

Inleiding

In toenemende mate wordt voor de zuivering van afvalwater gekozen voor anaërobe processen. Deze tendens zal zeker aanhouden, gezien de ontwikkeling van de energieprijzen en de toenemende moeilijkheden bij de afzet van surplusslib. De gevoeligheid van anaërobe bacteriepopulaties voor remmende en toxische stoffen wordt echter gezien als een groot nadeel. Dit idee leidt er tot nu toe vaak toe, dat anaërobe zuivering wordt afgewezen voor afvalwater dat potentieel remmende stoffen bevat.



I. W. KOSTER
Landbouwhogeschool
Vakgroep Waterzuivering



A. RINZEMA
Landbouwhogeschool
Vakgroep Waterzuivering

De Technische Commissie Anaërobie (TCA) heeft dit onderkend. Zij organiseerde daarom op 26 en 27 april 1984 in Veldhoven een workshop over de fenomenen toxiciteit en adaptatie bij anaërobe processen. In 18 lezingen werd een overzicht gegeven van de wetenschappelijke kennis over belangrijke remmende stoffen en van praktijkervaringen met afvalwater dat remmende componenten bevat. Dit artikel is een weergave van de algemene inleiding waarmee de workshop werd geopend, aangevuld met gegevens uit een aantal presentaties.

Toxiciteit in de anaërobe zuivering

In anaërobe afvalwaterzuiveringsprocessen wordt organisch materiaal door anaëroob actief slib omgezet in methaan. In deze methaangisting kunnen we vier belangrijke fasen onderscheiden [1, 2]:

- hydrolyse: de vervloeiing van gesuspendeerd materiaal,
- acidogenese: de vorming van vluchtige organische zuren en relatief kleine hoeveelheden alcoholen, waterstof en kooldioxyde,
- acetogenese: omzetting van de acidogeneseprodukten in azijnzuur, waterstof en kooldioxyde,
- methanogenese: de vorming van methaan uit azijnzuur en uit waterstof en kooldioxyde.

Stagnatie van de methaanvorming heeft een ophoping van organische zuren tot gevolg. Afhankelijk van de buffercapaciteit zal dit na kortere of langere tijd tot een verzuring van het reactormilieu leiden. Bij een sterke

verzuring kunnen de methaanvormende bacteriën afsterven. Onzorgvuldig reactorbeheer kan, zelfs bij de tijdelijke aanwezigheid van een stof die de methaanvorming remt, zodoende tot een definitieve verstoring van het zuiveringsproces leiden. Bij de introductie van hoogbelaste slijkgistingsreactoren is verzuring herhaaldelijk voorgekomen. Dit heeft er toe geleid dat anaërobe zuivering lange tijd ongeschikt werd geacht voor afvalwater waarin met een zekere regelmaat remmende stoffen voorkomen. Remming van de methaanvorming is het startpunt voor totale procesontregeling. Bovendien zijn de methaanvormende bacteriën gevoeliger voor toxische stoffen dan de andere bij de methaangisting betrokken bacteriën. Om deze redenen is tot nu toe vooral aandacht geschonken aan het effect van diverse stoffen op de methanogenese. Pas de laatste jaren zijn gegevens over remming van de andere proces-fasen bekend geworden.

Zo zijn er aanwijzingen dat de ionensterkte van het reactormilieu invloed heeft op de werking van voor de hydrolyse noodzakelijke exo-enzymen [3]. Ook humuszuren remmen de hydrolyse [4]. Adsorptieverschijnselen spelen bij deze remming een belangrijke rol; het mechanisme van de remming is echter nog niet volledig ontrafeld. Bij de anaërobe afbraak van hogere vetzuren — vetzuren met meer dan 8 C-atomen — is sprake van substraatremming. Boven een bepaalde concentratie remmen deze vetzuren hun eigen afbraak [5]. Ook hier speelt adsorptie waarschijnlijk een grote rol.

In plaats van een maximum toelaatbare concentratie, kan daarom beter een maximaal toelaatbare slibbelading worden gehanteerd. Rinzema noemde in dit verband een grenswaarde van 0,2-0,3 gram vetzuur per gram organische stof (biomassa). In de acidogene fase van de methaangisting kan produktremming optreden. Van Andel presenteerde experimentele resultaten, waaruit blijkt dat een verhoogde concentratie van een organisch zuur kan leiden tot verschuivingen in het produktenpakket van de acidogene bacteriën. Dit is aangetoond voor boterzuur [6]. Een verandering van het produktenpakket heeft ook gevolgen voor acetogene bacteriën.

