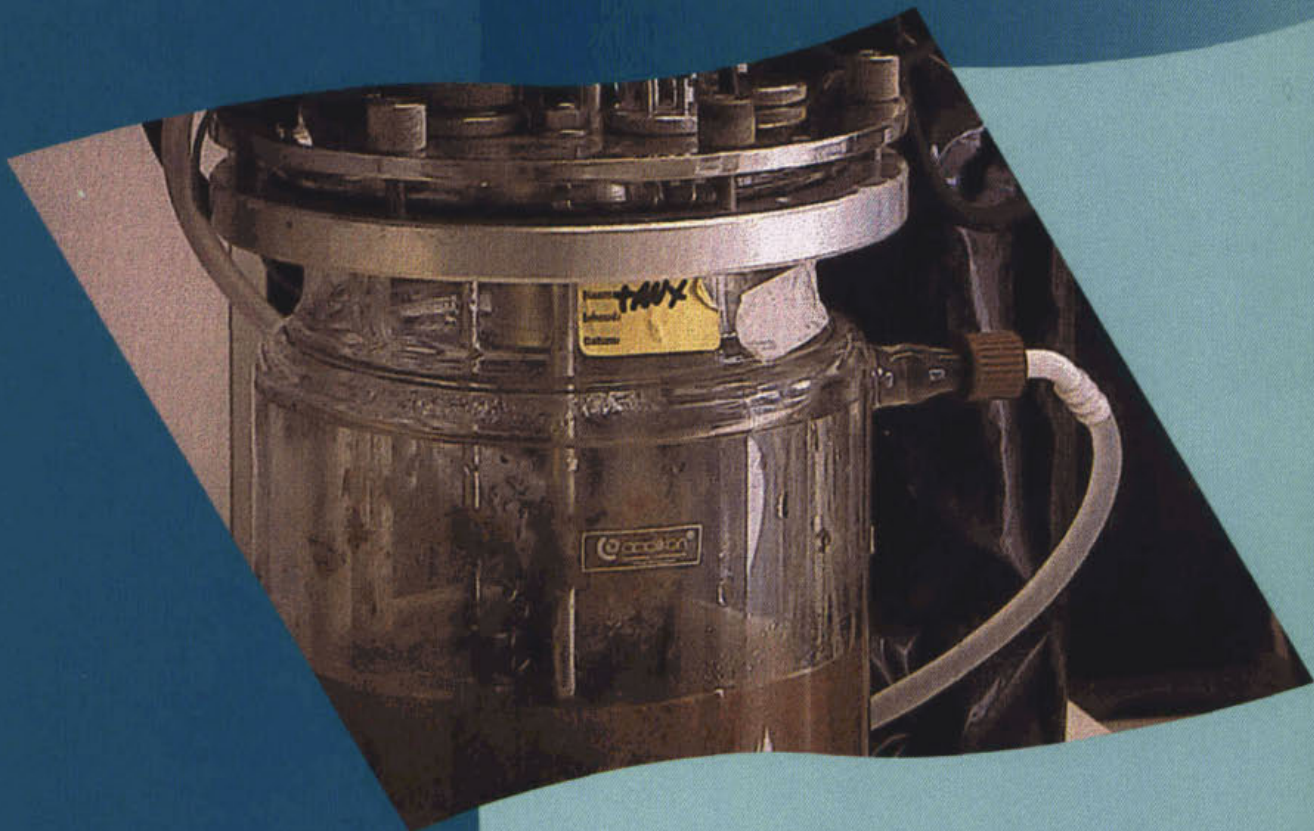


Het gecombineerde Sharon/Anammoxproces

*Een duurzame methode voor N-verwijdering
uit slibgistingwater*



2000 25

Het gecombineerde Sharon/Anammoxproces

*Een duurzame methode voor N-verwijdering
uit slibgistingwater*

2000 25

Arthur van Schendelstraat 816
Postbus 8090, 3503 RB Utrecht
Telefoon 030 232 11 99
Fax 030 232 17 66
E-mail stowa@stowa.nl
<http://www.stowa.nl>

Publicaties en het publicatie-
overzicht van de STOWA kunt u
uitsluitend bestellen bij:
Hageman Fulfilment
Postbus 1110
3300 CC Zwijndrecht
tel. 078 - 629 33 32
fax 078 - 610 42 87
e-mail: hff@wxs.nl
o.v.v. ISBN- of bestelnummer en
een duidelijk afleveradres.
ISBN 90.5773.104.5

Ten Geleide

Samenvatting

1. Inleiding en achtergrond	pagina 1
2. De processen	pagina 4
2.1 Het Sharonproces	pagina 4
2.1.1 Temperatuur	
2.1.2 pH	
2.2 Het Anammoxproces	pagina 6
2.2.1 Reactoruitvoering	
2.3 De combinatie Sharon/Anammox	pagina 9
3. Uitvoering	pagina 10
3.1 Het Sharonproces	pagina 10
3.1.1 Opbouw van de reactor	
3.1.2 Procescondities van de Sharonreactor	
3.1.3 Analyses en experimenten	
3.2 Het Anammoxproces	pagina 15
3.2.1 Opbouw van de reactoren	
3.2.2 Procescondities	
3.2.3 Analyses en experimenten	
3.3 De combinatie Sharon/Anammox	pagina 21
4. Resultaten en discussie	pagina 23
4.1 Het Sharonproces	pagina 23
4.1.1 Omzetting in het Sharonproces	
4.1.2 pH en omzettingsgraad	
4.1.3 Maximale omzettingssnelheden en affiniteitsconstanten	
4.1.4 Het bicarbonaatgehalte	

4.1.5	Karakterisering van het slib	
4.1.6	Invloed van anaërobie op ammoniumoxideerders	
4.1.7	Protozoën	
4.2	Het opstarten van de Anammoxreactoren	pagina 35
4.2.1	De ophoping van Anammoxbiomassa met synthetisch afvalwater	
4.2.2	De Anammoxreactoren tijdens stabiele bedrijfsvoering	
4.3	De combinatie Sharon/Anammox	pagina 38
4.3.1	De ophoping van Anammoxbiomassa met effluent van de Sharonreactor	
4.3.2	Omzetting in een gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem	
4.4	Karakterisering van het Anammoxsysteem	pagina 42
4.4.1	Maximale activiteit	
4.4.2	Testen met hydroxylamine	
4.4.3	Slibkarakterisering met behulp van FISH	
4.4.4	Nitrificeerders in Anammox	
4.5	Evaluatie van het experimenteel programma	pagina 47
5.	Procesontwerp en economische haalbaarheid	pagina 49
5.1	Algemene uitvoering	pagina 49
5.1.1	Het opstarten	
5.1.2	Algemene procesregeling en –bewaking	
5.1.3	Verstoringen	
5.2	Reactorkeuze	pagina 53
5.3	Ontwerp	pagina 54
5.4	Economische evaluatie	pagina 56
6.	Conclusies en aanbevelingen	pagina 59
Literatuur		pagina 60
Bijlagen		pagina 62

Ten geleide

In het jaar 1996 verschenen twee STOWA-rapporten die betrekking hebben op de verwijdering van stikstof uit slibgistingwater. Rapport 96-01 behandelt de verwijdering van stikstof met het Sharonproces en rapport 96-21 beschrijft de verwijdering van ammonium uit slibgistingwater met het Anammoxproces. In hetzelfde jaar werd door prof. dr. ir. Mark van Loosdrecht en dr. ir. Jetten in het kader van de STOWA-prijsvraag 'Waterbeheer in de toekomst' een zuiveringsconcept voorgesteld waarin een duurzaam huwelijk plaatsvindt tussen het Sharon- en Anammoxproces. Het duurzame karakter wordt daarbij gevormd door een significant lager zuurstofverbruik, de overbodigheid van een organische koolstofbron en een verwaarloosbare slibproductie. In de STOWA-prijsvraag was dit voorstel één van de prijswinnaars.

Het thans voorliggende rapport beschrijft onderzoek naar de technische haalbaarheid van het gecombineerde Sharon/Anammoxproces voor de N-verwijdering uit slibgistingwater. Het duurzame karakter van de combinatie is bevestigd en uit een opschalingsexercitie is gebleken dat het Sharon/Anammoxproces zowel economisch als bedrijfsmatig goede perspectieven heeft. Vanwege de goede economische en miliehygiënische uitgangspunten wordt in het rapport terecht gesteld dat tot een spoedige opschaling van het proces in de praktijk moet worden overgegaan.

Het onderzoek werd uitgevoerd door de Technische Universiteit Delft (projectteam bestaande uit dr. ir. M. Jetten, prof. dr. ir. M.C.M. van Loosdrecht en ing. U. van Dongen). Voor de begeleiding van het project zorgde een commissie bestaande uit ir. D.M.E. Anink (voorzitter), ing. R. van Dalen, ir. R. van Kempen, ir. J.W. Mulder, ir. P.J. Roeleveld, ir. P.C. Stamperius en ir. C.A. Uijterlinde.

Utrecht, september 2000

De directeur van de STOWA

ir. J.M.J. Leenen

Samenvatting

Conventionele ammoniumverwijdering vereist doorgaans een grote hoeveelheid energie voor beluchting en organisch koolstof voor denitrificatie. Dit onderzoek is erop gericht N-verwijdering meer duurzaam vorm te geven.

Dit kan door ammonium slechts gedeeltelijk tot nitriet te oxideren, waarna het gevormde nitriet met de rest van het ammonium onder anoxische condities omgezet wordt tot N_2 -gas.

De nitrietvorming kan stabiel plaatsvinden in een SHARON-achtige reactor (zonder slibretentie). Het is echter niet nodig deze reactor intermitterend te beluchten om te denitrificeren. De reactor wordt continu belucht en doordat de pH niet geregeld wordt, zal deze dalen waardoor ongeveer 50 % van het aangeboden ammonium worden geoxideerd tot nitriet (uitgaande van slibgistingwater).

De denitrificatie met ammonium (ANAMMOX) kan in een tweede reactor met slibretentie plaatsvinden.

In dit onderzoek is de haalbaarheid van ammoniumverwijdering uit slibgistingwater onderzocht met behulp van het gecombineerde Sharon/Anammoxproces.

De Sharonreactor is binnen twee weken opgestart met nitrificerend B-trapslib van de RWZI Dokhaven. Het Sharonproces is uitgevoerd in een continu doorstroomde reactor met een hydraulische verblijftijd van 1 dag en een temperatuur van 35 °C. Onder deze condities is het ammonium voor ongeveer 50 % omgezet in nitriet. De omzetting van ammonium kan worden verhoogd door de pH-waarde van het systeem met enkele tienden te verhogen. Bij langdurige continue beluchting kunnen protozoën in de Sharonreactor tot ontkieming komen. Dit heeft een negatief effect op de processtabiliteit. Deze protozoën kunnen uit het reactorsysteem geweerd worden door tijdens perioden van geen of lage aanvoer van influent (de beluchting kan dan uit) één tot twee uur langer door te beluchten. Hierdoor zal de pH dalen tot beneden 6. De beluchting kan uitgeschakeld worden tot er weer aanvoer is van slibgistingwater. De aanwezigheid van protozoën kan met een microscoop snel vastgesteld worden.

De Anammoxbiomassa voor dit onderzoek is opgehoopt uit actiefslib van de RWZI Dokhaven met synthetisch afvalwater of effluent van de Sharonreactor, waarin de ammonium- en nitrietconcentraties beneden 70 mg N_{tot} /l bleven. Daarna zijn de concentraties ammonium en nitriet geleidelijk verhoogd tot 700 mg N/l.

Met behulp van de FISH-techniek (Fluorescentie In Situ Hybridisatie) kunnen specifieke bacteriesoorten of -groepen, waaronder Anammox, in een slibmengsel

onder de fluorescentiemicroscoop zichtbaar gemaakt worden. Vier tot zes weken voordat enige Anammoxactiviteit in verschillende systemen kon worden aangetoond, werden met FISH reeds Anammoxcellen in het slibmengsel waargenomen.

Het gecombineerde systeem heeft over een periode van 120 dagen stabiel gefunctioneerd, waarbij de N_{tot} -omzetting gemiddeld $0,75 \text{ kg } N_{\text{tot}}/\text{m}^3_{\text{reactor}}/\text{dag}$ was. De gemiddelde specifieke omzetting bedroeg $0,18 \text{ kg } N_{\text{tot}}/\text{kg ds}/\text{dag}$. Tijdens een activiteitstest is de maximale specifieke omzetting vastgesteld op $0,82 \text{ kg } N_{\text{tot}}/\text{kg ds}/\text{dag}$.

Voor de opschaling van het gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem kan de Anammoxreactor het best beënt worden met laagbelast zuiverings-slib. Met behulp van de FISH-techniek kan snel vastgesteld worden of de gevolgde methode de juiste is. Een online nitriet-/nitraatanalyser kan als regelgrootheid dienen voor het Anammoxproces. Een te lage nitrietconcentratie betekent dat meer nitriet in de Sharonreactor gevormd moet worden (door pH- correctie of beluchtingstijd); een te hoge nitrietconcentratie in de Anammoxreactor betekent dat minder nitriet in de Sharonreactor gevormd moet worden (beluchting uit).

Voor de toepassing van het Anammoxproces is de keuze van het reactortype van groot belang. In deze studie kwam naar voren dat Anammox op pilot-schaal of volledige schaal het best in een gepaktbed-biofilmreactor of een korrelreactor uitgevoerd kan worden. Voordeel van een gepaktbed-biofilmreactor is dat deze relatief eenvoudig opgestart en bedreven kan worden. Het voordeel van een korrelreactor is dat deze hogere stikstofbelastingen kan verwerken waardoor het systeem compacter kan worden gebouwd. Het nadeel is dat het opstarten van een dergelijk systeem wellicht langer zal duren, vanwege de mindere slibretentie. Wanneer eenmaal een Anammox-korrelreactor is opgestart, kunnen vergelijkbaar met de opstart van UASB-reactoren sneller nieuwe Anammoxsystemen worden opgestart.

De kosten voor behandeling van slibgistingwater met het gecombineerde Sharon/Anammoxsysteem worden geschat op 1,5-2,5 gulden per kg N-verwijderd. Uit eerder STOWA onderzoek is gebleken dat andere technieken met een vergelijkbare kostenrekening significant duurder uitvallen. De kosten voor het Sharonproces met methanol voor pH-correctie werden geschat op f 2-3/kg N, terwijl andere biologische technieken op f 5-10/kg N en fysisch/chemische technieken f 10-25/kg N kosten.

1 Inleiding en achtergrond

Om aan de lozingseis voor stikstof te kunnen voldoen, kunnen in rioolwaterzuiveringsinrichtingen (RWZI's) stikstofrijke retourstromen worden ontdaan van stikstof. Dit heeft tot gevolg dat de stikstofbelasting van het hoofdzuiveringsproces afneemt.

Een proces waarbij op een RWZI een stikstofrijke retourstroom ontstaat is het slibgistingproces. In het slibgistingproces wordt het organisch gebonden koolstof deels omgezet in methaangas en wordt het organisch gebonden stikstof omgezet in ammonium [1]. Bij de indikking of ontwatering van uitgegist RWZI-slib wordt slibgistingwater geproduceerd. Slibgistingwater, ook wel rejectiewater, centraat of filtraat genoemd, is het water dat vrijkomt bij het ontwateren van uitgegist slib. Dit water bevat relatief hoge concentraties ammoniumstikstof en relatief weinig oxideerbaar organisch materiaal (CZV of BZV).

Normaliter wordt dit slibgistingwater rechtstreeks teruggevoerd naar het begin van de RWZI en vormt daar 10-20 % van de totale N-belasting van het hoofdproces. Wanneer het hoofdproces van een RWZI zo is ontworpen dat de effluenteis voor stikstof gehaald wordt, is er geen probleem. In veel gevallen kan de zuivering echter niet aan de gestelde stikstofeis voldoen. Vaak is er weinig ruimte voor verdere uitbreiding, zodat gezocht moet worden naar andere oplossingen. Eén van de mogelijke oplossingen is het apart behandelen van dit ammoniumrijke slibgistingwater [1].

Het systeem waarbij ammonium met minder beluchtingsenergie en zonder CZV-behoefte biologisch wordt verwijderd, biedt zeer goede mogelijkheden om het gehele zuiveringsproces op een duurzamer wijze vorm te geven. Dit concept heeft in het kader van de STOWA-prijsvraag 'Waterbeheer in de toekomst' dan ook een 2e prijs ontvangen [2].

In het verleden zijn er verschillende STOWA-onderzoeken geweest naar de verwijdering van ammonium uit slibgistingwater. Een van die onderzoeken behandelde het SHARONproces (Single reactor system for High Ammonia Removal Over Nitrite). Bij dit proces wordt in een enkel reactorsysteem ammonium onder aërobe condities geoxideerd tot nitriet en wordt dit nitriet onder anoxische condities met behulp van een toegevoegde C-bron omgezet in stikstofgas [1]. Deze denitrificatie is met name bedoeld om de pH in het proces te regelen.

Een ander STOWA-onderzoek bestond uit een haalbaarheidsstudie naar de toepasbaarheid van het ANAMMOXproces (ANAërobe AMMONium OXidatie) voor de behandeling van slibgistingwater. In het Anammoxproces worden onder anaërobe condities nitriet en ammonium omgezet in stikstofgas en water, zonder gebruik te maken van een additionele C-bron.

Om een Anammoxreactor goed te laten functioneren is een stabiele nitrietvoorziening noodzakelijk. Deze stabiele nitrietvoorziening kan gerealiseerd worden door partiële nitritificatie in een Sharonreactor die voor de Anammoxreactor geplaatst is. In dit onderzoek is onderzocht of dit gecombineerde Sharon/Anammoxsysteem potentie heeft voor de behandeling van slibgistingwater. Dit is uitgetest in een Sharon/Anammoxsysteem op 2 x 10 liter schaal gedurende langere periode. Het systeem werd gevoed met slibgistingwater afkomstig van het slibverwerkingsbedrijf Sluisjesdijk te Rotterdam.

In het voorafgaand haalbaarheidsonderzoek naar de toepassing van Anammox voor de behandeling van slibgistingwater [3] zijn de volgende aanbevelingen voor een procesgericht onderzoek naar voren gekomen:

- vervolgonderzoek naar het koppelen van het Anammoxproces aan een stabiele nitrietvoorziening is zeer wenselijk;
- in verband met toepassing van het Anammoxproces is onderzoek naar schaalvergroting van het Anammoxproces wenselijk.

In vervolg op het haalbaarheidsonderzoek is dit onderhavig onderzoek uitgevoerd. Het onderzoek bestond uit de navolgende onderdelen:

1. Het opstarten en stabiel bedrijven van een Sharonreactor gevoed met slibgistingwater, zodanig dat de $\text{NO}_2\text{-N} : \text{NH}_4\text{-N}$ verhouding in het effluent 1,3 : 1 is.

Na een succesvolle opstart is onderzocht hoe de ammoniumomzetting van de pH (6,5-7,5) afhangt. Daarnaast zijn parameters als de affiniteit voor ammonium en zuurstof bepaald en vergeleken met waarden uit voorgaande studies.

Een $\text{NO}_2\text{-N} : \text{NH}_4\text{-N}$ verhouding is optimaal voor Anammox, hierbij houdt men geen ammonium meer over in het effluent.

2. Het ophopen en stabiel bedrijven van een Anammoxreactor met *synthetisch afvalwater*, waarbij actief slib als entmateriaal is gebruikt.

Wanneer een Anammoxreactor op volledige schaal moet worden opgestart zijn vanwege de lage groeisnelheid van Anammoxbiomassa grote hoeveelheden entmateriaal nodig. Omdat het moeilijk is deze grote hoeveelheden op laboratoriumschaal op te kweken, is onderzoek uitgevoerd naar de mogelijkheid tot ophopen van Anammoxbiomassa uit nitrificerend actief slib. Dit is met behulp van synthetisch afvalwater gebeurd, zodat

duidelijk is geworden of het mogelijk is een dergelijke ophoping uit actief slib te bereiken.

3. Het ophopen en stabiel bedrijven van een Anammoxreactor met effluent van de Sharonreactor, waarbij actief slib als entmateriaal is gebruikt.

Op praktijkschaal zal Anammoxbiomassa niet met synthetisch afvalwater opgehoopt en opgestart kunnen worden. Dit zal mogelijk anderszins gebeuren met effluent van de Sharonreactor. Een bijkomend voordeel van het ophopen met effluent van de Sharonreactor is dat de biomassa niet geadapteerd hoeft te worden aan het afvalwater.

4. Het langdurig bedrijven van de combinatie Sharon-Anammox.

Wanneer Anammoxbiomassa is opgehoopt met behulp van effluent van de Sharonreactor, dient het systeem stabiel bedreven te worden. Zowel het Sharon- als het Anammoxproces kunnen voor een lange periode stabiel bedreven worden. De combinatie van beide processen is echter nooit gedurende lange tijd bedreven. Tijdens deze langdurige operatie zijn de benodigde parameters bepaald voor een ontwerp van een gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem op praktijkschaal. Doordat het Sharonproces zonder slibretentie werkt, zal alle nitrificerende biomassa uit het Sharonproces in de Anammoxreactor spoelen. Om de gevolgen hiervan in kaart te brengen, is onderzoek gedaan naar het effect van dit inspoelen op de processen in de Anammoxreactor.

5. Het vaststellen van de belangrijkste ontwerpparameters voor een Sharon/Anammoxsysteem op pilotschaal of volledige schaal met een economische evaluatie

De belangrijkste ontwerpparameters voor een ontwerp op volledige schaal zijn tijdens dit onderzoek vastgesteld. Daarnaast is vastgesteld welk reactortype het meest geschikt is voor een Anammoxreactor op volledige schaal. Tevens zijn de economische aspecten van het gecombineerde systeem in ogenschouw genomen.

Het rapport is als volgt opgebouwd:

- theoretische achtergrond van de twee processen;
- uitvoering van het onderzoek;
- de resultaten en discussie van het experimenteel werk;
- procesontwerp en economische haalbaarheid;
- conclusies en aanbevelingen.

2 De processen

Dit hoofdstuk beschrijft de theoretische achtergrond van zowel de twee processen afzonderlijk als de combinatie van beide systemen.

2.1 Het Sharonproces

In 1995 heeft de STOWA onderzoek laten uitvoeren naar een aantal behandelingstechnieken voor N-rijke retourstromen, zoals slibgistingwater [1]. Eén van de onderzochte behandelingstechnieken was de biologische stikstofverwijdering uit een N-rijke afvalwaterstroom met behulp van het SHARONproces (Single reactor system for High activity Ammonia Removal Over Nitrite). Het Sharonproces bestaat uit een intermitterend beluchte, continu doorstroomde, gemengde reactor zonder slibretentie.

Onder aërobe omstandigheden wordt in het Sharonproces ammonium omgezet in nitriet met behulp van ammonium-oxiderende bacteriën (nitrificatie). Dit gebeurt volgens de volgende reactievergelijking:



Wanneer er naast ammoniumoxiderende bacteriën ook nitrietoxiderende bacteriën in de reactor aanwezig zijn, vindt onder aërobe condities de volgende reactie plaats, waarbij nitriet wordt geoxideerd tot nitraat (nitrificatie):



Door een korte verblijftijd (ongeveer 1 dag) en hoge temperatuur (35 °C) worden nitrietoxideerders uitgespoeld, waardoor de Sharonreactor alleen nitriet vormt.

Voor de oxidatie van ammonium tot nitriet is 25% minder zuurstof nodig dan voor de oxidatie van ammonium tot nitraat.

Zowel nitriet als nitraat kunnen onder anoxische omstandigheden door heterotrofe denitrificeerders uit de Sharonreactor verwijderd worden (denitrificatie). Dit gebeurt volgens de volgende vereenvoudigde reactievergelijkingen:

Denitrificatie van nitriet:



Denitrificatie van nitraat:



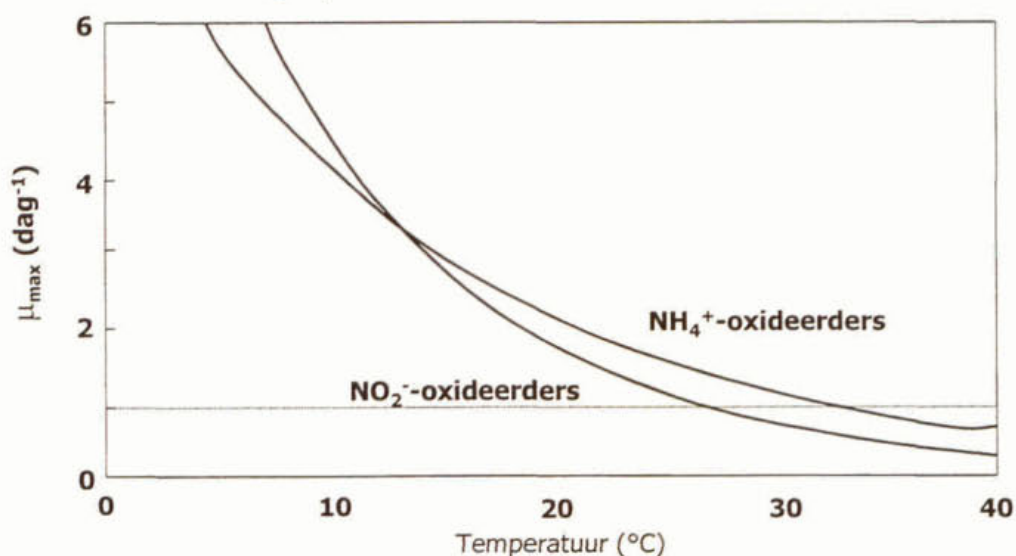
Voor de verwijdering van nitriet en nitraat is methanol of een andere organische koolstofbron nodig. Voor de denitrificatie van nitriet is 40% minder methanol nodig dan voor de denitrificatie van nitraat.

