



TIE als opsporingsinstrument bij het zuiveren van afvalwater

E. FOEKEMA, TNO BOUW EN ONDERGROND

M. OOSTERHUIS, WATERSCHAP REGGE EN DINKEL

R. PETERS, TNO BOUW EN ONDERGROND

J. NONNEKENS, WATERSCHAP REGGE EN DINKEL

TIE (Toxicity Identification and Evaluation) is een oorspronkelijk in de Verenigde Staten ontwikkelde methodiek om de oorzaak van een geconstateerde vergiftiging te identificeren. De methodiek werd met succes toegepast om de oorzaak van nitrificatieremming op de rioolwaterzuiveringsinstallatie van Enschede te onderzoeken. Die bleek te zijn veroorzaakt door een fenolachtige stof in het influent. TIE bewees zich hiermee als geschikte methodiek om de oorzaak van een vergiftiging van actief slib te achterhalen. Opsporing van het verantwoordelijke bedrijf blijft echter lastig. Om toxische lozingen op rwzi's terug te dringen is ook een goede communicatie met vergunningplichtige bedrijven van belang én voortdurende influentbewaking.

Het influent van een rwzi is meestal een mengsel van huishoudelijk en industrieel afvalwater, waardoor het niet alleen uit makkelijk afbreekbaar organisch materiaal bestaat. Sommige met het afvalwater aangevoerde stoffen kunnen zelfs schadelijk zijn voor de micro-organismen in de rwzi en daarmee de biologische zuiveringscapaciteit beperken. Vooral nitrificerende bacteriën zijn gevoelig voor een groot aantal verbindingen. Vergiftiging van deze bacteriën heeft nitrificatieremming tot gevolg, wat leidt tot een toename van het ammonium- en/of nitrietgehalte in het effluent.

Een snelle indicatie voor het optreden van nitrificatieremming in de zuivering wordt gevormd door een afname van de zuurstofvraag van de bacteriën. Wanneer dit geconstateerd wordt, kan door het uitvoeren van nitrificatiesnelheidsmetingen met het slib vrij makkelijk worden vastgesteld of werkelijk sprake is van nitrificatieremming.

Het is echter vaak bijzonder moeilijk om de oorzaak van de nitrificatieremming te achterhalen, terwijl dit van belang kan zijn om herhaling te voorkomen. De meest voor de hand liggende aanpak is contact zoeken met de vergunningplichtige bedrijven om na te gaan of toxisch afvalwater geloosd is. Hierbij is men uiteraard afhankelijk van de betrouwbaarheid van de geleverde informatie. Ook kunnen che-

mische analyses van het influent worden uitgevoerd, waarmee men echter alleen informatie krijgt over de aanwezigheid van stoffen die in het analysepakket zijn opgenomen. Een directe relatie met de waargenomen effecten is dan vaak moeilijk hard te maken. Met de ontwikkeling van TIE (Toxicity Identification and Evaluation)-technieken^{1,2,3} is nu echter een krachtig instrument beschikbaar gekomen om de oorzaak van een dergelijke calamiteit te achterhalen. De methodiek is toegepast om de oorzaak van de giftigheid van in januari 2004 aangevoerd afvalwater op de rwzi Enschede te onderzoeken.

Aanleiding voor het onderzoek

Op de rwzi Enschede is sinds 2001 een aantal malen sprake geweest van nitrificatieremming, zonder dat de oorzaak hiervan duidelijk was. Ook in januari 2004 werd geconstateerd dat van de drie zuiveringsstraten op de rwzi Enschede de ammoniumconcentratie begon op te lopen, terwijl de zuurstofvraag afnam. Uit de on-line procesgegevens en kuvettentesten voor ammonium en nitraat, uitgevoerd op het gefiltreerd actief slib en het retourslib, bleek dat beduidend minder ammonium werd geoxideerd tot nitraat. De nitrificatiesnelheden in de verschillende zuiveringsstraten van de rwzi varieerden tussen 0,6 en 1,1 mg NH₄-N per gram droge stof per uur, terwijl waarden boven 2 mg gebruikelijk zijn onder vergelijkbare omstandigheden.