De kennis omtrent remmingseffecten in de eerste drie fasen van de methaangisting is nog verre van volledig. Binnen afzienbare tijd kunnen echter nieuwe gegevens worden verwacht, omdat het belang van deze fasen is onderkend. De effecten van humuszuren en van hogere vetzuren worden momenteel onderzocht op de Landbouwhogeschool Wageningen.

De rest van dit artikel gaat over de toxiciteit in de methanogene fase van het anaërobe zuiveringsproces.

Categorieën van potentiële gifstoffen

We kunnen twee groepen potentieel remmende stoffen onderscheiden:

1. Stoffen die normaal niet in biologische systemen voorkomen en die zelfs bij zeer lage concentraties het celmetabolisme verstoren. Voorbeelden zijn chloroform, cyanide en monensin (veevoederadditief).
 2. Stoffen die normaal in een anaëroob milieu voorkomen en gewoonlijk of inert zijn met betrekking tot methaanbacteriën, of zelfs noodzakelijk voor hun groei.
- Een concentratie-toename zal voor stoffen uit categorie 1 altijd een toename van het remmende effect veroorzaken. Wel geldt ook voor deze stoffen dat de tolerantie kan toenemen door adaptatie. Bij niet-geadapteerde bacteriën veroorzaken deze stoffen al een daling van de specifieke methanogene activiteit bij concentraties van enkele milligrammen per liter.

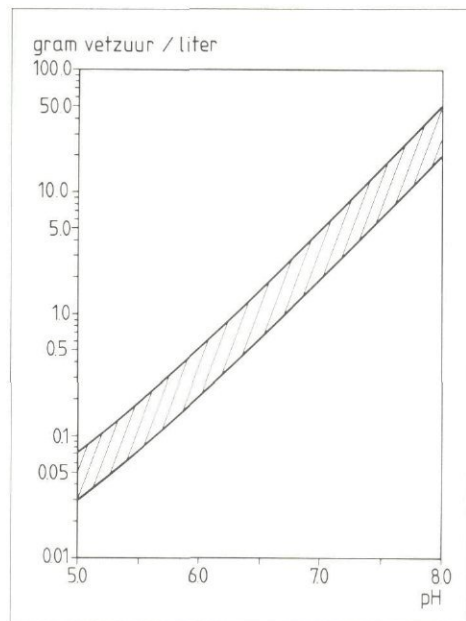
Stoffen uit categorie 2 stimuleren de specifieke methanogene activiteit bij lage concentraties. Een concentratieverhoging leidt hier tot een activiteitstoename. Hierboven ligt een concentratiegebied waarin deze stoffen de activiteit nauwelijks beïnvloeden. Pas bij relatief hoge concentraties verlagen ze de methanogene activiteit. Afhankelijk van de aard van de stof, treedt deze remming op vanaf enkele tientallen tot enkele honderden milligrammen per liter, bij niet-geadapteerde bacteriën. Adaptatie aan veel hogere concentraties is veelal mogelijk. In categorie 2 horen naast substraten (bijv. azijnzuur) ook nutriënten (bijv. ammoniumstikstof) en sporenelementen (bijv. nikkel) thuis. De genoemde voorbeelden worden hieronder besproken.

Nikkel

Nikkel is gewoonlijk geen noodzakelijk sporenelement voor bacteriegroei. Methaanvormende bacteriën hebben echter enkele nikkelbevattende enzymen, waardoor nikkel voor hen een essentieel element is [7]. Dit wordt weerspiegeld door het vrij hoge nikkelgehalte van methanogene bacteriën: 65-180 ppm [8]. Nikkel stimuleert de methaanvorming bij concentraties tot enkele honderden microgrammen per liter [9, 10]. Remming van de methaanvorming is geconstateerd bij concentraties van enkele tientallen tot duizend milligrammen per liter [11].

Azijnzuur

Men kan de acetaatsplitsende methanogene bacteriën grofweg in twee groepen verdelen: de *Methanotrix*-groep die een hoge affiniteit voor azijnzuur heeft, en de *Methanosarcina*-groep met een relatief lage affiniteit [2]. Omdat de methaanproduktie is gekoppeld aan de groei, bereikt een populatie waarin *Methanotrix* domineert bij ca. 30 mg azijnzuur/l 50% van zijn maximale activiteit.