Voor de N-verwijdering via de nitrietroute in plaats van via de nitraatroute is 25% minder zuurstof en 40% minder methanol nodig.

In dit onderzoek is echter geen gebruik gemaakt van een standaard nitrificerende/denitrificerende Sharonreactor, maar van een Sharonstelsel waarin ammonium slechts deels wordt omgezet in nitriet. Het principe van het bevoordelen van ammoniumoxydeerders op slijbleeftijd blijft echter gehandhaafd. In de volgende subparagrafen wordt aan de hand van de twee belangrijkste parameters voor dit proces (temperatuur en pH) de werking van dit proces uitgelegd.

2.1.1 Temperatuur

Ammoniumoxydeerders hebben een andere temperatuurafhankelijkheid dan nitrietoxydeerders. Bij een hogere temperatuur hebben zij een kortere minimum slijbleeftijd. In de Sharonreactor zijn de leefomstandigheden voor de ammoniumoxydeerders (*Nitrosomonas species*) beter dan voor de nitrietoxydeerders (*Nitrobacter species*) omdat hierin een relatief hoge temperatuur heerst (35 °C). In figuur 1 is te zien dat bij 35 °C, de maximale groeisnelheid (μ_{\max}) voor nitrietoxydeerders ongeveer tweemaal zo laag is als voor ammoniumoxydeerders (respectievelijk 0,5 en 1 dag⁻¹). Door het opleggen van een korte hydraulische verblijftijd kunnen de nitrietoxydeerders selectief worden uitgespoeld.



Figuur 1: Het effect van de temperatuur op de maximale groeisnelheid van ammonium- en nitrietoxydeerders [4]. Bij hogere temperaturen kunnen door het opleggen van een korte verblijftijd, nitrietoxydeerders selectief uit het systeem worden uitgespoeld

2.1.2 pH

De oxidatie van ammonium naar nitriet (nitrificatie) is een verzurend proces, zoals te zien is in reactievergelijking (1). Echter deze verzurende werking wordt deels teniet gedaan door in het slibgistingwater aanwezig bicarbonaat. Bicarbonaat heeft een zuurbufferende werking. De zuurbufferende werking wordt verklaard aan de hand van de volgende reactievergelijking:



Slibgistingwater heeft een verhouding $\text{HCO}_3^- : \text{NH}_4^+$ van 1,1 : 1 [5]. Dit heeft tot gevolg dat bij een omzetting van ongeveer 50% NH_4^+ vrijwel alle HCO_3^- is opgebruikt. Wanneer de helft van het vrij aanwezige ammonium is omgezet, zal de pH dus gaan dalen. Wanneer de pH is gedaald tot beneden ongeveer 6,5, zal de ammoniumoxidatie niet verder voortgezet worden, omdat er een pH-afhankelijk evenwicht heerst tussen de concentratie NH_3 en NH_4^+ . In feite wordt alleen NH_3 als substraat gebruikt door de ammoniumoxideerders. Het evenwicht tussen NH_3 en NH_4^+ verloopt volgens de volgende reactievergelijking:



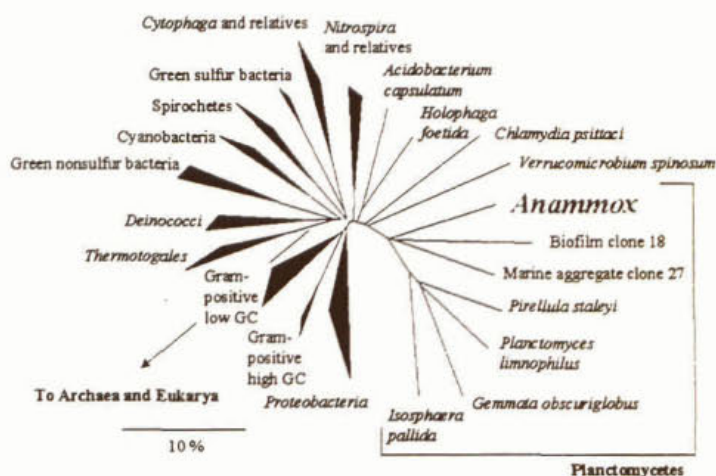
Bij een te lage pH (< 6,5) verschuift het evenwicht te veel naar links en is er te weinig stikstof in de vorm van ammonia (NH_3) in het afvalwater aanwezig. Wanneer de pH te ver daalt is er in feite te weinig vrij substraat in het water aanwezig om de ammoniumoxideerders goed te laten groeien.

Echter door aanvoer van vers afvalwater (met bicarbonaat) zal de pH stijgen en zal er weer genitrificeerd worden. Omdat de Sharonreactor continu doorstroomd wordt, zal er uiteindelijk een stabiele toestand ontstaan (steady state), waarbij ongeveer de helft van het aangevoerde ammonium wordt omgezet in nitriet. Wanneer een Sharonreactor wordt bedreven om zowel te nitrificeren als te denitrificeren, zorgt de denitrificatie voor productie van HCO_3^- , waardoor de buffercapaciteit weer vergroot wordt en de pH dus stijgt. Voor dit onderzoek wordt de Sharonreactor echter alleen gebruikt om het aangeboden ammonium voor 50% in nitriet om te zetten. Daarom is loog- of zuurdosering niet nodig.

2.2 Het Anammoxproces

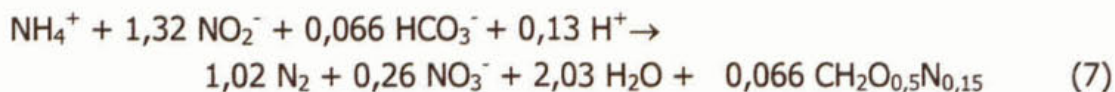
Anammox is een biologisch proces voor de verwijdering van ammonium uit afvalwater, waarbij onder anaërobe omstandigheden ammonium met behulp van nitriet als elektronenacceptor wordt omgezet naar stikstofgas. Omdat het Anammoxproces autotroof is, kan een volledige omzetting van ammonium

naar stikstofgas worden gerealiseerd zonder toevoeging van methanol of BZV. Gezien de hoge potentiële capaciteit van het proces ($2,6 \text{ kg N}_{\text{tot}}/\text{m}^3_{\text{reactor}}/\text{dag}$) [9], leent het Anammoxproces zich voor ontwerp in compacte installaties [3] (vergelijk N- belasting actiefslibstelsysteem: ongeveer $0,1 \text{ kg N}_{\text{tot}}/\text{m}^3_{\text{reactor}}/\text{dag}$). De groeisnelheid van Anammoxbacteriën is laag (verdubbelingstijd = 11 dagen). Een groot voordeel hiervan is dat er weinig overtollig bacterieslib gevormd wordt. Een nadeel is dat een lange aanlooptijd voor de opstart van het Anammoxproces verwacht kan worden. Recentelijk is het organisme dat verantwoordelijk is voor het Anammoxproces geïdentificeerd als een nieuwe tot nu toe onbekende, planctomyceet-achtige bacterie [6]. De afstamming van het organisme in het cluster van de planctomyceten is te zien in figuur 2.



Figuur 2: Stamboom van de planctomyceetachtige bacterie verantwoordelijk voor het Anammoxproces.

Sinds geruime tijd worden er op de afdeling biotechnologie van de Technische Universiteit Delft Anammoxreactoren (als Sequentiële Batch Reactoren) bedreven. Deze Anammoxreactoren worden gevoed met een synthetisch afvalwater, waarin zich $420 \text{ mg NO}_2^- \text{-N/l}$ en $420 \text{ mg NH}_4^+ \text{-N/l}$ bevindt. NO_2^- wordt in deze reactoren voor 100% verwijderd, NH_4^+ voor ruim 80%. De stoichiometrie in de Anammoxreactie is weergegeven in de volgende reactievergelijking [7]:



De omzetting van ammonium vindt plaats zonder aanwezigheid van een organische C-bron (maar wel HCO_3^- , dat als C-bron dienst doet) en onder anoxische omstandigheden. De bacteriën gebruiken het aanwezige ammonium als elektronendonor om nitriet om te zetten in stikstofgas. Een

klein deel van het nitriet moet geoxideerd worden naar nitraat om electronen vrij te maken die nodig zijn voor celgroei.

Zoals in reactie 7 te zien is, moeten ammonium en nitriet ongeveer in een verhouding van 1 : 1,3 in het afvalwater voorkomen. Deze verhouding van ammonium en nitriet kan met behulp van het Sharonproces uit slibgistingwater gevormd worden.

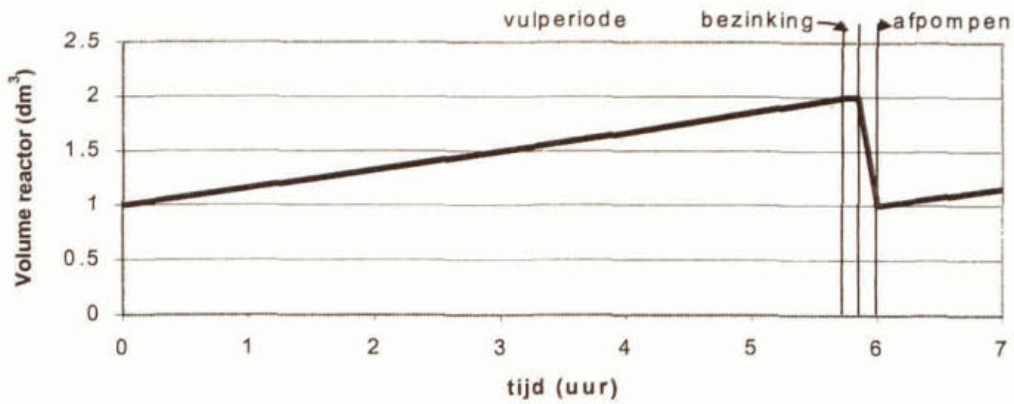
Bij het voorgaande STOWA-onderzoek naar de toepasbaarheid van het Anammoxproces voor de behandeling van slibgistingwater zijn als belangrijkste conclusies naar voren gekomen:

- het Anammoxproces lijkt goed bruikbaar om ammonium uit slibgistingwater te verwijderen;
- het temperatuur- en pH-optimum van het Anammoxproces liggen binnen de gevonden waarden voor slibgistingwater. Enige voorzorg om te grote afkoeling te voorkomen is gewenst;
- verschillende reactorconfiguraties kunnen worden toegepast voor de omzetting van ammonium door het Anammoxproces;
- met een fluïde-bedreactor kunnen hoge stikstofbelastingen worden toegepast, de sequencing-batchreactor is echter eenvoudiger en stabiel in de bedrijfsvoering.

2.2.1 Reactoruitvoering

In het verleden zijn verschillende reactorconfiguraties getest om het Anammoxproces uit te voeren. Enkele hiervan waren de fixed- en fluïde-bed reactor [3]. Bij dit onderzoek is de Anammoxreactor echter niet als fixed- of fluïde-bedreactor uitgevoerd, maar als Sequencing Batch Reactor (SBR). Voor deze optie is gekozen omdat gebleken was dat een Anammox SBR gedurende lange periode stabiel bedreven kan worden en met dit reactortype hoge stikstofomzettingen gerealiseerd kunnen worden [7].

In tegenstelling tot de Sharonreactor (chemostaat), wordt de Anammox SBR niet continu maar cyclisch bedreven. Eén cyclus bestaat uit drie fasen: vulfase, bezinkfase en afpompfase. In figuur 3 staat schematisch zo'n cyclus weergegeven.



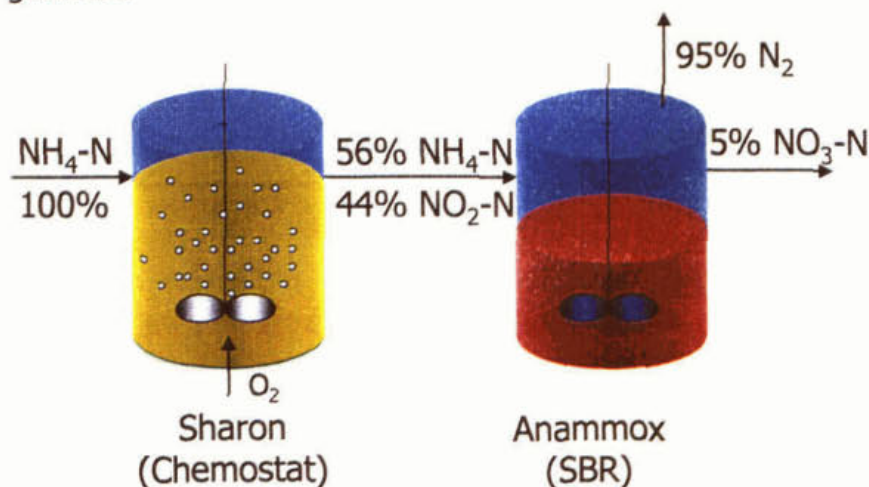
Figuur 3: Schematische weergave van SBR cyclus van 6 uur.

2.3 De combinatie Sharon/Anammox

In eerder onderzoek heeft een gecombineerd Sharon/Anammox systeem gedraaid, waarbij de Anammoxreactor als fluïde-bedreactor was uitgevoerd [8]. Bij deze proefopstelling is gebleken dat het mogelijk is slibgistingswater te behandelen met dit systeem.

Een Sharonreactor zonder pH-controle werd met slibgistingswater gevoed met een belasting van $1,2 \text{ kg N}_{\text{tot}}/\text{m}^3_{\text{reactor}}/\text{dag}$. Het ammonium werd voor 53% omgezet in nitriet (39%) en nitraat (14%), zodat het effluent een mengsel van ammonium/nitriet van 1,3 : 1 bevatte. Dit effluent werd gebruikt als influent voor de Anammox fluïde-bedreactor. In de Anammoxreactor werd alle nitriet verwijderd en bleef een rest ammonium over. Gedurende de testperiode werd ammonium voor 83% uit het slibgistingswater verwijderd met behulp van het gecombineerde systeem.

Bij dit onderzoek werd de Anammoxreactor uitgevoerd als Sequencing Batch Reactor (zie § 2.2.1). In figuur 4 staat in het kort het principe van de gecombineerde Sharon-Anammoxconfiguratie weergegeven. In dit onderzoek is het gecombineerde systeem gedurende lange periode operationeel geweest.



Figuur 4: Schematische weergave van het gecombineerde Sharon/Anammoxsysteem

3 Uitvoering

In dit hoofdstuk staat omschreven hoe de verschillende reactoren zijn opgebouwd en welke bepalingen er zijn uitgevoerd. De eerste paragraaf zal de uitvoering van het Sharonproces uit dit onderzoek beschrijven. Hierbij zullen tevens de verschillende procescondities en experimenten beschreven worden. De tweede paragraaf behandelt de opbouw, opstart en procescondities van de verschillende Anammoxreactoren en de uitgevoerde experimenten. Paragraaf 3 beschrijft de procescondities van het gecombineerde Sharon/Anammoxsysteem en de bijbehorende bepalingen.

3.1 Het Sharonproces

Voor dit onderzoek is een Sharonreactor opgestart op 10 liter schaal. In de volgende subparagrafen worden achtereenvolgens de opbouw van de reactor, de procescondities en de analyses en experimenten met deze reactor beschreven.

3.1.1 Opbouw van de reactor

Deze paragraaf bestaat uit een beschrijving van de verschillende materialen voor de opbouw en opstart van een 10 liter Sharonreactor (chemostaat) welke gevoed is met slibgistingswater van het slibverwerkingsbedrijf Sluisjesdijk. De gemiddelde samenstelling van dit water staat weergegeven in tabel 1.

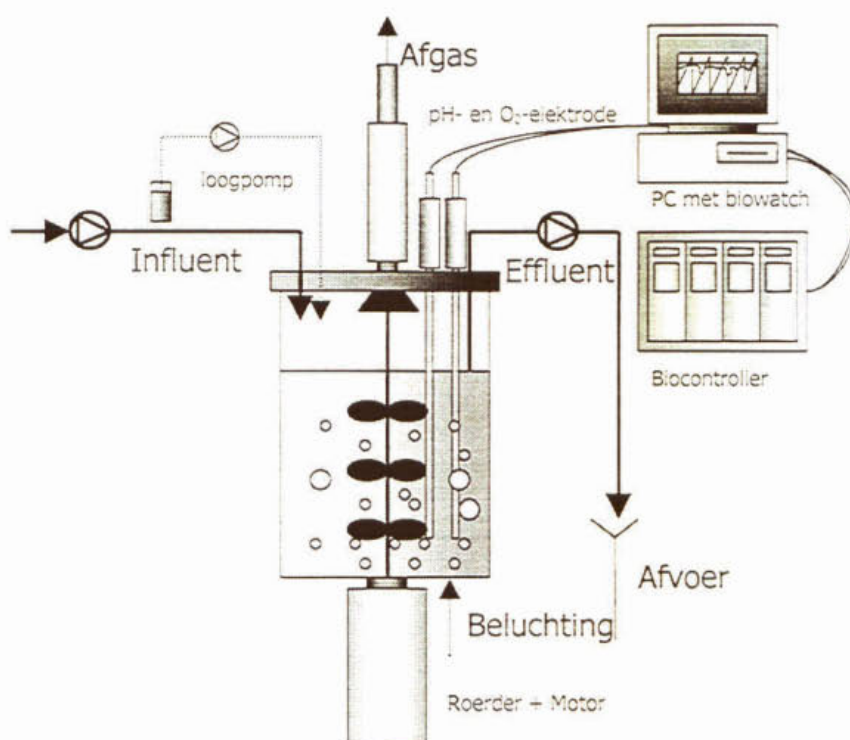
Tabel 1: Gemiddelde samenstelling van rejectiewater op Sluisjesdijk

Component	Concentratie
CZV	1184 (mg O ₂ /l)
BZV	230(mg/l)*
Totaal N	1605 (mg/l)
NH ₄ -N	1156 ± 160 (mg/l)
Totaal P	12(mg/l)
Totaal zwevende delen	56(mg/l)*
NO ₂ ⁻ N	<1(mg/l)
HCO ₃ ⁻	5100(mg/l)
pH	8,1-8,4

* Deze waarden zijn niet voor dit onderzoek bepaald, maar afkomstig uit een eerder onderzoek. Het is te verwachten dat deze waarden niet veel afwijken van de huidige waarden daar in de andere bij dit onderzoek bepaalde waarden ook geen grote verschillen zijn waargenomen.

Zoals te zien is in tabel 1 bevat dit slibgistingswater relatief hoge concentraties ammoniumstikstof. De reactor was beënt met 4 liter retourslib

uit de nitrificerende B-trap van de RWZI Dokhaven te Rotterdam. De proefopstelling werd opgebouwd volgens het schema in figuur 5.



Figuur 5: Schematische weergave van de gebruikte Sharonreactor

3.1.2 Procescondities van de Sharonreactor

De Sharonreactor is gedurende de gehele onderzoeksperiode bedreven bij een temperatuur van 35 °C. In de beginperiode is de hydraulische retentietijd (HRT) ingesteld op 2 dagen; nadat de nitritificatie op gang kwam is de HRT verlaagd tot 1 dag. Door de combinatie van (ammoniumrijk) slibgistingswater als substraat en de korte verblijftijd zijn snelgroeiende ammoniumoxideerders uit het nitrificerend B-trap slib geselecteerd. In een later stadium is de HRT verhoogd in verband met ingelaste anaërobe perioden ter voorkoming van protozoënbloei in de reactor. Met regelmaat is de wandgroei in de reactor opnieuw in suspensie gebracht. Uiteindelijk is naast een loogdosering ook een zuurdosering aan het reactorsysteem toegevoegd, zodat de pH op iedere gewenste waarde ingesteld kon worden.

3.1.3 Analyses en experimenten

Componenten

Tijdens de onderzoeksperiode zijn minimaal drie maal per week steekmonsters genomen van zowel influent als effluent. De monsters zijn 3 minuten gecentrifugeerd bij 13.000 toeren per minuut. Hiervan zijn de $\text{NH}_4\text{-N}$ - en de $\text{NO}_2\text{-N}$ -concentraties bepaald. Ammonium (+ ammonia) is colorimetrisch bepaald bij 623 nm volgens de methode van Fawcett & Scott. Nitrietstikstof is colorimetrisch bepaald bij 540 nm volgens de methode van Griess Romijn van Eck.

Met behulp van teststrips van Merck is dagelijks semi-kwantitatief het nitrietgehalte in de reactor bepaald.

Tijdens het begin van de onderzoeksperiode is met regelmaat het anorganisch koolstofgehalte van influent en effluent van de Sharonreactor bepaald met behulp van een TOC-analyser.

pH en omzettingsgraad

Vanwege de verschuiving van het evenwicht tussen NH_3 (het feitelijke substraat voor de ammoniumoxideerders) en NH_4^+ bij verschillende pH-waarden, is onderzocht in welke mate ammonium geoxideerd wordt bij verschillende (verhoogde) pH-waarden. Door middel van dosering van 4 M NaOH is de pH-waarde in de reactor telkens enkele tienden verhoogd. Er is van uitgegaan dat het systeem na vier dagen gestabiliseerd was bij de ingestelde pH. Na deze periode is de ammoniumconversie bij de gestelde pH op dat moment bepaald.

Respirometrie

Om inzicht te krijgen in het omzettingsgedrag van het nitrificerend slib zijn respirometingen verricht. De respirometingen zijn uitgevoerd met een BOM-meter (Biological Oxygen Monitor). Een BOM-meter bestaat uit een van de buitenlucht afgesloten vaatje waarin de opgeloste-zuurstofconcentratie wordt gemeten.

Voor de meting is het slib eerst 'gewassen' met een fosfaatbuffer (20 mM KH_2PO_4 en 200 mM NaCl) waarvan de pH met behulp van HCl en NaOH op de gewenste waarde ingesteld was. Dit wassen moet ervoor zorgen dat alle zuurstofverbruikende substraten (onder andere BZV, CZV en NH_4^+) van het bacterieslib gescheiden worden. Het wassen is uitgevoerd door het monster gedurende 10 minuten te centrifugeren. Vervolgens is de bovenstaande vloeistof afgegoten. Het achtergebleven slib is daarna geresuspendeerd in fosfaatbuffer om hierna opnieuw gecentrifugeerd te worden. De bovenstaande vloeistof is wederom afgegoten. Hierna is het slib weer in een

nieuwe hoeveelheid fosfaatbuffer geresuspendeerd en was het gereed voor meting.

Het gewassen slib werd verzadigd met zuurstof bij 35 °C door beluchting met perslucht. Tevens is voor en na elke meting de pH-waarde gemeten. Een verandering van de pH tijdens de meting zou foutieve waarden opleveren.

De opgeloste-zuurstofconcentratie in de respirometer is geregistreerd door een PC, waarop op ieder tijdstip tijdens het experiment de opgeloste-zuurstofconcentratie afgelezen kon worden. Aan de hand van de helling van de zuurstofafname is de zuurstofopnamesnelheid bepaald. Wanneer de verschillende zuurstofopnamesnelheden uitgezet worden tegen de bijbehorende substraatconcentraties, wordt een omzettingcurve verkregen. Hieruit is de affiniteits- of verzadigingsconstante (K_s) te bepalen. (K_s = de substraatconcentratie waarbij de helft van de maximale omzettingssnelheid bereikt wordt).

De affiniteit voor ammonium is bepaald door tijdens de experimenten met een lange dunne naald bekende hoeveelheden ammonium toe te voegen. Aan de hand van de zuurstofverbruikssnelheid is met behulp van een spreadsheet terugberekend hoeveel ammonium er per tijdseenheid omgezet is, bij een bepaalde concentratie. De waarden van de ammonium- en zuurstofopnamesnelheden zijn ingevoerd in het fitprogramma Grafit 3.0 (Erithacus Software, UK), waarmee de opnamesnelheidscurven met behulp van niet-lineaire regressie zijn gemaakt. Hieruit zijn de affiniteitsconstanten en de maximale respiratiesnelheden bepaald.

