



Tim Hendrickx, Wageningen Universiteit

Christel Kampman, Wageningen Universiteit

Francisca Luesken, Radboud Universiteit Nijmegen

Hardy Temmink, Wageningen Universiteit

# Denitrificatie met opgelost methaan uit anaerobe vergisting: nieuwe mogelijkheid voor afvalwaterbehandeling

**Huishoudelijk afvalwater bevat veel energie. Rioolwaterzuiveringsinstallaties hebben zodoende de potentie om energieproducerend te worden in plaats van energieconsumerend. Er zijn reeds initiatieven in gang gezet die zich richten op het terugwinnen van energie in de vorm van biogas door het vergisten van primair en secundair slib. Een directere route naar biogas is de anaerobe zuivering van het afvalwater. Het effluent van een anaerobe reactor bevat echter nog wel ammonium en opgelost methaan (een sterk broeikasgas). Beide kunnen omgezet worden met de recentelijk ontdekte DAMO-bacteriën: denitrificatie gekoppeld aan anaerobe methaanoxidatie. Dit biedt nieuwe mogelijkheden voor een energie-efficiënte afvalwaterbehandeling.**

Huishoudelijk afvalwater wordt in Nederland voornamelijk behandeld in het actiefslibproces, dat veel energie kost. Per verwijderde kg BZV wordt zo'n 6,1 kWh verbruikt (ongeveer 1,2 kWh per kubieke meter), waarbij het aandeel van beluchting kan oplopen tot maar liefst 60 procent (gegevens CBS). Dit terwijl het Nederlandse afvalwater in potentie ongeveer 1,8 kWh per kubieke meter aan (chemische) energie bevat.

Door gebruik te maken van deze potentiële energie kan de energiebalans van rwzi's van energieconsumerend naar energieproducerend worden omgezet<sup>1)</sup>. In het concept 'rwzi als Energiefabriek' kan dit bijvoorbeeld bereikt worden door het vergroten van de hoeveelheid primair vergistbaar slib en door covergisting van externe afvalstromen (zoals mest) (zie H<sub>2</sub>O nr. 10, 2009). Er zal dan echter nog steeds een groot gedeelte van het organische materiaal in secundair slib omgezet worden, wat door anaerobe vergisting slechts gedeeltelijk en moeizaam omgezet kan worden in methaan. Een efficiëntere route naar methaan zou directe anaerobe zuivering zijn, waarbij tevens energie bespaard zou worden op beluchting.

Anaeroob gezuiverd afvalwater bevat

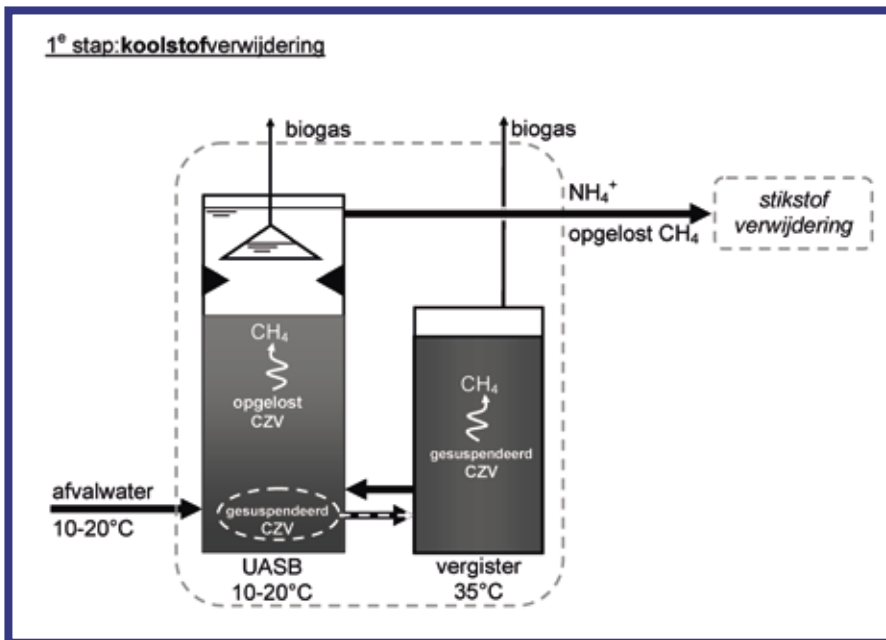
echter opgelost methaan. Emissie van dit broeikasgas is ongewenst. Nabehandeling van effluent uit anaerobe zuivering is vereist om methaan en daarnaast ammonium en fosfor te verwijderen. Omdat het effluent nog maar weinig biologisch afbreekbare organische stof bevat en toediening van een externe koolstofbron kostbaar en niet duurzaam is, moeten processen voor nabehandeling autotroof zijn of voornamelijk gebruik maken van opgelost methaan als koolstofbron. In een door STW, STOWA en Paques gefinancierd project onderzoeken de universiteiten van Wageningen en Nijmegen de anaerobe zuivering van huishoudelijk afvalwater bij een lage temperatuur (10 tot 20°C) en twee verschillende processen voor nageschakelde stikstofverwijdering: denitrificatie gekoppeld aan anaerobe methaanoxidatie (hier afgekort tot DAMO) en anaerobe ammoniumoxidatie (Anammox).