Afb. 1 - Verband tussen de totale azijnzuurconcentratie waarbij remming van de methanogenese merkbaar wordt en de pH. Gebaseerd op toxiciteit bij 10-25 mg/l ongedissocieerd azijnzuur [14].

Een populatie waarin *sarcina*'s domineren, bereikt 50% van zijn maximale activiteit bij ca. 200 mg/l.

De negatieve invloed van azijnzuur op de methanogenese uit acetaat is gekoppeld aan de concentratie van ongedissocieerd azijnzuur [12, 13, 14]. Duarte en Anderson [14] schatten dat remming merkbaar wordt vanaf 10-25 mg ongedissocieerd azijnzuur per liter. Afb. 1 geeft de pH-invloed op de getolereerde acetaatconcentratie weer. Waterstof consumerende methanogenen lijken veel minder gevoelig voor azijnzuur te zijn. *Methanobacterium formicicum*, de belangrijkste waterstof consumerende methaanvormer in mestvergistingsinstallaties ondervindt nog geen hinder van 10 g acetaat per liter [15].

De lezing van Lettinga maakte duidelijk dat methanogenen slib in het algemeen in staat is zich te herstellen van een tijdelijke verhoging van het azijnzuurgehalte, boven het niveau dat volgens Duarte en Anderson [14] remming veroorzaakt.

Ammoniak

De belangrijkste stikstofbron voor methaanvormende bacteriën is ammonium-stikstof; organische stikstofverbindingen kunnen niet direct worden benut als stikstofbron [16]. McCarty [17] geeft aan dat ammonium-stikstof de methaanvorming stimuleert bij gehalten van 50-200 mg/l. Tussen 200-1.000 mg/l zou geen effect op de specifieke activiteit optreden. Dolfig heeft een stimulerend effect van ammonium-stikstof op de methaanvorming uit azijnzuur waargenomen in het concentratiegebied

70-700 mg/l [J. Dolfig, pers. mededeling]. Boven ca. 700 mg/l blijkt een concentratieverhoging gepaard te gaan met een evenredige verlaging van de specifieke methanogene activiteit [18].

Niet-geacclimatiseerde bacteriepopulaties zullen bij ammonium-stikstof concentraties boven ca. 1.700 mg/l niet meer in staat zijn tot methaanproductie [19]. Na acclimatisatie vindt zelfs bij 10-15 gram ammonium-stikstof per liter nog methaanproductie plaats [20, 21].

Net als bij azijnzuur, is voor het effect van ammonium-stikstof de pH in het systeem erg belangrijk. Ammoniak (NH_3) wordt namelijk geacht de feitelijke giftige stof te zijn [20, 22]. Bij hogere concentraties heeft volgens McCarty ook ammonium een giftige werking [22].

Poels raadt in zijn lezing aan om, indien mogelijk, de ammoniak-concentratie in een methaangistingsreactor beneden 100 mg NH_3 -N/l te houden. Na adaptatieperioden van minstens 2 maanden bleek echter bij ca. 300 mg NH_3 -N/l de methaangisting nog vlot te verlopen. Deze laatste waarneming wordt volgens Poels bevestigd door praktijkervaringen met stikstofrijk afvalwater van stokerijen, slachthuizen en destructiebedrijven. Ook de vergisting van varkensmest verloopt goed bij 300-400 mg NH_3 -N/l. Bij de vergisting van mest met een hoog ammonium-gehalte blijkt de opstartprocedure van essentieel belang te zijn. Een te hoge aanvangsbelasting kan tot een 'steady state' met een hoge vetzuurconcentratie in het effluent leiden, en dus tot een te lage biogasproductie [23].

Thermofiele methaangisting (55 °C) blijkt veel gevoeliger voor ammonium-stikstof te zijn dan mesofiele methaangisting (35 °C). Dit is een gevolg van de toename van de fractie vrij ammoniak (NH_3) bij stijgende temperatuur [24]. Adaptatie aan ammonium-stikstof concentraties boven de aanvankelijke 'toxiciteitsdrempel' verloopt bij thermofiele en mesofiele methaangisting op vergelijkbare wijze [25]. Recent onderzoek heeft uitgewezen dat de groeisnelheid van thermofiele acetaatsplitsende methaanvormers onafhankelijk is van het gehalte ammonium-stikstof (0,1-4,5 g/l). De groeisnelheid van thermofiele waterstof verbruikende methaanbacteriën wordt echter zeer sterk door het ammoniak-gehalte beïnvloed. De geconstateerde remming van de thermofiele azijnzuurafbraak is dus een indirect effect. Wiegant gaf hiervoor de volgende verklaring: De remming van de methaanvorming uit waterstof en kool-dioxyde veroorzaakt een verhoging van de waterstofspanning. Hierdoor stagneert de propionzuurafbraak; propionzuur remt tenslotte de acetaatafbraak [26]. Afb. 2 geeft deze indirecte remming schematisch weer.

