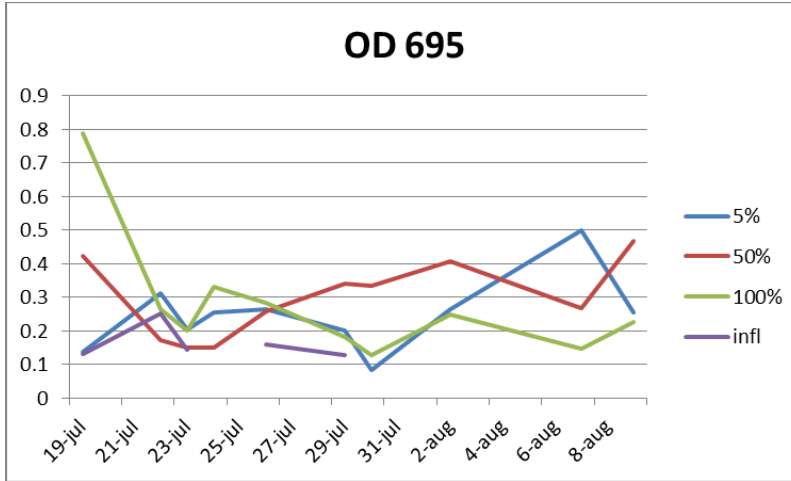
De pH, temperatuur (30 °C) en belichting (660 nm lamp) zijn gelijk aan de vorige chemostaatproeven.

Na de start van het doorspoelen is regelmatig het N totaal- en P totaalgehalte en de optische dichtheid gemeten.

### 5.3 Resultaten

In Figuur 15 is het verloop van de OD weergegeven. Hieruit blijkt dat de aanvankelijke verschillen in dichtheid nivelleren naar een vergelijkbaar niveau. In het vat met de

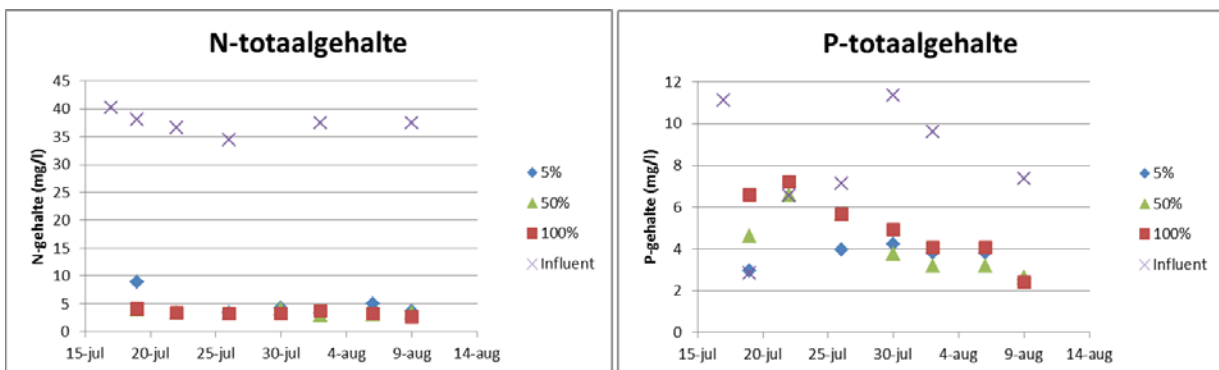
hogere startdichtheden (50 en 100%) neemt de OD af en in het vat met de lage startdichtheid (5%) neemt deze langzaam toe.



Figuur 15. Verloop van de optische dichtheid (695 nm) van de algencultuur bij de drie startdichtheden en van het influent.

Het verloop van het N-totaal- en P-totaalgehalte is weergegeven in Figuur 16. Het N-totaalgehalte van het chemostaat-influent bedroeg 35-40 mg per liter. Het N-totaalgehalte in het chemostaat-effluent verschilde vrijwel niet tussen de verschillende startdichtheden en bevond zich op een niveau van 3-5 mg N-totaal/l. Gemiddeld bedroeg het verwijderingsrendement circa 90%.

Het P-totaalgehalte was in de eerste week na start doorspoelen bij de lage startdichtheid wat lager dan bij de hogere startdichtheden. Mogelijk komt dit, doordat bij de hogere startdichtheden relatief meer 3N-medium meekomt in de chemostaat (minder verdunning met effluent). Het 3N-medium heeft een 5-6 keer zo hoog P-gehalte dan het Heineken-effluent. Na verloop van tijd verdwijnt dit effect door het doorspoelen met vers effluent. Aan het eind van de proef was het P-gehalte bij alle startdichtheden gedaald naar ruim 2 mg P/l. Dit berekent een verwijderingsrendement van circa 65%.



Figuur 16. Verloop van het N-totaal- en het P-totaalgehalte in de chemostaatreactor (drie startdichtheden) en van het influent.



## 5.4 Conclusie

De algendichtheid bij de start van het doorspoelen bleek in een 2l-chemostaat bleek duidelijk niet van invloed op het N- en P-verwijderingsrendement. De in 2012 gevonden goede verwijderingsrendementen van N en P in de chemostaat werden gereproduceerd.

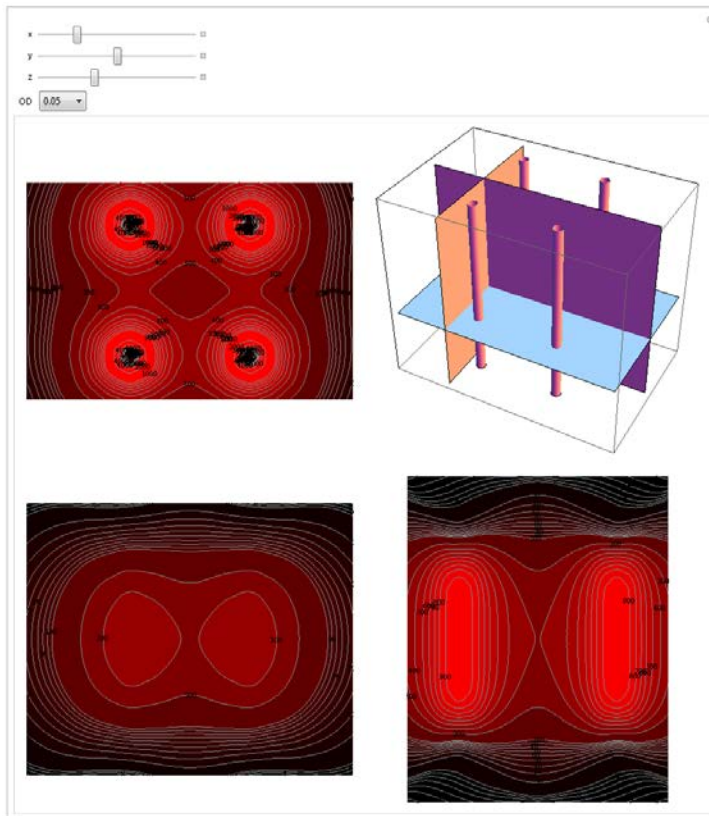


## 6 Effect van lichtsterkte en mengsnelheid in de kuubsreactor

### 6.1 Inleiding

De hoeveelheid en verdeling van licht in een reactor is een belangrijke factor voor de algengroei. Daarbij speelt niet alleen te weinig licht een rol, maar ook te veel licht. Wat betreft het laatste geeft literatuuronderzoek aan dat algen geremd worden in hun groei bij hoge lichtintensiteiten (foto-inhibitie) en hierdoor zelfs beschadigd kunnen raken (Grobelaar, 2013).