Behalve de affiniteit voor ammonia is ook de eventuele remming van nitriet op de ammoniumomzettingssnelheid bepaald.

Het bicarbonaatgehalte

Om te controleren of ammonium en bicarbonaat in een verhouding van 1 : 2 omgezet worden, zijn nadat de Sharonreactor stabiel functioneerde gedurende 2 maanden wekelijks de bicarbonaatconcentraties bepaald in steekmonsters van het influent en het effluent van de Sharonreactor. De bicarbonaatconcentraties zijn gemeten met een TOC-analyser.

Het is niet bekend of er een verminderde nitrificatie plaatsvindt wanneer CO_2 uit het afvalwater gestript wordt. CO_2 kan uit het afvalwater gestript worden door bijvoorbeeld diffusie. Wanneer CO_2 uit het afvalwater gestript is verdwijnt ook het bicarbonaat. Hierbij worden zuurequivalenten aan het afvalwater onttrokken en zal de pH-waarde stijgen volgens de volgende reactievergelijking:



Wanneer het bicarbonaat uit het afvalwater gestript wordt, voordat het de reactie aangaat met ammonium, stijgt de pH. Deze pH-stijging wordt echter weer teniet gedaan door de oxidatie van ammonium waarbij zuurequivalenten vrijkomen. De totale zuurbufferende werking blijft dus gelijk.

Karakterisering van het slib

Met behulp van de **FISH**-analyse (**F**luorescentie **I**n **S**itu **H**ybridisatie) kunnen specifieke bacteriesoorten of -groepen onder een fluorescentiemicroscop zichtbaar gemaakt worden, zodat de aanwezigheid en de hoeveelheid van een bepaalde bacteriesoort in een slibmengsel bekend worden.

Moleculair onderzoek op het Kluiverinstituut heeft aangetoond dat de oxidatie van ammonium in de Sharonreactor door de bacteriesoort *Nitrosomonas eutropha* wordt uitgevoerd [10].

Met behulp van FISH-analyses is aangetoond of deze bacteriesoort ook in de gebruikte Sharonreactor voorkomt. Het principe van de FISH-techniek berust op hybridisatie van een gelabelde probe met het specifieke gedeelte op het 16S RNA van een bacterie. Een probe (chemisch gesynthetiseerde oligonucleotide) bestaat uit 15 tot 30 nucleotides (basen). De probe is gelabeld met een fluorescerende kleurstof. De cellen van de te onderzoeken bacteriesoort die gehybridiseerd zijn met de probe kunnen hierdoor worden waargenomen onder de fluorescentiemicroscop.

Voor dit onderzoek is de biomassa uit de Sharonreactor met FISH geanalyseerd en gecontroleerd op de aanwezigheid van nitrificeerders en ook specifiek op *Nitrosomonas species* en/of *Nitrosoccus species*.

Invloed van anaërobie op nitrificeerders

Tijdens het onderzoek zijn in de Sharonreactor protozoën waargenomen, die de reactor 'leeggraasden'. Hierdoor trad een verminderde nitritificatie in de reactor op. Eén van de maatregelen om protozoënbloei tegen te gaan is het intermitterend beluchten van de Sharonreactor. Echter bij een gelijke aërobe verblijftijd als bij continue beluchting kwam de nitritificatie minder goed op gang. Om vast te stellen of de ammoniumoxideerders nadelige effecten ondervinden van anaërobe perioden, is de nitritificatie-capaciteitsafname bepaald van nitrificerende biomassa tijdens een anaërobe periode. De proef is uitgevoerd met biomassa uit de Sharonreactor van het slibverwerkingsbedrijf Sluisjesdijk.

Tijdens deze periode is de reactor op een temperatuur van 35 °C gehouden zonder beluchting en is tevens een vat met 50 liter reactorinhoud apart gezet, waarin de temperatuur werd verlaagd tot 5 °C. Met nitritificatie-

capaciteitsproeven is bepaald of er verschillen zijn bij verschillende temperaturen. Om de nitritificatie-capaciteit te bepalen, is een meetvat van 500 ml met Sharonreactorinhoud bij 35 °C belucht. Aan dit vat is een pulsdosering ammonium gegeven, zodanig dat de concentratie $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 350 mg/l was. Om de 10 minuten zijn monsters geanalyseerd op $\text{NH}_4^+\text{-N}$ en $\text{NO}_2^-\text{-N}$. Tijdens het experiment zijn de pH-waarde, de opgeloste-zuurstofconcentratie en de temperatuur geregistreerd. Hetzelfde experiment is na 3 en 6 dagen weer uitgevoerd, zodat vastgesteld kon worden hoe snel de nitritificatiecapaciteit afneemt.

3.2 Het Anammoxproces

Wanneer een Anammoxreactor op praktijkschaal wordt opgestart, zijn grote hoeveelheden entmateriaal nodig. Een mogelijkheid om deze grote hoeveelheden te verkrijgen is het kweken van biomassa in reactoren op laboratoriumschaal. Een betere oplossing is het ophopen van Anammoxbiomassa met slibgistingswater uit bijvoorbeeld actief slib (wat altijd in voldoende voorraad aanwezig is), zodat grote hoeveelheden entmateriaal uit het laboratorium niet nodig zijn. Een bijkomend voordeel is dat adaptatie van de biomassa aan het afvalwater niet nodig is.

Om te achterhalen of het mogelijk is Anammoxbiomassa op te hopen uit actief slib zijn twee 2 liter ophopingsreactoren (als SBR) opgestart. Deze ophopingsreactoren zijn opgestart met synthetisch afvalwater. In een later stadium is een Anammox ophopingsreactor op 10 liter schaal opgestart waarbij geen synthetisch afvalwater maar effluent van de Sharonreactor als influent is gebruikt, zoals dit ook op volledige schaal zou moeten gebeuren.

In deze paragraaf staat omschreven hoe de verschillende ophopingsreactoren opgebouwd zijn, wat de bijbehorende procescondities zijn geweest en welke analyses en experimenten hierbij zijn uitgevoerd.

3.2.1 Opbouw van de reactoren

Zoals in het voorgaande omschreven, zijn in eerste instantie twee 2 liter reactoren opgebouwd om vast te stellen of het mogelijk is Anammoxbiomassa uit actief slib op te hopen. De reactoren zijn opgestart met ingedikt (nitrificerend) B-trap slib van de RWZI Dokhaven te Rotterdam. Er is gekozen voor B-trap slib omdat hier ammonia via nitriet naar nitraat wordt omgezet, hetgeen de kans op aanwezigheid van Anammox in de B-trap ten opzichte van in de A-trap vergroot.

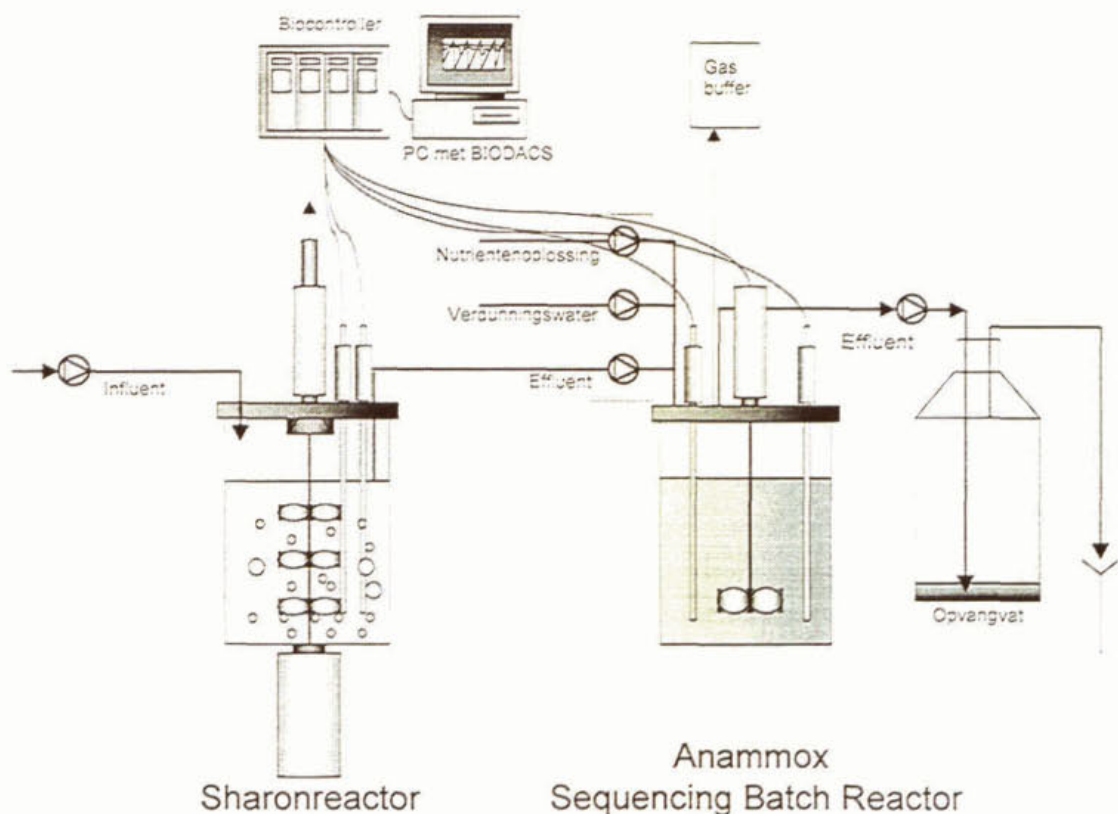
Aan één van de twee reactoren is 20 μl Anammox slib (1: 100.000 van de maximale reactorinhoud) toegevoegd als controle voor de ophopingsmethodiek. De twee ophopingsreactoren zijn beide uitgevoerd als SBR met

een inhoud van 2 liter. Ze zijn aangestuurd door een PC met behulp van het programma Biodacs.

Na voldoende verrijking met Anammoxbiomassa, is bij één van de ophopingsreactoren (SBR 1; zonder extra ent van Anammoxcellen) geleidelijk het synthetisch afvalwater vervangen door effluent van de Sharonreactor. SBR 2 is de gehele onderzoeksperiode met synthetisch afvalwater gevoed.

Op volledige schaal is het onmogelijk Anammoxbiomassa op te hopen met behulp van synthetisch afvalwater. Er zal dan gebruik gemaakt moeten worden van effluent van de Sharonreactor. Een derde ophopingsreactor (SBR) met een maximaal volume van 10 liter is gevoed met verdund effluent van de Sharonreactor waaraan een nutriënten- en nitraatoplossing is toegevoegd. Deze 10 l ophopingsreactor is geïnoculeerd met biomassa van de RWZI Boskoop en de RWZI Reeuwijk Randenburg. De eerstgenoemde zuivering is van het oxidatiebedtype. In dit systeem wordt ammonium gedeeltelijk genitrificeerd. Dit in combinatie met een lange slibleeftijd verhoogt mogelijk de kans op de aanwezigheid van Anammoxcellen in de biomassa. De tweede zuivering is een actiefslibinstallatie met voordennitrificatie en een slibleeftijd van circa 15 dagen. Tevens is aan het slibmengsel 100 µl Anammoxbiomassa toegevoegd (1:100.000 van het maximale reactorvolume), afkomstig uit de 2-liter ophopingsreactor, waaraan nooit een ent van verrijkte Anammoxbiomassa is toegevoegd. De bijent is toegevoegd, omdat op het moment van opstarten niet bekend was of dit een eventueel versnellend effect zou hebben.

De reactor is aangestuurd en geregistreerd op pH- en redoxverloop door een PC met behulp van het programma Biodacs. De volledige installatie (Sharon/Anammox) is opgebouwd volgens het schema in figuur 6.



Figuur 6: schematische weergave van de gebruikte ophopingopstelling waarin Anammox met behulp van effluent van de Sharonreactor is opgehoopt

3.2.2 Procescondities

Ophoping van Anammoxbiomassa met synthetisch afvalwater

Tijdens het opstarten zijn de reactoren gevoed met een synthetisch afvalwater (10 mM NaNO_3 ; 1 mM $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (2 mM NH_4^+); 12,5 mM KHCO_3 ; 0,15 mM KH_2PO_4 ; 2 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,9 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,05 mM $\text{FeSO}_4/\text{EDTA}$; 25 ml sporenoplossing). Belangrijk is dat dit synthetisch afvalwater voldoende nitraat bevat om sulfaatreductie te voorkomen. Bij sulfaatreductie komt voor Anammoxbacteriën namelijk het toxische sulfide vrij. Om de groei van Anammoxcellen te versnellen is, na waarneming van Anammoxactiviteit, in het synthetisch afvalwater de ammoniumconcentratie geleidelijk verhoogd tot 15 mM en de hoeveelheid nitraat verlaagd tot 0 mM. Tegelijkertijd is een oplopende hoeveelheid nitriet toegevoegd. In eerste instantie is nitriet toegevoegd door in de influentslangen een stuk zuurstofdoorlatende siliconenslang te plaatsen. Hierdoor werden in de toevoer kleine hoeveelheden nitriet gevormd. Later is de siliconenslang weer vervangen door zuurstofdichte slang en is nitriet aan het synthetisch afvalwater toegevoegd tot de concentratie 15 mM was. Het synthetisch afvalwater is met een debiet van 4 liter per dag aan de reactoren toegevoegd. De SBR's zijn met 4 cycli per dag bedreven, waarbij de bezink- en afpomptijd

waren ingesteld op respectievelijk 6 en 9 minuten. Met regelmaat zijn monsters genomen van 10 ml welke zijn ingevroren ten behoeve van drogestofbepaling. Om de twee of drie dagen is het ammonium- en nitrietgehalte colorimetrisch bepaald. De reactoren zijn anaëroob gehouden met behulp van een Argon/CO₂ gasmengsel (synthetisch afvalwater bevat geen zuurstofconsumerende organismen). Dit gasmengsel voorkomt tevens een te sterk oplopende pH-waarde. De roerdersnelheid in de twee 2 liter reactoren was 150 toeren per minuut. Nadat in beide reactoren een stikstofomzetting van 1 kg N_{tot}/m³_{reactor}/dag is bereikt, is het aantal cycli gehalveerd van 4 naar 2 en het debiet verlaagd van 4 naar 2 liter per dag. Daarnaast zijn de concentraties NH₄⁺ en NO₂⁻ verdubbeld van 15 naar 30 mM, zodat de totale stikstofbelasting van beide reactoren gelijk bleef. Dit is gedaan omdat de concentraties aan ammonium en nitriet in slibgistingwater doorgaans dicht bij 30 mM liggen dan bij 15 mM.

Ophoping van Anammoxbiomassa met effluent van de Sharonreactor

Tijdens de opstart is de reactor gevoed met effluent van de Sharonreactor. Dit effluent is verdund zodat de nitrietconcentratie < 70 mg N/l was. Tevens is hieraan een geconcentreerde nutriëntenoplossing (10 mM NaNO₃; 12,5 mM KHCO₃; 0,15 mM KH₂PO₄; 2 mM CaCl₂·7H₂O; 1,9 mM MgSO₄·7H₂O; 0,05 mM FeSO₄/EDTA; 1,25 ml/l sporenoplossing) toegevoegd. De hoeveelheid effluent van de Sharonreactor die aan de reactor werd toegevoegd is geleidelijk verhoogd. Het totale influentdebiet bedroeg tijdens de opstart 10 l/dag bij 4 cycli per dag, waarbij het maximale volume van de reactor 7 liter bedroeg. De bezinktijd en de afpomptijd waren ingesteld op respectievelijk 12 en 6 minuten. Er is bij de gebruikte opstelling geen gebruik gemaakt van een gas om de Anammoxreactor anaëroob te houden omdat de uit de Sharonreactor spoelende nitrificeerders het eventueel resterende O₂ opmaken. Hogere pH-waarden dan 8 werden gecorrigeerd met 2 M H₂SO₄. In eerste instantie is de roerdersnelheid ingesteld op 130 toeren per minuut, in een later stadium bleek de groei van Anammoxbiomassa beter te verlopen bij een toerental van 65 toeren per minuut, omdat teveel turbulentie in de reactor nadelig bleek te werken op de groei van Anammoxbiomassa.

3.2.3 Analyses en experimenten

Analyses

Drie maal per week zijn de NH₄⁺-N- en NO₂⁻-N-concentraties in het influent en in de reactoren bepaald. Daarnaast zijn bijna wekelijks monsters van 10 ml genomen en ingevroren ten behoeve van een drogestofbepaling.

Activiteitstesten

Activiteitstesten zijn uitgevoerd in stabiel draaiende reactoren om de maximale omzettingssnelheid vast te stellen. Voor dit experiment zijn de pompen stilgezet en is aan de reactoren 2 mM anaëroob gemaakte NO_2^- -oplossing toegevoegd. Ammonium was nog aanwezig in de reactoren vanwege nitrietlimitatie. Om de vijf minuten zijn monsters genomen waarvan de concentraties NH_4^+ -N, NO_2^- -N en NO_3^- -N zijn bepaald. Tevens is het drooggewicht in de reactor op dat moment bepaald zodat de specifieke omzettingssnelheid vastgesteld kon worden.

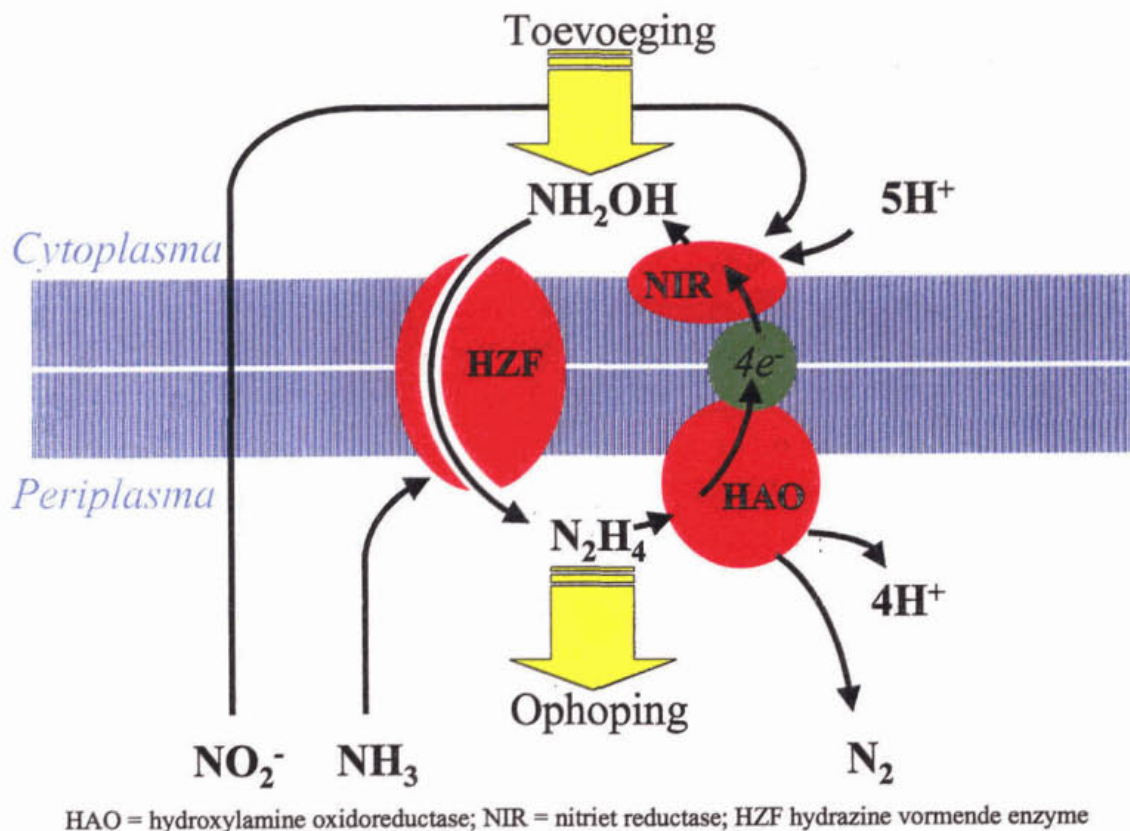
Testen met hydroxylamine (NH_2OH)

Hydrazine (N_2H_4) is een uniek intermediair in het Anammoxproces: voor zover bekend komt in geen enkel ander biologisch proces deze stof voor. De productie van hydrazine uit hydroxylamine in een reactorsysteem is een prima methode om actieve Anammoxbiomassa aan te tonen. Aërobe ammoniumoxideerders zetten hydroxylamine om naar nitriet als er voldoende zuurstof aanwezig is of naar NO en N_2O wanneer er geen zuurstof aanwezig is. Deze laatste omzetting verloopt echter minstens 50 maal langzamer dan het Anammoxproces. Om actieve Anammoxbiomassa aan te tonen is het volgende experiment uitgevoerd. Wanneer hydroxylamine in het systeem wordt gebracht, zet het hydrazinevormend enzym (HZF) dit om in hydrazine. Het gevormde hydrazine wordt door hydroxylamine-oxidoreductase (HAO) geoxideerd tot stikstofgas waarbij vier protonen en vier elektronen vrijkomen. Wanneer er nitriet in het systeem is, worden deze vier elektronen met nitriet door het nitrietreductase-enzym (NIR) omgezet in hydroxylamine. Maar aangezien er geen nitriet in het systeem is (Anammox draait onder NO_2^- limitatie), moeten de elektronen op een andere manier het systeem uit. Dit gebeurt waarschijnlijk doordat hydrazine gedisproportioneerd kan worden tot ammonia en stikstofgas volgens de volgende reactievergelijking:



Het uiteenvallen van hydrazine verloopt langzamer dan het vormen ervan uit hydroxylamine, en dus zal zich in eerste instantie hydrazine in het systeem ophopen. Doordat hydrazine uiteenvalt in ammonia en stikstofgas zal er een stijging van de ammoniacconcentratie verwacht worden in de reactor. Bovenstaande tekst staat in het reactiemechanisme van figuur 7 weergegeven.

Voor dit experiment zijn de influentpompen stilgezet en is een puls anaëroob gemaakt hydroxylamine aan beide reactoren toegevoegd zodat de concentratie 1 mM was. Om de 5 minuten zijn monsters uit de reactor genomen en geanalyseerd op NH_2OH , N_2H_4 en NH_4^+ .



Figuur 7: Mogelijk omzettingsmechanisme van het Anammoxproces

Slibkarakterisering met behulp van Fluorescentie In Situ Hybridisatie (FISH)

Met behulp van de FISH-techniek is het mogelijk in een zeer vroeg stadium vast te stellen of er (onder andere) Anammoxbacteriën in de biomassa aanwezig zijn. Verder is het mogelijk de groei en ontwikkeling van biomassa te volgen en te visualiseren met deze microscopische techniek.

Met FISH is onderzocht of de Anammoxbacteriën in de ophopingsreactoren, dezelfde zijn als die in de oorspronkelijke 'Delftse' Anammoxreactoren. Hiertoe zijn FISH-analyses uitgevoerd met een twaalfstal verschillende specifieke probes op biomassa uit de ophopingsreactoren en de oorspronkelijke 'Delftse' Anammoxbiomassa. Wanneer een probe wel reageert met de ene Anammoxcel en niet met de andere kan het goed mogelijk zijn dat het om een andere Anammoxsoort gaat.

Na voeding van reactor 1 met geoxideerd slibgistingwater is met behulp van de FISH-techniek het 'lot' van de in de reactor spoelende nitrificeerders vastgesteld. Hiervoor zijn monsters gefixeerd van het influent van de reactor, de reactorinhoud en het effluent van de Anammoxreactor. Aan de hoeveelheid nitrificeerders in de biomassa van de verschillende preparaten is te zien of de nitrificeerders zich in de reactor handhaven of uitspoelen.

Invloed van nitrificeerders op Anammox

Doordat het Sharonproces zonder slibretentie werkt zal alle nitrificerende biomassa in de Anammoxreactor onder anaërobe condities terechtkomen. De invloed van de ammoniumoxideerders op het Anammoxproces is niet bekend. Om de invloed van ammoniumoxideerders op het Anammoxproces vast te stellen, is een afstervingsproef uitgevoerd. Hiertoe is nitrificerend slib gewassen en geïncubeerd met celvrij Anammoxeffluent. De bacteriesuspensie is verdeeld over een twintigtal potjes en anaëroob gemaakt. Gedurende een periode van 10 weken zijn deze potjes bewaard bij 32 °C. Om de twee weken is de aërobe activiteit en het aantal levende en dode cellen bepaald. Het bepalen van het aantal levende en dode cellen is met een levend/doodkleuring microscopisch bepaald. De aërobe activiteit is met behulp van een BOM-meter bepaald. Uit de afname van de activiteit of afname van het aantal levende cellen is een afstervingscurve te maken waaruit de afstervingsnelheid is te bepalen.