Tolerantie verhogende mechanismen

In de loop der jaren is steeds duidelijker geworden dat we ons niet te sterk moeten laten leiden door resultaten van kortdurende batchexperimenten onder modelomstandigheden, als we de giftigheid van een bepaalde stof willen beoordelen. Dergelijke experimenten duren veelal te kort, om adaptatieverschijnselen te kunnen waarnemen. Bovendien kunnen in de praktijksituatie voorkomende chemische en microbiologische mechanismen soms in het modelsysteem niet tot uiting komen.

Effectieve concentratie en totale concentratie

Vaak is in een methaangistingsproces de werkzame hoeveelheid van een potentiële gifstof veel lager dan de totaal aanwezige hoeveelheid. Denk bijvoorbeeld aan azijnzuur [12, 13, 14], ammonium-stikstof [20, 22] en sulfide [27].

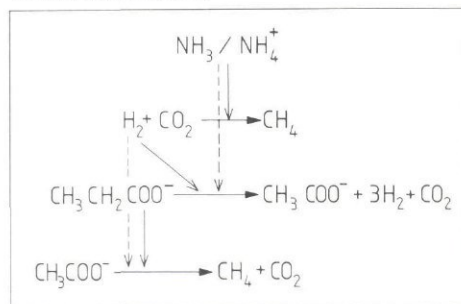
De remming wordt in deze drie gevallen vooral veroorzaakt door het niet-geïoniseerde molecuul, zodat het toxische effect bij een bepaalde concentratie sterk pH-afhankelijk is.

De werkzame hoeveelheid gifstof kan ook worden verlaagd door de vorming van slecht oplosbare neerslagen. De vorming van metaalsulfides is hiervan een goed voorbeeld. Enerzijds kan men hiervan gebruik maken om remming door sulfide op te heffen, anderzijds wordt hierdoor de werkzame hoeveelheid zware metalen verlaagd (oplosbaarheidsproducten bij kamertemperatuur variëren van $3,7 \times 10^{-9}$ voor FeS tot $8,5 \times 10^{-45}$ voor CuS [28]). Ook de vorming van slecht oplosbare carbonaten speelt een rol bij de toxiciteit van zware metalen [29, 30]. Dit is echter alleen belangrijk, als de pH hoog genoeg is. Voor de vorming van cadmiumcarbonaat is een pH boven 7,2 nodig, voor zinkcarbonaat moet de pH boven 7,7 liggen. IJzercarbonaat-vorming treedt echter al vanaf pH 6,4 op. Men kan dus de door zware metalen veroorzaakte remming onderdrukken door toevoeging van

Afb. 2 - Door Wiegant en Lettinga [26] voorgesteld schema voor de remmende invloed van ammoniak/ammonium op de thermofiele methaanvorming.

Horizontale pijlen: geremde reacties.

Verticale pijlen: remmende invloed (mogelijke, maar niet voldoende bewezen remmende invloeden zijn weergegeven met onderbroken pijlen).



TABEL I – Antagonisme en synergisme bij kation-toxiciteit in methaan-gistingsprocessen (Kugelman & Chin [11]).

Toxisch kation	Antagonist	Synergist
Na	K	NH ₄ , Ca, Mg
K	Na, Ca, Mg, NH ₄	
Ca	Na, K	NH ₄ , Mg
Mg	Na, K	NH ₄ , Ca
NH ₄	Na	K, Ca, Mg

(een kleine hoeveelheid) sulfaat – dit wordt anaëroob omgezet in sulfide – en door bij hoge pH te opereren [31]. Het optimale pH-gebied ligt voor anaërobe zuivering doorgaans tussen 6,8 en 7,4 [32], maar in gevallen waar remming door zware metalen op kan treden, kan men beter bij een pH tussen 7,4 en 8,0 werken [33]. Het toxische effect van hogere vetzuren, zoals palmitine-, stearine- en oliezuur, kan sterk worden verminderd door de vorming van slecht oplosbare calciumzouten [11]. Door calciumdosering kan men remming door hogere vetzuren voorkomen, mits dit gebeurt binnen enkele uren na de introductie van de vetzuren in de anaërobe reactor [5]. De noodzaak tot snel ingrijpen heeft waarschijnlijk te maken met de snelle en volledige adsorptie van hogere vetzuren aan organisch materiaal.