Aanvankelijk was de kuubsreactor uitgerust met 1 lamp van 60 W (centraal aangebracht in de reactor). Omdat de indruk was dat de lichthoeveelheid in de reactor bij deze lamp ontoereikend was zijn vervolgens tests uitgevoerd met een sterkere lamp (1 lamp van 180 W, ook centraal aangebracht in de reactor). De maximaal gerealiseerde dichtheid in een batchcultuur met kunstmestmedium was echter nog steeds relatief laag (OD<sub>695</sub>: 0.1-0.15). Literatuuronderzoek, lichtmetingen en modelberekeningen laten zien dat de lichtintensiteit van 1 enkele lamp niet verder opgevoerd kan worden zonder zones van foto-inhibitie in de reactor te creëren. Daarom is gekozen voor 4 lampen waardoor een betere verdeling van het licht kan worden gerealiseerd. In Figuur 17 zijn voorbeelden gegeven van lichtverdelingsbeelden gemaakt met het lichtmodel van Tendris (bedrijf dat de lampen voor de algenreactor produceert). Rechtsboven is de kuubsreactor schematisch weergegeven met de vier lampen. In de andere drie figuren is de verdeling van het licht weergegeven in drie vlakken (zij-, voor- en bovenaanzicht). Hoe felroder een bepaald deel van de reactor is, hoe hoger de lichtintensiteit is. Volgens verwachting is er vlak bij de lamp sprake van een hoge lichtintensiteit en deze neemt af op grotere afstand. In dit voorbeeld met een lage optische dichtheid van de cultuur is er ook op grotere afstand de lichtintensiteit nog voldoende hoog voor algenproductie. Bij een groenere cultuur (hogere OD) zal dit minder het geval zijn.



*Figuur 17. Resultaat modelberekening lichtverdeling kuubsreactor met 4 lampen (rechtsboven: schematische weergave reactor met 4 lampen, van linksboven naar rechtsonder: lichtverdeling bij bovenaanzicht (blauwe vlak), vooraanzicht (paarse vlak) en zijaanzicht (oranje vlak).*

Zoals aangegeven in hoofdstuk 2 zijn de 4 lampen in augustus aangebracht in één van de twee reactoren in Zoeterwoude. Hetzelfde is gedaan bij een vergelijkbare kuubsreactor in Lelystad. Met deze reactor zijn een aantal testruns uitgevoerd. De resultaten daarvan worden beschreven in dit hoofdstuk.

## 6.2 Te testen factoren

Voor de hoeveelheid en verdeling van licht zijn de volgende parameters van belang:

- Lichtintensiteit
- Mengintensiteit mixer
- Watermantel rondom lamp
- Cultuurdichtheid
- Turbiditeit medium

In het onderzoek zijn voorlopig alleen de factoren lichtintensiteit en mengintensiteit van de mixer meegenomen. In Tabel 3 zijn de te testen combinaties weergegeven. De vetgedrukte instellingen zijn inmiddels getest. De combinatie 100% licht en 10 Hz mixen is twee keer uitgevoerd (duplo), alle overige combinaties zijn in enkelvoud uitgevoerd.

Een afzonderlijke lamp heeft een maximale lichtintensiteit 390  $\mu\text{mol/s}$  bij een elektrisch vermogen van 180 W. De lichtsterkte kan op vijf waarden worden ingesteld (20, 40, 60, 80 en 100% van maximaal vermogen). Bij vier lampen gaat het dus om een totaal maximaal vermogen van 720 W in de reactor.

De reactor wordt gemengd met een propellermixer waarbij het toerental kan worden gevarieerd. In het onderzoek zijn de instelwaarden 10, 30 en 50 Hz meegenomen. Op de reactor is tevens een grazerfilter aangebracht dat continu aanstaat. Ook dit rondpompen zal enige menging veroorzaken.

Tabel 3. Instelwaarden lichtintensiteit en menging kuubsreactortest Lelystad.

Vermogen: Lichtintensiteit:	Lichtintensiteit per lamp				
	36 W 78 $\mu\text{mol/s}$ (20%)	72 W 156 $\mu\text{mol/s}$ (40%)	108 W 234 $\mu\text{mol/s}$ (60%)	144 W 312 $\mu\text{mol/s}$ (80%)	180 W 390 $\mu\text{mol/s}$ (100%)
Mengintensiteit mixer					
10 Hz	+	+	+	+	+
30 Hz	+	+	+	+	+
50 Hz	+	+	+	+	+

Wat betreft de andere factoren:

- *Watermantel.* Er is eerst uitgegaan van de lamp zonder watermantel, omdat exemplaren met watermantel nog niet beschikbaar waren voor de reactor in Lelystad. Eind 2013 zijn ook in de kuubsreactor in Lelystad de mantellampen ingebouwd en zullen testen worden uitgevoerd.
- *Cultuurdichtheid.* Wat betreft de cultuurdichtheid gaan we eerst na in hoeverre we effecten kunnen afleiden uit de geteste combinaties van Tabel 3. Deze combinaties zullen immers ook leiden tot verschillen in cultuurdichtheid. Vervolgens zal worden nagegaan welke aanvullende testen nog nodig zijn om het effect van deze factor goed in beeld te krijgen.
- *Turbiditeit.* De turbiditeit is een lastige parameter om te testen. Hiervoor moet nog een praktisch toepasbare methode gevonden worden om het medium een troebelheid te geven zonder invloed uit te oefenen op de groei van de algen (anders dan via het belichtingspatroon). Voorlopig is deze factor niet meegenomen.

## 6.3 Proefuitvoering

### Aanenten

Voor elke test is de kuubsreactor opnieuw aangeënt met de Acrres-mix. Er is een ent gebruikt van 25 L die van tevoren over een 100  $\mu\text{m}$  filter is gehaald om eventueel aanwezige grazers te verwijderen. De ent is opgekweekt in de kas en er is bijbelicht met assimilatielampen tot een daglengte van 16 uur. In de herfst wordt de kas overdag bijverwarmd tot circa 20 °C.

In Tabel 4 is de optische dichtheid van de ent weergegeven zoals deze bij de start van de testrun aan de kuubsreactor is toegediend. Bij vijf van de acht testruns bevond de OD<sub>695</sub> zich op het gewenste niveau van 0.35-0.45. Bij testrun 5 was deze ruim twee keer zo hoog en is de helft van de gebruikelijke hoeveelheid ent gebruikt (12,5 i.p.v. 25 l). Bij twee runs (3 en 6) was de ent duidelijk minder groen. Omdat er slechts 25 l was klaargemaakt kon er ter compensatie niet meer ent worden toegediend.

### Groeicondities bij testruns

De testruns zijn uitgevoerd tussen half augustus en eind oktober. In de kuubsreactor is extra koeling aangebracht om de temperatuur tussen 25 en 30 °C te houden. In Tabel 4 is de gemiddelde temperatuur tijdens de testrun weergegeven. Deze liep uiteen tussen 24 en 28 °C. In Figuur 18 is tevens het temperatuurverloop weergegeven gedurende de 8 runs. In drie runs (1,4 en 8) is het niet helemaal gelukt om de temperatuur onder de 30°C te houden.

Gedurende de onderzoeksperiode was de kuubsreactor afgedekt met piepschuimisolatie om warmtetoever van buiten zo veel mogelijk te beperken. Hierdoor was de reactor ook afgeschermd van daglicht.

### Metingen

De algengroei is gevolgd via OD-metingen (695 nm). Deze metingen zijn drie keer per dag uitgevoerd (begin van de ochtend, rond de middag en einde middag). Voor elke meting is een monster uit de reactor genomen en vervolgens doorgemeten met een Hach Lange spectrofotometer.

