

Theorie en praktijk van de biologische nitrifikatie en denitrifikatie van afvalwaters

In deze publikatie hebben we getracht een overzicht te brengen van de belangrijkste aspecten van de huidige kennis betreffende stikstofverwijdering uit huishoudelijke afvalwaters langs biologische weg. Eerst wordt onderzocht in hoever een verwijdering van stikstofverbindingen uit afvalwaters gewenst is, waarna de basisprincipes van stikstofverwijdering langs biologische weg worden uiteengezet. Dan volgt een klassifikatie en korte beschrijving van belangrijke procesvariëaties uitgetest voor het einde van 1974. Tot besluit worden enige



IR. J. HERMANS

Instituut Industriële Scheikunde
Afdeling Waterverontreiniging
Katholieke Universiteit, Leuven



PROF. IR. A. VAN HAUTE

Instituut Industriële Scheikunde
Afdeling Waterverontreiniging
Katholieke Universiteit, Leuven

nog niet volledig opgeloste theoretische en praktische moeilijkheden besproken waar zowel onderzoekers als ontwerpers die op dit terrein actief zijn mee gekonfronteerd worden.

1. In hoever is stikstofverwijdering uit afvalwaters gewenst?

Chemisch gebonden stikstof in rioolwater bevindt zich praktisch volledig in de trinegatieve oxidatietoestand. Er wordt ongeveer 10...12 gN per inwoner-equivalent en per dag geloosd [1], hetgeen resulteert in concentraties van 10...50 mg N/l in rioolwater in de USA [2], maar in veel hogere concentraties in Europees rioolwater, nl. tot ...70... mg N/l [3]. Tussen 30 en 70 % van deze stikstof is vastgelegd in organische stikstofverbindingen en ureum, en het restant bestaat uit ammoniumstikstof [4].

Tijdens het transport van het rioolwater naar de zuiveringsinstallaties en tijdens de zuivering zelf wordt het grootste deel van de stikstof o.i.v. microbiële degradatieprocessen vrijgezet als ammoniumstikstof; een deel van de ammoniumstikstof en van de niet aangetaste organische stikstofverbindingen komt uiteindelijk terecht in het primaire en het secundaire zuiveringsslib, als een gevolg van microbiële assimilatieprocessen en/of bezinkingsverschijnselen. Na een conventionele aërobe biologische behandeling zal het effluent nog tot 70 % van de oorspronkelijke stikstofhoeveelheid

bevatten [3] onder vorm van ammoniumverbindingen. Indien er tijdens de zuivering nitrifikatie optreedt zal er niet alleen een belangrijke hoeveelheid nitraten in het effluent aanwezig zijn, maar kan tot 50 % van de oorspronkelijke stikstofhoeveelheid uit het water verdwenen zijn. De concentratie aan ammoniakale stikstof in de oppervlaktewaters moet beneden een bepaalde grenswaarde gehouden worden om de volgende redenen:

— Deze waters moeten vaak dienen als grondstof voor de drinkwaterbereiding, en moeten dus geschikt zijn voor een chloorbehandeling. Het wordt daarom aangeraden de concentratie aan ammoniakale stikstof in deze waters beneden 0,5 mg $\text{NH}_3\text{-N/l}$ te houden [5].

— Niet-geïoniseerde ammoniak is een gif voor vissen: voor zalmachtigen bijv. is de toxiciteitsgrens 0,2 mg $\text{NH}_3\text{/l}$, terwijl voor het vermijden van schadelijke effecten op lange termijn de concentratie beneden 0,025 mg $\text{NH}_3\text{/l}$ moet liggen [6]. De maximale toelaatbare concentratie volgens dit criterium hangt voor een klein gedeelte af van de te beschermen vissoorten en wordt verder beïnvloed door pH en zuurstofconcentratie van het oppervlaktewater alsook door de seizoenschommelingen van de watertemperatuur.

— In oppervlaktewaters wordt ammoniakale stikstof biologisch geoxideerd tot nitraatstikstof: de mate waarin dit gebeurt hangt af van de concentratie aan nitrificerende organismen, temperatuur, zuurstofconcentratie en concentratie aan inhiberende bestanddelen. Tegenover het voordeel van dit verschijnsel dat het de ammoniumconcentratie verlaagt, staan als nadelen dat de nitraatconcentratie stijgt en dat er opgeloste zuurstof verbruikt wordt: het netto effect hangt af van factoren als organische verontreinigingsgraad, turbulentie en stromingsregime van de beschouwde waterloop.

Men kan nu gemakkelijk aantonen dat het grootste deel van de ammoniakale stikstof in oppervlaktewaters afkomstig is van lozingen van (on-)behandeld rioolwater: bijna alle andere waterstromen die uiteindelijk in de oppervlaktewaters uitmonden komen eerst in contact met de bodem, die als een val voor ammoniumstikstof werkt door NH_4^+ -ionen te binden op kleimineralen [7]. Organische stikstofverbindingen worden in de bodem geammonifieerd en de vrijgezette ammoniumionen ondergaan vervolgens hetzelfde lot. Deze gebonden ammoniumstikstof wordt dan gemetaboliseerd door de bodemflora: biologische assimilatie- en dissimilatieprocessen die deel uitmaken van de natuurlijke stikstofcyclus

zorgen er voor dat slechts zeer weinig stikstof in de oppervlakte- of grondwaters terecht komt als ammoniakale stikstof [8]. Het rechtstreeks overbrengen van stikstofhoudende afvalstoffen van de producenten naar de oppervlaktewaters zonder ze eerst door de bodem te leiden is een van de wijzen waarop de mens bezig is de quasi-stationaire toestand waarin de stikstofcyclus verkeert te verstoren.