Antagonisme en synergisme

De toxische werking van een bepaalde stof kan worden versterkt (synergisme) of verzwakt (antagonisme) door de aanwezigheid van een andere stof. Dit is met name voor de kationen Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ en NH₄⁺ uitgebreid onderzocht [11, 34, 35]. In het algemeen kan worden gesteld dat monovalente kationen een optimaal antagonistisch effect sorteren als ze in een concentratie van ca. 0,01 M aanwezig zijn. Voor divalente kationen ligt het optimum bij ca. 0,005 M.

Een kation kan al een synergistisch effect uitoefenen bij een concentratie waarbij het zelf nog niet remmend werkt als het alleen aanwezig is. Tabel I geeft een opsomming van synergistisch en antagonistisch werkende kationen, gebaseerd op het werk van Kugelman en Chin [11]. Hierbij moet de kanttekening worden geplaatst, dat geen van de deelnemers aan de workshop voorbeelden kende van situaties waarin doelbewust gebruik is gemaakt van antagonistisch werkende stoffen, om remmingsverschijnselen te onderdrukken.

Adaptatie

Eén van de belangrijkste aspecten van remmingsverschijnselen in methaangistingsprocessen is ongetwijfeld het vermogen van de bacteriepopulatie om aan toxische stoffen te wennen. Adaptatie (= acclimatisatie)

treedt op bij geleidelijke verhoging van de concentratie van de toxische stof [17, 36]. Ook na een periode waarin de bacteriën door de toxische stof *schijnbaar* zijn afgedood, kan echter herstel door adaptatie optreden [19, 21, 37].

Adaptatie is eigenlijk een verzamelnaam, waar een aantal processen onder vallen. In sommige gevallen treedt aanpassing van het celmetabolisme op. Dit is waarschijnlijk het geval bij ammoniak. Hier is namelijk geen sprake van afbraak, precipitatie of vervluchtiging in het biogas. De adaptatie verloopt te snel om volledig te kunnen worden verklaard met het ingroeien van een 'betere' bacteriestam.

Er kan ook adaptatie optreden, doordat bacteriën ingroeien die in staat zijn om de remmende stof af te breken. Voorbeelden hiervan zijn het ingroeien van denitrificerende bacteriën die nitraat onschadelijk maken [11] en van sulfaatreducerende bacteriën die sulfiet omzetten in het minder toxische sulfide [38].

De bacteriepopulatie kan ook adapteren, doordat er bacteriën ingroeien die een hogere tolerantie ten opzichte van de remmende stof hebben. Dit kan hetzij een totaal ander micro-organisme zijn, hetzij een mutant van het oorspronkelijk aanwezige organisme. In dit verband is het noodzakelijk om erop te wijzen, dat genetische manipulatie voorlopig geen uitzicht biedt op een oplossing voor allerlei remmings-problemen. Van der Drift maakte duidelijk dat het onderzoek op dit gebied beslist nog geen perspectief biedt voor de praktijk. Door adaptatie kan de concentratie van een remmende stof die de bacteriepopulatie tolereert, sterk stijgen. Dit wordt geïllustreerd door tabel II, die is samengesteld op basis van gegevens uit Amerikaans onderzoek [33]. Het vermelde relatieve adaptatiepotentieel is het quotiënt van de concentratie die in een geacclimatiseerd anaëroob filter 50% remming van de methaanvormingssnelheid veroorzaakte, en de concentratie die in een niet-geadapteerde batchreactor 50% remming veroorzaakte. De vermelde adaptatiepotentiëlen zijn overigens niet zonder meer de maximaal haalbare.

Slibverblijftijd

Als afvalwater toxische componenten bevat, is de slibverblijftijd (ook wel celverblijftijd genoemd) één van de belangrijkste parameters bij het ontwerp en de bedrijfsvoering van de anaërobe zuiveringsinstallatie. Na een schokbelasting met de toxische stof dient men binnen de herstelperiode, waarin de bacteriën langzamer groeien, te zorgen dat de bacteriepopulatie niet uitspoelt. Bij continue aanwezigheid van de remstof

TABEL II – Relatief adaptatie potentieel van methanogene bacteriepopulaties (Yang et al [33]).