Aan het eind van iedere testrun (combinatie van lichtintensiteit en menging) is een drogestofbepaling gedaan, zodat kan worden nagegaan hoe de OD zich verhoudt tot drogestofopbrengst.

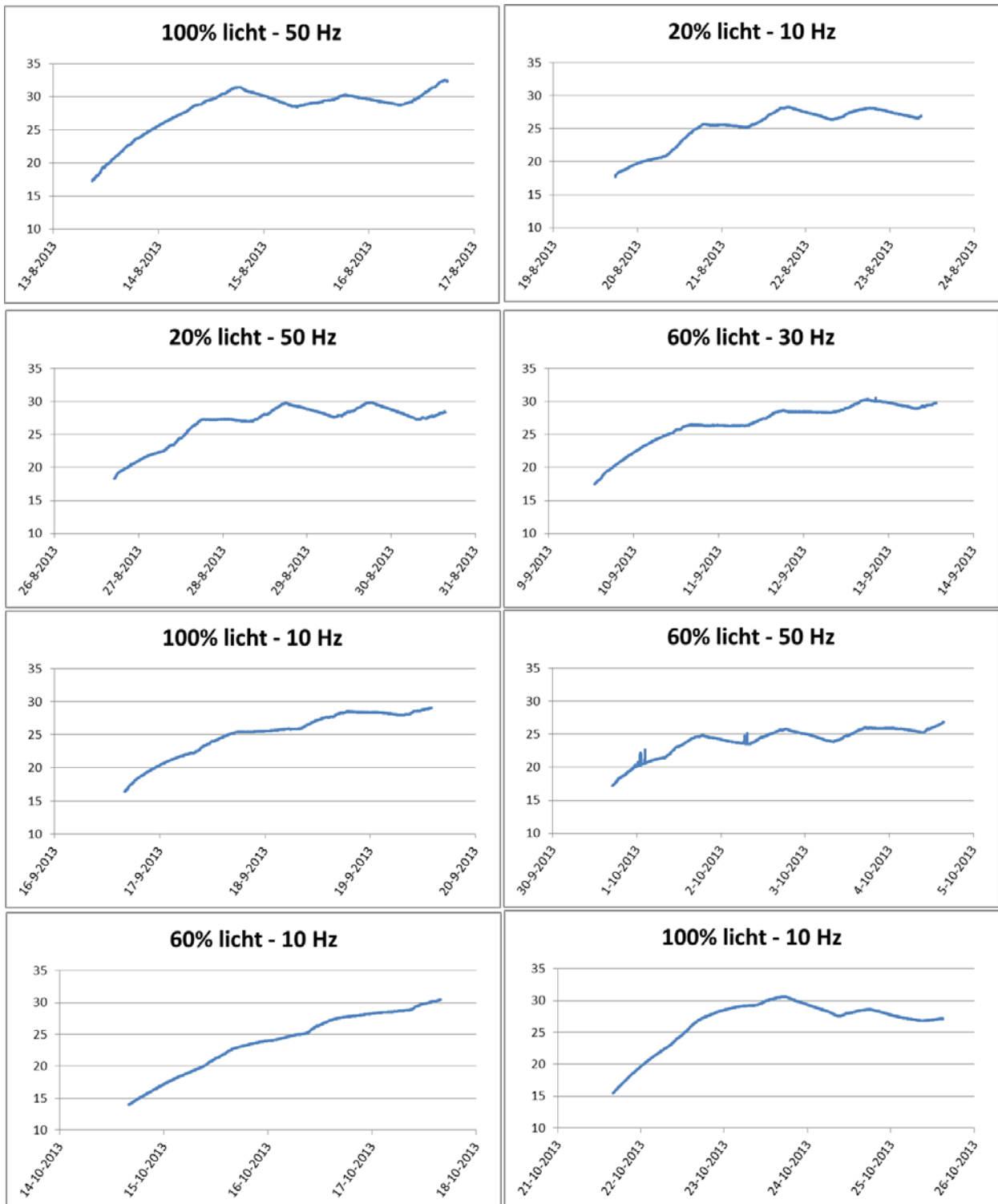
### Medium

In de reactor is uitgegaan van een kunstmestmedium met 25 mg N per liter (nitraat-N) en 3.5 mg P per liter. Deze hoeveelheden zijn aan het begin van de testrun toegediend. Naast de N en P zijn tevens sporenelementen toegediend.

Bij de opkweek van de ent is gebruikt gemaakt van het standaard groeimedium (3N).

Tabel 4. Optische dichtheid gebruikte ent en gemiddelde temperatuur in de kuubsreactor gedurende de testrun.

Test nr	Omschrijving	Periode	Optische dichtheid ent		Gemiddelde temperatuur in kuubsreactor gedurende de testrun (°C)
			OD 440	OD 695	
1	100% licht, 50 Hz	13 aug – 16 aug	0.48	0.34	28.1
2	20% licht, 10 Hz	19 aug – 23 aug	0.50	0.37	25.3
3	20% licht, 50 Hz	26 aug – 30 aug	0.20	0.14	26.7
4	60% licht, 30 Hz	9 sep – 13 sep	0.50	0.38	26.7
5	100% licht, 10 Hz	16 sep – 20 sep	1.36	0.92	25.2
6	60% licht, 50 Hz	30 sep – 4 okt	0.11	0.08	24.0
7	60% licht, 10 Hz	14 okt – 18 okt	0.54	0.37	24.0
8	100% licht, 10 Hz	21 okt – 25 okt	0.63	0.44	26.6

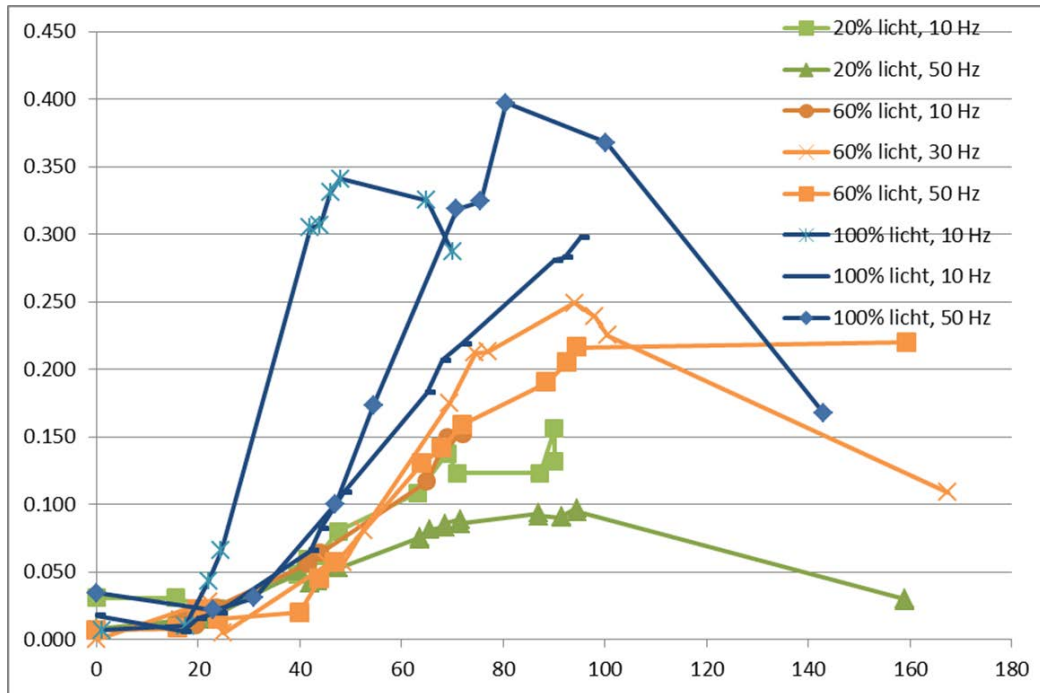


Figuur 18. Verloop temperatuur in de kuubsreactor gedurende de testruns.