Het zodanig bedrijven van biologische zuiveringsinstallaties dat het nitrifikatierendement hoog is, is een relatief eenvoudige en economisch verantwoorde methode om het probleem van de ammoniakale stikstof te elimineren; de hieruit resulterende stijging van de nitraatconcentratie in de ontvangende waters kan echter om andere redenen ongewenst zijn:

— Zo het water gebruikt wordt voor drinkwaterbereiding raadt de Wereldgezondheidsorganisatie aan de nitraatconcentratie beneden 11,3 mg $\text{NO}_3^-\text{-N/l}$ te houden [9]. Hoge nitraatconcentraties in drinkwater kunnen methaemoglobinaemia veroorzaken bij zuigelingen en er zijn ook redenen om aan te nemen dat nitrieten en nitraten rechtstreeks toxisch kunnen zijn voor dierlijk leven onder bepaalde voorwaarden van fysiologische stress.

— Overdreven input van nitraten in oppervlaktewaters kan eutrofiëring in de hand werken: concentraties boven 0,3 mg N/l werden in dit opzicht reeds als gevaarlijk bevonden [10]. De gemeten nitraatconcentratie in een water is echter een resultante van toevoer aan nitraten, snelheden van de nitraatassimilatie van de algen (op hun beurt afhankelijk van concentraties aan nitraten en andere limiterende nutriënten), en van de hydraulische verblijftijd. Het vooropstellen van zinnige limietconcentraties voor nitraten in oppervlaktewaters met het oog op het voorkomen van eutrofiëring is dus een erg moeilijke opgave. Het feit echter dat algen gedurende de groei van 15 tot 20 maal meer N dan P opnemen [11] maakt het toch de moeite waard de beperking van zowel de geloosde hoeveelheden N als P te overwegen als effectieve bijdragen in de strijd tegen de eutrofiëring. Er mag echter niet vergeten worden dat behalve genitrificeerde effluënten van zuiveringsinstallaties vaak andere en meer belangrijke bronnen van nitraten in oppervlaktewaters bestaan, zoals drainagewater van met kunstmest behandelde landbouwgronden. De uiteindelijke besluiten uit het voorgaande zijn dan:

1. de verwijdering van ammoniakale stikstof uit rioolwater is in de meeste gevallen verantwoordbaar; dit kan het gemakkelijk

berelkt worden door bestaande of geplande zuiveringsstations zo (om) te bouwen en te bedrijven dat het nitrifikatierendement hoog is;

2. verwijdering van nitraten uit genitrificeerde effluents is op dit ogenblik alleen echt nodig in sommige dichtbevolkte gebieden waar tegelijkertijd de oppervlaktewaters de belangrijkste grondstof voor de bereiding van drinkwater zijn. Bij de bouw van nitrificerende zuiveringsinstallaties is het echter wel zinvol de nodige voorzorgen te nemen opdat in de toekomst een nitraatverwijderingsstap gemakkelijk toegevoegd kan worden.

2. De grondslagen van biologische processen voor de verwijdering van stikstofverbindingen

2.1. Stikstofverwijdering door biologische assimilatie

Ruw europees rioolwater bevat ongeveer 70 mg N/l, vooral onder de vorm van ammonium- en organische stikstof [3]. Voorbezinking brengt deze concentratie terug tot 60 mg N/l. In de veronderstelling dat het voorbezonden rioolwater een BOD₅ heeft van 240 mg/l en dat de verhouding tussen BOD₅ en organische koolstof ongeveer 1,7 is, zal de verhouding tussen organische koolstof en stikstof 2,35 zijn. De organische stoffen in actief slib (brutoformule C₅H₇NO₂) hebben een C/N-verhouding van 4,28: assimilatieprocessen plaatsgrijpend tijdens de biologische zuivering kunnen dus nooit een volledige stikstofverwijdering bewerkstelligen. Gedurende een conventionele aërobe biologische behandeling wordt ca. 30 % van de organische koolstof in het influent door assimilatie verwijderd, hetgeen resulteert in een vermindering van de stikstofconcentratie met:

$$\frac{240 \times 0,3}{1,7 \times 4,28} = 10 \text{ mg N/l}$$

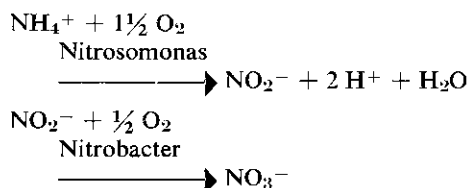
Uit de ervaring blijkt dat een conventionele rioolwaterzuivering een stikstofverwijderingsrendement heeft van hoogstens 50 %. Een ander belangrijk punt in dit verband is dat het vergroten van het stikstofverwijderingsrendement door het bedrijven van zuiveringsinstallaties bij een hoge spuislibproductie het slibverwijderingsprobleem verergert; tijdens de slibverwerking (aërobe en anaërobe stabilisatie, natte oxidatie) gaat daarenboven een groot deel van de in de slibstoffen gebonden stikstof terug in oplossing onder de vorm van ammonium en/of nitraten [12]. Het verhogen van de C/N-verhouding van het rioolwater vóór de beluchting door het weglaten van de voorbezinking of het toevoegen van orga-

nische afvalstoffen met een lage C/N-verhouding, om zo een groter assimilatief stikstofverwijderingsrendement te bekomen, is om dezelfde redenen als een verkeerde aanpak te beschouwen.

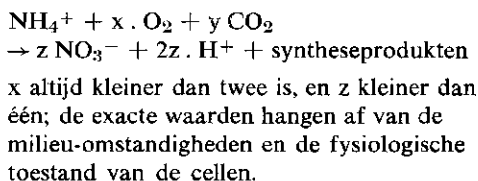
Een laatste mogelijkheid om stikstof assimilatief te verwijderen zou erin kunnen bestaan eenheidsbewerkingen in de afvalwaterzuivering in te voeren gebaseerd op autotrofe stikstofassimilatie, zoals fotosynthese o.i.v. algen [13]: deze processen vereisen grote terreinen, speciale toestellen om de algen te oogsten en de ontwikkeling van methodes voor de eliminatie of het nuttig gebruik van de geoogste biomassa; ze zijn daarenboven alleen toepasbaar in bepaalde klimatologisch bevoorrechte streken.