3.3 De combinatie Sharon/Anammox

Er zijn tijdens de onderzoeksperiode twee gecombineerde Sharon/Anammoxsystemen operatief geweest. Het eerste gecombineerde systeem had een Anammoxbiomassa die was opgehoopt met behulp van synthetisch afvalwater totdat de gewenste stikstofbelasting was bereikt, waarna het synthetisch afvalwater geleidelijk werd vervangen door effluent van de Sharonreactor.

Het tweede gecombineerde systeem is direct gestart met verdund effluent van de Sharonreactor waaraan tijdens de ophoping een nutriëntenoplossing met nitraat is toegevoegd. Nadat voldoende Anammoxbiomassa opgehoopt was, is de nutriëntenoplossing met nitraat geleidelijk weggelaten, zodat de Anammoxreactor uiteindelijk uitsluitend met het effluent van de Sharonreactor gevoed werd.

3.3.1 Procescondities

Bedrijfsvoering van de met synthetisch afvalwater bedreven Anammoxreactor met effluent van de Sharonreactor als influent

Na het bereiken van een stabiele toestand in de Anammoxreactor met synthetisch afvalwater (N-belasting van $1 \text{ kg N}_{\text{tot}}/\text{m}^3_{\text{reactor}}/\text{dag}$), is geleidelijk overgegaan op geoxideerd slibgistingswater (effluent van de Sharonreactor). De reactor is bij 2 cycli bedreven.

Bedrijfsvoering van de met verdund effluent van de Sharonreactor bedreven Anammoxreactor

Na het bereiken van de uiteindelijke belasting is het aantal cycli van 4 naar 2 per dag teruggebracht; de roedersnelheid is verhoogd van 65 naar 75 toeren per minuut. De bezink- en de afpomptijd stonden ingesteld op respectievelijk 12 en 6 minuten. Tijdens de bezink- en afpompfase is de effluentpomp van de Sharonreactor uitgeschakeld.

PH-waarden boven 8 werden door een zuurdosering gecorrigeerd. Er is geen gas gebruikt om de reactor anaëroob te houden. Tijdens de bedrijfsvoering van het gecombineerde systeem is het effluent van de Sharonreactor direct uit de Sharonreactor in de Anammoxreactor gebracht. Verdunningswater en nutriëntenoplossing zijn tijdens de bedrijfsvoering van het gecombineerde proces niet meer aan het effluent van de Sharonreactor toegevoegd.

3.3.2 Analyses

Tijdens de bedrijfsvoering van de twee gecombineerde systemen zijn met regelmaat $\text{NO}_2\text{-N}$ en $\text{NH}_4\text{-N}$ bepaald. Daarnaast is het drogestofgehalte in de Anammoxreactor bijgehouden. De overcapaciteit van de 10 liter Anammoxreactor is bepaald door een puls nitriet aan de reactor toe te voegen. Hieruit is de maximale omzettingssnelheid bepaald en vergeleken met de omzettingssnelheid bij normale bedrijfsvoering.

4 Resultaten en discussie

In dit hoofdstuk worden de resultaten van de verschillende experimenten behandeld en bediscussieerd. De resultaten van het Sharonproces, de opstart van de Anammoxreactoren, het gecombineerde Sharon/Anammoxproces en de verschillende procesparameters staan respectievelijk beschreven in paragraaf 4.1, 4.2, 4.3 en 4.4. Paragraaf 4.5 bevat een korte evaluatie van alle resultaten.

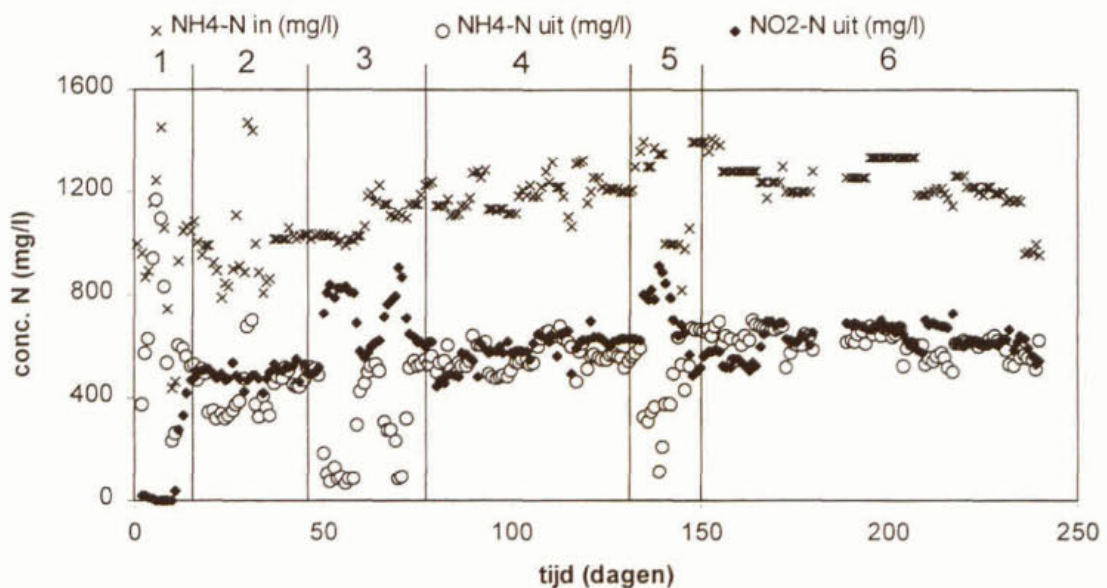
4.1 Het Sharonproces

De Sharonreactor is voor het onderzoek meer dan 1,5 jaar operationeel geweest. Hierbij zijn verschillende parameters bepaald zoals omzettingsgraad bij verschillende pH-waarden, substraat- en zuurstof-affiniteitsconstanten, bicarbonaatgehalten en slibkarakterisering. Daarnaast is in een later stadium van het onderzoek de aanwezigheid van protozoën in de Sharonreactor vastgesteld. Verschillende maatregelen zijn uitgetest om deze protozoëngroei te beperken. De invloed van deze maatregelen op het nitritificatieproces is onderzocht.

4.1.1 Omzetting in het Sharonproces

Het grootste deel van het onderzoek naar de Sharonreactor heeft plaatsgevonden in de eerste 8 maanden na de opstart. In deze periode is de Sharonreactor continu belucht bij een temperatuur van 35°C en een hydraulische verblijftijd van 1 dag. In figuur 8 staan de meetresultaten tijdens opstart en steady state. In deze figuur is een zestal perioden aangegeven die in het navolgende deel worden behandeld.

In periode 1 is de reactor opgestart met nitrificerend B-trap slib van de RWZI Dokhaven te Rotterdam. Na iets meer dan een week kwam de nitritificatie goed op gang en bevond de reactor zich in steady state (periode 2). Deze steady state duurde tot dag 45. Hierna zijn pH-experimenten in de Sharonreactor uitgevoerd (periode 3), welke verderop in dit hoofdstuk (§ 4.1.2) toegelicht worden. Een verhoogde ammoniumomzetting is in die periode waar te nemen. Na deze pH-experimenten is de reactor wederom in een 'normale' steady state gekomen (periode 4). In periode 5 zijn weer pH-experimenten uitgevoerd en vanaf periode 6 is de Sharonreactor weer stabiel bedreven.



Figuur 8: Omzetting in de Sharonreactor met continue beluchting, HRT=1 dag, T=35°C, geen pH-correctie waarbij: 1= Opstart van het Sharonproces, 2= Steady state 1, 3= pH-experimenten, 4= Steady state 2, 5= pH-experimenten en 6= Steady state 3

In tabel 2 worden de gemiddelde stikstofomzettingen vermeld van de drie steady states (periode 2, 4 en 6). Daarnaast is in deze tabel een kolom met de gemiddelde waarden over de gehele onderzoeksperiode weergegeven.

Tabel 2: Overzicht van de stikstofomzetting in de Sharonreactor tijdens steady state en de gehele onderzoeksperiode

Parameter	Steady state	Gehele periode	Eenheid
NH ₄ -N influent	1,176 (± 0,138)	1,168 (± 0,247)	kg/m ³
NO ₂ -N influent	0,005 (± 0,016)	0,007 (± 0,018)	kg/m ³
NH ₄ -N effluent	0,548 (± 0,101)	0,598 (± 0,183)	kg/m ³
NO ₂ -N effluent	0,598 (± 0,830)	0,547 (± 0,183)	kg/m ³
pH	6,75 (± 0,3)	6,83 (± 1,2)	
NH ₄ -N omzetting	53	49	%
NO ₂ -N : NH ₄ -N (ideaal 1,3)	1,09	0,91	
N-belasting	1,17 (±0,2)	1,05 (±0,3)	kg N _{tot} /m ³ /dag
N-omzetting	0,63 (±0,1)	0,52 (±0,2)	kg N _{tot} /m ³ /dag

De verschillen in waarden tussen het gemiddelde over de gehele periode en de drie steady states worden veroorzaakt door onder andere experimenten, verstoring en protozoënbestrijding.

Tijdens normale bedrijfsvoering, worden de omzettingen bereikt zoals die aangegeven staan in de kolom Steady state. De Sharonreactor blijkt een geschikte reactorconfiguratie om ammonium uit slibgistingwater voor 50 % om te zetten naar nitriet.

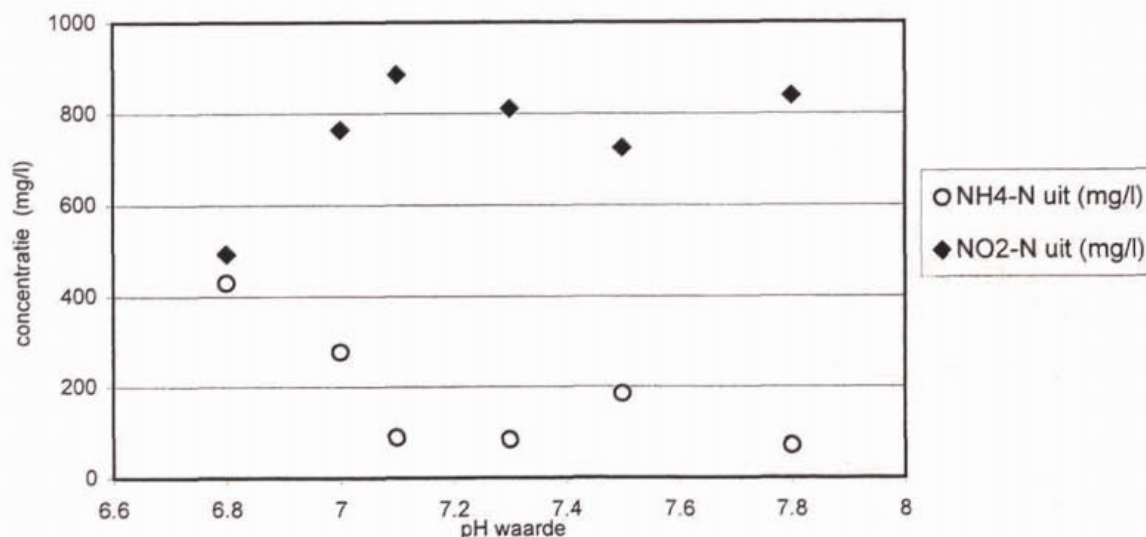
4.1.2 pH en omzettingsgraad

De omzettingsgraad van ammonium is sterk afhankelijk van de pH. Daarom is onderzocht in welke mate ammonium geoxideerd wordt bij verschillende pH-waarden.

In tabel 3 staan de resultaten van de verschillende omzettingen bij een aantal verschillende pH-waarden. De resultaten van tabel 3 staan tevens weergegeven in figuur 9.

Tabel 3: De verschillende omzettingsgradiënten bij verschillende pH-waarden

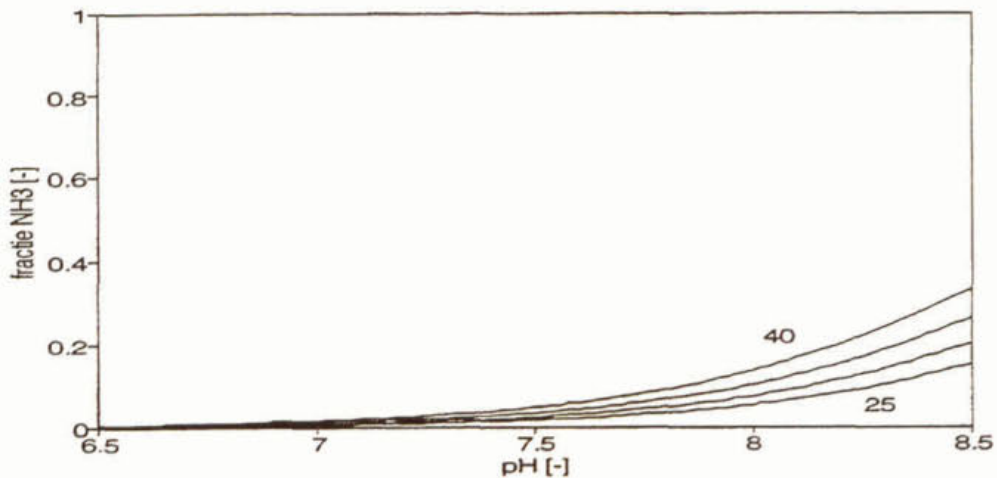
pH-waarde	NH ₄ -N uit (mg/l)	NH ₃ -N uit (mg/l)	NO ₂ -N uit (mg/l)	NO ₂ -N : NH ₄ -N
6,8	431	3,1	493	1,1
7	277	3,1	764	2,8
7,1	90	1,3	886	9,8
7,3	84	1,9	811	9,7
7,5	184	6,4	725	3,9
7,8	71	4,7	840	11,83



Figuur 9: Ammoniumomzetting van slibgistingwater bij verschillende pH-waarden

Bij een pH-waarde lager dan 6,8 is niet gemeten. Deze 'zure' omstandigheden zijn voor de nitrificerende bacteriën ongunstig. Hierdoor is de kans te groot dat alles ineens zou uitspoelen.

Zoals te zien is in figuur 9 is er meer NO_2 gevormd bij hogere pH. Dit resultaat ligt geheel in de lijn der verwachtingen omdat het percentage NH_3 , wat het feitelijke substraat voor de ammoniumoxideerders is, exponentieel toeneemt bij hogere pH, zoals te zien is in figuur 10.



Figuur 10: De fractie NH_3 bij verschillende verschillende pH en verschillende temperatuur

Zoals te zien is in tabel 3, zijn er verschillen tussen de NH_3 -concentraties klein. De min of meer constante NH_3 -concentraties zijn op de volgende manier te verklaren.

Voor een chemostaat geldt:

$$D = \mu = \mu_{\max} \cdot C_{\text{NH}_3} / (C_{\text{NH}_3} + K_{\text{NH}_3}).$$

De verblijftijd verandert niet, dus μ blijft gelijk. μ_{\max} en K_{NH_3} zijn niet afhankelijk van de pH, dus ook C_{NH_3} is onafhankelijk van de pH. Dit betekent, dat als door hogere pH de verhouding NH_4/NH_3 afneemt, de effluentconcentratie lager is.

4.1.3 Maximale omzettingssnelheden en affiniteitsconstanten

De belangrijkste kinetische parameters (affiniteits- of verzadigingsconstanten en maximale omzettingssnelheid) van de nitrificerende biomassa zijn bepaald voor ammonium en zuurstof. De affiniteitsconstante is de concentratie waarbij de halve maximale omzettingssnelheid bereikt wordt.

In deze paragraaf staan de resultaten van de bepaling van de affiniteit voor ammonium (+ammonia) en zuurstof. Ook is een aantal experimenten uitgevoerd waarin bepaald is of nitriet een remmende werking heeft op de omzettingssnelheid van ammonium.

De ammoniumaffiniteitsconstanten

Op dag 26, 27, 39 en 40 zijn de affiniteitsconstanten en maximale specifieke omzettingssnelheden bepaald van de nitrificerende biomassa. Tijdens deze periode werd de pH in de reactor niet gecorrigeerd. Aan de hand van de stoichiometrie van reactievergelijking 1 uit paragraaf 2.1 (1,5 mol O₂ per mol NH₄⁺) is de omzettingssnelheid van ammonium teruggerekend.

De hoeveelheid nitrificeerders in de reactor is met behulp van de opbrengstcoëfficiënt (Y^{amm}_{NX}) van ammoniumoxideerders berekend. Deze waarde is 0,064 C-mol/N-mol [5]. De hoeveelheid omgezet N is de hoeveelheid stikstof die per liter reactorinhoud wordt omgezet.

De hoeveelheid mol C van de nitrificeerdersbiomassa is berekend met behulp van de algemene molecuulformule voor biomassa CH₂O_{0,5}N_{0,2} (molecuulmassa = 24,8 g/mol). Het nitrificeerdersgehalte in de reactor bedroeg 62,4 mg/l.

In tabel 4 staan de verschillende waargenomen maximale omzettingssnelheden en affiniteitsconstanten voor ammonium weergegeven.

Tabel 4: Gemeten affiniteitsconstanten voor ammonium en de maximale specifieke omzettingssnelheid

Dag nr	K _{NH_{3,4}} (mg N/l)	V _{max} (kg N/kg d.s./dag)	V _{max} : K _{NH_{3,4}}
25	18,9 (± 7,8)	5,2 (± 0,9)	0,28
26	23,3 (± 2,2)	6,9 (± 0,2)	0,30
39	36,7 (± 3,3)	6,3 (± 0,3)	0,17
40	26,0 (± 2,9)	6,5 (± 0,2)	0,25

De omzettingssnelheid in de reactor is 8,81 kg N/kg d.s./dag. Deze waarde is beduidend hoger dan de gemeten maximale omzettingssnelheden in de respirometer. Mogelijk is de respiratieactiviteit negatief beïnvloed door het wassen van de cellen.

De invloed van nitriet

In de Sharonreactor wordt ammonium geoxideerd in aanwezigheid van grote hoeveelheden nitriet. Daarom is de eventuele negatieve invloed van hoge concentraties nitriet op de omzetting van ammonia bepaald. Hiertoe is, voordat de verschillende ammoniapulsen toegevoegd werden, een bekende hoeveelheid nitriet in het reactievatje gebracht. Daarna is de zuurstofopnamesnelheid gemeten. Deze waarde is afgetrokken van de opnamesnelheid die gemeten is, nadat er zowel ammonium als nitriet in het reactievatje aanwezig waren.

De zuurstofopnamesnelheid van ammoniumoxideerders met alleen nitriet als substraat was zeer laag. In enkele gevallen was de zuurstofopnamesnelheid na dosering van nitriet zelfs lager dan de endogene respiratiesnelheid. Dit wijst op een remmend effect van nitriet op de ammoniumoxideerders. De pH-waarde in het reactievatje tijdens de proef was 6,8.

In tabel 5 worden de verschillende affiniteitsconstanten en maximale omzettingssnelheden voor ammonia bij verschillende nitrietconcentraties vermeld.

Tabel 5: Gemeten maximale omzettingssnelheden en affiniteitsconstanten voor ammonium

NO ₂ -N concentratie (g/l)	K _{NH4} (mg/l)	V _{max} (kg N/kg d.s/dag)	V _{max} : K _{NH4} (dm ³ /kg-ds-dag)
0,0	26 (± 4,1)	6,2 (± 0,4)	0,25
0,15	24 (± 4,3)	4,1 (± 0,3)	0,18
0,18	25 (± 7,2)	4,0 (± 0,4)	0,16
0,30	54 (± 6,9)	5,4 (± 0,3)	0,10
0,46	62 (± 14,1)	5,4 (± 0,53)	0,09

Uit de resultaten in tabel 5 blijkt dat nitrietconcentraties van 300 mg N/l en hoger, een lagere affiniteit (hogere affiniteitsconstante) tot gevolg hebben. Ofwel, in aanwezigheid van nitriet zijn de bacteriën minder goed in staat lage concentraties ammonium om te zetten dan wanneer alleen ammonium aanwezig is. In de laatste kolom van tabel 5 is te zien dat het quotiënt van V_{max} en K_{NH4} lager wordt naarmate er meer nitriet in het meetvatje aanwezig is. Hieruit kan opgemaakt worden dat er in aanwezigheid van nitriet een verminderde omzetting van ammonium plaatsvindt.

Uit het feit dat de zuurstofopnamesnelheid bij dosering van alleen nitriet niet of nauwelijks verschilt van de endogene respiratiesnelheid, kan geconcludeerd worden dat er zeer weinig tot geen nitrietoxideerders in de Sharonreactor aanwezig waren.

4.1.4 Het bicarbonaatgehalte

In de beginperiode van dit onderzoek zijn gedurende een aantal weken bijna wekelijks de anorganische koolstofgehalten (C afkomstig uit bicarbonaat) bepaald van het influent en het effluent, zodat bepaald kon worden hoeveel bicarbonaat er in de reactor 'opgebruikt' werd.

In tabel 6 staan de verschillende gemeten bicarbonaatgehalten van het influent en het effluent.

Tabel 6: Bicarbonaatgehalten in het influent en het effluent (na elke vette streep is het systeem met een nieuwe batch slibgistingswater gevoed)

Week nr.	HCO ₃ ⁻ influent (mmol/liter)	HCO ₃ ⁻ effluent (mmol/liter)	HCO ₃ ⁻ verbruik (mmol/liter)	NH ₄ ⁺ omzetting (mmol/liter)	HCO ₃ : NH ₄
4	54	4	50	29	1,7
5	76	5	71	29	2,5
6	80	3	77	39	1,9
7	65	12	53	66	0,8
8	59	3	56	44	1,3
9	93	6	87	74	1,2
10	88	5	83	48	1,7
11	70	6	64	45	1,4
12	88	6	82	47	1,8

In bovenstaande tabel is te zien dat er per mol omgezet ammonium minder dan 2 mol bicarbonaat is omgezet. De zurequivalenten die vrijkomen bij de oxidatie van ammonium worden gebufferd met bicarbonaat, volgens reactievergelijking 8 (§ 3.1.3).

Wanneer het bicarbonaat uit het afvalwater gestript wordt, vóórdat het de reactie aangaat, stijgt de pH. Hierdoor kan er nog steeds evenveel ammonium omgezet worden. Het levert geen verschil op wanneer het bicarbonaat voor of na de reactie van $\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^-$ gestript wordt. Er worden dus lagere bicarbonaatconcentraties gemeten, maar de buffercapaciteit blijft gelijk.

De cursief gedrukte waarden zijn bepaald tijdens de perioden dat een verhoogde pH-waarde aan de reactor is opgelegd. Er is toen een verdergaande ammoniumomzetting bereikt waardoor er per mol bicarbonaat meer ammonium is omgezet. Ook is te zien dat met name in week 7 en 8 de bicarbonaatomzetting verminderd is. Wanneer de pH kunstmatig is verhoogd, is de oplosbaarheid van CO₂ (en dus ook bicarbonaat) hoger.