## 6.4 Resultaten

In Figuur 19 is het verloop van de OD695 weergegeven bij de verschillende testruns. Het algemene beeld is dat bij elke run er sprake is van een exponentiële groeifase die al vrij snel overgaat in een fase met een lineaire toename van de OD. Bij meeste runs bleek dat na circa 3-4 dagen (75-100 uur) er geen verdere toename meer werd waargenomen. In veel gevallen nam de OD daarna zelfs weer af.



Figuur 19. Effect van lichtintensiteit en mixersnelheid op verloop optische dichtheid (OD695) bij een batchtest in de kuubsreactor.

Voor en verdere analyse zijn een tweetal methodes toegepast. Bij de eerste methode is geprobeerd een wiskundige curve door de meetpunten te fitten. Een logistische curve bleek het beste te passen.

$$OD_{695} = A + \frac{C}{1+e^{-B(t-M)}} + Error \quad (1)$$

Waarbij:

A = begindichtheid

C = einddichtheid wanneer de respons een sigmoïde ofwel s-vormige curve zou zijn

B = niet lineaire parameter

M = aantal uren waarbij de curve halverwege de onder en boven asymptoot is.

Error  $\sim N(0, s^2)$

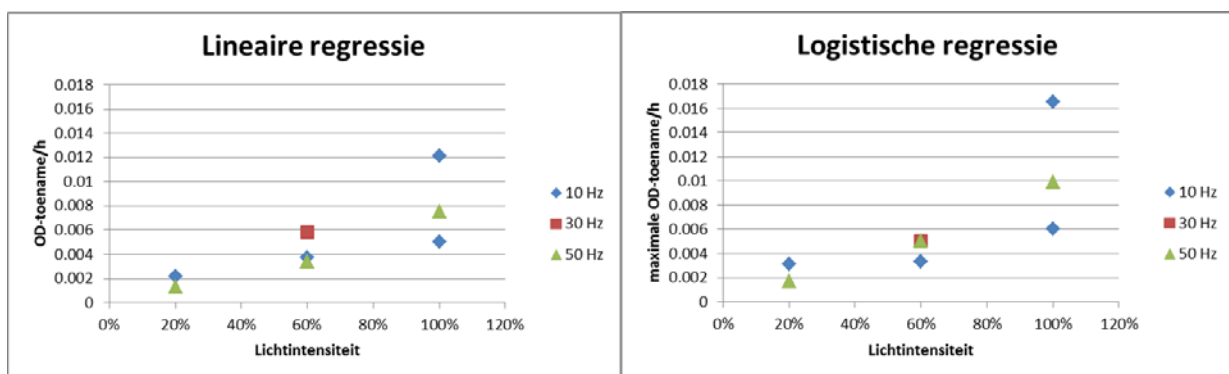
De helling van de curve uit (1) is gelijk aan:

$$\frac{dOD_{695}}{dt} = \frac{BC}{(1+e^{-B(t-M)})^2} \quad (2)$$

De helling is maximaal op tijdstip M en gelijk aan  $B \cdot C / 4$ .

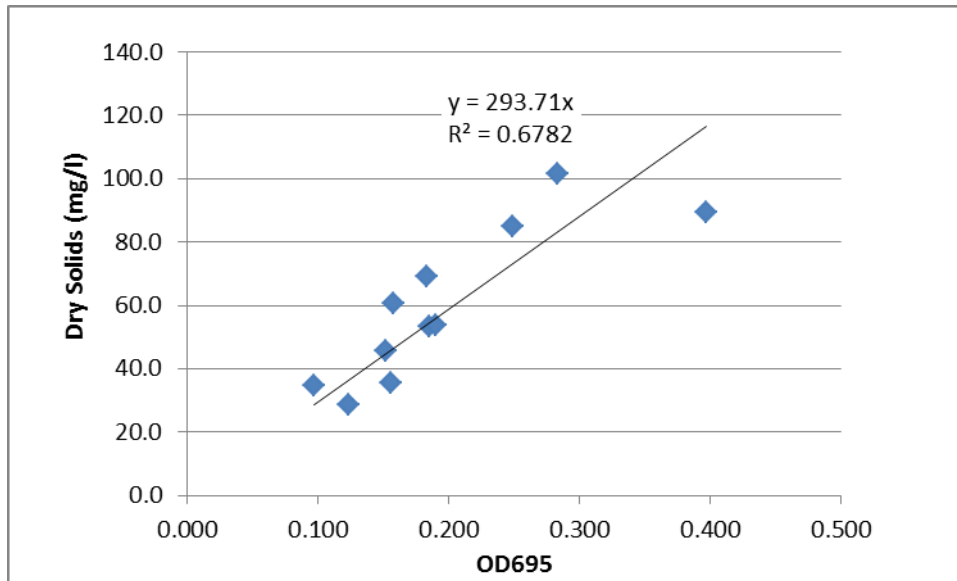
Bij andere curves werd een minder goed resultaat behaald. Een expolineaire curve lijkt biologisch aantrekkelijk maar het fitten aan de data wilde niet bij test 2 en 3, waar de curve al af begint te vlakken in het stijgende traject. De Gompertz curve gaf gemiddeld een iets betere fit maar gaf bij test 5 onrealistische parameter schattingen. Vandaar dat de logistische curve die symmetrisch is rond M, het meest stabiel lijkt en de meest zinnige schattingen lijkt te geven. Omdat deze curve geen daling van de OD geeft zijn de meetpunten voorbij het maximum van OD695 buiten beschouwing gelaten. Naast de bovengenoemde methode is tevens een lineaire regressie uitgevoerd op de meetpunten in het lineaire groeitraject.

De resultaten van beide methodes zijn weergegeven in Figuur 20. Voor beide methodes waren de resultaten vergelijkbaar. Er is sprake van een significant positief effect van lichtintensiteit ( $P < 0,01$ , significantie bepaald door mixersnelheid als herhaling te nemen). Er lijkt geen sprake te zijn van afvlakking van het effect van verhoging van lichtintensiteit. Gemiddeld over de mixersnelheden was het effect van verhoging van de lichtintensiteit van 60 naar 100% zelfs wat groter dan verhoging van 20 naar 60%. Het effect van mixersnelheid is negatief maar niet significant ( $P = 0,685$ ). Bij 100% licht en langzaam mixen gaf de eerste testrun (bovenste blauwe marker) een betere groei dan snel mixen. Bij de tweede testrun van deze combinatie (onderste blauwe marker) was dit niet het geval. Bij de lage lichtintensiteit gaf langzaam mixen een iets betere groei. Bij 60% licht was het verschil tussen langzaam en snel mixen gering, terwijl de tussenliggende snelheid (30 Hz) een hogere OD-toename liet zien.



Figuur 20. Effect van lichtintensiteit en mixersnelheid op de groeisnelheid (uitgedrukt als toename OD/h) bepaald via lineaire en logistische regressie.

Zoals eerder aangegeven is aan eind van de testrun een drogestofbepaling gedaan. In Figuur 21 zijn de behaalde resultaten weergegeven. Er bleek sprake te zijn van een redelijke relatie ( $R^2 = 0,68$ ). Door de punten is een rechtlijnig verband gefit.