2.2. Nitrificatie

Aërobe autotrofe bacteriën van de geslachten *Nitrosomonas* en *Nitrobacter* werken samen om de oxidatie van ammonium tot nitriet en vervolgens tot nitraat te katalyseren; ze gebruiken hierbij zuurstof als terminale elektronenacceptor:



Een gedeelte van de energie die tijdens deze reacties vrijkomt wordt aangewend voor de endergonische reductie van CO₂ tot koolhydraten, waarbij ammonium of nitriet fungeert als elektronendonator. Koolhydraten en ammonium worden vervolgens benut als basisgrondstoffen voor de synthese van celproteïnen. Hieruit volgt dat in de globale reactie, schematisch voorgesteld als:



Er bestaan ook nitrificerende bacteriën die benevens CO₂ ook organische koolstofverbindingen metaboliseren, benevens andere, volledig heterotrofe organismen die onder bepaalde voorwaarden ammoniakstikstof oxideren [14]; hun belang voor de nitrificatieprocessen die optreden tijdens de aërobe rioolwaterzuivering is echter miniem. Nitrificerende bacteriën zijn obligaat aëroob alhoewel een langdurig verblijf in een anaëroob milieu niet dodelijk voor ze is; in mengcultures zoals actief slib daalt hun activiteit bij zuurstofconcentraties geringer dan 0,5 mg/l en valt de stofwisseling volledig stil bij zuurstofconcentraties onder 0,2 mg/l [14].

Benevens de substraten die in het voorgaande vermeld werden, heeft een nitrificerende bacteriecultuur behoefte aan kleine hoeveelheden K, Fe, Cu, Mg, Ca, Mo, Zn, P, S, . . . benevens waarschijnlijk bepaalde organische groeifactoren: gewoonlijk zijn al deze componenten in voldoende hoeveelheden voorhanden in rioolwater. Bepaalde organische (narcotica, chelerende verbindingen, vrije aminozuren) en minerale verbindingen (chloraten, cyanaten) alsook hoge lichtintensiteiten werken inhiberend in op *Nitrosomonas* en/of *Nitrobacter*. Sommige metaalionen zijn zeer toxisch voor reincultures van nitrificerende bacteriën [14]. Gelukkig zijn de nitrifikanten in gemengde cultures gewoonlijk minder gevoelig voor schokbelastingen van inhibitoren of toxische stoffen, en kunnen ze geadapteerd worden aan continue belastingen met deze verbindingen die zeker toxisch zouden zijn voor reincultures [15].

In de BOD-test bereikt de nitrificatie plots door, pas nadat het merendeel van de opgeloste organische verbindingen geëlimineerd is [16]. Dit wijst erop dat de nitrifikanten rechteerks of onrechtstreeks geïnhibeerd kunnen worden door hoge concentraties aan opgeloste organische verbindingen.

De activiteit van de nitrificerende bacteriën wordt verwaarloosbaar bij temperaturen beneden 5 °C; de optimale temperatuur is ongeveer 30 °C [14]. Binnen het kader van de afvalwaterzuivering betekent dit gewoon dat het nitrifikatierendement stijgt met de temperatuur, en dat het moeilijk wordt een hoog nitrifikatierendement te handhaven gedurende lang aanhoudend koude periodes. Het pH-gebied waarbinnen nitrificatie mogelijk is, is niet scherp afgeïnd, doch de optimale pH ligt tussen 7 en 9. Het praktisch belang hiervan is dat zo men een hoog nitrifikatierendement nastreeft bij de behandeling van slecht gebufferde afvalwaters met een hoog ammoniumgehalte, de pH t.g.v. de nitrificatie gemakkelijk kan dalen tot pH . . . 5,5: de nitrificatie wordt dan geïnhibeerd en de bezinkbaarheid van het slib verslechtert. De reactiesnelheid van de nitrifikanten begint sterk af te nemen bij pH-waarden beneden 6,3 . . . 6,7 [14]. Aërobe biologische zuiveringsinstallaties, oorspronkelijk alleen ontworpen voor de verwijdering van organische stoffen, produceren een genitrificeerd effluent alleen wanneer ze voldoende laag belast worden. In 1964 publiceerde Downing [15] een steekhoudende verklaring hiervoor: in een mengcultuur zoals actief slib is alleen dan een continue nitrificatie mogelijk, wanneer ervoor gezorgd wordt dat de specifieke groeisnelheid van de volledige biomassa zodanig verlaagd wordt dat ze gelijk wordt aan de specifieke groeisnelheid van de traag

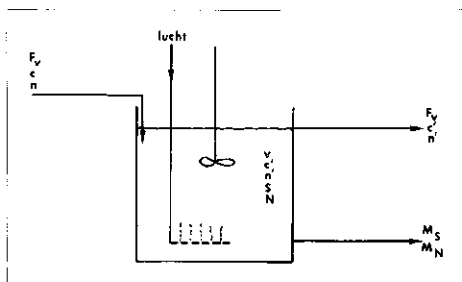
groeïende nitrifikanten. Anders zullen de nitrifikanten vroeg of laat uit het systeem weggespoeld worden vermits men, om een konstante slibconcentratie in de reactor te handhaven, de slibleeftijd gelijk moet houden aan het omgekeerde van de specifieke groeisnelheid van de totale biomassa. Downing maakte gebruik van de Monod-kinetika in haar eenvoudigste vorm [17] om de specifieke groeisnelheid van de nitrifikanten te beschrijven, en van een empirische vergelijking die de slibgroei beschrijft als een functie van influent-BOD, beluchtingstijd en recycleverhouding. Andere auteurs ontwikkelden gelijkaardige mathematische modellen, waarbij ze gebruik maakten van andere of meer verfijnde mathematische uitdrukkingen voor de specifieke groeisnelheid van de nitrifikanten en van de volledige slibmassa.