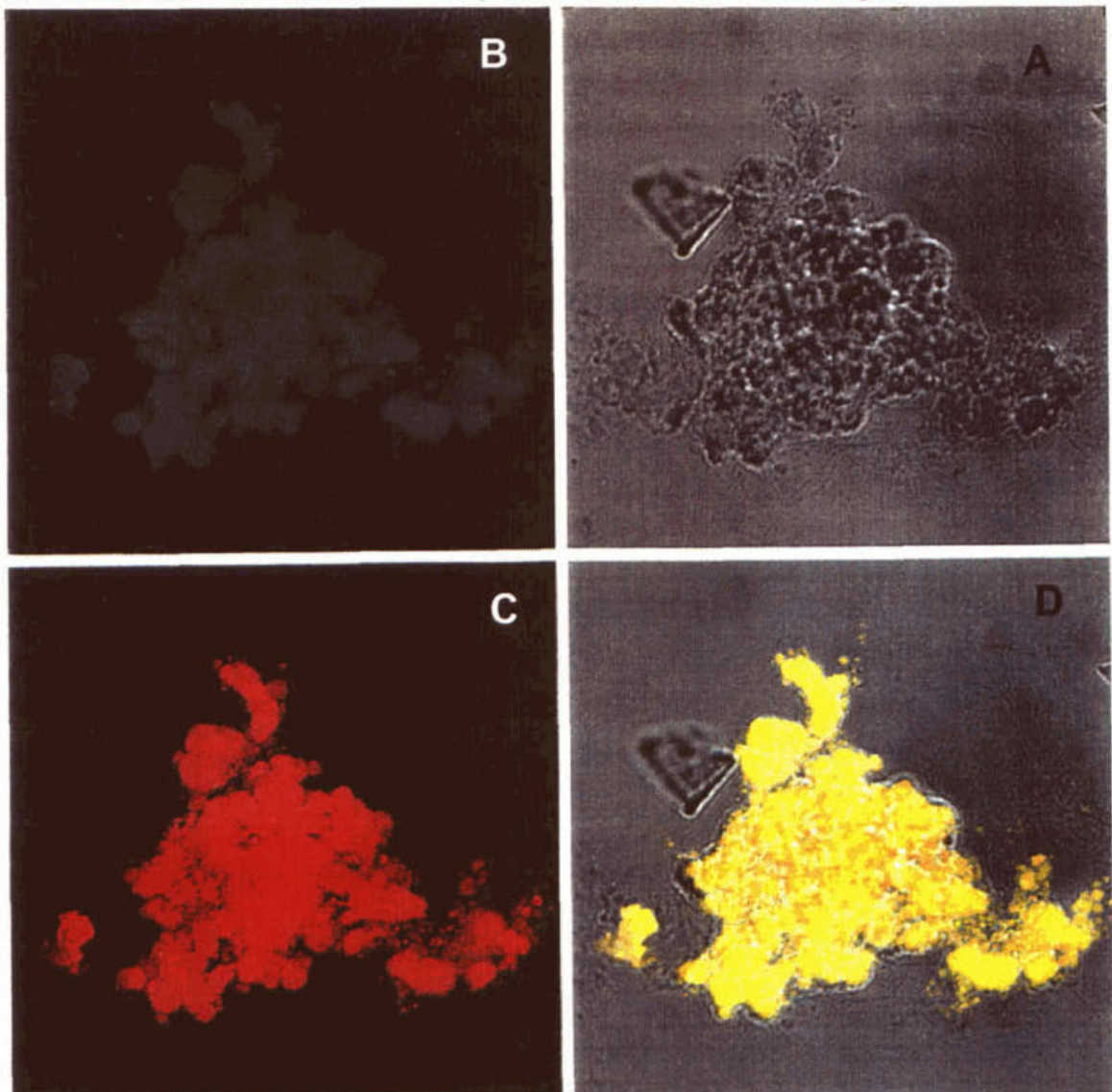
In tabel 6 is ook te zien dat naarmate een batch influent langer bewaard wordt, er steeds minder bicarbonaat in het influent aanwezig is. Blijkbaar diffundeert er CO₂ uit het afvalwater, doordat het in verbinding staat met de buitenlucht. Om dit stripeffect te beperken is het influentvat gedurende het grootste deel van het onderzoek niet geroerd.

4.1.5 Karakterisering van het slib

Er is een FISH-analyse (zie paragraaf 2.1.3) uitgevoerd met het slib uit de Sharonreactor toen deze stabiel draaide om vast te stellen of de nitrificatie door *Nitrosomonas species* werd uitgevoerd. Het resultaat van deze FISH-analyse staat weergegeven in figuur 11. Deze figuur toont vier foto's van een

slibvlok, die met een tweetal specifieke probes is gelabeld. De foto rechtsboven (A) toont een vlok met fasecontrast, waarin een grote diversiteit aan organismen te zien is. In foto B staat dezelfde vlok weergegeven waarbij het Nso190 Fluos label is zichtbaar gemaakt. De cellen die groen kleuren zijn zout-tolerante nitrificerders. In foto C is het N11Cy3 label zichtbaar gemaakt. Alle cellen die rood gekleurd zijn op deze foto behoren tot *Nitrosomonas* of *Nitrosococcus*. Op foto D zijn de drie verschillende afbeeldingen digitaal over elkaar heen gelegd. De delen waar de rode en de groene kleurstoffen elkaar overlappen zijn geel gekleurd.

Op foto D is weinig groen te zien. De gelabelde vlok bestaat dus voor het overgrote deel uit *Nitrosomonas* en/of *Nitrosococcus*. Voorgaand onderzoek [10] waarin ook gevonden werd dat de dominante nitrificerder in de Sharonreactor *Nitrosomonas eutropha* was, is hiermee bevestigd.



Figuur 11: Slibvlok uit de Sharonreactor welke gelabeld is met Nso190 Fluos (groen) en N11 Cy3 (rood). Geel is een combinatie van beide labels.

4.1.6 Invloed van anaërobie op ammoniumoxideerders

Doordat in een later stadium vanwege protozoëngroei in de Sharonreactor tijdelijk is overgegaan van continue beluchting naar intermitterende beluchting is de vraag gerezen of deze anaërobe perioden nadelige gevolgen hebben voor het nitritificatieproces. Hiervoor is de nitritificatiecapaciteitsafname bepaald van de Sharonreactor op het slibverwerkingsbedrijf Sluisjesdijk te Rotterdam toen deze tijdelijk buiten bedrijf was. In deze periode waren de concentraties nitriet en ammonium respectievelijk 100 en 0 mg N/l. De nitritificatiecapaciteit is op drie verschillende dagen bepaald (0, 3 en 6 dagen) van zowel de reactorinhoud (circa 35 °C) als van een apart gezet 50 liter vat dat niet op temperatuur is gehouden (circa 3-10 °C). In tabel 7 staan de resultaten van deze experimenten weergegeven.

Tabel 7: Nitritificatie-capaciteitsafname in de Sharonreactor en niet geconditioneerd vat met reactorinhoud.

Dag nummer	NO ₂ -N vorming (mg/l/min)		NH ₄ -N afname (mg/l/min)	
	reactor	Vat	Reactor	Vat
0	0,75	0,75	0,72	0,72
3	0,39	0,66	0,40	1,08
6	0,15	0,88	Data niet beschikbaar	0,57

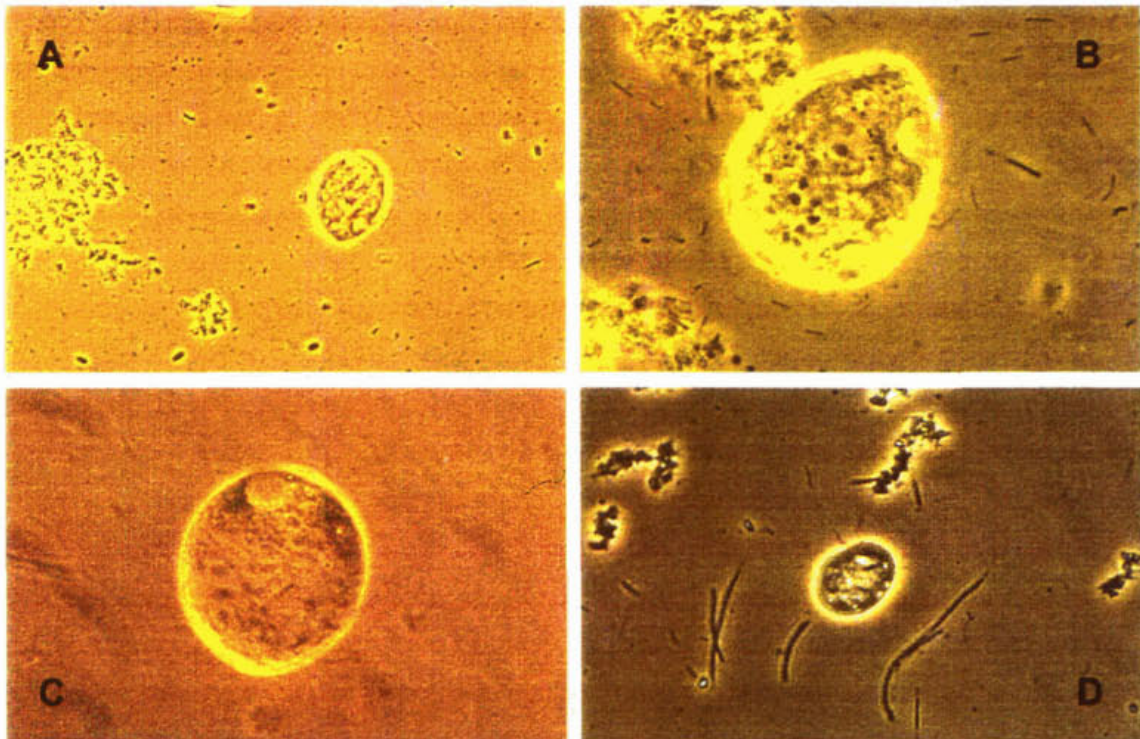
Bij de uitvoering van de proeven is de opgeloste-zuurstofconcentratie op tenminste 20 % gehouden. De temperatuur was 35 °C en de pH-waarde bij aanvang van de proeven was circa 8,5. Er is gedurende de proef niet gecorrigeerd voor de pH.

Uit de resultaten van tabel 7 blijkt dat er een vermindering van de nitritificatiecapaciteit is, wanneer de reactor anaëroob wordt gehouden. Door de reactorinhoud af te laten koelen kan de nitritificatiecapaciteit beter behouden blijven. Wat de eventuele remmende werking van ammonia op de nitritificatie onder anaërobe omstandigheden is, kan uit deze proeven niet worden opgemaakt.

4.1.7 Protozoën

De Sharonreactor is in het najaar van 1997 opgestart en is 9 maanden stabiel bedreven. Na deze 9 maanden is een hogere pH-waarde in de reactor waargenomen en een verminderde nitritificatie. De oorzaak hiervoor bleek de aanwezigheid van protozoën in de reactor. Deze protozoën voedden zich met de vrij levende ammoniumoxideerders.

In figuur 12 staat een aantal afbeeldingen van protozoën zoals deze in de Sharonreactor voorkwamen.



Figuur 12: Afbeeldingen van Protozoën zoals deze in de Sharonreactor zijn waargenomen

Aangezien het probleem bij een aantal batches slibgistingwater optrad, is ervan uitgegaan dat de protozoën met het slibgistingwater het systeem in komen. Het is goed denkbaar dat protozoën gevormd in de A- of B-trap de slibvergisting in de vorm van cysten overleven. In voorgaand onderzoek aan de Sharonreactor bij de TU Delft zijn deze protozoën nooit waargenomen. Bij de Sharonreactor die nu op het slibverwerkingsbedrijf Sluisjesdijk operationeel is, zijn dergelijke problemen met protozoën ook nooit waargenomen.

Het is goed denkbaar dat de groei van protozoën in de Sharonreactor te wijten is aan een bijeffect van kleinschalig labonderzoek. Voor dit onderzoek is maandelijks een batch slibgistingwater van 300 liter gehaald. Deze batches zijn tijdens het onderzoek bij kamertemperatuur bewaard. Het is niet bekend wat er in een vat slibgistingwater bij kamertemperatuur gebeurt en of er zich iets ontwikkelt. De ammonium- en nitrietconcentraties zijn bij deze omstandigheden min of meer constant.

Twee belangrijke verschillen met 'conventionele' Sharonreactoren en de hier gebruikte Sharonreactor is de beluchtingswijze en de daarmee samenhangende fluctuaties in pH. De 'conventionele' Sharonreactoren zijn altijd intermitterend belucht. Mogelijk krijgen protozoën geen kans te groeien door anaërobe condities en/of de daaruit voortkomende fluctuerende pH.

De herkomst en het groeigedrag van de protozoën zijn nader onderzocht. De uitvoering en resultaten hiervan zijn te vinden in Bijlage 1. Als belangrijkste conclusie is hieruit naar voren gekomen dat de protozoën waarschijnlijk in cystenvorm de Sharonreactor inspoelen en onder aërobe condities ontkiemen tot protozo en de reactor 'leeggrazen'. De groeisnelheid van de protozoën is met behulp van batchproeven vastgesteld op $1,62 \text{ dag}^{-1}$.

Er zijn verschillende maatregelen bedacht om protozoënbloei in de reactor tegen te gaan. De volgende tekst behandelt de verschillende maatregelen.

1. Pasteurisatie van het influent

Hiertoe is een verwarmingselement geplaatst in de influentslang, waarbij het influent kortstondig verwarmd is tot $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Door deze behandeling is het slibgistingswater in feite gepasteuriseerd en zouden de protozoën dood moeten zijn.

Tijdens de periode dat het influent verhit werd, is echter geen vermindering van het aantal protozoën in de reactor waargenomen. Het is echter erg onwaarschijnlijk dat protozoën een verhitting tot $80 \text{ }^\circ\text{C}$ overleven. Het is wel mogelijk dat protozoën in cystenvorm deze temperaturen overleven. Het is aannemelijk dat deze cysten pas uitkomen zodra ze gedurende langere periode in een aëroob milieu zijn.

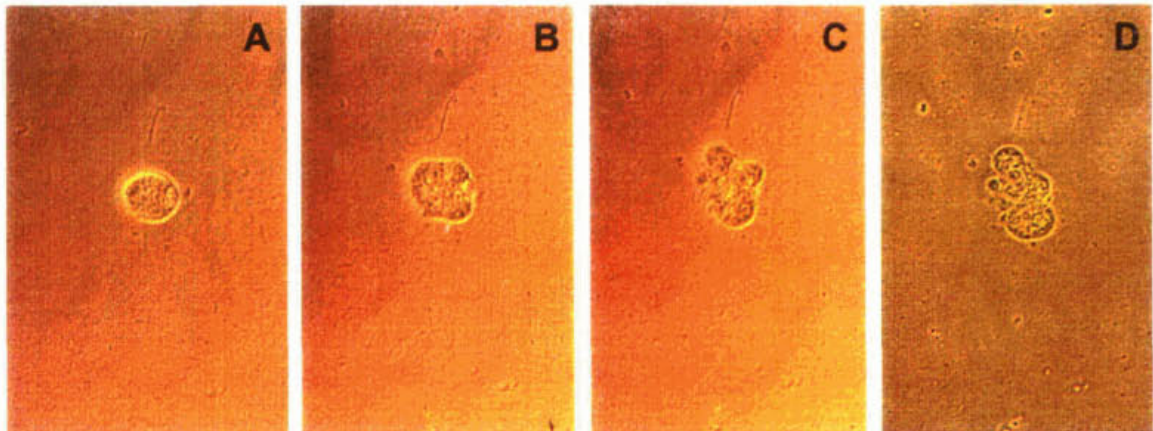
2. Kortere hydraulische verblijftijd

In eerste instantie is getracht de protozoën uit te laten spoelen door de verblijftijd te verkorten. De verblijftijd is verkort naar 0,8 dag, maar de protozoën bleven in de reactor. De verblijftijd is niet verder verkort, omdat dan de ammonium-oxideerders ook uit spoelen. Bij een verblijftijd van 0,8 dag en een pH van 7,7 was de ammoniumomzetting 30 %. In de reactor geldt $\mu = D$. Om de protozoën uit te laten spoelen is dus een minimale verblijftijd van 0,6 dag benodigd, en dat is te kort voor de ammoniumoxideerders om zich te kunnen handhaven.

3. Incidenteel onbeluchte perioden

Getracht is de protozoën te laten 'stikken' door de beluchting incidenteel gedurende een aantal uren uit te zetten. Onder de microscoop was te zien dat de protozoën na een tijd van vorm veranderden (openspatten, zie figuur 13). Waarschijnlijk is dit veroorzaakt door zuurstofloze condities, waardoor een protozo te weinig energie heeft om zijn zoutgehalte op peil te houden. Door osmotische druk spat een protozo dan uiteen. De protozoën aan de buitenkant van het preparaat behielden hun vorm langer vanwege de zuurstof die langs de buitenkant van het preparaat het monster in diffundeerde.

Aan de protozoën is aan de trilharen te zien wanneer de zuurstof op begint te raken en de osmotische druk in de cel oploopt. In het voorbeeld dat op de foto staat bedraagt het tijdsverschil tussen de 1e en de 2e foto 3 minuten en het tijdsverschil tussen de 2e en de 3e foto 1 minuut. Op $t=0$ zijn de trilharen van de protozo juist gestopt met bewegen.



Figuur 13: Het openbarsten van een protozo onder anoxische condities (A: $t=0$ minuten, B: $t=3$ minuten, C: $t=4$ minuten en D=C anders belicht)

Na een anoxische periode (variërend van 0,5 tot 6 uur) zijn geen protozoën meer in de reactor waargenomen. Wanneer weer gedurende langere tijd belucht werd (maximaal 1 dag) keerden de protozoën weer terug. Blijkbaar is een incidentele anoxische periode niet afdoende om protozoënbloei te voorkomen.

4. Intermitterend beluchten van de Sharonreactor

In de verschillende nitrificerende en denitrificerende Sharonreactoren zijn nooit protozoën waargenomen. Een wezenlijk verschil tussen deze 'conventionele' Sharonreactoren en de Sharonreactor uit dit onderzoek is de beluchting. In het conventionele systeem wordt intermitterend belucht, waardoor het systeem met regelmaat anoxisch is. Hierdoor krijgen cysten nooit de kans te ontkiemen, of is de afsterving van protozoën gedurende deze fase te groot.

Om de protozoën kwijt te raken is de reactor gedurende langere tijd intermitterend belucht. Lange tijd leek dit een effectieve methode om de protozoënbloei tegen te gaan. De daaropvolgende zomer zijn echter weer protozoën in de Sharonreactor waargenomen die in leven bleven bij intermitterende beluchting.

5. Verzuring

In de Sharonreactoren is intermitterend belucht waardoor de pH bij normale bedrijfsvoering fluctueerde. Wanneer de influentpomp van de Sharonreactor gedurende kortere of langere tijd werd stilgezet, terwijl de beluchting aan bleef, verzuurde de reactor tot een $\text{pH} < 6$. Hierdoor kwamen protozoën niet tot ontkieming of stierven ze. Een mogelijke oorzaak voor de sterfte van de protozoën bij lagere pH is de verschuiving van het evenwicht van NO_2^- naar het toxische HNO_2 .

Samengevat

De protozoën spoelen in cystenvorm in de Sharonreactor, waar ze onder aërobe condities tot ontkieming kunnen komen. Het ontkiemen van deze cysten kan voorkomen worden door de reactor intermitterend te beluchten en/of te laten verzuren door iets langer door te beluchten wanneer er geen aanvoer van influent is. Een combinatie van beide maatregelen zal uiteindelijk het beste resultaat opleveren. In de praktijk zullen beide omstandigheden met regelmaat voorkomen omdat de aanvoer van slibgistingwater niet constant is.

Of een verminderde nitrietvorming in de reactor veroorzaakt wordt door begrazing door protozoën is eenvoudig en snel te achterhalen door een monster onder een eenvoudige microscoop te bekijken.

Mogelijk is de protozoënbloei in de Sharonreactor seizoensgebonden, waardoor protozoëncysten alleen gedurende zomermaanden in het slibgistingwater voorkomen. De Sharonreactor is in het najaar opgestart met een continue beluchting. Hij heeft vervolgens ca. 9 maanden goed gewerkt en pas daarna is een verminderde nitritificatie waargenomen als gevolg van begrazing door protozoën. Dit was aan het eind van de zomer rond september. Of de aanwezigheid van protozoën inderdaad seizoensgebonden is zal pas duidelijk worden wanneer een Sharonreactor gedurende meerdere jaren bedreven wordt.

4.2 Het opstarten van de Anammoxreactoren

In dit onderzoek is een drietal Anammoxreactoren opgestart waarbij actief slib als entmateriaal is gebruikt. In eerste instantie zijn twee reactoren opgestart waarbij gebruik is gemaakt van synthetisch afvalwater. Dit is gedaan om vast te stellen of het mogelijk is een robuuste Anammoxbiomassa uit actief slib op te hopen. Aan één van de twee reactoren is behalve actief slib ook nog $20 \mu\text{l}$ verrijkte Anammoxbiomassa toegevoegd als controle voor de ophopingsmethodiek.

Toen bleek dat de methode van ophopen werkte, is een derde Anammoxreactor op grotere schaal opgestart die gevoed is met (verdund) effluent van de Sharonreactor. In deze paragraaf worden de resultaten van het opstarten van deze drie reactoren weergegeven.

4.2.1 De ophoping van Anammoxbiomassa met synthetisch afvalwater

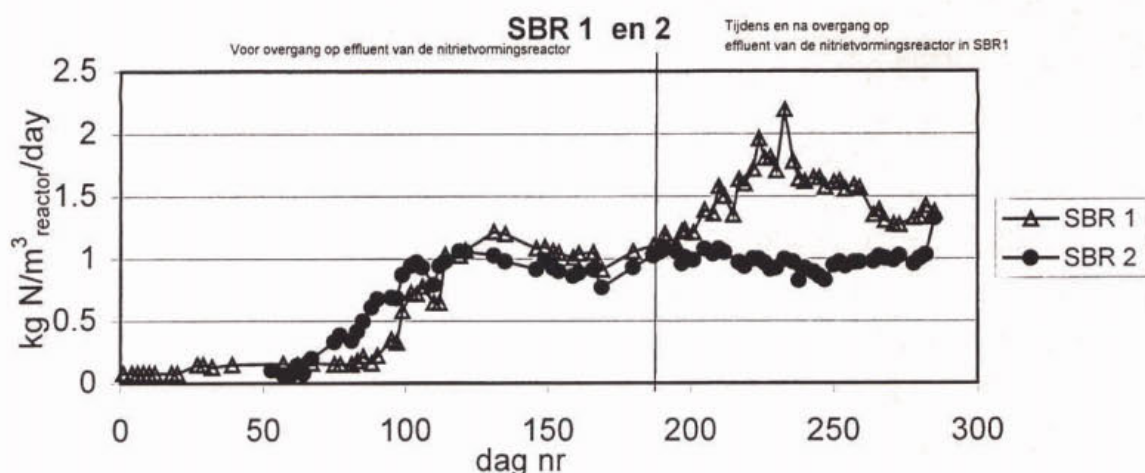
Voor de ophoping van Anammox zijn twee 2 liter ophopingsreactoren opgestart. Beide reactoren zijn beënt met B-trap slib van de RWZI Dokhaven. Eén van de reactoren (SBR 2) is behalve met B-trap slib ook nog met 20 µl verrijkt Anammox beënt als controle voor de ophopingsmethodiek.

In beide reactoren is vlak na de opstartfase gasproductie waargenomen. Waarschijnlijk is dit N₂-gas geweest, dat gevormd is door denitrificatie, waarbij dode biomassa als C-bron is gebruikt. In eerste instantie is de bezink- en afpomptijd ingesteld op 9 minuten. Twee weken na de start bleek dat 6 minuten voldoende was voor een goede bezinking.

Bijna wekelijks zijn monsters genomen van reactor 1 en 2 ten behoeve van drogestofbepalingen. De hoeveelheid biomassa in de reactoren werd tijdens de opstartperiode geleidelijk minder. Deze vermindering is grotendeels veroorzaakt door uitspoeling van slecht bezinkbare delen en deels door (heterotrofe) denitrificatie met behulp van dode biomassa. In SBR 1 is op dag 58 een grote hoeveelheid biomassa uit het opvangvat terug in de reactor gebracht omdat het drogestofgehalte in SBR 1 < 0,5 g/l werd (uit ervaring is gebleken dat 1 g/l de kritische grens voor het Anammoxproces is). Na ongeveer 100 dagen is de hoeveelheid biomassa weer toegenomen als gevolg van groei van Anammoxbiomassa.

SBR 1 vertoonde later Anammoxactiviteit dan SBR 2. Dit werd niet veroorzaakt door de extra ent met Anammoxbiomassa in SBR 2, maar door de te grote uitspoeling van de biomassa. In figuur 14 is de omzetting van ammonium en nitriet weergegeven. Na dag 50 is te zien dat de stikstofbelasting exponentieel is opgevoerd.

Vanaf dag 110 werkten beide reactoren op een stikstofbelasting van ca. 1 kg N_{tot}/m³_{reactor}/dag. In deze periode is overgaan van 4 naar 2 cycli per dag. De debieten zijn gehalveerd en de concentraties nitriet en ammonia verdubbeld (420 mg N_{tot}/l → 840 mg N_{tot}/l), zodat de stikstofbelasting onveranderd bleef.



Figuur 14: Anammoxactiviteit in SBR 1 (zonder Anammox-ent) en SBR 2 (met Anammox-ent)

4.2.2 De Anammoxreactor tijdens stabiele bedrijfsvoering

Tussen dag 50 en 110 is de maximale groeisnelheid (μ_{\max}) van de Anammoxcellen bepaald. In SBR 1 bedroeg deze $5,9 \cdot 10^{-2}$ ($\pm 0,8 \cdot 10^{-2}$) dag^{-1} . De verdubbelingstijd ($t_{1/2}$) was dus $\ln 2 / 5,9 \cdot 10^{-2} = 11,7$ dagen. In SBR 2 was $\mu_{\max} = 4,2 \cdot 10^{-2}$ ($\pm 0,3 \cdot 10^{-2}$) dag^{-1} , ofwel een verdubbelingstijd van 16,5 dagen. Deze waarden zijn vergelijkbaar met een verdubbelingstijd van 11 dagen die eerder gevonden is [7].

De belangrijkste operationele parameters in SBR 1 en SBR 2 zijn weergegeven in tabel 8.