Figuur 21. Relatie tussen OD 695 en drogestofgehalte algencultuur.

Op basis van de bovengenoemde relatie kan een indruk worden verkregen van de groeisnelheid in de lineaire groeifase (zie Tabel 5). Hiertoe is de vastgestelde OD-toename in het lineaire traject omgezet in een toename van het drogestofgehalte per tijdseenheid.

De op deze manier afgeleide groeisnelheid liep uiteen van 0.3 bij 20% licht tot ruim 3 mg ds/l/h bij maximale lichtintensiteit.

Tabel 5. Berekende groeisnelheid<sup>1</sup> in lineaire groeifase

Lichtsterkte (% van max vermogen)	Mixersnelheid (Hz)	Helling OD695 (OD/h)	Gerealiseerde groeisnelheid (mg ds/l/h)
20	10	0.0022	0.57
20	50	0.0013	0.34
60	10	0.0037	0.97
60	30	0.0058	1.51
60	50	0.0034	0.89
100	10	0.0121	3.16
100	10	0.005	1.44
100	50	0.0075	1.96

<sup>1</sup> op basis van lineaire relatie tussen OD695 en drogestofgehalte algencultuur

In Tabel 6 is aangegeven welke groeisnelheid nodig is om alle fosfor uit het Heineken-effluent te verwijderen bij een verblijftijd van 5 dagen in de reactor. Hierbij is uitgegaan van een P-gehalte van 7 mg/l en een lozingsnorm van 0.5 mg P/l. Er is onderscheid gemaakt tussen een situatie waarin de P volledig via vastlegging in algenbiomassa wordt verwijderd en een situatie waarin dat voor 80% gebeurt. In het laatste geval wordt 20% verwijderd door het meeoogsten van P bevattende slibdeeltjes met de algenoogst. Deze P is ook vaak grotendeels in organische vorm aanwezig en niet direct opneembaar door algen.

Uit de berekeningen blijkt dat een groeisnelheid nodig is van 4.5 tot 5.5 mg ds/l/h. Dat is aanzienlijk hoger dan de gerealiseerde groeisnelheden in de batch-testen met de

kuubsreactor. De vereiste groeisnelheden zouden in een doorstroomreactor bij een verblijftijd van 5 dagen tot een biomassaconcentratie 500-650 mg ds/l leiden. Bij de batchtesten lag de maximale algendichtheid rond 100 mg ds/l.

Tabel 6. Vereiste groeisnelheid voor fosforverwijdering bij een verblijftijd van 5 dagen in een doorstroomreactor.

	Aandeel P-verwijdering door opname algen	
	1.0	0.8
P-gehalte influent, mg/l	7	7
P-gehalte effluent, mg/l	0.5	0.5
Verblijftijd, dagen	5	5
Vereiste groeisnelheid, mg ds/l/h	5.4	4.3
Biomassaconcentratie, mg ds/l	650	520

#### *Opmerking/kanttekening*

Bij latere runs uitgevoerd in november en december 2013 bleek de groei duidelijk lager te zijn dan bij vergelijkbare eerdere runs (zoals weergegeven in dit rapport). Het is nog onduidelijk wat hiervan de oorzaak is, maar mogelijk spelen de opkweekcondities van de ent hierbij een rol. Dit wordt nog nader onderzocht. Als dit inderdaad het geval zou zijn kan dit mogelijk ook de eerdere runs beïnvloed hebben.

## 6.5 Conclusie

Batchtesten met de kuubsreactor hebben laten zien dat verhoging van lichtvermogen van 145 naar 430 en 720 W leidde tot een significante verhoging van de groeisnelheid van de algencultuur. Gemiddeld over de lichtintensiteiten was er sprake van een negatief effect van mixersnelheid. Dit effect was echter niet significant. De gerealiseerde groeisnelheid liep uiteen van 0.3 tot ruim 3 mg ds/l/h.



## 7 Effect van uitgehongerde algen

### 7.1 Inleiding

In eerdere proeven, uitgevoerd door Lorena Madriz (stagiair Algae Food & Fuel), werd een relatief hoge N- en P-opnamesnelheid gevonden bij algen die waren opgekweekt onder N- en P-arme omstandigheden (hierna uitgehongerde algen genoemd). Het gebruik van deze algen in een entreactor (uitgehongerde ent toevoegen aan afvalwater in een batch fase) zou perspectief kunnen bieden bij zuivering van afvalwater. Nadeel is wel dat in vergelijking met een doorstroom reactor, er twee systemen op elkaar moeten worden afgestemd, namelijk opkweek van hongeralgen en zuivering van afvalwater.

Bij de hierboven genoemde proeven kunnen een aantal kanttekeningen worden geplaatst. In de proeven was de startconcentratie van N en P relatief laag waardoor de N en P al snel was uitgeput en niet goed kon worden vastgesteld hoe lang het hongereffect standhoudt. Door uit te gaan van hogere startconcentraties kan dit beter worden onderzocht. Daarnaast was in de genoemde proeven geen referentie van niet uitgehongerde algen meegenomen. Tenslotte is voor de betrouwbaarheid een uitvoering in herhalingen nodig. In Lelystad is een labproef uitgevoerd die tegemoet komt aan deze bezwaren.

Het uithongeren zoals hier uitgevoerd is niet direct vergelijkbaar met het systeem ontwikkeld door de TU-Delft (Mooij et al., 2013). Hierbij worden algen gekweekt in opeenvolgende licht-donker-cycli. In de lichtperiode is er geen stikstof aanwezig in het medium en produceren de algen extra opslagstoffen (o.a. olie). In de donkerperiode wordt stikstof toegediend en wordt een deel van de geproduceerde opslagstoffen gebruikt voor de productie van biomassa. Algensoorten die voldoende opslagstoffen produceren zullen bij herhaaldelijk doorlopen van de licht-donker-cycli de populatie gaan domineren.

In de proef beschreven in dit hoofdstuk wordt voor een bepaalde periode (zowel overdag als 's nachts) stikstof en fosfor onthouden en is nagegaan in hoeverre dit de N- en P-opname beïnvloedt.

### 7.2 Proefopzet en -uitvoering

Om het effect van uithongeren goed te kunnen vaststellen is een referentie meegenomen van een algencultuur die met voldoende N en P is opgekweekt (niet uitgehongerde algen).

Er is een bakkenproef (25 l algencultuur) uitgevoerd in de kas met niet en wel uitgehongerde algen in drievoud. De kasruimte wordt 16 uur per dag bijbelicht met assimilatielampen. De temperatuur bedraagt circa 20 °C. De pH wordt gereguleerd via CO<sub>2</sub>-toediening.

Voor de algencultuur is uitgegaan van de Acres-mix.

De proef omvatte een voorkweekfase en een opnamefase. In de voorkweekfase worden de beide culturen onder de gewenste omstandigheden opgekweekt. In de opnamefase wordt de N- en P-opname gemeten. Hieronder wordt uitvoering van de beide fasen beschreven.

### **De voorkweekfase**

De niet-uitgehongerde algencultuur is opgekweekt in bakken met voldoende N en P (20 mg N/l en 5 mg P/l). Dit komt ongeveer overeen met het gehalte aan minerale N en P in het Heineken-effluent. Voor N is uitgegaan van ammonium (ammoniumchloride), omdat dat de vorm is waarin de N in het Heineken-effluent voorkomt. Naast N en P zijn sporelementen en vitamines toegevoegd volgens het standaard groeimedium (3N).