Lawrence en McCarty [18] ontwikkelden een veralgemeend model voor biologische processen, gebaseerd op de Monod-kinetika met een term toegevoegd om rekening te houden met zelfverterings- en afstervingsverschijnselen. Ze pasten dit model o.a. toe op de nitrifikatie in actief slib-systemen en vonden ook dat nitrifikatie alleen optreedt bij voldoende hoge slibleeftijden.

Lijklema [19] publiceerde een meer gedetailleerd en dynamisch model voor de nitrifikatie in actief slib, waarin rekening gehouden wordt met de invloed van hogere prooizookende levensvormen in het slib, van het gebruikte reactortype, en met de invloed van variaties in influentdebiet en -concentratie. Een belangrijk besluit van zijn studie is dat de nitrifikatie erg gevoelig is aan variaties in influentdebiet en -concentratie.

Hultman [20] tenslotte ontwikkelde een model waarin rekening gehouden wordt met het effect van pH, temperatuur en de levensvatbare fractie van de slibmassa. Een ontwerp gebaseerd op een van de vorige modellen is op dit ogenblik niet veel beter dan een zuiver empirische aanpak; alle constanten in de gebruikte vergelijkingen moeten in ieder bijzonder geval empirisch bepaald worden, daar de waarde ervan afhangt van de karakteristieken van het behandelde afvalwater (vooral pH, temperatuur en concentratie aan inhibitoren) en van de wijze waarop de reactor bedreven wordt (zuurstofconcentratie, slibconcentratie, mengtoestand).

Alle geciteerde modellen kunnen herleid worden tot het volgende basismodel, hier uitgewerkt voor het geval van een ideale menger (zie afb. 1). Beschouw een ideale menger met een volume V en gevoed met een debiet F_v aan voorbezonden influent met een BOD c en een ammoniumstikstofconcentratie n . In de reactor kunnen allerlei stationaire toestanden gehandhaafd



Afb. 1.

worden, telkens gekarakteriseerd door een slibconcentratie S (massa/volume), door het instellen van het slibspuidebiet (massa/tijd) op een bepaalde waarde. Iedere stationaire toestand wordt verder gerarakteriseerd door een concentratie N (massa/volume) aan ammonium-oxiderende bacteriën in de reactor, benevens door een BOD concentratie c' en een ammoniumconcentratie n' in het effluent. Ammonium-oxideerders worden met het spuislib afgevoerd tegen een debiet M_N (massa/tijd). De voorwaarde voor een stationaire toestand waarin Nitrosomonas niet uitgespoeld werd is dan:

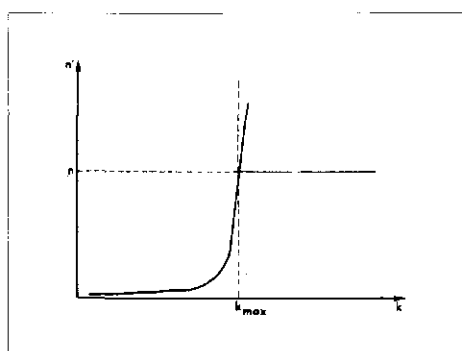
$$\frac{M_S}{V \cdot S} = \frac{M_N}{V \cdot N} \quad (1)$$

$M_S/V \cdot S$ kan uitgedrukt worden als een functie van de slibbelasting $k = F_v \cdot c/V \cdot S$ [16]; vaak voldoet een eenvoudig lineair verband:

$$\frac{M_S}{V \cdot S} = a \cdot k - b \quad (2)$$

met a en b constant. $M_N/V \cdot N$ wordt gewoonlijk verondersteld bepaald te worden door de concentratie aan een limiterend substraat in de gemengde vloeistof; hier veronderstellen we dat de ammoniumconcentratie limiterend is (in een bijzonder geval kan echter evengoed O_2 , CO_2 , om het even welke essentiële voedingsstof of inhibitor de snelheidsbepalende factor zijn). Een Monod-vergelijking met een term voor zelfvertering en afsterving wordt vaak gebruikt:

Afb. 2.



$$\frac{M_N}{V \cdot N} = \frac{k_1 n'}{K + n'} - k_d \quad (3)$$

Hierin zijn k_1 , k_d en K experimenteel te bepalen constanten.

Combinatie van (1) met (2) en (3) of analoge uitdrukkingen levert ons dan de ammoniumconcentratie in het effluent als een functie van de slibbelasting k . Deze functie is grafisch voorgesteld in afb. 2: men ziet dat er met iedere waarde voor ammoniumconcentratie in het effluent een slibbelasting k_{max} overeenkomt boven dewelke geen nitrifikatie mogelijk is, terwijl voor belastingen slechts weinig geringer dan k_{max} het nitrifikatierendement reeds hoog is. Een gelijkaardig model kan opgesteld worden voor de nitriet-oxideerders: het is gebleken dat de specifieke groeisnelheden van Nitrosomonas en Nitrobacter dezelfde grootte-orde hebben [18]: daarom vindt men bij goed ingewerkte afvalwaterbehandelingssystemen nooit hoge nitrietconcentraties in het effluent.