Op het moment dat de nitrificatieremming werd geconstateerd, zijn 24 uren mengmonsters van het influent van de betreffende dag en van de twee voorgaande dagen veilig gesteld door ze in te vriezen. Deze monsters zijn door TNO onderzocht om te achterhalen welke stof de nitrificatieremming veroorzaakt had.

Gelukkig bleek de nitrificatiecapaciteit zich intussen vrij snel te herstellen. Dit gaf aan dat slechts sprake was van remming en geen volledige vergiftiging van de nitrificatie. Voor het verkrijgen van referentiemonsters voor het TIE-onderzoek werd het influent bemonsterd in februari, toen de rwzi weer normaal functioneerde.

Eerste fase onderzoek

De eerste fase van de TIE-benadering is erop gebaseerd dat met verschillende manipulaties van het monster specifieke stofgroepen worden verwijderd of gecompliceerd waardoor de giftigheid wordt beïnvloed¹. Op deze wijze kan een eerste indruk worden verkregen van de aard van de verantwoordelijke stofgroep. Vervolgonderzoek is erop gericht om binnen de geselecteerde stofgroep, de specifieke stof(fen) te identificeren^{2,3}.

Voor het uitvoeren van TIE-onderzoek zijn toxiciteitstesten noodzakelijk. De Microtox-test⁴, die gebruik maakt van luminiserende (lichtgevende) bacteriën, is hiervoor uitermate geschikt, omdat deze relatief eenvoudig, snel en in een klein volume kan worden uitgevoerd. De monsters uit januari bleken ook voor de bacteriën in de Microtox-test duidelijk giftig te zijn in vergelijking met de referentiemonsters uit februari.

De giftigheid van de beide monsters van januari en het referentiemonster werd met Microtox getest na een vijftal behandelingen:

- centrifugeren voor het verwijderen van zwevend/gebonden materiaal,
- beluchten voor de verwijdering van vluchtige stoffen,
- toevoeging van zeoliet voor het afvangen van ammonium/ammoniak,
- toevoeging van EDTA (ethyleendiaminetetra-azijnzuur) voor het afvangen van metalen, en
- extractie over C₁₈-kolom voor het verwijderen van organische microverontreinigingen.

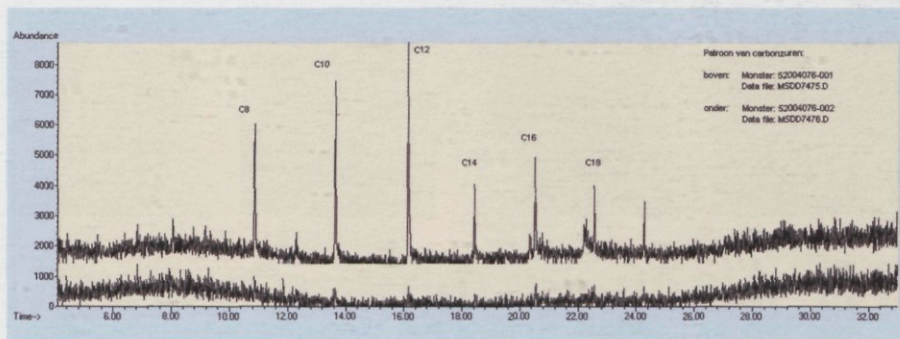
Met uitzondering van de extractie over de C₁₈-kolom had geen van de behandelingen een substantiële invloed op de giftigheid van de monsters. Hieruit kon de conclusie worden getrokken dat de effecten niet veroorzaakt werden door zware metalen, ammonium/ammoniak, vluchtige of gebonden stoffen. De

giftigheid verdween echter volledig na extractie over de C₁₈-kolom (14% octadecyl, 500 mg/6 ml). Dit duidde op de aanwezigheid van een toxische organische stof.

Extractie en chemische analyses

Nu duidelijk was dat de giftige stof(fen) konden worden afgevangen in een C₁₈-kolom was het mogelijk om gerichte chemische analyses uit te voeren. Om vertroebeling door de aanwezigheid van de niet giftige stoffen zoveel mogelijk te voorkomen, werd het influentmonster door beluchting en centrifugeren ontdaan van vluchtige en gebonden stoffen en vervolgens weer geëxtraheerd over een C₁₈-kolom. Door voor en na de extractie de giftigheid van het monster te bepalen, werd vastgesteld dat de giftige stof(fen) inderdaad op de C₁₈-kolom was/waren achtergebleven.