In deze bakken wordt het N- en P-gehalte op peil gehouden door regelmatig het N- en P-gehalte te meten met de Hach Lange testkits en, indien nodig, extra toe te voegen.

De uit te hongeren algencultuur is opgekweekt in bakken met een N-gehalte van 7 mg/l en een P-gehalte van 2 mg/l. In deze bakken is geen N en P aangevuld. De afname van het N- en P-gehalte wordt gevolgd door regelmatige metingen met de Hach Lange testkit. Nadat de N en P is opgenomen zijn de bakken nog 4-5 dagen blijven staan. Dit is de daadwerkelijke hongerefase. Door toch te starten met enige N en P wordt voorkomen dat de algen mogelijk helemaal niet zouden willen groeien en er onvoldoende biomassa zou worden verkregen.

Om de twee dagen (maandag, woensdag en vrijdag) is het N- en P-gehalte van het medium en de optische dichtheid (OD) gemeten in alle 6 bakken.

### **Opnamefase**

Voorafgaand aan de opnamefase zijn de drie duplo-bakken met uitgehongerde algen gemengd en is een monster genomen voor bepaling van de OD, het N- en P-gehalte en het drogestofgehalte. Tevens is een celtelling uitgevoerd. Vervolgens is de cultuur opnieuw verdeeld over de drie bakken. Hetzelfde is gedaan voor de niet uitgehongerde algen. Op deze manier werd voor de drie duplo's eenzelfde uitgangssituatie verkregen.

Op basis van de gedane meting van het N- en P-gehalte zijn alle zes bakken aangevuld tot een N-gehalte van 20 mg N per liter en een P-gehalte van 5 mg P per liter. Daarna is om het uur het N- en P-gehalte en de OD gemeten van het medium. Halverwege en aan het eind van de meetperiode is het drogestofgehalte bepaald van de algencultuur.

Aanvankelijk was het de bedoeling te starten met eenzelfde OD voor alle zes bakken. Bij de meting bleek echter dat de bakken met uitgehongerde algen lichter van kleur waren, ondanks dat de OD hoger was (zie hieronder). Besloten is om daarom toch maar uit te gaan van de cultuur zoals die uit de voorkweekfase gekomen is en niet te gaan verdunnen tot gelijke OD.

## **7.3 Resultaten**

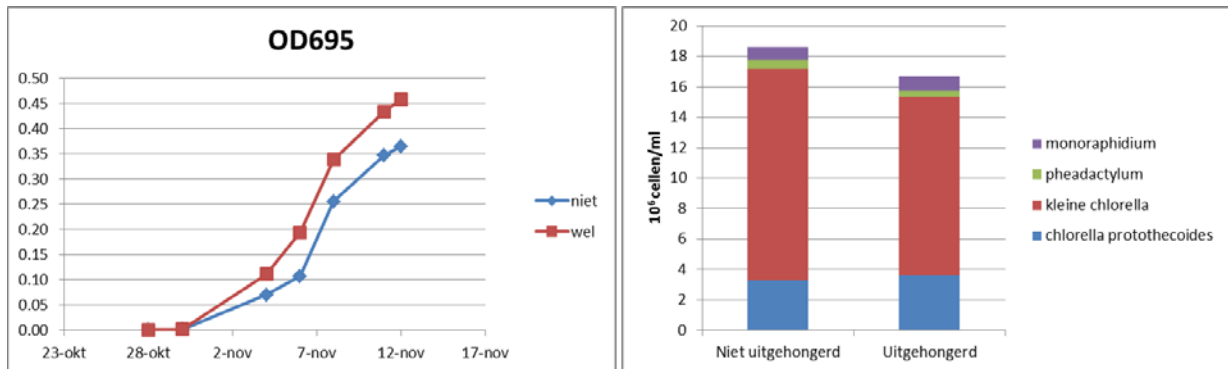
### **Opkweekfase**

In Figuur 22 en 23 is het verloop van de OD en het  $\text{NH}_4\text{-N}$ - en  $\text{PO}_4\text{-P}$ -gehalte weergegeven gedurende de opkweekfase.

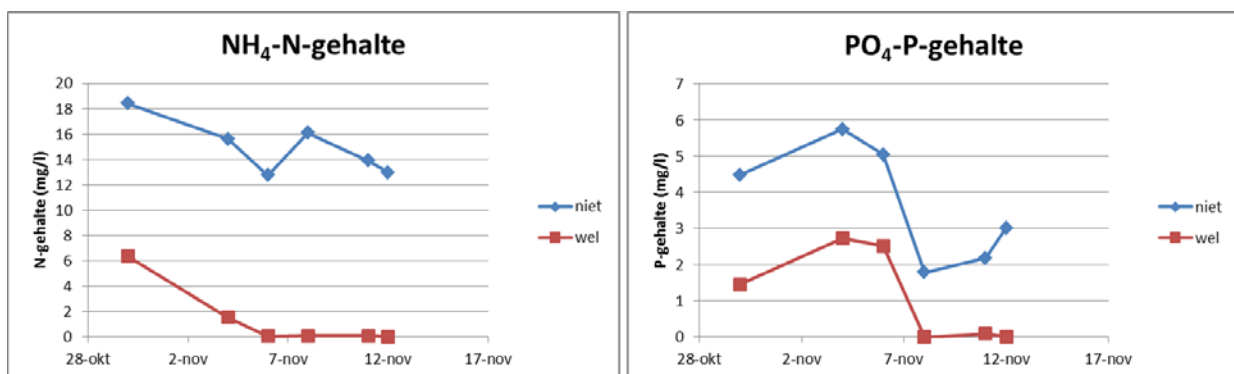
De OD van de uitgehongerde algen is wat hoger dan die van de niet uitgehongerde algen. Zoals reeds eerder aangegeven waren op het oog de bakken met de niet uitgehongerde algen echter duidelijk groener.

Aan het eind van de opkweekfase is tevens een celtelling uitgevoerd. Het totaal aantal cellen was bij de uitgehongerde cultuur wat lager, maar het verschil was relatief gering. Ook de samenstelling van de populatie verschilde niet wezenlijk.

Het  $\text{NH}_4\text{-N}$ -gehalte daalde snel bij de uitgehongerde algen, bij het  $\text{PO}_4\text{-P}$ -gehalte duurde dat wat langer maar uiteindelijk was aan het einde van de opkweekfase (12 november) de  $\text{PO}_4\text{-P}$  vrijwel opgebruikt.



Figuur 22. Verloop van de OD (695 nm) in de opkweekfase en celdichtheid aan einde opkweekfase bij niet en wel uitgehongerde algen.



Figuur 23. Verloop van het  $\text{NH}_4\text{-N}$ - en  $\text{P-PO}_4$ -gehalte (mg/l) in de opkweekfase bij niet en wel uitgehongerde algen.