## Anaerobe zuivering huishoudelijk afvalwater

De toepassing van anaerobe zuivering van huishoudelijk afvalwater wordt in Nederland voornamelijk belemmerd door de lage temperatuur van het afvalwater (10 tot 20°C). Met name de hydrolyse van

gesuspenseerd materiaal in het afvalwater verloopt bij lage temperatuur erg langzaam, waardoor een reactor met een zeer lange slibverblijftijd nodig zou zijn. Opwarmen van de gehele afvalwaterstroom kost te veel energie, maar door gebruik te maken van de invangcapaciteit van een UASB-reactor (*upflow anaerobic sludge blanket*) kan een geconcentreerde stroom van gesuspenseerd materiaal verkregen worden. Deze kleinere stroom kan in een vergister met een gedeelte van het geproduceerde methaan opgewarmd worden tot 35°C, waarbij de hydrolyse wel snel verloopt. Een schematische weergave van een UASB-vergister voor de anaerobe zuivering van huishoudelijk afvalwater is weergegeven in afbeelding 1. Eerdere proeven<sup>2)</sup> met een dergelijk systeem lieten een verwijderingspercentage van 87 procent zien voor het gesuspenseerd CZV in afvalwater (66 procent voor totaal CZV).

Het effluent van anaerobe vergisting zal echter nog opgelost methaan (tot 15 mg/L bij 10°C) en ammonium uit gemineraliseerde stikstofverbindingen (ongeveer 60 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L) bevatten. Deze zullen in een volgende behandlingsstap verwijderd moeten worden.



Afb. 1: Schematische weergave van een UASB-vergister voor de anaerobe behandeling van huishoudelijk afvalwater.