Relatief adaptatie potentieel	Toxische stof
< 2	Cr ³⁺ Ni ²⁺ propanal bacitracine
2–5	NH ₄ ⁺ Cu ²⁺ formaldehyde
5–25	CN ⁻ nitrobenzeen
> 70	SO ₃ ²⁻ chloroform monensin

dient men eveneens te zorgen voor een slibverblijftijd die boven een bepaalde minimumwaarde, de zgn. 'washout-time', ligt [37, 39, 40].

Deze minimum slibverblijftijd is in geremde systemen langer dan in ongeremde systemen. Een celverblijftijd van 50-100 dagen is voor dit soort situaties veelal voldoende. Uiteraard moet hiernaast worden voorkomen dat de pH te ver daalt, ten gevolge van (tijdelijke) vetzuurophoping (buffering, pH-regeling). De negatieve ervaringen die in de jaren '50 en '60 zijn opgedaan met toxiciteit in anaërobe reactoren, zijn voor een belangrijk deel te wijten aan de gehanteerde slibverblijftijd. In die tijd werkte men met het contactproces en met slijkgistingsprocessen, dit zijn systemen met een vrij lage slibverblijftijd.

In moderne anaërobe zuiveringssystemen zoals de UASB-reactor, het anaërobe filter en de fixed film reactor is de slibverblijftijd veel hoger, omdat de bacteriën zijn geïmmobiliseerd. In een anaëroob filter kan bijvoorbeeld een slibverblijftijd van enige honderden dagen worden bereikt [41]. In het algemeen kan men stellen dat een modern anaëroob zuiveringssysteem toxische componenten in het afvalwater goed kan verdragen, omdat de celverblijftijd lang is.

De lange celverblijftijd zorgt ervoor dat ook bij verminderde groeisnelheid van de bacteriën er voldoende actieve biomassa in het systeem blijft gehandhaafd. De korte vloeistofverblijftijd, die ook kenmerkend is voor de moderne anaërobe zuiveringssystemen, blijkt bij schokbelastingen met een remstof een voordeel te zijn omdat hierdoor de contacttijd tussen remstof en biomassa wordt beperkt [40].

Als de concentratie remstof tijdelijk extreem hoog oploopt, kan men bij de moderne systemen met verhoogde slibretentie meestal nog een aanzienlijke verdunning toepassen (bijvoorbeeld door recirculatie) zonder dat het slib uitspoelt.

Lezingen TCA Workshop 'Toxiciteit en Adaptatie bij Anaërobe Processen', Veldhoven, 26-27 april 1984

Algemene inleiding:

1. Ir. I. W. Koster (LH Wageningen); 'Toxiciteit en adaptatie bij anaërobe processen'.
2. Prof. dr. A. J. B. Zehnder (LH Wageningen); 'Adaptatie van methanogene populaties'.

Remming door ammoniak:

3. Prof. dr. W. Verstraete (RU Gent); 'Algemene inleiding'.
4. Ir. G. Zeeman (LH Wageningen); 'De invloed van organische stof- en NH_4^+ -N concentratie op de vergisting van mest'.
5. Ir. K. W. van der Hoek (RAAD); 'Ammoniak-remming bij mestvergisting'.
6. Ir. W. M. Wiegant (LH Wageningen); 'De toxiciteit van ammoniak in de thermofiele mestgisting'.
7. Ir. J. Poels (RU Gent); 'Remming door ammoniak bij de mesofiele methaangisting van afvalwaters en mengmest'.
8. Ir. W. de Zeeuw (Avebe); 'Remming door ammoniak bij aardappelafvalwater'.

Genetica:

9. Dr. C. van der Drift (KU Nijmegen); 'Genetica van methaanbacteriën'.

Praktijkervaringen:

10. Ir. A. J. M. Jans (Grontmij); 'Formaldehyde'.
11. Ir. R. R. Kruize (Dienst Openb. Werken A'dam); 'Vergiftiging van de slibgisting op de rwzi A'dam-Noord'.
12. Ir. A. Rinzema (LH Wageningen); 'Remming door hogere vetzuren'.