### Opnamefase

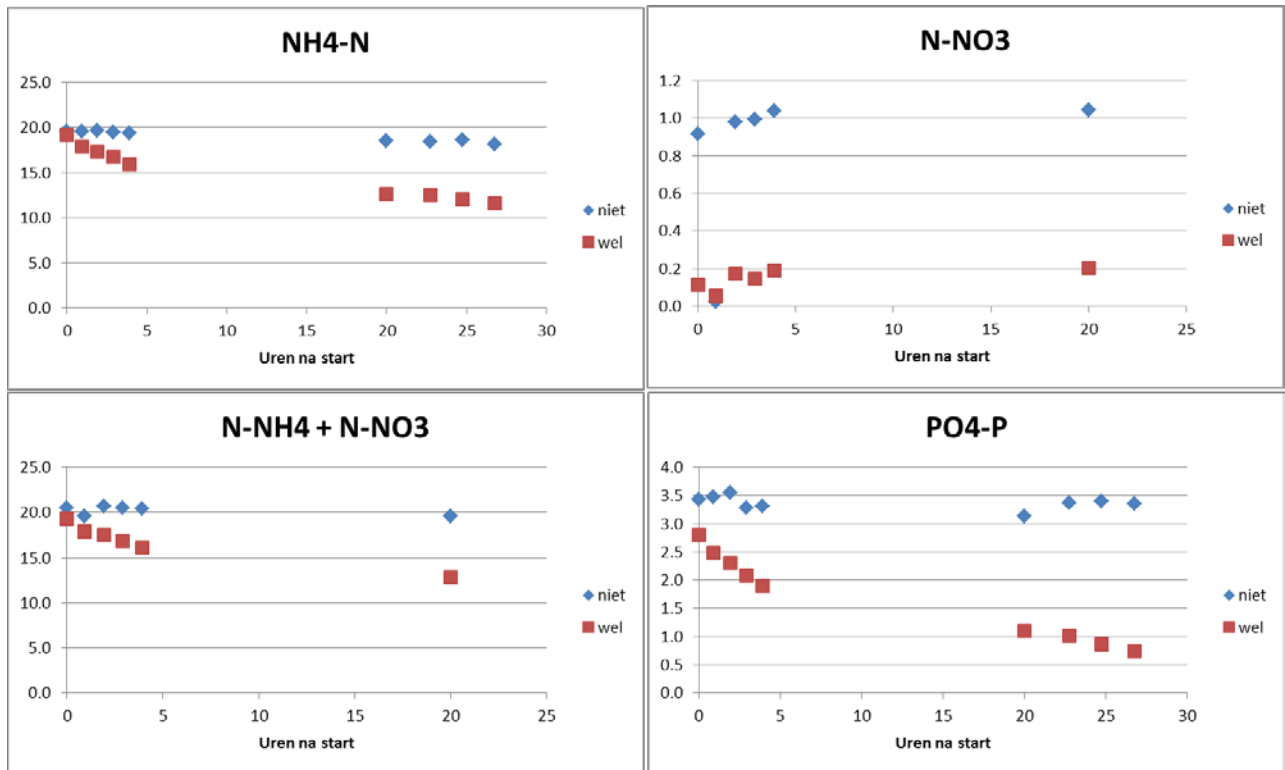
In onderstaande figuren is het verloop weergegeven van het N-gehalte ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ ) en het P-gehalte ( $\text{PO}_4\text{-P}$ ) van het groeimedium in de bakken (niet = niet uitgehongerd, wel = uitgehongerd). Het betreft het gemiddelde van de drie herhalingen (verschillen tussen herhalingen waren relatief gering).

Uit de figuren blijkt dat het  $\text{NH}_4\text{-N}$ - en  $\text{PO}_4\text{-P}$ -gehalte bij de uitgehongerde cultuur significant sneller daalde dan bij de normaal gevoede algen. Het effect was het sterkst in de eerste uren. In die periode bedroeg de  $\text{NH}_4\text{-N}$  en  $\text{PO}_4\text{-P}$  opnamesnelheid van de uitgehongerde algen respectievelijk 0,8 mg N/l/h en 0,2 mg P/l/h. Bij de niet uitgehongerde algen nam het gehalte vrijwel niet af.

Het  $\text{NO}_3\text{-N}$ -gehalte

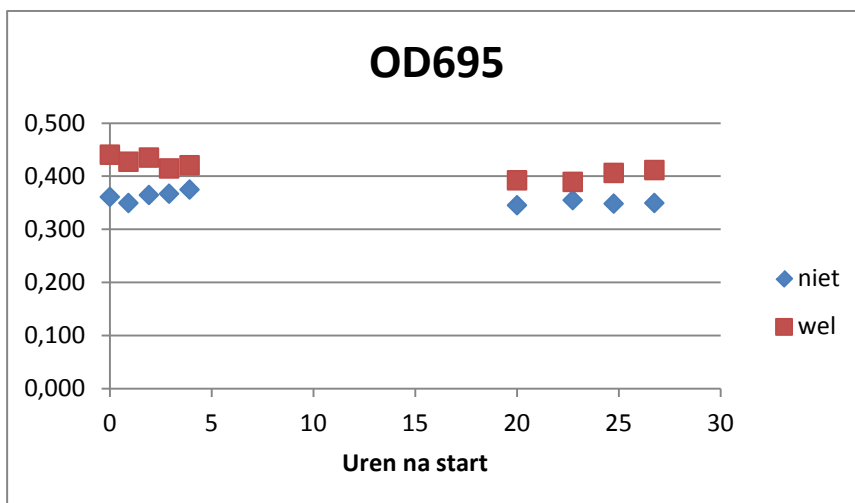
was laag, maar was bij de uitgehongerde algen significant lager dan bij niet uitgehongerde algen. In tegenstelling tot  $\text{NH}_4\text{-N}$  en  $\text{PO}_4\text{-P}$  veranderde het gehalte niet wezenlijk.





Figuur 24. Verloop van het NH<sub>4</sub>-N-, N-NO<sub>3</sub>-, NH<sub>4</sub>-N+NO<sub>3</sub>-N- en P-PO<sub>4</sub>-gehalte (mg/l) in de opnamefase bij niet en wel uitgehongerde algen.

Bij de start van de opnamefase was er enig verschil in OD tussen de twee culturen (Figuur 25). Hoewel op het oog de niet uitgehongerde cultuur groener was, was de OD wat lager. Gedurende de meetperiode veranderde de OD weinig. Het drogestofgehalte was iets hoger bij uitgehongerde cultuur (Tabel 7). Het effect was niet groot, echter wel significant. Gedurende de opnamefase nam voor beide culturen het drogestofgehalte licht af.



Figuur 25. Verloop van de OD (695 nm) in de opnamefase bij niet en wel uitgehongerde algen.

*Tabel 7. Drogestofgehalte algencultuur (mg ds/l) bij niet en wel uitgehongerde algen.*

Tijdstip	Niet uitgehongerd	Uitgehongerd
T = 0	0.17	0.19
T = 4 uur	0.17	0.21
T = 27 uur	0.14	0.17

#### *Opmerking*

In de proef is uitgegaan van één dichtheid van de cultuur bij start van de opnamefase. Mogelijk hangen de resultaten af van de startdichtheid. Bij een hogere dichtheid is de groeisnelheid naar verwachting geringer door een kortere lichtweg en onderlinge beschaduwning. Hierdoor is een niet uitgehongerde cultuur mogelijk in het nadeel ten opzichte van een uitgehongerde. Bij vervolgonderzoek zou de startdichtheid via een verdunningenreeks als proeffactor moeten worden meegenomen.

## 7.4 Conclusie

De proef laat zien dat het uithongeren van algen leidde tot een significant verhoogde N- en P-afname in het groeimedium en dus potentie biedt in de waterzuivering. Wel hangen de resultaten mogelijk af van de dichtheid van de cultuur bij aanvang van de opnamefase.



## 8 Aanbevelingen vervolgonderzoek

Voorgesteld wordt om op korte termijn (komende maanden) een aantal relevante aspecten uit te zoeken om zicht te krijgen op de perspectieven van algenteelt en zuivering van het procesafvalwater. Op basis daarvan wordt dan besloten wat de meest optimale richting is voor de verdere doorontwikkeling en opschaling en hoe en met welke hulp dit verder uit te voeren.