In het chemisch analytisch laboratorium werden de C₁₈-kolommen uitgeloozd met verschillende oplosmiddelen om zowel apolaire als polaire componenten te desorberen. Die



Afb. 1: Samengestelde GC/MS-chromatogram van de analyse van de C₁₈-kolommen van respectievelijk het niet giftige monster van februari (onder) en het giftige monster van 6 januari (boven) met daarin de pieken van de alkaanzuren.

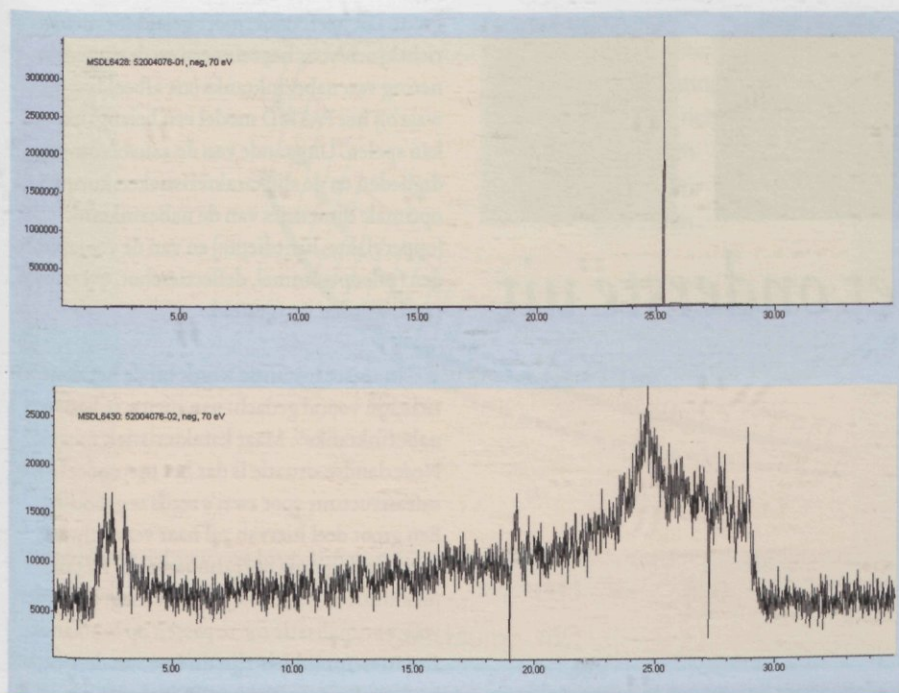
werden gecombineerd en geanalyseerd met respectievelijk gas- (GC/MS) en vloeistofchromatografie (LC/MS). Ter vergelijking werd een monster uit februari op dezelfde wijze voorbewerkt en geanalyseerd.

In de monsters van zowel januari als februari werd één pick van betekenis aange-

troffen die met hoge mate van waarschijnlijkheid geïdentificeerd kon worden als 1-methyl-2-pyrrolidinon. Omdat deze stof in beide monsters aanwezig was, kon deze niet verantwoordelijk zijn voor de giftigheid van de monsters uit januari. Een duidelijk verschil tussen de beide monsters werd gevormd door de aanwezigheid van een serie alkaanzuren in

De rwzi Enschede is een laagbelast actief slibstelsysteem met voordennitrificatie en biologische defosfatering in de hoofdstroom. De installatie zuivert het afvalwater van Enschede en Boekelo en heeft een biologische ontwerpcapaciteit van 275.000 i.e.₅₄ (belasting t/m 2004: 167.000 i.e.₅₄). De droogweerafvoer is in de ontwerpfase vastgesteld op 3.240 kubieke meter per uur en de regenweerafvoer op maximaal 12.160 kubieke meter. Om een voldoende lage fosfaatconcentratie in het effluent te bereiken kan bovendien een geringe aanvullende chemische defosfatering (ijzerchloridedosering) worden toegepast.