Zwavelhoudend afvalwater:

13. Prof. dr. J. G. Kuenen (TH Delft); 'Algemene inleiding'.
14. Ir. A. Mulder (Gist-Brocades); 'Afvalwater van de gistfabricage, ervaringen met een fluidized bed reactor'.
15. Drs. H. J. Nanninga (RU Groningen); 'Zuivering van aardappelafvalwater in een UASB-reactor'.
16. Ir. W. Maaskant (Heidemij); 'Zuivering van koolhydraatafvalwater in een UASB-reactor'.

Substraat- en produktremming:

17. Dr. J. G. van Andel (Univ. van A'dam); 'Effect op de acidogene populatie'.
18. Dr. ir. G. Lettinga en ir. W. de Zeeuw (LH Wageningen); 'Effect op de methanogene populatie'.

Literatuur

1. McInerney, M. J. e.a. (1980). *Metabolic stages and energetics of microbial anaerobic digestion*, in: Stafford

e.a., eds. *Anaerobic Digestion*, Applied Science Publishers, London, UK.

2. Gujer, W. and Zehnder, A. J. B. (1983). *Conversion processes in anaerobic digestion*. Water Science and Technology 15 (8/9): 127-167.
3. Dale, B. E. and White, D. H. (1983). *Ionic strength: A neglected variable in enzyme technology*. Enzyme Microb. Technol. 5: 227-229.
4. Brons, H. J. (1984). *Verbetering anaërobe afbreekbaarheid van complex organisch materiaal*. Rapport PBE (in druk).
5. Hanaki, K. e.a. (1981). *Mechanism of inhibition caused by long-chain fatty acids in anaerobic digestion process*. Biotech. Bioeng. 23: 1591-1610.
6. Zoetemeyer, R. J. e.a. (1982). *Product inhibition in the acid forming stage of the anaerobic digestion process*. Water Research 16: 633-639.
7. Thauer, R. K. e.a. (1980). *Biological role of nickel*. Trends in Biochemical Sciences, pp. 304-306.
8. Scherer, P. e.a. (1983). *Composition of the major elements and trace elements of 10 methanogenic bacteria, determined by inductively coupled plasma emission spectrometry*. Biological Trace Elements Research 5: 149-163.
9. Speece, R. E. e.a. (1983). *Nickel stimulation of anaerobic digestion*. Water Research 17: 677-683.
10. Thauer, R. K. (1983). *Leben ohne Licht und Sauerstoff*. Umschau 2: 53-57.
11. Kugelman, I. J. and Chin, K. K. (1971). *Toxicity, Synergism and Antagonism in Anaerobic Waste Water Treatment Processes*. Advances in Chemistry Series 105: 55-90.
12. Andrews, J. F. (1969). *Dynamic Model of the Anaerobic Digestion Process*. Journal of the Sanitary Engineering Division 95: 95-116.
13. Andrews, J. F. and Graef, S. P. (1971). *Dynamic Modelling and Simulation of the Anaerobic Digestion Process*. Advances in Chemistry Series 105: 126-162.
14. Duarte, A. C. and Anderson, G. K. (1982). *Inhibition Modelling in Anaerobic Digestion*. Water Science and Technology 14: 749-763.
15. Hobson, P. N. and Shaw, B. G. (1976). *Inhibition of Methane Production by Methanobacterium formicum*. Water Research 10: 849-852.
16. Bryant, M. P. e.a. (1971). *Nutrient Requirements of Methanogenic Bacteria*. Advances in Chemistry Series 105: 23-40.
17. McCarty, P. L. (1964). *Anaerobic Waste Water Treatment Fundamentals, part III - Toxic Materials and their Control*. Public Works 95 (11): 91-94.
18. Koster, I. W. and Lettinga, G. (1984). *The influence of Ammonium-Nitrogen on the Specific Activity of Pelletized Methanogenic Sludge*. Agricultural Wastes 9: 205-216.
19. Velsen, A. F. M. van (1979). *Adaptation of Methanogenic Sludge to high ammonia-nitrogen concentrations*. Water Research 13: 995-999.
20. Baere, L. A. de e.a. (1984). *Influence of High NaCl and NH_4Cl Salt Levels on Methanogenic Associations*. Water Research 18: 543-548.
21. Koster, I. W. and Lettinga, G. (1983). *Ammonium-Toxicity in Anaerobic Digestion*. Proc. of the European Symposium AWWT, Noordwijkerhout, Nederland, p. 553.
22. McCarty, P. L. and McKinney, R. E. (1961). *Salt Toxicity in Anaerobic Digestion*. Journal WPCF 33: 399-415.
23. Zeeman, G. e.a. (1984). *Anaërobe vergisting van rundveemest. Optimalisering van het gistingsproces ten behoeve van energieproductie op melkveebedrijven*. Rapport PBE (in druk).
24. Wiegant, W. M. and Lettinga, G. (1982). *Maximum Loading Rates and Ammonia Toxicity in Thermophilic Digestion*; in: G. Grassi en W. Palz, eds. *Energy from Biomass, Solar Energy R&D in the European Community Series E*, Vol. 3, pp. 238-244. D. Reidel Publ. Comp., Dordrecht, Nederland.
25. Wiegant, W. M. and Lettinga, G. (1983). *The Feasibility of Thermophilic Anaerobic Digestion for the Generation of Methane from Organic Wastes*; in: W. Palz en D. Pirwitz, eds. *Energy from Biomass, Solar Energy R&D in the European Community Series E*, Vol. 5, pp. 323-330. D. Reidel Publ. Comp., Dordrecht, Nederland.