## Stikstofverwijdering

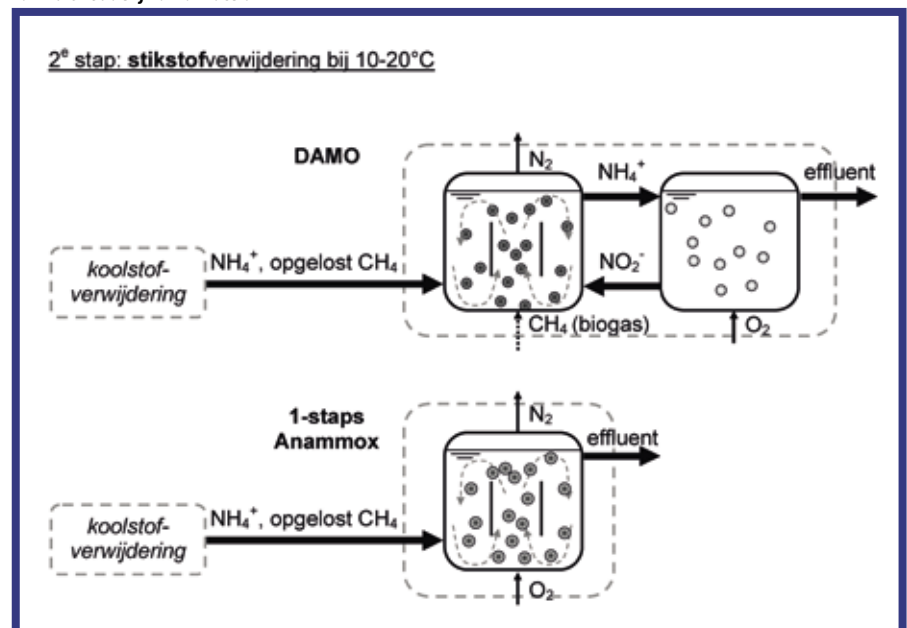
### Denitrificatie gekoppeld aan anaerobe methaanoxidatie

Een aantal jaar geleden zijn bacteriën (*Methyloirabilis oxyfera*) ontdekt die denitrificatie (van nitriet) koppelen aan anaerobe methaanoxidatie (zie kader). Dit maakt deze bacteriën erg aantrekkelijk voor de behandeling van effluent van een UASB-vergister, waaruit zowel stikstof als methaan verwijderd moeten worden. De nadruk ligt momenteel op het onderzoeken van de fysiologie van *M. oxyfera* en het opkweken van *M. oxyfera* in verschillende reactor-systemen en met verschillende inocula, namelijk sediment uit de Ooijpolder en zuiveringsslib. Aanwezigheid van *M. oxyfera* in het sediment van de Ooijpolder was reeds aangetoond<sup>3)</sup>. Aanwezigheid van *M. oxyfera* in zuiveringsslib is in dit onderzoek aangetoond: door middel van moleculaire technieken werd in negen van de tien slibmonsters *M. oxyfera* gedetecteerd. Dit geeft aan dat in rwzi's niches te vinden zijn waar de condities geschikt zijn voor *M. oxyfera* en dat zuiveringsslib als entmateriaal gebruikt kan worden voor toekomstige DAMO-reactoren.

Zodra voldoende biomassa gekweekt is, zullen praktisch toepasbare systemen met een efficiënte biomassaretentie onderzocht worden. Met een verdubbelingstijd van één tot twee weken groeit *M. oxyfera* erg langzaam. De verschillende schaaltoepassingen van bijvoorbeeld Anammox illustreren echter dat langzame groei geen belemmering hoeft te zijn, mits een efficiënte biomassaretentie mogelijk is. Onderzoek moet nog uitwijzen of toepassing van *M. oxyfera* in rioolwaterzuivering mogelijk is. Indien mogelijk zou het meest succesvolle DAMO-reactorsysteem gekoppeld kunnen worden aan een UASB-vergister en een nitritatiereactor (zoals geïllustreerd in afbeelding 2). De laatste is nodig om ammonium uit het effluent van de UASB-vergister om te zetten

in nitriet. Om optimaal gebruik te maken van het in effluent van de UASB-vergister opgeloste methaan zal de nitritatiereactor bij voorkeur geplaatst worden na de DAMO-reactor. Partieel genitricificeerd effluent zal worden teruggevoerd naar de DAMO-reactor. Indien niet voldoende methaan aanwezig is, zou biogas aan de DAMO-reactor toegediend kunnen worden. Een belangrijk aandachtspunt bij de koppeling van de drie reactorsystemen is de instroom van CZV en ammonium in de DAMO-reactor. Mogelijk kunnen hierdoor heterotrofe denitrificatoren en Anammox-bacteriën ingroeien. Groeisnelheid en affiniteit voor substraten zal bepalen of organismen naast elkaar kunnen bestaan of dat één type gaat overheersen. Of ingroei plaatsvindt en wat de consequenties hiervan zijn voor DAMO, zal experimenteel bepaald worden.