Tabel 8: Ammonium- en nitrietverwijdering in SBR 1 en 2 tijdens stabiele bedrijfsvoering

Parameter	SBR 1	SBR2
Test periode (dag nr.)	155-190	155-190
NH_4^+ -N in ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	0,45 ($\pm 0,02$)	0,46 ($\pm 0,02$)
NH_4^+ -N uit ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	0,068 ($\pm 0,02$)	0,091 ($\pm 0,03$)
NO_2^- -N in ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	0,46 ($\pm 0,03$)	0,44 ($\pm 0,04$)
NO_2^- -N uit ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$)	$1,25 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 3,5 \cdot 10^{-4}$)	$8,75 \cdot 10^{-4}$ ($\pm 3,5 \cdot 10^{-4}$)
NH_4^+ -N verwijdering (%)	85	80
NO_2^- -N verwijdering (%)	100	100
Totaal N verwijdering bij nitrietlimitatie ($\text{kg N}_{\text{tot}}/\text{m}^3 \text{ reactor/dag}$)	0,96 ($\pm 0,07$)	0,91 ($\pm 0,09$)
Gemiddelde Specifieke N_{tot} verwijdering bij nitrietlimitatie ($\text{kg N}_{\text{tot}}/\text{kg d.s./dag}$)	0,70 ($\pm 0,07$)	0,70 ($\pm 0,06$)

De stikstofbelasting in SBR 1 is na dag 190 nog verder opgevoerd (tot $1,65 \text{ kg N}_{\text{tot}}/\text{m}^3 \text{ reactor/dag}$). Dit is gedaan omdat deze reactor overgeschakeld zou worden naar effluent van de Sharonreactor, waarin de concentraties ammonium en nitriet hoger zijn dan in het gebruikte synthetische afvalwater. Hierna is het synthetisch afvalwater geleidelijk vervangen door effluent van de Sharonreactor. Sinds dag 260 is reactor 1 met alleen effluent van de

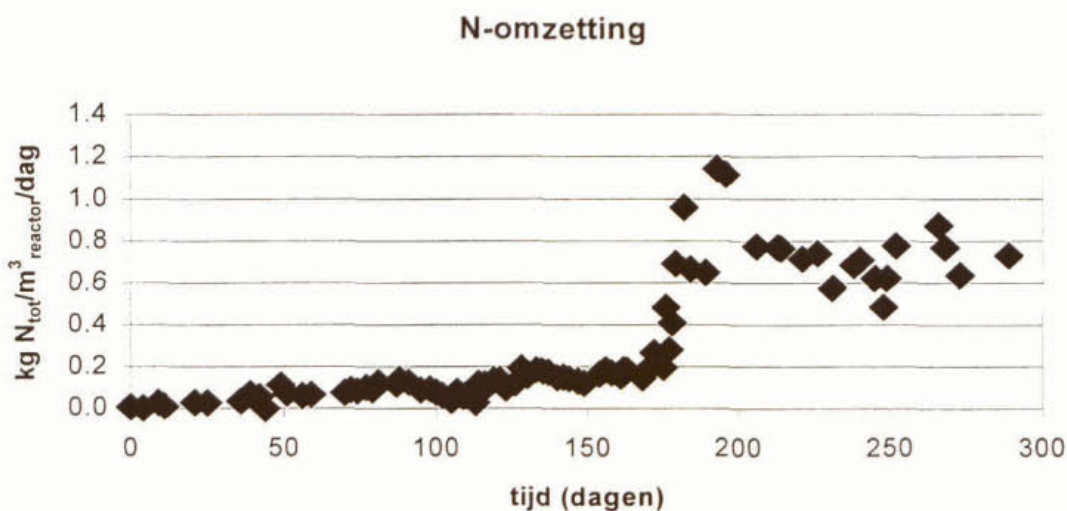
Sharonreactor gevoed. Over 145 dagen heeft deze Anammoxreactor probleemloos effluent van de Sharonreactor verwerkt. De Anammoxbacteriën hebben geen problemen gehad bij een geleidelijk overgang van synthetisch afvalwater naar effluent van de Sharonreactor.

4.3 De combinatie Sharon/Anammox

Nadat met behulp van synthetisch afvalwater Anammoxbiomassa uit actief slib was opgehoopt, is een gecombineerd Sharon-/Anammoxsysteem op 10 liter schaal opgestart, waarbij Anammoxbiomassa direct met effluent van de Sharonreactor is opgehoopt.

4.3.1 De ophoping van Anammoxbiomassa met effluent van de Sharonreactor

De reactor is beënt met een slibmengsel van de RWZI Boskoop en de RWZI Reeuwijk Randenburg (vanwege respectievelijk partiële nitrificatie en hoge slibleeftijd). Verder is aan het slibmengsel 100 μl verrijkt Anammoxslib uit SBR 1 toegevoegd. In figuur 15 staan de hoeveelheden ammonium en nitriet (N_{tot}) die in de reactor tijdens de onderzoeksperiode omgezet zijn.



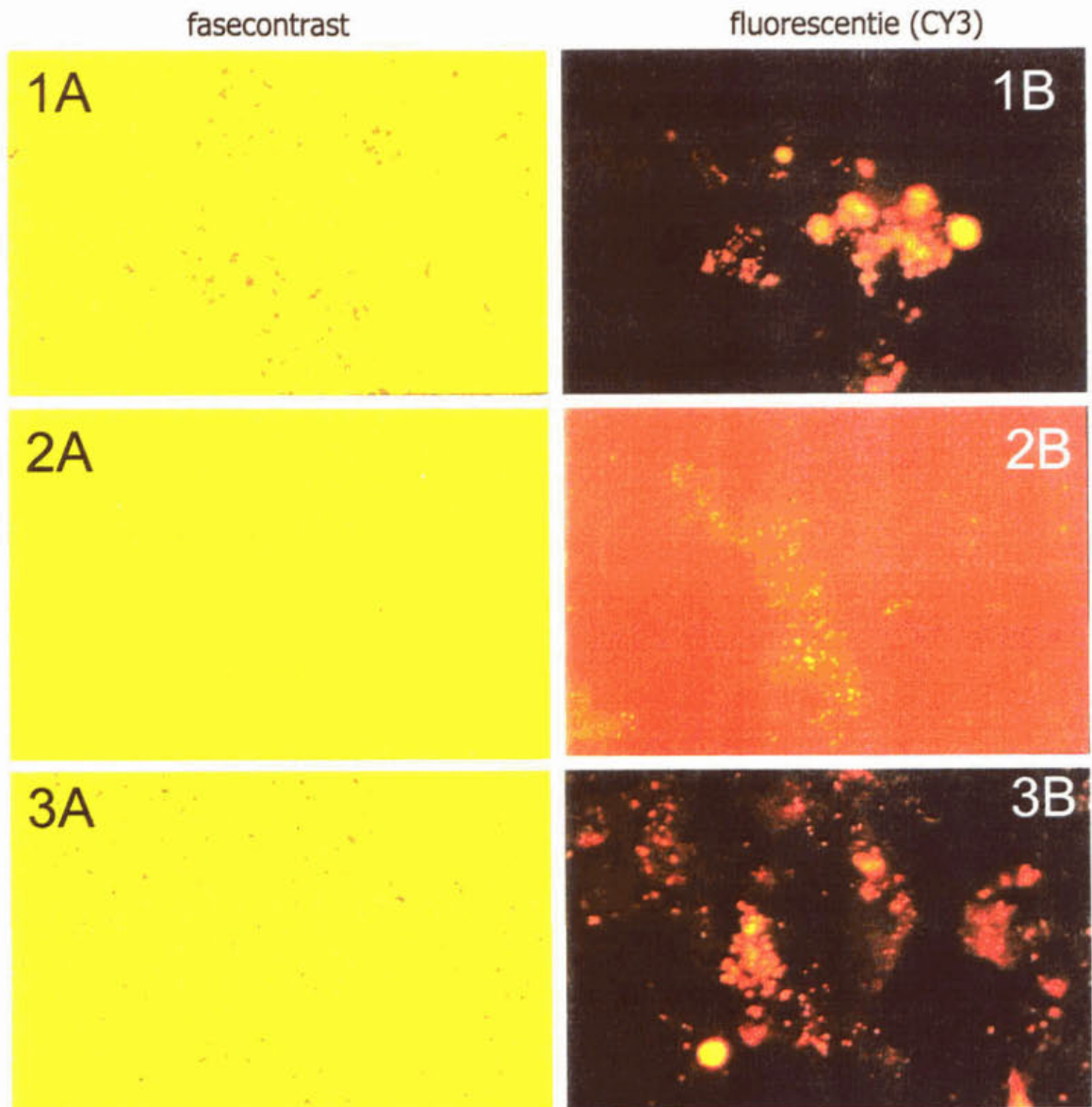
Figuur 15: De stikstofomzetting in de ophopingsreactor die gevoed is met effluent van de Sharonreactor. Rond dag 110 werden met FISH-analyse Anammoxcellen in de reactor waargenomen

In het begin is gasproductie waargenomen, waarschijnlijk N_2 -gas, dat gevormd is door denitrificatie. Omdat tot dag 105 geen Anammoxactiviteit werd waargenomen is de roerdersnelheid in de reactor teruggezet van 130 naar 75 toeren per minuut. Spoedig hierna zijn met behulp van FISH-analyse Anammoxcellen in het reactorslib worden waargenomen. Een lichte stijging van de stikstofomzetting is vanaf dit moment waar te nemen in figuur 15. Een

duidelijke exponentiële groei is echter nooit in het reactorsysteem opgetreden, omdat de slibretentie onvoldoende was. Rond dag 150 is de biomassaconcentratie tot onder de kritische grens van 1 g/l gedaald. Monsters van de reactorinhoud en de wandgroei in de reactor zijn toen gefixeerd ten behoeve van FISH-analyse. Deze FISH-analyse toonde aan dat er in de wandgroei meer Anammoxclusters zaten dan in de gesuspendeerde aggregaten. Anammoxclusters lijken dus een voorkeur te hebben om te groeien op een oppervlak (drager).

Op dag 175 zijn monsters van de reactorinhoud, het effluent en het bezinksel in het opvangvat gefixeerd ten behoeve van FISH-analyse. Deze drie slibmonsters zijn gecontroleerd op aanwezigheid van Anammoxcellen. Bij deze FISH-analyse bleek dat er zowel in de reactor als in het effluent en in het bezinksel van het opvangvat Anammoxcellen zaten. Alle in de reactor gevormde Anammoxbiomassa spoelde dus uit en bleef achter in het opvangvat, waar het clusters vormde. In figuur 16 staan foto's van de FISH-analyse waarin de Anammoxcellen in de reactor, het effluent en het opvangvat zichtbaar zijn gemaakt.

Aangezien Anammoxbiomassa in de reactor gevormd werd en in de afpompfase werd weggepompt, is de biomassa uit het opvangvat teruggebracht in de reactor, waarna een sterke toename in de stikstofomzetting in de reactor is waargenomen.



Figuur 16: 1A + 1B: FISH foto's van de reactorinhoud, 2A + 2B: het effluent van de ophopingsreactor en 3A + 3B het bezinksel uit het opvangvat, alle 40x met Fasecontrast (links) en Fluorescentie (rechts)

4.3.2 Omzetting in een gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem

De 10 liter Anammoxreactor is vanaf dag 179 gevoed met onverdund effluent van de Sharonreactor en heeft sindsdien meer dan 100 dagen stabiel gewerkt. De omzettingresultaten van dit gecombineerde 2 x 10 liter Sharon/Anammoxsysteem staan weergegeven in tabel 9. De resultaten van het tweede gecombineerde Sharon/Anammoxsysteem staan ook in deze tabel weergegeven. Dit tweede systeem was de 2 liter Anammoxreactor, waarvan het synthetisch afvalwater na verloop van tijd geleidelijk is vervangen door effluent van de Sharonreactor.

Tabel 9: Ammonium- en nitrietverwijdering in de Anammox van de twee gecombineerde Sharon/Anammoxsystemen tijdens stabiele bedrijfsvoering

Parameter	10 l Anammox	2 l Anammox
Test periode (dag nr.)	179-289	234-400
NH ₄ -N verwijdering (kg·m ⁻³)	0,35 (± 0,08)	0,38 (± 0,2)
NO ₂ -N verwijdering (kg·m ⁻³)	0,36 (± 0,01)	0,40 (± 0,2)
NO ₂ -N : NH ₄ -N	1,03	1,05
NO ₂ -N verwijdering (%)	100	100
Totaal N verwijdering (kg N _{tot} /m ³ reactor/dag)	0,75 (±0,2)	0,97 (±0,5)
Gemiddelde Specifieke N _{tot} verwijdering bij nitrietlimitatie (kg N _{tot} /kg d.s./dag)	0,18 (±0,03)	0,33 (± 0,2)
Maximale specifieke N Omzetting (kg N _{tot} /kg d.s./dag)	0,82	0,52

In tabel 9 is te zien dat de hoeveelheden omgezet ammonium en nitriet zich bijna als 1 : 1 verhouden. Het Anammoxproces gebruikt nitriet en ammonium echter in een verhouding van 1,3 : 1; er wordt dan theoretisch per mol ammonium 0,25 mol nitraat gevormd. Er wordt dus in beide reactoren meer ammonium omgezet dan er volgens de Anammoxreactie omgezet zou kunnen worden. Een verklaring hiervoor kan gezocht worden in de heterotrofe denitrificatie van het gevormde nitraat naar nitriet. Het nitriet wat hierbij vrijkomt kan door het Anammoxproces weer met ammonium worden omgezet. Er hoeft dus hierdoor minder nitriet gevormd te worden in het Sharonproces.

Wanneer er geen denitrificatie zou plaatsvinden, zou er zich $(0,36 : 1,25) \times 0,25 = 0,072$ kg NO₃-N/m³ in het reactorsysteem moeten bevinden. Er bevindt zich echter maar 0,012 kg NO₃-N/m³ in de reactor (semi-kwantitatief met testtrips bepaald). Er wordt dus $0,072 - 0,012 = 0,06$ kg NO₃-N/m³ gedenitrificeerd naar NO₂-N. 0,06 kg NO₂-N/m³ reageert met 0,048 kg NH₄-N/m³. De verhouding ammonium en nitriet wordt dan $(0,36 + 0,06) / 0,35 = 1,2$. Dit getal komt goed overeen met de bekende NO₂-N : NH₄-N verhouding van 1,3.

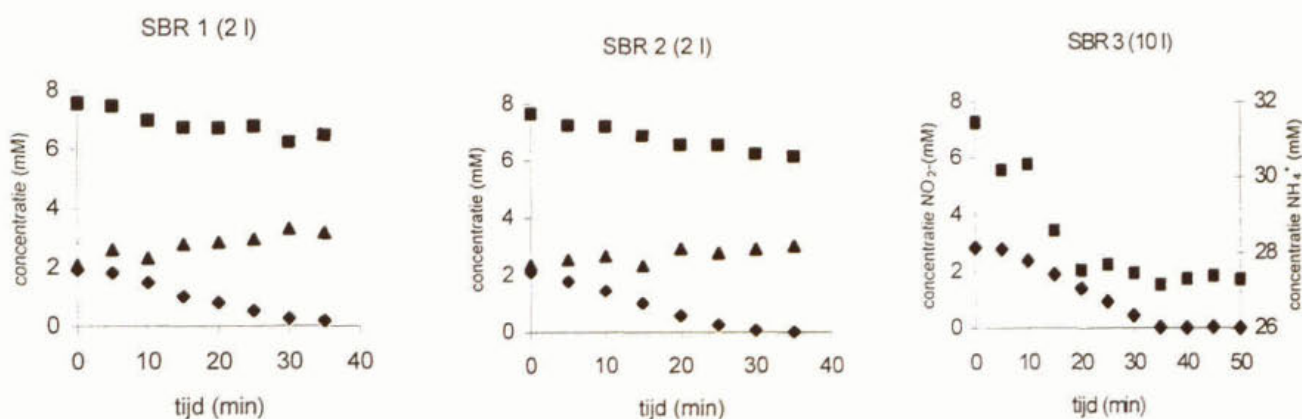
4.4 Karakterisering van het Anammoxsysteem

In deze paragraaf worden de verschillende procesparameters van Anammox die bij dit onderzoek zijn vastgesteld uiteengezet.

4.4.1 Maximale activiteit

Van de drie Anammoxreactoren die bij het onderzoek bedreven zijn, is de maximale specifieke omzettingssnelheid vastgesteld. De twee 2 liter reactoren zijn beide gevoed met synthetisch afvalwater. De 10 liter Anammox SBR is gevoed met effluent van de Sharonreactor.

De activiteitstesten van SBR 1 en 2 (de twee 2 l SBR's) zijn uitgevoerd op dag 125 van de proefperiode; op dag 235 is de maximale activiteit van SBR 3 (de 10 l SBR) bepaald. Hiervoor is aan de reactoren 2mM NO_2^- toevoegd, nadat de influentpompen waren stilgezet. In figuur 17 staan de resultaten van deze activiteitstesten weergegeven.



Figuur 17: Activiteitstesten in twee 2 l SBR's en in de 10 liter reactor (■: NH_4^+ , ▲: NO_3^- , ◆: NO_2^-)

Uit deze grafieken zijn de maximale specifieke omzettingssnelheden bepaald. De resultaten hiervan staan weergegeven in tabel 10. Tevens staan in deze tabel de omzettingssnelheden zoals die op dat moment in de verschillende reactoren waren. Hieruit is de overcapaciteit van de reactoren op dat moment bepaald. De overcapaciteit is berekend met de volgende formule: $((V_{\text{max}}/V_{\text{reactor}})-1) \cdot 100\%$.

Tabel 10: Specifieke activiteiten in de verschillende SBR's

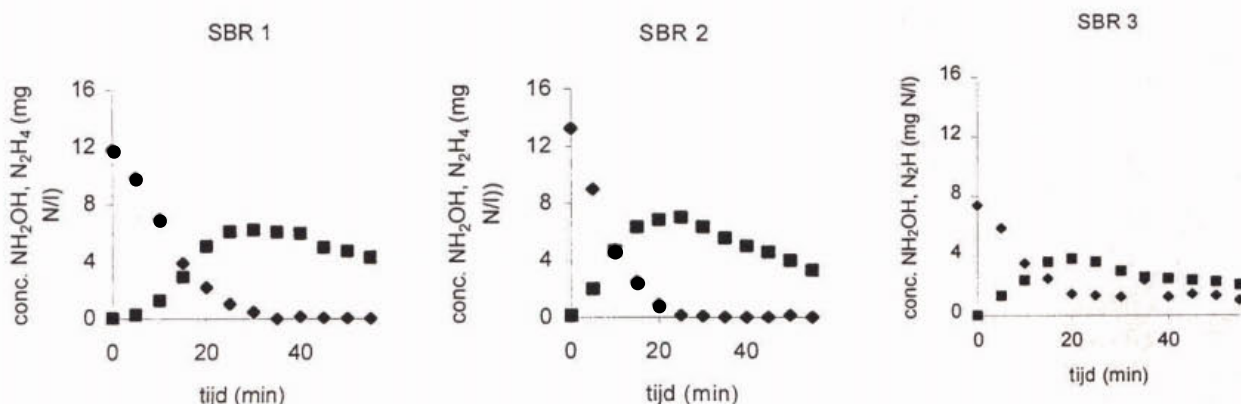
	SBR 1 (2 l)	SBR 2 (2 l)	SBR 3 (10 l)
Testdag nr.	125	125	235
V_{\max} kg $\text{NO}_2\text{-N}$ /kg d.s./dag	0,32	0,94	0,46
V_{\max} kg $\text{NH}_4\text{-N}$ /kg d.s./dag	0,2	0,62	0,36
V_{\max} kg N_{tot} /kg d.s./dag	0,52	1,56	0,82
N omzetting in reactor (kg N_{tot} /kg d.s./dag)	0,5	1,3	0,17
Overcapaciteit (%)	4	20	380
Droge stof (g/l)	1,75	0,7	3,0

De drogestofconcentraties van SBR 1 en 2 liggen ver uiteen. De specifieke activiteit in reactor 2 is bijna 2,5 maal hoger dan in reactor 1. In reactor 1 zit evenveel Anammoxbiomassa als in reactor 2, het restant van het drogestofgehalte in reactor 1 bestaat uit dode of inerte biomassa. Beide reactoren zetten echter evenveel stikstof per volume reactorinhoud om.

In tabel 10 is ook de overcapaciteit van de verschillende reactoren op de dag van de meting bepaald. In SBR 1 en 2 was dit respectievelijk 4 en 20 %. In SBR 3 was dit 380 %. De grote verschillen in overcapaciteit tussen de 2 en de 10 liter reactoren zijn te verklaren door het verschil in looptijd van de proef. Toen de activiteit in SBR 1 en 2 bepaald is, werkten beide reactoren ongeveer een week op de gewenste stikstofbelasting. De biomassa zette op dat moment dus ook min of meer met zijn maximale capaciteit om. De maximale capaciteit van SBR 3 is bepaald op dag 235. Dit is ca 8 weken nadat de reactor op de gewenste stikstofbelasting functioneerde.

4.4.2 Testen met hydroxylamine

Om te bewijzen dat Anammoxbacteriën verantwoordelijk waren voor de stikstofomzetting in de reactoren, is ongeveer 10 mg N/l anaëroob gemaakte hydroxylamine oplossing aan de reactoren toegevoegd, nadat alle influentpompen stilgezet waren. In figuur 18 staan de resultaten van deze experimenten samengevat.



Figuur 18: Resultaten van hydroxylaminetesten in SBR 1, 2, en 3 (◆ NH_2OH , ■ N_2H_4)

Na toevoeging van een puls hydroxylamine aan de reactoren trad een lichte daling van de pH-waarde op. Zoals te zien is in figuur 18 werd bij alle drie de reactoren het unieke Anammoxintermediair hydrazine gevormd. Dit betekent dat de stikstofomzetting in de reactoren door anaërobe ammoniumoxiderende bacteriën uitgevoerd is. Hydroxylamine is in SBR 1, 2 en 3 respectievelijk met 0,89, 1,69 en 0,67 kg $N_{\text{tot}}/m^3_{\text{reactor}}/\text{dag}$ omgezet.

Er was een lichte toename waar te nemen in de ammoniumconcentratie in de SBR 1 en 2. Dit ligt geheel in de lijn der verwachtingen zoals die omschreven staan in § 3.2.3. In SBR 3 is de ammoniumconcentratie min of meer constant gebleven. Dit kwam doordat de ammoniumconcentratie in deze reactor op dat moment vele malen hoger was, waardoor kleine toenames niet meer meetbaar waren.

4.4.3 Slibkarakterisering met behulp van Fluorescentie In Situ Hybridisatie

Recentelijk zijn door de TU Delft tien specifieke FISH probes voor Anammox ontwikkeld. Deze probes zijn allemaal ontworpen aan de hand van de RNA-structuur van de oorspronkelijk 'Delftse' Anammox. Als de opgehoopte Anammox in de verschillende reactoren dezelfde is als de oorspronkelijke 'Delftse' Anammox, moeten *alle* Anammoxcellen met *alle* probes oplichten. Als het om een andere Anammoxsoort gaat dan zullen de cellen wel oplichten met de ene probe en niet met de andere.

Het is gebleken dat de Anammoxcellen oplichten met zes van de tien bekende Anammoxprobes in de verschillende reactoren. Bij vier van de tien probes is weinig tot geen signaal waargenomen. In het controlemonster gaven alle tien de probes wel een duidelijk signaal.

Het lijkt er dus op dat er in de ophopingsreactoren een ander type Anammox voorkomt dan in het oorspronkelijke Anammoxsysteem.

4.4.4 Nitrificeerders in Anammox

Omdat alle in de Sharonreactor gevormde ammoniumoxideerders uiteindelijk in de Anammoxreactor terecht komen, is hun invloed op het Anammoxproces onderzocht.

Deze subparagraaf beschrijft de resultaten van de verschillende afstervingsproeven die zijn uitgevoerd met nitrificeerders. Daarnaast zijn met behulp van de FISH-techniek monsters bekeken van het effluent van de Sharonreactor, de inhoud van de Anammoxreactor en het effluent van de Anammoxreactor. Verder is de aërobe activiteit van de met effluent van de Sharonreactor gevoede Anammoxbiomassa vergeleken met die van de synthetisch gevoede Anammox.

Invloed van nitrificeerders op het Anammoxproces in batch proef

Om het mogelijke 'lot' van de uitspoelende nitrificeerders in de Anammoxreactor te voorspellen, is een afstervingsproef gedaan. De nitrificerende biomassa is gewassen en geïncubeerd met Anammoxeffluent. Een twintigtal potjes is anaëroob gemaakt en gedurende een periode van 10 weken bewaard bij 32 °C.

Met behulp van 'levend/dood'-kleuringsonderzoek is tweewekelijks de hoeveelheid dode en levende cellen in de nitrificerende biomassa bepaald.