Een laatste belangrijk punt is dat er samen met de nitrifikatie een totale stikstofreductie van 50 % kan optreden: men vermoedt dat dit te danken is aan dinitrifikatiereacties die optreden in de anaërobie kernen van de actief slib-vlokken [21]. Experimenten in de USA hebben aangetoond dat om een hoog nitrifikatierendement te bereiken bij 20 °C de slibbelasting tussen 0,25 en 0,35 BOD/kg MLSS . dag moet liggen: hier komen slibleeftijden mee overeen tussen 3 en 4 dagen [22]. Beneden 10 °C is een slibleeftijd hoger dan 4...5 dagen nodig [11]. Bij deze belastingen zijn hydraulische verblijftijden van 4 h en meer vereist, daar de slibconcentratie in de reactor niet zo hoog mag worden dat de nabezinking in het gedrang komt.

Voor het meer geconcentreerde Europese rioolwater zijn over het algemeen nog hogere slibleeftijden nodig om een goede nitrifikatie te garanderen: typische waarden zijn slibleeftijden van meer dan 4 dagen bij 20 °C en van meer dan 10 dagen bij 10 °C [23].

2.3. Denitrifikatie

Denitrifikatie noemt men het geheel van biologische reacties waarbij nitraat- en nitrietstikstof uit de waterfase verwijderd worden t.g.v. een omzetting tot onschadelijke gasvormige verbindingen; het enige nevenproduct dat tijdens deze reacties wordt gevormd en geëlimineerd moet worden is een kleine hoeveelheid nieuwgevormde biomassa.

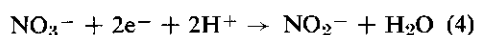
Nitraten en nitrieten kunnen langs biologische weg gereduceerd worden tot verschillende eindproducten. Dissimiatieve nitraat-

reductie wordt door een groot aantal soorten heterotrofe, facultatief anaërobe bacteriën doorgevoerd in anaërobe milieu's die biologisch oxideerbare organische substraten bevatten. Nitraat en nitriet neemt bij deze organismen dan de rol van terminale elektronenacceptator over van zuurstof in de energieleverende redox-reacties. Het verschijnsel wordt denitrificatie genoemd wanneer stikstof gereduceerd wordt tot gasvormige verbindingen als N₂ en N₂O. Vele bacteriën en andere organismen reduceren nitraten en nitrieten ook assimilatief: stikstof moet dan tot het niveau van ammoniak gereduceerd worden, waarna het in celmateriaal geïncorporeerd kan worden. Assimilatieve nitraatreductie treedt op in zowel aërobe als anaërobe milieus.

We kunnen de optredende verschijnselen samenvatten in volgend schema geldig voor het eenvoudige geval dat de celkoolstof- en elektronenbron een koolhydraat (< CH₂O >) is

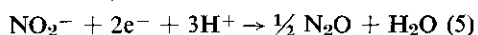
1. nitraat- en nitrietreductie:

1.1. de eerste stap voor zowel assimilatieve als dissimilatieve reductie is:

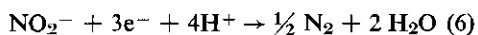


1.2. de dissimilatieve reductie verloopt dan verder volgens:

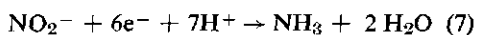
onvolledig, bijvoorbeeld:



volledig:

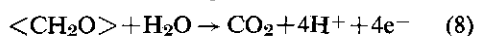


1.3. bij gebrek aan ammoniumstikstof in het milieu gaat er ook assimilatieve reductie optreden volgens:

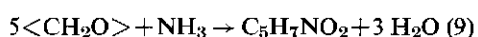


De nodige elektronen moeten komen van de oxidatie van organische stoffen, en worden bij de dissimilatieve reductie vrijwel zeker via de ademhalingsketen geleverd.

2. oxidatie van organische substraten:



3. synthesesreacties:



In <CH₂O> is koolstof in dezelfde oxidatietoestand als in celmateriaal.

Bij andere organische substraten is dit niet altijd zo, zodat er nog partiële oxidaties of reducties nodig kunnen zijn om de substraat assimileerbaar te maken.

Een globale reactie voor de denitrificatie zou bestaan uit een lineaire combinatie van vergelijkingen (4) tot en met (9), die aan de volgende voorwaarden voldoet:

1. de elektronenbalans moet sluiten;
2. de reactie moet naar rechts verlopen met een netto-afname van de vrije energie.

Het is duidelijk dat er oneindig veel van dergelijke combinaties bestaan. Hiervan is echter slechts een beperkt aantal biochemisch mogelijk. De globale reactievergelijking van de denitrificatie moet voor iedere celkoolstof- en elektronendonoren uiteindelijk dus experimenteel bepaald worden.

De vereisten voor een goed verlopende denitrificatie zijn een min of meer anaëroob milieu, de aanwezigheid van een organische celkoolstof- en elektronendonoren (sommige bacteriën kunnen ook H₂ [24] of S [12] als elektronendonoren gebruiken), de aanwezigheid van een voldoende hoeveelheid aan minerale nutriënten (SO₄²⁻, PO₄³⁻, Cl⁻, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺) en van sporen van elementen als Mo, Fe, Cu en Mn [14].

Zuurstof inhibeert natuurlijk de denitrificatie, behalve in milieus met een pH lager dan 6 [25]. Experimenten met reïncultures hebben aangetoond dat zuurstofconcentraties van 0,2 . . . 0,4 mg/l de denitrificatie volledig kunnen inhiberen [26]. In technische denitrificatiereactoren waarin hoge slibconcentraties heersen mag de zuurstofconcentratie hoger zijn zonder dat dit nadelige gevolgen voor de denitrificatie tot gevolg heeft [27].

Een pH tussen 6 en 9 is vereist; de optimale pH ligt tussen 7,0 en 8,2. In basische milieus worden nitraten en nitrieten volledig tot N₂ gereduceerd, terwijl in zure milieu's tot 20 % van de stikstof in de vrijgezette gassen onder de vorm van N₂O en NO aanwezig is.