Afb. 2: Schematische weergave van twee mogelijkheden voor stikstofverwijdering na de anaërobe behandeling van huishoudelijk afvalwater.

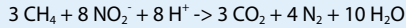


## Anaerobe ammoniumoxidatie

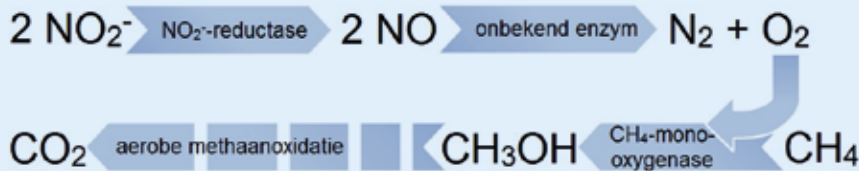
Een alternatief voor de verwijdering van stikstof is het Anammox-proces. Dit wordt reeds op volle schaal toegepast voor de behandeling van rejectiewater uit slibontwatering, zoals bij de rwzi in Rotterdam. Dit vindt echter plaats bij een temperatuur van 30 tot 35°C en met geconcentreerde ammoniumstromen (> 1 g NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N/L). De toepassing van Anammox bij lage temperatuur, lage ammoniumconcentratie en hoge afvalwaterdebieten vormt een grote uitdaging. Verlaging van de temperatuur in bestaande Anammox-reactoren resulteert in een enorme afname van de specifieke activiteit. Dit zou tot een onaanvaardbaar grote reactor leiden. Een zeer goede slibretentie is dan ook vereist. Er zijn ook Anammox-bacteriën bekend die een veel lagere optimumtemperatuur van 15°C hebben<sup>8)</sup>; het betreft hier wel een zeewatervariant. De insteek van het huidige onderzoek is Anammox-bacteriën te verrijken vanuit en bij een lagere temperatuur, zodat ook een zoetwatervariant verkregen kan worden met een lage optimumtemperatuur. Hiertoe zijn negen rwzi's, gekenmerkt door een lage BZV/N-verhouding en een lange slibverblijftijd, bemonsterd aan het eind van een lange winterperiode (temperatuur onder de 12°C). Uit PCR-analyse (*polymerase chain reaction*) bleek dat alle monsters Anammox-bacteriën bevatten, waardoor duidelijk werd dat deze bacteriën ook kunnen 'overwinteren' in rwzi's.

Een mengsel van twee slibmonsters is uiteindelijk gebruikt om twee verrijkingssystemen bij 10°C op te starten: een gasliftreactor (waarin korrelvorming gestimuleerd wordt) en een biofilmreactor (waarin plastic dragermateriaal gebruikt wordt). Hieruit zal moeten blijken of hogere specifieke activiteiten bereikt kunnen worden met deze 'koude' Anammox. Naast de verwijdering van stikstof zal ook methaan verwijderd moeten worden. Het simultaan optreden van methaanoxidatie, Anammox en denitrifi-

Een paar jaar geleden zijn uit het sediment van het Twentekanaal organismen verrijkt die onder anaerobe omstandigheden nitriet gebruiken als electronacceptor voor methaanoxidatie<sup>4</sup>.



In eerste instantie werd vermoed dat hier sprake was van een symbiose tussen een archaeon en een bacterie, vergelijkbaar met sulfaatreductie gekoppeld aan anaerobe methaanoxidatie. Inmiddels blijkt dat één type bacterie verantwoordelijk is voor zowel



denitrificatie (met organische tussenproducten uit de methaanoxidatie) is reeds aangetoond bij een temperatuur van 30°C<sup>9</sup>, maar zal bij lagere temperaturen nog verder onderzocht moeten worden.