Daarnaast zal er over een bepaalde periode algenbiomassa worden geogst (met behulp van de inmiddels geïnstalleerde centrifuge) voor de bepaling van de samenstelling van de geogste biomassa.

Het voorgestelde onderzoek behelst globaal twee sporen. In het eerste spoor zal worden nagegaan in hoeverre de huidige reactor verder kan worden geoptimaliseerd (verhoging algengroei en verlaging energieverbruik). In het tweede spoor wordt nagegaan welke perspectieven een combinatie van een voorbehandeling van het effluent en algenzuivering biedt.

### *Optimalisering huidige reactor*

Uit de tot nu toe behaalde resultaten blijkt dat met name de fosforverwijdering moet worden verbeterd en dat moet worden gezocht naar oplossingen om het energiegebruik te beperken.

### Verdere optimalisering reactor

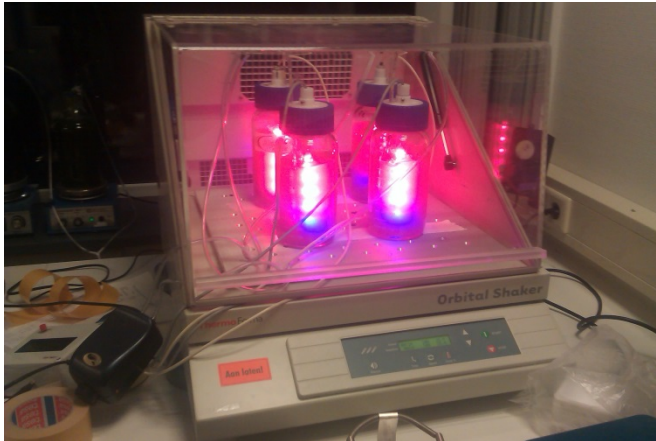
Om de potentie van de huidige reactorconfiguratie goed in beeld te krijgen zullen een aantal zaken worden uitgezocht:

- Nagaan wat het effect is van soort licht. Uit de literatuur zijn er aanwijzingen dat de verhouding rood-blauw-licht van invloed is op de algengroei en de fosforverwijdering (Kim et al., 2013). Dit aspect kan naar verwachting in het onderzoek met de 1 l reactoren worden meegenomen.
- Nagaan wat het effect is van 100% CO<sub>2</sub>-toediening.

### Verlaging energieverbruik

Het energieverbruik kan worden verlaagd door te flashen (afwisselende licht-donker periodes op microseconde tijdschaal). Het principe berust o.a. op het beter afstemmen van de duur van de lichtperiode op die van de reacties in de fotosystemen in de algen. Literatuur op dit gebied geeft aan dat hierdoor de fotosynthetische efficiency kan worden verhoogd (Terry, 1985; Degen et al., 2001; Lunka et al., 2013; Grobbelaar et al., 1996). Lunka et al. (2013) lieten zien dat door flashen het benodigde elektrische vermogen per eenheid geproduceerde algenbiomassa met circa 80% kon worden teruggebracht.

Het effect van flashen zal worden onderzocht bij WUR-ACRRES in Lelystad met behulp van speciaal ontwikkelde 1 l reactoren (Figuur 26). Deze prototypes zijn uitgerust met een LED-lamp met instelbare licht-donkerperiodes. Met dit onderzoek wordt nagegaan in hoeverre het energieverbruik kan worden verminderd.



Figuur 26. 1 l reactoren uitgerust met LED-lamp met instelbare licht-donkerperiodes.

#### *Voorbehandeling effluent + algenzuivering*

Eerste ervaringen van een voorbehandeling van het brouwerijprocesafvalwater via een cavitatieflotatiebehandeling laten zien dat hiermee het stikstof- en met name het fosforgehalte in het uitgaande effluent sterk omlaag gebracht werd (bij fosfor  $< 1$  mg P/l). Met behulp van algen zou de resterende N en P kunnen worden verwijderd. Naast het uitgaande effluent ontstaat tevens een ingedikte organische fractie die vervolgens kan worden vergist. Door deze behandeling op ruw afvalwater toe te passen (dus nog voor de UASB-reactor) kan het volume te vergisten materiaal sterk worden verminderd, waardoor de efficiency van de vergisting hoger wordt.

De volgende aspecten zullen worden onderzocht

- Er zal een nieuwe test worden uitgevoerd met Heinekenwater (ruw onbewerkt afvalwater) waarbij de massa-, stikstof- en fosforbalans wordt bepaald bij het hierboven genoemde flotatiesysteem.
- Nagegaan zal worden in hoeverre het uitgaande effluent van de flotatie kan worden gezuiverd met algen. Hierbij worden (eerst op labschaal) twee methoden onderzocht:
  - Zuivering van het effluent in een doorstroomreactor (conform huidige opzet).
  - Zuivering van het effluent in een entreactor met uitgehongerde algen. Resultaten van een recent uitgevoerde proef dat hiermee in korte tijd relatief veel stikstof en fosfor kan worden opgenomen.
- Labtest vergisting van ingaand afvalwater en vaste fractie die vergist kan worden na de cavitatieflotatievoorbehandeling.

Na afronding van het hierboven genoemde onderzoek zullen de resultaten worden besproken in een stuurgroepvergadering en zal worden besloten hoe het onderzoek verder voort te zetten. Naast de configuratie van de algenkweekopstelling zal dan tevens de beheersmogelijkheden van grazer plagen, de oogst van de algen en de samenstelling en verwaarding van de geproduceerde biomassa de aandacht hebben.

## 9 Referenties

Degen, Jorg, Andrea Uebele, Axel Retze, Ulrike Schmid-Staiger & Walter Trösch, 2001. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnology* 92, p. 89–94

Grobbelaar, Johan U., 2013. Mass Production of Microalgae at Optimal Photosynthetic Rates. In: *Agricultural and Biological Sciences, Photosynthesis*, edited by Zvy Dubinsky, ISBN 978-953-51-1161-0, Published: June 12, 2013 under CC BY 3.0 license, p. 357-371.

Grobbelaar, J.U., L. Nedbal & V. Tichy, 1996. Influence of high frequency light/dark fluctuations on photosynthetic characteristics of microalgae photoacclimated to different light intensities and implications for mass algal cultivation. *Journal of Applied Phycology* 8, p. 335-343

Kim, Tae-Hyeong, Yunhee Lee, Su-Hyun Han, Sun-Jin Hwang, 2013 The effects of wavelength and wavelength mixing ratios on microalgae growth and nitrogen, phosphorus removal using *Scenedesmus* sp. For wastewater treatment, *Bioresource Technology* 130, 75-80

Lunka, Alex A. & David J. Bayless, 2013. Effects of flashing light-emitting diodes on algal biomass productivity. *Journal of Applied Phycology* 25, p. 1679-1685.

Mooij, Peter R., Gerben R. Stouten, Jelmer Tamis, Mark C. M. van Loosdrecht & Robbert Kleerebezem, 2013. Survival of the fattest. *Energy and Environmental Science* 2013, 6, 3404-3406.

Terry, Kenneth L., 1985. Photosynthesis in modulated light: Quantitative dependence of photosynthetic enhancement on flashing rate. *Biotechnology and Bioengineering* Vol. XXVII, p. 988-995.

Van Dijk, Wim, Roelof Schipperus, Saskia Grobber & Rommie van der Weide, 2013. Zuivering brouwerijprocesafvalwater met behulp van microalgen. Resultaten onderzoek 2012. ACRRES-Wageningen UR, publicatie nr. PPO-530, 42 pp.