De verhouding tussen de hoeveelheden H⁺ verwijderd en CO₂ geproduceerd tijdens de denitrificatie in milieus die organische verbindingen als koolhydraten, zuren, alcoholen, . . . bevatten is zo dat, vertrekkend van pH = 6 . . . 7, de pH gemakkelijk tot waarden hoger dan 8 stijgt, zolang er voldoende bufferende stoffen aanwezig zijn. De reactiesnelheid van de denitrificatie is sterk temperatuursafhankelijk; in het interval tussen 5 en 27 °C verdriedubbelt de reactiesnelheid per 10 °C temperatuurstijging; de reactiesnelheid beneden 5 °C is echter niet verwaarloosbaar klein, in tegenstelling met de snelheid van de nitrificatie [29].

Benevens zuurstof werden er nog een aantal verbindingen ontdekt die de denitrificatie inhiberen, echter pas vanaf concentraties die men in rioolwater normaal niet aantreft: voorbeelden zijn CN⁻, chloraten en Cu²⁺ [14].

Opbrengstcoëfficiënten (uitgedrukt als

massa aan microorganismen geproduceerd per massa-eenheid gemetaboliseerd organisch substraat) en specifieke reactiesnelheden (uitgedrukt als consumptiesnelheid van het organisch substraat per massa-eenheid micro-organismen) voor de denitrificatie hebben waarden gelegen tussen die geldig onder aërobe voorwaarden en onder volledig anaërobe voorwaarden, in de afwezigheid van nitraten [30, 31]. Een volledig genitrificeerd effluent bevat alle door de denitrificerende micro-organismen benodigde substraten en nutriënten in voldoende hoeveelheden, uitgezonderd de celkoolstof- en elektronendonoren. Deze moet toegevoegd worden onder vorm van een biodegradeerbaar organisch afvalproduct (bij voorkeur met een hoge C/N verhouding!), of als een goedkope en volledig afbreekbare zuivere organische verbinding. In milieus met een voldoende hoge slibconcentratie wordt de snelheid van de endogene nitraatademhaling hoog genoeg om praktisch belang te hebben. Denitrificatiereactoren worden geënt met bacteriën bevat in het te behandelen genitrificeerd effluent (fixed-film reactoren), of met actief slib afkomstig van een aërobe eenheid (systemen met denitrificerend actief slib). Door in de reactor de gepaste milieucondities te handhaven bereikt men dan reeds na enige dagen een significant denitrificatierendement. De essentiële elementen van het ontwerp van een reactor voor de biologische denitrificatie zijn de volgende:

1. Het voorspellen van de verhouding waarin het gekozen organisch substraat aan het te behandelen genitrificeerd water moet toegevoegd worden om een opgelegd denitrificatierendement te bekomen zonder dat een effluent geproduceerd wordt met een ontoelbaar hoge concentratie aan organische verontreinigingen.

2. Het voorspellen van het af te voeren spuislibdebiet.

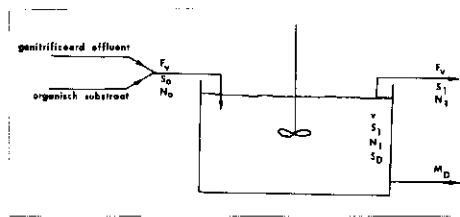
3. Het vinden van de optimale combinatie van reactorvolume en slibconcentratie in de reactor tussen de verschillende combinaties waarmee de gewenste conversie bereikt kan worden.

De noodzaak van een inzicht in de stoechiometrie en de kinetika van de denitrificatie is dan ook evident.

De meeste onderzoeken in verband met de stoechiometrie van de denitrificatie werden toegespitst op gevallen waarin een welbepaald organisch substraat aangewend werd, vooral methanol. Zo vond McCarty [32] dat tijdens de denitrificatie met methanol per mg NO₃⁻-N verwijderd 2,47 mg CH₃OH verbruikt en 0,525 mg

celmateriaal (die 0,065 mg organische N bevatten) geproduceerd worden. Moore & Schroeder [33] vonden echter tijdens proeven met continucultures dat de stoechiometrie veranderlijk was, en dat, zo de nitraatconcentratie in het influent groter of kleiner was dan 30 . . . 40 mg NO₃⁻-N/l, het methanolverbruik per mg NO₃⁻-N verwijderd veel groter was. Deze bevindingen worden aanvaardbaar zodra men bedenkt dat de stoechiometrie van de aërobe afbraakprocessen ook veranderlijk is. De kinetika van de endogene denitrifikatie werd bestudeerd door Wuhrmann: hij ontdekte een lineair verband tussen de endogene denitrifikatiesnelheid van verschillende slibsoorten onder anaërobe voorwaarden en het endogene zuurstofverbruik van dezelfde slibsoorten in een aëroob milieu [11].