Begin 2011 vangt tevens een proef aan op rwzi Dokhaven met de implementatie van 'koude' Anammox. Waterschap Hollandse Delta, de Radboud Universiteit Nijmegen, de TU Delft en Paques voeren de proef uit.

### Verdere behandeling

Naast de afbraak van organisch materiaal tot methaan en de stikstofverwijdering via nitriet zal rekening gehouden moeten worden met organisch materiaal dat niet anaerob verwijderd kan worden. Dit zou bijvoorbeeld plaats kunnen vinden in de reactor waar ook de partiële nitrificatie plaatsvindt (zie

denitrificatie als methaanoxidatie<sup>5</sup>) en dat deze ook verrijkt kan worden uit Ooijpolder-sediment<sup>3</sup>) en een mengsel van sediment van een zoetwatermeer, slib uit een anaerobe vergister en retourslib uit een actiefslibreactor<sup>6</sup>).

Het genoom van *M. oxyfera* is recentelijk beschreven. Uit genoom, transcriptoom en proteoom blijkt een uniek metabolisme: nitriet wordt gereduceerd tot stikstofmonoxide, wat vervolgens door een nog onbekend enzym wordt omgezet in stikstof en zuurstof; de zuurstof wordt intern gebruikt voor aerobe methaanoxidatie<sup>7</sup>.

afbeelding 2). Ook zal onderzocht worden of dit nog beschikbaar is voor heterotrofe denitrificatie. Daarnaast zullen ook fosfaat en organische microverontreinigingen verwijderd moeten worden. Fosfaat kan verwijderd worden door middel van precipitatie in of buiten de UASB. Terugwinning in de vorm van struviet is voor dergelijke verdunde stromen niet interessant, vanwege de lage concentratie fosfaat in het afvalwater.

### Samengevat

- De energie-inhoud van afvalwater kan benut worden. Op korte termijn kan dit al gerealiseerd worden door het produceren van meer primair slib, dat door vergisting gedeeltelijk omgezet kan worden in methaan ('Energiefabriek'). Een directere, en daardoor meer efficiënte, route naar methaan is de anaerobe behandeling

van afvalwater, hetgeen voor de langere termijn een aantrekkelijk alternatief lijkt;

- Voor de verwijdering van stikstof en opgelost methaan uit anaerob behandeld afvalwater worden momenteel twee processen onderzocht op hun technische en economische haalbaarheid: denitrificatie gekoppeld aan anaerobe methaanoxidatie en Anammox;
- Verwijdering van fosfaat en organische microverontreinigingen vormen tevens belangrijke aandachtspunten.

### LITERATUUR

- Kartal B. *et al.* (2010). Sewage treatment with anammox. *Science* 328, pag. 702-703.
- Mahmoud N. (2002). Anaerobic pre-treatment of sewage under low temperature (15°C) conditions in an integrated UASB-digester system. PhD thesis Wageningen Universiteit.
- Ettwig K. *et al.* (2009). Enrichment and molecular detection of denitrifying methanotrophic bacteria of the NC10 phylum. *Applied and Environmental Microbiology* nr. 11, pag. 3656-3662.
- Raghoebaring A. *et al.* (2006). A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. *Nature Letters* 440, pag. 918-921.
- Ettwig K. *et al.* (2008). Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of Archaea. *Environmental Microbiology* nr. 11, pag. 3164-3173.
- Hu S. *et al.* (2009). Enrichment of denitrifying anaerobic methane oxidizing microorganisms. *Environmental Microbiology reports* nr. 5, pag. 377-384.
- Ettwig K. *et al.* (2010). Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature* nr. 7288, pag. 543-548.
- Van de Vossenberg J. *et al.* (2008). Enrichment and characterization of marine anammox bacteria associated with global nitrogen gas production. *Environmental Microbiology* nr. 11, pag. 3120-3129.
- Waki M. *et al.* (2009). Nitrogen removal by co-occurring methane oxidation, denitrification, aerobic ammonium oxidation, and anammox. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 84, pag. 977-985.