26. Wiegant, W. M. and Lettinga, G. (1984). *The Feasibility of Thermophilic Anaerobic Digestion for the Generation of Methane from Organic Wastes*. Final Report of EC Solar Energy Project ESE-R-039-NL.
27. Kroiss, H. and Plahl-Wabnegg, F. (1983). *Sulfide Toxicity with Anaerobic Waste Water Treatment*. Proc. of the European Symposium AWWT, Noordwijkerhout, Nederland, pp. 72-85.
28. Lawrence, A. W. and McCarty, P. L. (1965). *The Role of Sulfide in Preventing Heavy Metal Toxicity in Anaerobic Treatment*. Journal WPCF 37: 392-406.
29. Mosey, F. E. and Hughes, D. A. (1975). *The Toxicity of Heavy Metal Ions to Anaerobic Digestion*. Water Pollution Control 74: 18-39.
30. Mosey, F. E. (1976). *Assessment of the Maximum Concentration of Heavy Metals in Crude Sewage Which Will Not Inhibit the Anaerobic Digestion of Sludge*. Water Pollution Control 75: 10-20.
31. Hayes, T. D. and Theis, T. L. (1978). *The Distribution of Heavy Metals in Anaerobic Digestion*. Journal WPCF 50: 61-72.
32. Zehnder, A. J. B. (1978). *Ecology of Methane Formation*; in: Water Pollution Control, Vol. 2, Wiley & Sons, New York, USA.
33. Yang, J. e.a. (1979). *Recovery of Anaerobic Digestion after Exposure To Toxicants*. Final Research Report, Drexel University, Philadelphia, USA.
34. Kugelman, I. J. and McCarty, P. L. (1965). *Cation Toxicity and Stimulation in Anaerobic Waste Water Treatment: I. Slug Feed Studies*. Journal WPCF 37: 97-115.
35. Kugelman, I. J. and McCarty, P. L. (1965). *Cation Toxicity and Stimulation in Anaerobic Waste Water Treatment: II. Daily Feed Studies*. Proc. 19th Ind. Waste Conf., Purdue University; pp. 667-686.
36. Mellinger, N. R. and Donnellon, J. (1971). *Toxic Effects of Ammonia-Nitrogen in High-Rate Digestion*. Journal WPCF 43: 1658-1669.
37. Parkin, G. F. and Speece, R. E. (1982). *Modelling Toxicity in Methane Fermentation Systems*. Journal of the Env. Eng. Div. 108: 515-531.
38. Maaskant, W. en Hobma, S. W. (1981). *De invloed van sulfiet op de anaërobe behandeling van afvalwater*. H₂O 14: 596-598, 622.
39. Speece, R. E. and Parkin, G. F. (1983). *The Response of Methane Bacteria to Toxicity*. Proc. 3rd Intern. Symp. on Anaerobic Digestion, Boston, USA, pp. 23-36.
40. Parkin, G. F. and Speece, R. E. (1983). *Attached versus Suspended Growth Anaerobic Reactors: Response to Toxic Substances*. Water Science and Technology 15 (8/9): 261-289.
41. Young, J. C. and McCarty, P. L. (1967). *The Anaerobic Filter for Waste Water Treatment*. Proc. 22nd Ind. Waste Conf., Purdue University, pp. 559-574.