Stensel e.a. [34] bestudeerden de kinetika van gesuspendeerde denitrificerende cultures. Zij vonden dat de concentratie aan organische koolstof de snelheidsbepalende factor was en dat de Monod-kinetika met een term toegevoegd om met de endogene stofwisseling rekening te houden vrij goed met de experimentele resultaten in overeenstemming te brengen was. Requa & Schroeder [35] ontwikkelden een model voor de denitrifikatie in gepakte bedden, eveneens gebaseerd op de Monod-kinetika: volgens hen is echter de nitraatconcentratie snelheidsbepalend. Hultman [20] publiceerde een gedetailleerd model voor de denitrifikatie in anaëroob ideaal gemengde actief slib-systeem: het houdt rekening met assimilatieve en met dissimilatieve nitraatverwijdering, en de invloeden van nitraatconcentratie, concentratie aan organische koolstof en levensvatbaarheid van het slib zijn erin verwerkt. Als kinetische vergelijking gebruikt hij een produkt van Monod-vergelijkingen: deze aanpak werd door anderen met succes toegepast bij de studie van de kinetika van de algengroei. Rechtstreekse toepassing van de resultaten van een van de voormelde kinetische studies bij het ontwerpen van denitrifikatie-opstellingen op een realistische schaal is gewoonlijk moeilijk. Eckenfelder [36] en Johnson [37] hebben getracht realistische ontwerpgrondslagen te formuleren uitgaande van de analogie tussen zuurstofrespiratie en nitraatrespiratie. Immers, voor zover het de toepassing van deze processen in de waterzuivering betreft, is het verschil tussen beide tot het volgende te herleiden: een aërobe behandeling dient om een gegeven hoeveelheid organische stoffen uit het afvalwater te elimineren, en hiertoe moet er een aangepaste zuurstofconcentratie in de gemengde vloeistof gehandhaafd worden; bij de denitrifikatie gaat het erom juist genoeg organisch materiaal aan het



Afb. 3.

afvalwater toe te voegen om de verwijdering aan een gegeven hoeveelheid nitraat mogelijk te maken. In het volgende worden de grondslagen van zulke ontwerpprocedures uiteengezet.

Beschouw een ideaal gemengde denitrificerende actief slibtank in regimetoestand (zie afb. 3). De reactor met volume V wordt gevoed met een influentdebiet F_v . S_0 en S_1 zijn de concentraties van het organisch substraat in influent en effluent; N_0 en N_1 zijn de overeenkomstige nitraatconcentraties. De slibconcentratie in de reactor is S_D en het spuislibdebiet is M_D (massa droge stof/tijd). De volgende ontwerpvergelijkingen kunnen afgeleid worden van overeenkomstige uitdrukkingen voor aërobe systemen:

1. specifieke slibgroeisnelheid uitgedrukt als een functie van het specifiek substraatverbruik:

$$\frac{M_D}{V \cdot S_D} = a \cdot \frac{F_v (S_0 - S_1)}{V \cdot S_D} - b$$

met:

a: opbrengstcoëfficiënt;

b: specifieke zelfverteringssnelheid van het slib, gewoonlijk constant verondersteld.

2. specifieke denitrifikatiesnelheid uitgedrukt als een functie van de specifieke verbruikssnelheid van het organisch substraat:

$$\frac{F_v (N_0 - N_1)}{V \cdot S_D} = a' \cdot \frac{F_v (S_0 - S_1)}{V \cdot S_D} + b'$$

met:

a': nitraatverbruik per eenheid organisch substraat verbruikt;

b': specifieke endogene ademhalingsnelheid, ook constant verondersteld.

3. specifieke consumptiesnelheid van het organisch substraat, uitgedrukt als functie van concentraties in de reactor, pH, temperatuur, . . . :

$$\frac{F_v (S_0 - S_1)}{V \cdot S_D} = f(S_1, N_1, \dots)$$

Alleen in eerste benadering mogen a en a' als constant beschouwd worden. Meestal zijn F_v en N_0 bekend terwijl N_1 en S_1

opgelegd zijn: de vergelijkingen worden gebruikt om een verzameling mogelijke combinaties van S_0 , S_1 , V en M_D te zoeken uit deze verzameling moet dan een optimaal of tenminste praktisch realiseerbare combinatie gekozen worden.

3. Biologische stikstofverwijdering in de praktijk

De talrijke nitrifikatie/denitrifikatiesystemen voor de behandeling van rioolwater die tot heden voorgesteld werden verschillen onderling in een of meer van de volgende aspecten:

1. De mate van integratie tussen de stappen voor de verwijdering van organische verbindingen, voor de nitrifikatie en voor de denitrifikatie: men kan één enkel slib gebruiken dat achtereenvolgens aërobe en anaërobe reactoren of anaërobe en aërobe zones in dezelfde reactor doorloopt en zo de drie reactiestappen katalyseert; dit is mogelijk omdat de denitrificerende bacteriën facultatief anaëroob zijn en de nitrificerende bacteriën slechts langzaam afsterven in afwezigheid van zuurstof. Het andere uiterste bestaat erin drie afzonderlijke reactoren met hun eigen aangepaste bacteriënculture te gebruiken, één voor iedere processtap. In tegenstelling met één-slibsystemen zijn meer-slibsystemen meer ingewikkeld van opbouw doch ze zijn beter stuurbaar en iedere processtap kan afzonderlijk geoptimaliseerd worden. Het gebruik van twee afzonderlijke bacteriëncultures voor BZV-verwijdering en nitrificatie is gekenmerkt door een hogere spuislibproductie, lagere nitraatconcentraties in het effluent en een lagere zuurstofconsumptie dan die welke bij het toepassen van één-slibsystemen gevonden wordt [38].

2. De gebruikte reactortypes: voor de nitrifikatie zowel als voor de denitrifikatie kunnen reactoren met gesuspendeerde bacterievlokkers of vullingskolommen met geïmmobiliseerde biologische filmen aangewend worden.

Het is een welbekend feit dat de werking van nitrificerende actiefslibsystemen beter in de hand gehouden kan worden dan die van nitrificerende oxidatiebedden: niet alleen is de totale biomassa aanwezig in een oxidatiebed niet gekend, variabel en praktisch niet instelbaar, doch recente onderzoeken hebben ook aan het licht gebracht dat de nitrifikatie in oxidatiebedden een grotere neiging heeft om in het gedrang te komen bij lage luchttemperaturen [39]. Vanuit het oogpunt van de economie en de stuurbaarheid van de processen kan het wel zinvol zijn BZV-reductie en nitrifikatie te realiseren in een systeem bestaande uit een hoogbelast

oxidatiebed gevolgd door een laagbelaste actief-slibinstallatie [40].