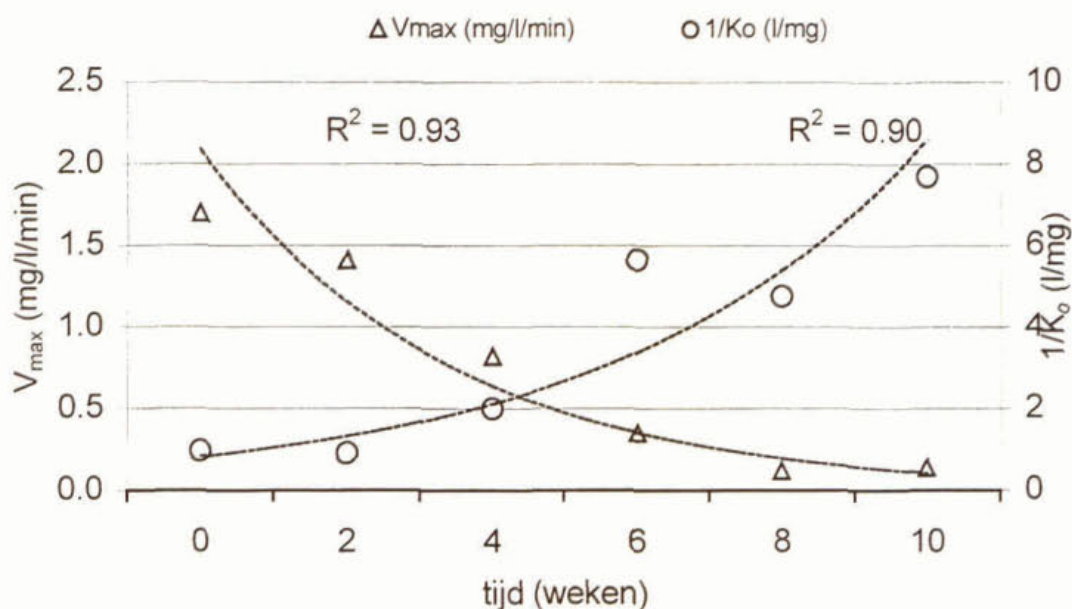
Aërobe activiteit

Om de twee weken is de aërobe activiteit van de nitrificeerders bepaald met behulp van een respirometer, waarbij tevens de affiniteitsconstante voor zuurstof is bepaald. Voor de bepaling van de respiratiesnelheid zijn de nitrificeerders eerst gewassen in een fosfaatbuffer. Als substraat voor de respiratiemeting is NH₄-N toegevoegd tot de concentratie in de respirometer circa 500 mg/l was. In tabel 11 staan de verschillende affiniteitsconstanten en maximale omzettingssnelheden zoals die gevonden zijn over een periode van 10 weken. Deze resultaten staan ook weergegeven in figuur 19.

Tabel 11: Affiniteitsconstanten voor O₂ en maximale respiratiesnelheden tijdens afstervingsproef.

Week nummer	K _o (mg/l)	V _{max} (mg/l/min)	V _{max} : K _o
0	1,03	1,70	1,65
2	1,10	1,41	1,30
4	0,50	0,82	1,64
6	0,18	0,35	1,94
8	0,21	0,12	0,57
10	0,13	0,14	1,0

In figuur 19 is te zien dat de affiniteit voor zuurstof na incubatie in celvrij Anammoxeffluent in de loop van de tijd toeneemt. De maximale omzettingssnelheid neemt tegelijkertijd af. De nitrificeerders blijven dus wel in leven. Ze lijken zich dus beter te gaan specialiseren voor opname van minimale concentraties zuurstof onder anoxische condities



Figuur 19: Aërobe activiteit van ammoniumoxideerders na anaërobe incubatie in Anammoxeffluent

Daarnaast zijn ook de $\text{NH}_4\text{-N}$ - en $\text{NO}_2\text{-N}$ -concentraties bepaald zoals die in de potjes waren na opening (tabel 12).

Tabel 12: Ammonium- en nitrietconcentraties bij anaërobe incubatie

Tijd (weken)	$\text{NH}_4^+\text{-N}$ -concentratie (mg/l)	$\text{NO}_2^-\text{-N}$ -concentratie (mg/l)
0	33	12
2	51	3
4	28	29
6	41	23
8	59	2

In tabel 12 is geen duidelijke regelmaat te ontdekken in de $\text{NH}_4\text{-N}$ - en $\text{NO}_2\text{-N}$ -concentraties.

Activiteit van ammoniumoxideerders in de Anammoxreactoren

De activiteit van de ammoniumoxideerders in de met effluent van de Sharonreactor gevoede Anammoxreactor is bepaald met een BOM meter. Ter vergelijking is ook de aërobe activiteit van een met synthetisch afvalwater gevoede Anammoxreactor bepaald.

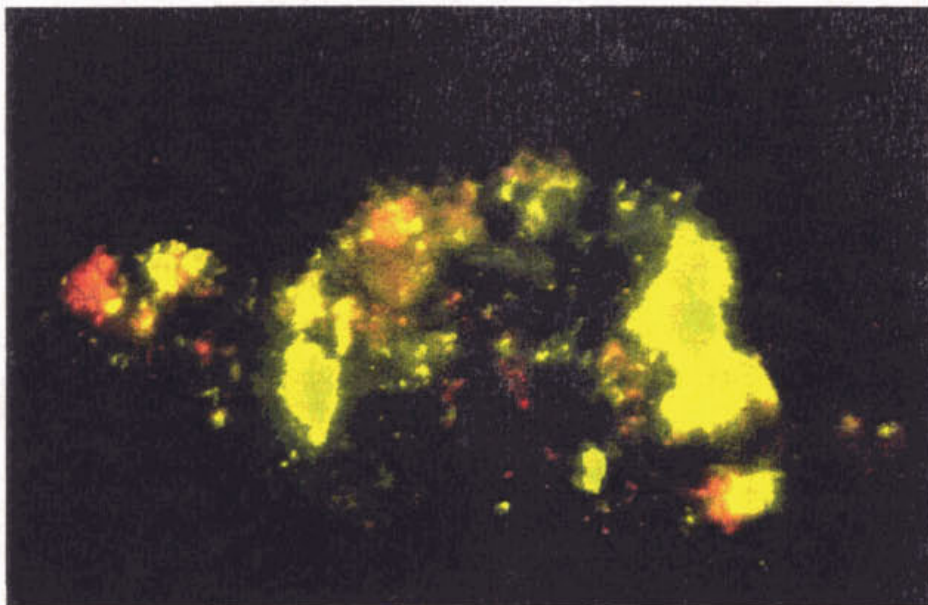
Zoals verwacht was er bij de synthetisch gevoede Anammoxreactor geen aërobe activiteit, terwijl in de met effluent van de Sharonreactor gevoede Anammoxreactor de zuurstofverbruikssnelheid $0,94 (\pm 0,04)$ mg/l/min was.

De zuurstofverbruikssnelheid in de Sharonreactor tijdens continu beluchting was $1,3$ mg O_2 /l/min. Deze waarde komt dus goed overeen met de gemeten waarden in de Anammoxreactor. Geconcludeerd kan worden dat het gehalte

aan actieve ammoniumoxideerders in de Anammoxreactor overeenkomt met de hoeveelheid in de Sharonreactor.

Levend/dood-kleuring

Uit het microscopisch onderzoek waarbij de onder anaërobe condities weggezette nitrificeerders een levend/dood-kleuring hebben ondergaan, zijn geen duidelijke verschillen over een periode van 10 weken waargenomen tussen de hoeveelheid levende en dode cellen. Figuur 20 toont een foto van een slibvlok afkomstig uit de Sharonreactor met een levend/dood-kleuring.



Figuur 20: Slibvlok afkomstig uit de Sharonreactor (500 X, groen= levend; rood= dood)

Aan de hand van het aantal rode of groene cellen kon niet worden gezegd of de nitrificeerders overleven of sterven onder Anammoxcondities. Het beeld in de bekeken preparaten vertoonde geen of weinig verschillen.

Fluorescentie In Situ Hybridisatie (FISH)

Behalve de levend/dood-kleuringen zijn ook FISH-analyses uitgevoerd op een gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem waarbij de hoeveelheid nitrificeerders is vastgesteld in zowel het effluent van de Sharonreactor als in de Anammoxreactor en het effluent van de Anammoxreactor. Hierbij is gebleken dat de hoeveelheid nitrificeerders in het effluent van de Sharon- en de Anammoxreactor even hoog is. Dit wijst erop dat de nitrificeerders zich niet handhaven in de Anammoxreactor.

4.5 Evaluatie van het experimenteel programma

Het is goed mogelijk om ammonium te verwijderen uit slibgistingwater met behulp van een gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem. De Sharonreactor is uitgevoerd als chemostaat. Hierin kan zonder pH-controle bij een hydraulische

verblijftijd van 1 dag en 35 ° C de helft van het aangeboden ammonium worden omgezet in nitriet. Nitraat wordt hierbij niet gevormd.

Het effluent van een partiële nitrificerende reactor is direct geschikt als influent voor het Anammoxproces. In het Anammoxproces wordt ammonium met nitriet onder anaërobe condities omgezet in stikstofgas en water. Zowel het nitrietvormings- als het Anammoxproces hebben geen additionele koolstofbron nodig, omdat het beide autotrofe processen zijn.

De reactorconfiguratie van Anammox moet een zeer goede slibretentie hebben omdat de Anammoxbacteriën zeer langzaam groeien (verdubbelingstijd van 11-16 dagen). Voor dit onderzoek is het Anammoxproces uitgevoerd in een Sequentiële Batch Reactor.

Een Anammoxreactor kan worden opgestart met verdund effluent van de Sharonreactor. Om Anammoxbiomassa op te kunnen hopen moet het effluent van de Sharonreactor zover verdund worden, dat de ammonium- en nitrietconcentraties < 70 mg N/l zijn. Het verdunningswater moet voldoende nitraat bevatten om sulfaatreductie in het systeem te voorkomen.

Wanneer Anammoxactiviteit in het systeem waarneembaar is, kan de stikstofbelasting geleidelijk opgevoerd worden door de fractie effluent van de Sharonreactor geleidelijk te verhogen. De hydraulische verblijftijd van het Anammoxsysteem is bij dit onderzoek altijd 1 dag geweest. De gemiddelde stikstofomzetting na 120 dagen bedroeg 0,75 kg N/m³_{reactor}/dag. Na deze periode is de proef stopgezet. De gemiddelde specifieke omzetting over 120 dagen was 0,18 kg N_{tot}/kg ds/dag. De maximale specifieke omzetting op dag 60 was 0,82 kg N_{tot}/kg ds/dag.

Een tweede gecombineerd Sharon/Anammoxsysteem heeft over een periode van 145 dagen probleemloos gefunctioneerd waarna het systeem is stopgezet. Bij dit systeem is de Anammoxbiomassa niet met behulp van effluent van de Sharonreactor maar met een synthetisch afvalwater opgehoopt. De geleidelijke overschakeling van synthetisch afvalwater naar effluent van de Sharonreactor verliep probleemloos.

Met behulp van Fluorescentie In Situ Hybridisatie (FISH) kan de ontwikkeling van biomassa nauwgezet gevolgd worden. Ruim voordat enige Anammoxactiviteit in het systeem is waar te nemen, kunnen Anammoxcellen met behulp van FISH-analyse worden aangetoond, zodat in een vroeg stadium bekend is of de opgelegde groeiomstandigheden de juiste zijn.

Op grond van de resultaten van dit onderzoek is het volgende hoofdstuk geschreven waarin onder ander een reactorkeuze wordt gemaakt voor een Anammoxreactor op volledige of pilot-schaal.

5 Procesontwerp en economische haalbaarheid

5.1 Algemene uitvoering

In het gecombineerde partiële-nitrificatie/Anammoxsysteem dienen uiteindelijk twee microbiologische processen aan elkaar te worden gekoppeld. De eerste stap (partiële omzetting van ammonium in nitriet) heeft zuurstof nodig, terwijl de tweede stap (omzetting van ammonium met nitriet tot stikstofgas) juist geremd wordt door zuurstof. Beide stappen kunnen in principe in één biofilmreactor worden gecombineerd. Daarbij dient echter de hoeveelheid zuurstof nauwkeurig te worden afgesteld op de hoeveelheid ammonium in het influent. Daarnaast dient deze biofilmreactor goed gemengd te zijn. Voor een goede procescontrole en -stabiliteit is het echter wenselijker om beide omzettingen in aparte reactoren uit te voeren.

De nitrietvorming kan zowel in een suspensie- als in een biofilmreactor plaatsvinden [11]. Voor een biofilmreactor is echter nooit eenduidig vastgesteld dat de omzetting van ammonium naar nitriet over langere tijd (meer dan 1 jaar) stabiel is. Daarom werd in dit onderzoek uitgegaan van een suspensieproces vergelijkbaar met het Sharonproces op het slibverwerkingsbedrijf Sluisjesdijk in Rotterdam. Voor het Anammoxproces is slibretentie een absolute voorwaarde gezien de lage groeisnelheid van de micro-organismen.

5.1.1 Het opstarten

Het opstarten van het nitrietvormende systeem kan relatief snel gebeuren. Binnen twee weken kan de gewenste 50% omzetting van ammonium naar nitriet gerealiseerd zijn. Voor het Anammox-proces is een langere opstartfase nodig, enige maanden. Daarbij is het noodzakelijk te voorkomen dat in het influent aanwezig sulfaat wordt omgezet in sulfide. Sulfide is toxisch voor de Anammoxbacteriën en wordt gevormd indien er een overmaat BZV in de Anammoxreactor aanwezig is. Sulfaatreductie kan worden voorkomen door nitraat aan het water toe te voegen. De hoeveelheid nitraat moet voldoende zijn om BZV in het influent, of BZV dat uit entslib vrijkomt, door conventionele heterotrofe denitrificatie te verwijderen. Indien er reeds een nitritificatieproces vóór de Anammoxreactor aanwezig is, zal het influent-BZV verwaarloosbaar zijn en hoeft alleen tijdens het opstarten gelet te worden op het voorkomen van sulfaatreductie.

De Anammoxreactor kan het best met nitrificerend laagbelast zuiveringsslib worden beënt. De kans dat in dit slib reeds Anammoxbacteriën aanwezig zijn is groot. Bovendien komt uit dit vergaand gemineraliseerd slib het minste BZV vrij. Het toevoegen van een kleine ent Anammoxbiomassa uit het laboratorium heeft geen versnellend effect. Indien echter uit een reeds

werkende Anammoxreactor slib kan worden verkregen, kan de opstartfase significant worden verkort. Dit is analoog aan de versnelling van de opstart van een UASB-reactor door korrelslib uit een reeds functionerend systeem aan te voeren. Er blijken verschillende varianten Anammoxbacteriën te bestaan. Dit betekent dat de keuze van het opstartslib afgestemd moet worden op het type Anammoxbacteriën dat op een bepaald type afvalwater wordt opgehoopt.

De opstartfase van de Anammoxreactor kan goed gevolgd worden met een FISH-analyse van het slib of het uitspoelende slib. In een vroeg stadium is waar te nemen of het aantal Anammoxbacteriën in de reactor toeneemt. Voor het aantonen van Anammoxactiviteit door middel van ammonium- en nitrietverdwijning in batchtesten is een aanzienlijke hoeveelheid Anammoxcellen nodig.

5.1.2 Algemene procesregeling en -bewaking

In continu bedrijf moet de hoeveelheid ammonium die wordt omgezet in de nitrietvormingsreactor zodanig worden geregeld dat na de Anammoxreactor alle ammonium en nitriet zijn omgezet. Hiervoor is in het influent van de Anammoxreactor een verhouding $\text{NO}_2\text{-N}/\text{NH}_4\text{-N}$ nodig van ongeveer 1,3. Gezien de mogelijk storende werking van hoge nitrietconcentraties op de Anammoxactiviteit moet het nitrietgehalte in de Anammoxreactor zo laag mogelijk worden gehouden. Een nitrietmeting in de Anammoxreactor met een online nitraat-/nitrietanalyser zou als regelgrootheid kunnen dienen. Nitrietmetingen zijn tevens gevoeliger dan ammoniummetingen. Een aanvullende ammoniummeting kan worden gebruikt om te verifiëren of de N-verwijdering volledig is.

Voor een regeling om het nitrietgehalte in de Anammoxreactor op 10 mg N/l te houden is een nitrietanalyse voldoende. Wanneer het nitrietgehalte in de Anammoxreactor oploopt, moet de omzetting in de nitrietvormingsreactor worden verminderd. Omgekeerd dient bij een dalend gehalte aan nitriet de omzetting te worden verhoogd. Bij dit laatste wordt het toevoerdebiet gecontroleerd om vast te stellen of er wel aanvoer van ammonium is.

De omzetting in de nitrietvormingsreactor kan worden geregeld door de pH of door aanpassing van de beluchtingstijd. Indien de pH in de eerste reactor niet wordt geregeld zal reeds 53% van het ammonium worden omgezet in nitriet. Zonder procesregeling zou op een totaal N-verwijderingsrendement van 85% na beide reactoren kunnen worden gerekend. Als bij de behandeling van stikstofrijke retourstromen op een RWZI alleen het grootste gedeelte van de stikstof verwijderd hoeft te worden, is wellicht geen verdere

procesregeling nodig. In dat geval kunnen redox-electrodes worden gebruikt als procesbewaking.

De ammoniumomzetting in de Sharonreactor kan worden geregeld via de aërobe verblijftijd en de pH. De regeling kan worden gebaseerd op het nitrietgehalte in de Anammoxreactor. Om de Anammoxbiomassa te beschermen is proefondervindelijk gebleken dat het nitrietgehalte onder de 70 mg NO₂-N/l moet blijven. Voor de procesregeling wordt 10 mg NO₂-N/l als regelwaarde aanbevolen. Indien het nitrietgehalte in de Anammoxreactor te hoog wordt, moet eerst worden vastgesteld of er nog voldoende ammonium aanwezig is. Als er te weinig influent wordt aangevoerd, dient de ammoniumomzetting in de Sharonreactor te worden verlaagd. Dit kan door minder te beluchten. Als het nitrietgehalte in de Anammoxreactor oploopt terwijl er voldoende ammonium aanwezig is, dient de aanvoer van effluent van de Sharonreactor tijdelijk te worden onderbroken totdat het nitrietgehalte voldoende gedaald is. Daalt het nitrietgehalte niet of niet snel genoeg dan kan ervoor worden gekozen de Anammoxreactor enige tijd te spoelen met b.v. vers slibgistingswater. Wanneer de Anammoxreactor gespoeld wordt met vers slibgistingswater, dient rekening te worden gehouden met het eventuele inspoelen van toxische sulfides uit dit vers slibgistingswater.

Droge stof in het influent (bijvoorbeeld door een niet optimale scheiding van slib en water in de slibbehandeling) hoeft op zich geen probleem te zijn. In het nitrietvormingsproces zal dit stof gewoon doorspoelen. In het Anammoxproces moet voorkomen worden dat het stof zich ophoopt in het systeem. Ophoping van inerte stof in de Anammoxreactor leidt tot een verdunning van het Anammoxslib en daarmee tot een lagere omzetting. Deze parameter is meegenomen in tabel 13 verderop in dit hoofdstuk waarin een aantal verschillende reactorconfiguraties wordt geëvalueerd.

5.1.3 Verstoringen

Protozoën

Gedurende het onderzoek is geconstateerd dat protozoën een negatieve invloed kunnen hebben op het nitrietvormingsproces. In voorafgaande onderzoeken aan het Sharonproces is dit nooit waargenomen. Een groot verschil tussen de onderzoeken is dat nu de reactor continu belucht wordt, terwijl in vroegere onderzoeken steeds werd gewerkt met lange onbeluchte denitrificatieperiodes in de reactor.

In het huidige onderzoek is vastgesteld dat onbeluchte periodes of tijdelijke verlaging van de reactor pH van 6,8 naar 6 ongewenste protozoëngroei

kunnen onderdrukken. Dit kan eenvoudig microscopisch worden waargenomen. Onbeluchte periodes hebben echter een duidelijk negatief effect op de omzetting door de nitrificeerders. Een verlaging van de pH in de nitrietvormingsreactor is mogelijk door bij een lage aanvoer van influent de beluchting (tijdelijk) aan te houden waardoor de pH in 1 tot 2 uur zal dalen tot ongeveer 6. Dit vereist geen grote beluchtingsintensiteit omdat de omzettingssnelheden relatief gering zijn. Het lijkt dus mogelijk dat door de 'natuurlijke' variatie in de influentaanvoer de pH regelmatig tijdelijk omlaag gebracht kan worden.

Indien regelmatig anaërobe periodes worden aangehouden om protozoëngroei te beperken, moet de nitrietvormingsreactor globaal 30% groter uitgevoerd worden om een goede nitrietvorming te waarborgen.

Voeding uit

Bij stoppen of uitvallen van de voeding is het raadzaam de beluchting uit te zetten. Dit kan het beste gebeuren nadat de pH is gedaald tot 6. Een zeer nauwkeurige pH-regeling is niet nodig. Bij langdurige afwezigheid van aanvoer (meerdere dagen) verdient het aanbeveling om de beluchting af en toe aan te zetten. Het negatieve effect van anaërobe periodes op de nitrietvormende bacteriën wordt voor een deel veroorzaakt door de hoge nitriet- en ammoniumgehalten in de reactor. Dit kan worden verminderd door circulatie van de reactorvloeistof tussen de twee reactoren tijdens periodes van lage influentaanvoer. De stikstofgehalten worden dan verlaagd zonder dat de nitrificeerders uitspoelen.

Voor het Anammoxproces zijn langere periodes zonder voeding geen probleem, zolang er maar nitraat in de reactor aanwezig blijft. Nitraat wordt tijdens het Anammoxproces gevormd. In afwezigheid van nitraat is de kans groot dat er sulfide wordt gevormd, wat toxisch is voor de Anammoxbacteriën.

Variabele voeding

Een variabele voeding is in principe niet problematisch. Indien het concentratievariaties betreft zal het nitrietvormingsproces zich daar min of meer automatisch aan aanpassen doordat het biomassagehalte variabel is. Variaties in het debiet worden opgevangen door de beluchtingstijd in de nitritificatiereactor aan te passen. Te hoge debieten zijn voor het nitritificatieproces niet gunstig. Dit leidt tot uitspoeling van de nitrificeerders.

Voor het Anammoxproces zijn belastingvariaties geen probleem. Het belangrijkste waarop dient te worden gelet is dat het nitrietgehalte in de Anammoxreactor niet te hoog oploopt wanneer in het nitrietvormingssysteem

de nitrietvorming te ver is doorgedaan. Men kan eventueel tijdelijk verslibrejectionwater aan de invoer van het Anammoxsysteem toe voeren.

5.2 Reactorkeuze

Voor het Sharonproces kan een compleet gemengde tank met ejectorbeluchting en mixers worden gebruikt. Retentie van biomassa moet voorkomen worden (bijvoorbeeld door een relatief kleine overstortrand op de tank toe te passen).

Voor het Anammoxproces ligt de reactorvormgeving minder vast. Hieronder (tabel 13) is een overzicht gegeven van mogelijke opties en een kwalitatieve vergelijking.

Tabel 13: Verschillende reactortypen voor Anammox, de laatste vier reactoren zijn gebaseerd op groei van slib in korrels van ongeveer twee mm.

	Biofilm oppervlak (m ² /m ³)	Operationeel	Menging	Technische Uitvoering	Gevoeligheid Slibinspoeling
Actief slib	5*	-	++	+	--
Membraan-reactor	30*	+	++	0	---
Gepakt bed biofilmreactor	200	++	--	+	++
Moving Bed Reactor	350	+	+	+	++
Fluide bed	2000	-	-	0	++
UASB/EGSB	2000	0	-	+	-
IC reactor	2000	0	++	+	+
SBR	2000	0	++	0	+

* Bij het actief slib systeem en de membraanreactor kan niet worden gerekend met een biofilmoppervlak omdat de biomassa in suspensie aanwezig is, de waarden in deze tabel staan in g/l.

Bij de beoordeling telt het aspect van inspoelend slib zeer sterk. De groeisnelheid en de groeiopbrengst van het Anammoxslib zijn laag, waardoor een kleine mate van slibinspoeling direct leidt tot een zeer sterke vermindering van de volumetrische capaciteit.

Van de reactoren in tabel 13 valt het standaard actiefslibproces direct af omdat dat een te lage volumetrische omzetting geeft. De membraanreactor valt af omdat slib in de invoer zeer efficiënt wordt vastgehouden. In dit laatste geval worden zelfs de gesuspendeerde ammonium-oxiderende bacteriën uit het nitrietvormingsproces vastgehouden.

De menging is van belang omdat het binnenkomende water een hoog nitrietgehalte heeft. Dit dient te worden opgemengd in de reactor. De relatief lage gasproductie (1065 kg N₂/dag oftewel ongeveer 1000 m³/dag) zal niet snel voor een goede menging zorgen. Er kan uiteraard aan vloeistof- of gasrecirculatie worden gedacht voor slecht gemengde systemen. Dit is in bovenstaande tabel niet meegewogen.