Afb. 2: Chromatogrammen van de LC/MS-analyse van het giftige monster van 6 januari (boven) en het niet giftige monster van februari (onder). Let op het enorme schaalverschil tussen beide afbeeldingen: de schaal van het februarimonster is slechts een fractie van de schaal van het januarimonster.

het giftige monster van januari (afbeelding 1). De concentraties van deze stoffen waren echter zo laag (totaal circa 100 µg/l), dat niet verwacht werd dat deze alkaanzuren verantwoordelijk waren voor de waargenomen effecten.

Met de LC/MS werd in het chromatogram van het monster van 6 januari een substantiële hoeveelheid van een component aangetroffen die niet in het februarimonster aanwezig was (afbeelding 2). De stof kon niet met zekerheid worden geïdentificeerd, maar het betrof hoogstwaarschijnlijk een alkylfenol of soortgelijke verbinding met een molmassa van ongeveer 300. De concentratie van deze stof in het influentmonster moet hebben gelegen tussen 4 en 20 mg/l.

Resumerend

Het influent van de rwzi Enschede dat werd verzameld op het moment dat zich problemen met de nitrificerende bacteriën voordeden, bevatte lage concentraties van een aantal alkaanzuren (in totaal circa 100 µg/l) en een relatief hoog gehalte (4-20 mg/l) van een alkylfenolachtige component. Omdat bekend is dat circa 6 mg/l fenol 75 procent inhibitie van de nitrificatie kan veroorzaken⁵⁾, is het aannemelijk dat deze stof verantwoordelijk was voor de effecten op de nitrificatie in de rwzi. Mogelijk werd deze stof in combinatie met de alkaanzuren geloosd.

Alle aangetroffen alkaanzuren worden gebruikt bij de productie van kunststoffen/harsen, een proces waarbij ook alkylfenolach-

tige stoffen worden toegepast. Ondanks deze informatie over de geloosde stof, is het nog niet gelukt het verantwoordelijke bedrijf op te sporen. Op grond van de informatie konden wel verschillende bedrijven worden uitgesloten.

TIE blijkt een geschikte methode om meer informatie over de aard van de toxiciteit voor de nitrificeerders in de rioolwaterzuivering te verkrijgen. In dit geval bleek de Microtox-test gevoelig genoeg om de giftigheid aan te tonen, waardoor deze standaardtest voor het TIE-onderzoek gebruikt kon worden. Dit hoeft niet altijd het geval te zijn, omdat verschillen kunnen bestaan in de gevoeligheid van de bacteriën uit de Microtox-test en de nitrificeerders in de rwzi. Voor specifieke toepassing in de omgeving van de rwzi zouden TIE-protocollen kunnen worden ontwikkeld, waarbij de biologische testen met nitrificerende bacteriën worden uitgevoerd. Dit zou voordeel opleveren indien de problemen worden veroorzaakt door een stof waarvoor de autotrofe nitrificerende bacteriën wel gevoelig zijn, maar de heterotrofe bacteriën uit de Microtox-test niet.

In de aanpak van toxiciteit in rwzi's blijft preventie belangrijk, door goed contact te onderhouden met vergunningplichtige bedrijven en zo mogelijk een continue toxiciteitsbewaking van het influent. Indien toxiciteit geconstateerd wordt, is de TIE-methodiek geschikt om snel inzicht te krijgen in de oorzaak van die toxiciteit, zodat gericht gezocht kan worden naar mogelijkheden om herhaling te voorkomen.

LITERATUUR

- 1) US EPA (1991). Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase I toxicity characterization procedures. Second edition. EPA-600/6-91/003. Environmental Research Laboratory.
- 2) US EPA (1993a). Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase II toxicity identification procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity. EPA-600/R-92/080. Environmental Research Laboratory.
- 3) US EPA (1993b). Methods for aquatic toxicity identification evaluations: Phase III toxicity conformation procedures for samples exhibiting acute and chronic toxicity. EPA-600/R-92/081. Environmental Research Laboratory.
- 4) Azur Environmental (1998). Microtox acute toxicity test fundamentals. Basic test procedure.
- 5) Tomlinson T., A. Boon en C. Trotman (1966). Inhibition of nitrification in the activated sludge process of sewage disposal. J. Appl. Bact. nr. 2, pag. 266-291.