Na bovenstaande reductie blijven er voor de reactorkeuze twee typen over. Een reactor met korrelslib of een reactor met biofilm (gepakt bed of moving bed). De afscheiding van inspoelend slib in een reactor met korrelslib hangt sterk af van de opwaartse snelheid of bezinktijd in de slib/water-scheiding. Uit operationele overwegingen wordt in eerste instantie uitgegaan van de uitvoering van het Anammoxproces in een moving-bed-biofilmreactor. Deze reactor heeft een hoger specifiek oppervlak dan een gepakt bed reactor, is goed gemengd (geen vloeistofrecirculatie nodig) en de kans op ophoping van gesuspendeerd slib is klein.

5.3 Ontwerp

Voor het ontwerp wordt uitgegaan van eerder STOWA-onderzoek naar de N-eliminatie uit slibrejectiewater. Alle uitgangspunten zijn zoveel mogelijk gelijk gehouden aan de uitgangspunten in STOWA-rapporten 96-01 en 95-8 t/m 15. In deze rapporten werd uitgegaan van een aanvoer van 1200 kg NH₄⁺-N/dag. De berekening voor de kosten per kg verwijderde stikstof wordt gemaakt voor drie varianten:

- Variant 1 Laag: situatie waarbij het rejectiewater een relatief lage concentratie bevat (0,5 g N/l);
- Variant 2 Gemiddeld: situatie met een relatief hoog ammoniumgehalte (1,2 g N/l);
- Variant 3 Hoog: situatie waarbij vergaande mechanische indikking van het surplusslib voor de vergisting plaatsvindt (2 g N/l).

Er wordt uitgegaan van een vergaande verwijdering van ammonium en nitriet, zonder het toepassing van pH correctie door loogdosering. Door de pH te regelen kan de ammoniumconcentratie in het effluent zeer laag worden, echter de kosten voor loog dosering zijn zeer hoog. De omzetting van ammonium in de Sharonreactor wordt gelijk gesteld aan het resultaat van dit onderzoek, 53 % conversie. Er wordt verondersteld dat de vracht gedurende 80 % van de tijd wordt aangevoerd.

Tabel 14: Dimensioneringsgrondslagen*

Parameter	Eenheid	Variant 1	Variant 2	Variant 3
N-vracht	kg/dag	1200	1200	1200
N-concentratie	g N/m ³	500	1200	2000
Debiet	m ³ /dag	2400	1000	600

Parameter	Eenheid	Waarde
Temperatuur reactor	°C	32-38
Temperatuur influent	°C	27
pH		6,5-7,0
Aërobe verblijftijd nitritificatie	Dag	1
O ₂ -behoefte	g O ₂ /g NH ₄ -N omgezet	3,43
Belasting Anammoxbiomassa	g N/g ds·dag	0,6**
Verhouding NO ₃ ⁻ vorming per NH ₄ ⁺	g N/g N	0,26
Verhouding NO ₂ ⁻ verbruik per NH ₄ ⁺	g N/g N	1,3

*Er wordt uitgegaan van een proces waarbij ophoping van gesuspendeerde stof uit het influent in de reactor niet plaatsvindt.

** Dit getal (0.6) is gebaseerd op dit onderzoek waarbij op slibgistingwater Anammoxslib is gevormd. Bij het ontwerp van de eerste toepassing van Anammox is het wenselijk een lagere activiteit aan te nemen, bij de berekeningen hieronder is daarom gebruik gemaakt van 0,3 g NO₂-N/g ds.dag

De getallen in tabel 14 betekenen dat bij een N-vracht van 1200 kg N/dag 636 kg ammonium (53 %) wordt geoxideerd tot nitriet. Voor deze omzetting is $636 \cdot 3,43 = 2181$ kg O₂ nodig. Na het Anammoxproces blijft er $(636/1,3) \cdot 0,26 = 127$ kg NO₃-N en 75 kg NH₄-N per dag over in het effluent.

Berekening

Voor het reactorontwerp van een biofilmreactor is het biofilmoppervlak de bepalende ontwerpparameter. Er wordt aangenomen dat in de Anammoxreactor het nitrietgehalte lager is dan het ammoniumgehalte, dat 53% van de N-vracht bestaat uit nitriet, en dat de reactor als volledig gemengd kan worden beschouwd. De omzetting kan als volgt worden berekend:

Berekening van actieve laagdikte van een biofilm

$$\delta = \sqrt{\frac{D \cdot C_{\text{Nitriet}}}{k \cdot C_x^{\text{Biofilm}}}}$$

Waarbij:

- C_x^{biofilm} : biomassadichtheid in biofilm (70 kg ds/m³)
k : slibactiviteit (conservatief geschat op 300 g NO₂-N/kg ds/dag)
D : diffusiecoëfficiënt (8,6 · 10⁻⁵ m²/dag)
 C_{nitriet} : concentraties in de vloeistof (10 g N/m³)

Invullen van de getallen betekent dat een biofilm van 0,2 mm dikte net geheel actief is. Tot deze dikte kan de omzetting berekend worden zonder rekening te houden met diffusielimitatie. Normaal zijn de biofilms dikker en dus diffusiegelimiteerd. Dit betekent dat de omzetting per eenheid biofilmoppervlak in plaats van per eenheid slib moet worden berekend.

Berekening van de omzetting per biofilmoppervlak

$$N - \text{flux} = \sqrt{C_x^{\text{biofilm}} \cdot k \cdot D \cdot C_{\text{nitriet}}}$$

Waarbij:

- N-flux : nitrietconversie in g N/m²·dag

Dit levert een omzetting van 4,2 g NO₂-N/m²·dag. Uitgaande van een gemiddeld specifiek oppervlak van 350 m²/m³_{reactor} en een om te zetten nitrietracht van 1200 · 0,53 = 636 kg NO₂-N/dag levert dit een benodigd reactorvolume van 432 (afgerond 450) m³.

Indien een reactor gebruikt wordt gebaseerd op korrelslib is het specifiek oppervlak 2000 m²/m³, het reactorvolume kan dan ongeveer 75 m³ bedragen.

5.4 Economische evaluatie

Uitgangspunten

Voor de kostenraming wordt uitgegaan van een verblijftijd in de nitrificatiereactor van 1,3 dag en een tank van 5 meter waterdiepte. De verblijftijd is een combinatie van de benodigde aërobe verblijftijd van 1 dag en extra ruimte om bestrijding van protozoën door onbeluchte periodes mogelijk te maken. De opgeloste zuurstof kan worden gehandhaafd op 1,5 mg/l. Voor de Anammoxreactor wordt uitgegaan van een belasting van 3,5 g NO₂-N/m²·dag met een specifiek drageroppervlak van 350 m²/m³ (gepakt bed) en een minimale verblijftijd van 4 uur. Voor de Anammoxkorrelreactor is uitgegaan van een specifiek drageroppervlak van 2000 m²/m³.

Tabel 15 geeft de volgende dimensioneringen voor de drie varianten:

Tabel 15: Dimensionering van Sharon- en Anammoxreactoren bij verschillende varianten

reactor	Parameter	Eenheid	Variante 1	Variante 2	Variante 3
Sharon-reactor	N-vracht	kg N/dag	1.200	1.200	1.200
	NH ₄ -N gehalte	kg N/m ³	500	1.200	2.000
	Rejectiewaterdebiet	m ³ /dag	2.400	1.000	600
	Volume aëratieruimte	m ³	3.120	1.300	780
	Zuurstofvraag gebaseerd op ammoniumoxidatie	kg O ₂ /dag	2.181	2.181	2.181
	Luchtgift*	Nm ³ /dag	56.000	56.000	56.000
Moving bed Anammox-reactor	Volume reactor	m ³	450	450	450
	HRT	uur	4,5	11	18
Anammox-korrel reactor	Volume reactor	m ³	75	75	75
	HRT**	uur	0,75	1,8	3

*Berekend volgens de aanname dat per meter reactorhoogte het zuurstofverbruik 15 g/Nm³.m bedraagt.

** Uit oogpunt van processtabiliteit (variatie in aanvoer) is een wat langere verblijftijd wellicht wenselijk

Kostenraming

Door een adviesburo zijn kostenramingen (tabel 16) gemaakt, de grondslagen voor deze raming staan in bijlage 2.

Tabel 16: Kostenraming

Parameter	eenheid	Variante 1	Variante 2	Variante 3
N-vracht	kg N/dag	1.200	1.200	1.200
Debiet	m ³ /dag	2.400	1.000	600
Concentratie	kg/m ³	500	1.200	2.000
Investering	kf	4.983	3.997	3.603
Afschrijving	kf/jaar	528	433	393
Onderhoud	kf/jaar	101	90	83
personeel	kf/jaar	24	24	24
totaal a-o-p	kf/jaar	653	547	500
electriciteit	kf/jaar	181	167	163
Restlozing	kf/jaar	221	221	221
Totale kosten (incl. restheffing)	kf/jaar	1.055	935	884
Kosten per kg N incl. restheffing*	f	2,91	2,58	2,44
Kosten per kg N excl. restheffing*	f	2,30	1,97	1,83

* Kosten per kg N zijn berekend op basis van de verwijderde hoeveelheid N. Voor Variante 2 geldt 83 % verwijdering

Het is mogelijk om een Sharonproces (volledige oxidatie tot nitriet en denitrificatie met methanol) te vergelijken met het gecombineerde Sharon-Anammoxproces. Er treedt dan een besparing op doordat minder zuurstof (43 %) en minder methanol (100 %) nodig is. Voor enkel een Sharon bedragen voor variant 2 de totale kosten per kg N (inclusief restheffing) f 2,98 en f 2,47 (exclusief restheffing). Dit levert voor variant 2 een besparing op van kf 185 per jaar.

6 Conclusies en aanbevelingen

Met behulp van het Sharonproces kan ammonium in slibgistingwater voor meer dan 50% geoxideerd worden tot nitriet zonder gebruik te maken van een pH-correctie (loogdosering). Het ammonium en het nitriet uit het effluent van de Sharonreactor kunnen in een Anammoxreactor worden omgezet in stikstofgas. De Anammoxreactor kan met actief slib worden opgestart. De opstart zal enkele maanden vergen. Wanneer een Anammoxreactor eenmaal is opgestart, kan deze langdurig bedreven worden.

Belangrijke aandachtspunten voor de systeemkeuze en de bedrijfsvoering van het gecombineerde Sharon-Anammoxsysteem zijn de inspoeling van zwevend stof in de Anammoxreactor en de mogelijke begrazing door protozoën in de Sharonreactor.

Uit de opschalingsexercitie blijkt dat het Sharon-Anammoxproces zowel economisch als bedrijfsmatig goede perspectieven heeft. De kosten voor behandeling van slibgistingwater worden geschat op 1,5-2,5 gulden per kg N-verwijderd. Uit eerder STOWA onderzoek is gebleken dat andere technieken met een vergelijkbare kostencalculatie significant duurder uitvallen; voor het SHARON-proces met denitrificatie met methanol werd een schatting gemaakt van f 2-3/kg N, terwijl andere biologische technieken op f 5-10/kg N en fysisch/chemische technieken f 10-25/kg N kosten.

Het Sharon-Anammoxproces draagt bij aan de verduurzaming van de afvalwaterbehandeling. Ten opzichte van conventionele N-verwijdering is slechts 40 % van de zuurstof (= energie) nodig, een organische koolstofbron zoals methanol is overbodig en de slibproductie is verwaarloosbaar.

Vanwege deze goede economische en milieuhygiënische perspectieven zou zo spoedig mogelijk tot opschaling van het systeem over moeten worden gegaan. Aangezien voor het Anammoxproces een bestaand reactortype kan worden gebruikt, is het mogelijk om het proces direct naar een praktijkreactor op te schalen.

Een succesvolle opschaling kan gevolgd worden door een verdere verduurzaming van de RWZI. Dit betekent enerzijds maximalisatie van de N-vracht naar de slibgisting en anderzijds toepassing van Anammox bij lage temperatuur in de waterlijn.

Literatuur

- [1] **STOWA rapport nr 96-01.** 1996. Enkelvoudig reactorsysteem voor ammoniaverwijdering via nitriet. **ISBN** 90.74476.39.2
- [2] **Van Loosdrecht, M.C.M. and M.S.M. Jetten.** 1996. De RWZI(AWZI) van de toekomst; een combinatie van het ANAMMOX-proces en het Sharonproces., p. 155-172. In S.P. Klapwijk (ed.), 25 jaar toegepast onderzoek waterbeheer.
- [3] **STOWA rapport nr 96-21.** 1996. Verwijdering van ammonium uit slibgistingswater met het Anammoxproces. Haalbaarheidsstudie. **ISBN** 90.74476.55.4
- [4] **Hunik, J.H.,** 1993. Engineering aspects of nitrification with immobilised cells. Proefschrift LU Wageningen.
- [5] **Hellinga, C., A.A.J.C. Schellen, J.W. Mulder, M.C.M. Van Loosdrecht, and J.J. Heijnen.** 1998. The SHARON process: an innovative method for nitrogen removal from ammonium-rich waste water. *Water Sci.Technol.* **37**:135-142.
- [6] **Strous, M., J.A. Fuerst, E.H.M. Kramer, S. Logemann, G. Muyzer, K.T. Van de Pas-Schoonen, R. Webb, J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten.** 1999. Missing lithotroph identified as new planctomycete. *Nature* **400**:446-449.
- [7] **Strous, M., J.J. Heijnen, J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten.** 1998. The sequencing batch reactor as a powerful tool for the study of slowly growing anaerobic ammonium-oxidizing microorganisms. *Appl.Microbiol.Biotechnol.* **50**:589-596.
- [8] **Jetten, M.S.M., S.J. Horn, and M.C.M. Van Loosdrecht.** 1997. Towards a more sustainable wastewater treatment system. *Water Sci.Technol.* **35**:171-180.
- [9] **Jetten, M.S.M., M. Strous, K.T. Van de Pas-Schoonen, J. Schalk, L.G.J.M. Van Dongen, A.A. Van de Graaf, S. Logemann, G. Muyzer, M.C.M. Van Loosdrecht, and J.G. Kuenen.** 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *FEMS Microbiol.Rev.* **22**:421-437.

- [10] **Logemann, S., J. Schantl, S. Bijvank, M.C.M. Van Loosdrecht, J.G. Kuenen, and M.S.M. Jetten.** 1998. Molecular microbial diversity in a nitrifying reactor system without sludge retention. *FEMS Microbiol.Ecol.* **27**:239-249.
- [11] **van Benthum, W.A.J.,** 1998. Integrated nitrification and denitrification in the biofilm airlift suspension reactor. Proefschrift TU Delft.

Bijlagen:

Bijlage 1: Groeiproeven met Protozoën

Bijlage 2: Grondslagen voor de kostenberekening

Bijlage 1: Groeiproeven met de protozoën

Met behulp van een tweetal schudproeven is de aanwezigheid en de groei van de protozoën nader onderzocht. In de volgende twee paragrafen wordt ingegaan op deze twee proeven.

Herkomst van de protozoën in de Sharonreactor

Om aan te tonen dat de protozoën daadwerkelijk afkomstig zijn uit het slibgistingwater is een groeiproef uitgevoerd met gesteriliseerd- en ongeste­riliseerd slibgistingwater. Een sterilisatie zouden cysten niet overleven, dus zouden er ook geen protozoën uit dit gesteriliseerde water kunnen voortkomen. Om de aanwezige cysten tot ontkieming te laten komen is 10 ml slibgistingwater en 2 ml bacteriesuspensie aan een zestal rondkolven van 200 ml toegevoegd. De kolven zijn bij 30 °C in de schudbak geplaatst. Dagelijks is onder de microscoop bekeken of er protozoën in de kolven aanwezig waren en in welke hoeveelheden ze aanwezig waren, door ze te tellen. Van de zes ingezette rondkolven waren er drie kolven met gesteriliseerd slibgistingwater (kolf 4-6, waarvan één blanco, zonder bacteriën: kolf 6) en drie kolven met ongeste­riliseerd slibgistingwater (1-3, waarvan ook één blanco: kolf 3). De protozoën zijn gekwantificeerd door preparaten te maken met een druppeltje van 4 µl. Bij een druppeltje van 4 µl blijft alle vloeistof onder het dekglasje. Van het hele preparaat is het aantal protozoën geteld onder microscoop, zodat bekend is hoeveel protozoën zich in 4 µl bevinden. Hieruit is het aantal protozoën in 1 liter berekend. In tabel A staan de resultaten weergegeven.

Tabel A: Groeiproef met gesteriliseerd en ongeste­riliseerd slibgistingwater met batch proeven

Dag nummer	Ongesteriliseerd slibgistingwater			Gesteriliseerd slibgistingwater		
	Kolf 1 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	Kolf 2 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	3 (blanco) Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	Kolf 4 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	Kolf 5 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	6 (blanco) Aantal ($n \cdot 10^6/l$)
0	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25
1	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25
2	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25
5	32,6	40,3	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25
6	26,8	0,375	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25
7	1,0	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25

Uit Tabel A blijkt dat, wanneer het slibgistingwater gesteriliseerd is, er geen protozoën meer uit kunnen ontkiemen. Alleen in kolf 1 en 2 trad vanaf dag 5 protozoënbloei op. Hieruit is te concluderen dat protozoën afkomstig zijn uit het slibgistingwater.

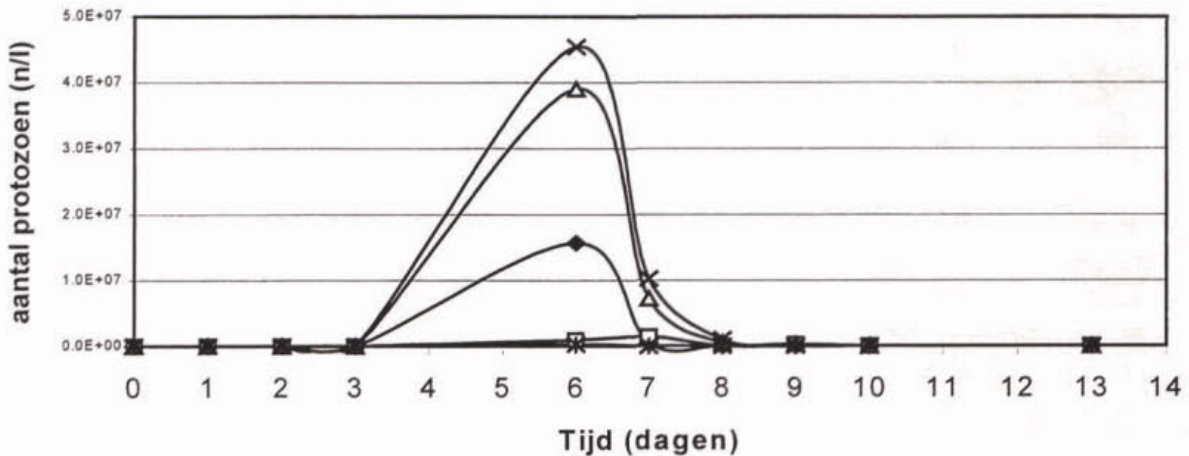
Groeiprofiel van de protozoën tijdens batch proeven

Om een duidelijker beeld te verkrijgen van het groeiprofiel en de groeisnelheid van de protozoën, is nog een groeiproef uitgevoerd. Bij deze proef is een vijftal schudkolven met alleen ongeste­riliseerd slibgistingwater ingezet. De groeiomstandigheden waren gelijk aan die van de eerste groeiproef. In tabel B staan de resultaten van deze tweede proef weergegeven. De resultaten van tabel B staan tevens weergegeven in figuur A

Tabel B: Het groeiprofiel van de protozoën bij batch schudproef

Dag Nummer	Kolf 1 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	Kolf 2 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	Kolf 3 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	Kolf 4 Aantal ($n \cdot 10^6/l$)	5 (blanco) Aantal ($n \cdot 10^6/l$)
0	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
1	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
2	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
3	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
6	15,7	0,91	39,0	45,4	0,25
7	0,50	1,4	7,3	10,3	<0,25
8	<0,25	<0,25	0,50	1,0	<0,25
9	<0,25	0,25	0,25	<0,25	<0,25
10	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25
13	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25	<0,25

groeiprofiel van de protozoën



Figuur A: Groeiprofiel van de protozoën

Figuur A vertoont geen duidelijke exponentiële groeicurve, omdat in de beginfase van de groei geen metingen zijn verricht. Wel is duidelijk dat binnen 3 dagen het aantal protozoën van $< 0,25 \times 10^6$ naar $\pm 40 \times 10^6$ per liter is toegenomen. In drie dagen zijn er dus minimaal 7 generatietijden geweest. Eén generatietijd (t_g) is dus $3/7 = 0,42$ dag. De groeisnelheid μ is $\ln 2 / t_g = \mathbf{1,62 \text{ dag}^{-1}}$.

Kolf 5 (de Blanco) heeft nooit een bloei van protozoën gehad. Aan deze kolf zijn dan ook geen bacteriën toegevoegd. In kolf 3 zijn ook nooit echt veel protozoën waargenomen. Een verklaring hiervoor ontbreekt. Wel was duidelijk te zien dat de kolven die een protozoënbloei gehad hebben (1, 3 en 4) duidelijk helderder van kleur waren dan kolf 2, die dat niet gehad heeft. In kolf 2 bevond zich na dag 13 nog steeds een grote hoeveelheid bacteriën.

In Figuur A is tevens te zien dat de terugvorming van protozo naar cyste zeer snel verloopt. In twee dagen zijn bijna alle protozoën weer in cystenvorm.

Bijlage 2: Grondslagen voor de kostenberekening:

In de kostenramingen wordt rekening gehouden met:

civiel:

- Sharon- en Anammoxreactor
 - geïsoleerde betonnen tank met betonnen dak en gefundeerd op staal
 - influentpompput (met mangat)
 - NaOH-doseerinstallatie en -opslag
 - functioneel bedieninggebouwtje
 - geen grondverbetering
- Sharonreactor
 - methanol-doseerinstallatie en -opslag
- Anammoxreactor
 - dragermateriaal

Mechanisch:

- Sharon- en Anammoxreactor
 - leidingwerk RVS
 - warmteinstallatie
- Sharonreactor
 - 2 influentpompen (1 in bedrijf en 1 stand by)
 - blowers in omkasting dichtbij tank
- Anammoxreactor
 - by-pass voorziening

Electrotechnisch:

- Sharon- en Anammoxreactor
 - hoge graad van automatisering
 - voldoende voeding aanwezig
- Sharonreactor
 - zuurstof, pH- en temperatuur-meting/regeling
- Anammox-systeem
 - nitriet-, pH- en temperatuur-meting/regeling

Stichtingskosten

Op grond van de dimensionering van de diverse varianten zijn de investeringskosten berekend. De stichtingskosten zijn als volgt opgebouwd:

- De bouwsom inclusief de onvolledigheidstoeslag is bepaald op basis van bij Grontmij gehanteerde kentallen;
- de onvolledigheidstoeslag bedraagt 10% van de bouwsom;
- onder de bijkomende kosten vallen o.a. kosten van verzekeringen, heffingen, vergunningen, uitbreiding nutsvoorzieningen, grondonderzoek en leges. Deze kosten worden op 10% van de bouwsom plus de onvolledigheidstoeslag gesteld;
- de post onvoorzien wordt gesteld op 10% en wordt gerekend over het totaal van de bovengenoemde posten;
- de advieskosten worden gesteld op 10% en worden gerekend over het totaal van bovengenoemde posten;
- over alle genoemde posten wordt 17,5% B.T.W. gerekend.

Exploitatiekosten

De jaarlijkse lasten per variant betreffen de exploitatiekosten voor het behandelen van het afvalwater. Voor het berekenen van de jaarlijkse lasten is uitgegaan van het prijspeil van 2000. De volgende uitgangspunten zijn gehanteerd:

- voor de afschrijving van de civieltechnische werken wordt een periode van 30 jaar aangehouden. Voor de afschrijving van mechanische en electrotechnische werken wordt een periode van 15 jaar aangehouden;
- de kapitaallasten worden berekend met de annuïteitenmethode. Als rentepercentage wordt 8% aangehouden;
- de onderhoudskosten voor civieltechnische werken worden op 0,5% per jaar gesteld; de onderhoudskosten voor mechanische en elektrische werken worden op 3% per jaar gesteld;
- voor personeel wordt uitgegaan van personeelslasten van fl. 80.000,- per jaar en een bezetting van 1,5 mensdag per week;

voor energie en chemicaliën kosten worden de bedragen van tabel 17 gehanteerd:

Tabel 17: Prijzen van grondstoffen

Grondstof		Prijs (exclusief. BTW)	
Energie	Electriciteit	[f/kWh]	0,15
Electronendonor Denitrificatie	Methanol	[f/kg]	0,30

het heffingstarief bij lozing van stikstof op rijkswater bedraagt 32,50 per v.e. = 3,- per kg N