Voor de denitrifikatie worden (anaërobe) biologische filters meer toegepast: men kan ze gemakkelijk zo bedrijven dat er een zeer helder effluent geproduceerd wordt (de bezinkbaarheid van denitrificerend actief slib laat vaak te wensen over), het duurt lang eer de filters verstopt worden (de specifieke groeisnelheid van de denitrifikanten is laag) en een gedeelte van de geaccumuleerde biomassa verwijderd moet worden, en het handhaven van lage zuurstofconcentraties in deze reactoren vormt helemaal geen probleem; tenslotte is er ook geen energie vereist om het slib in suspensie te houden.

3. De gebruikte elektronendonor: organische stoffen in rioolwater en ander biodegradeerbare afvalprodukten komen in aanmerking, benevens zuivere organische verbindingen (methanol, acetaat, ethanol, aceton, koolhydraten). Methaan [41] en waterstof [24] werden ook met succes toegepast. Sommige processen maken helemaal geen gebruik van een supplementaire elektronendonor maar steunen op endogene nitraatademhaling.

Het hiernavolgende overzicht van nitrifikatieprocessen is niet als volledig bedoeld (voor gedetailleerde opsommingen en beschrijvingen zie het werk van Christensen & Harremoes [12]). De processen worden in drie groepen verdeeld volgens de voor de denitrifikatie gebruikte elektronendonor; binnen iedere groep worden voorbeelden gegeven.

1. *Processen waarin slib als elektronendonor voor de denitrifikatie fungeert*

In deze processen wordt het surplusslib gegenereerd in het aërobe gedeelte van de installatie gedeeltelijk geëlimineerd door het te gebruiken als substraat voor de denitrifikatie.

Ze worden meestal uitgevoerd als één-slibsystemen waarin de gemengde vloeistof eerst een aërobe reactor doorloopt (BZV-verwijdering en nitrifikatie) en vervolgens een anaërobe reactor (denitrifikatie). Uitvoeringen in één enkele reactor met aërobe en anaërobe compartimenten zijn ook denkbaar [11, 42, 43]. Verder is een discontinu proces mogelijk, waarbij een hoeveelheid afvalwater met slib gemengd en belucht wordt, en vervolgens een tijd lang zonder beluchting in dezelfde reactor verblijft. Oxidatiesloten zijn interessante systemen om de twee laatstgenoemde procesvariëaties in te realiseren.

Een combinatie van twee alternerend aërobe en anaërobe biologische filters wordt ook gebruikt: rioolwater doorloopt eerst een

aërobe filter A, waarin BZV verwijderd wordt, nitrifikatie plaatsvindt, en biomassa accumuleert; het genitricideerde effluent van filter A wordt dan in een anaërobe filter B gevoed waar de denitrificatie doorgaat en een deel van de geaccumuleerde biomassa verbruikt wordt. Regelmatig wordt de stromingsrichting van het rioolwater omgekeerd: filter B wordt nu bedreven als een nitrificerend oxidatiebed, en de geaccumuleerde biomassa in nu anaëroob gehouden filter A dient als elektronendonor voor de denitrificatie [44]. Vermelden we tenslotte nog dat de contact-stabilisatie gecombineerd kan worden met de nitrifikatie-denitrifikatie: het in de contacttank van organische stoffen bevrijde water wordt dan in een nitrificerend oxidatiebed gevoed; genitricideerd effluent en met organische stoffen belast slib uit de contacttank worden samengebracht in een anaëroob stabilisatiebekken [45].

2. *Processen waarbij organische stoffen in het rioolwater fungeren als elektronendonor in de denitrificatiestap*

De meest voor de hand liggende vorm van zulk een proces omvat een aërobe en een anaërobe reactor in serie. Het grootste deel van het rioolwater wordt rechtstreeks in de eerste aërobe en nitrificerende reactor gevoed; dit effluent wordt samen met de rest van het rioolwater in de tweede aërobe en denitrificerende reactor gebracht. Het nadeel van deze opstelling is dat een volledige verwijdering van trinegatieve stikstof niet bereikt wordt [46].

Een betere methode bestaat er in het rioolwater integraal in de denitrificerende reactor te voeden, en het effluent van deze stap naar de nitrificerende reactor te sturen. Genitricideerd effluent wordt met een zeer hoge recyclageverhouding naar de denitrificerende reactor teruggepompt. Het finale effluent wordt uit de nitrificatiestap afgetapt: een volledige stikstofverwijdering is weer onbereikbaar, doch nu wordt er alleen minder ongewenste nitraatstikstof geloosd [47].

Voor een goede werking van deze systemen is een automatische regeling van de verdeling van het rioolwater over beide reactoren wenselijk in het eerste en van de recyclageverhouding in het tweede geval: een regeling gebaseerd op een continue meting van de nitraatconcentratie of de concentratie aan organische verbindingen is tot nu toe moeilijk realiseerbaar gebleken; de redoxpotentiaal in het denitrificatiecompartiment kan echter gemakkelijk continu gemeten worden, en werd door sommige onderzoekers met succes als regelgrootheid toegepast [48], alhoewel een volledige theoretische verklaring voor deze werkwijze nog ontbreekt.

Iedere van de voornoemde variëaties heeft bepaalde voordelen; ze delen echter alle één of meer van de volgende nadelen:

1. een hoog stikstofverwijderingsrendement is moeilijk of zelfs theoretisch onmogelijk realiseerbaar;
2. weinig vrijheidsgraden waarbinnen de procescondities gevarieerd kunnen worden, en vaak de onmogelijkheid om de kwaliteitskarakteristieken van het effluent afzonderlijk te beheersen;
3. hoge complexiteit van de plaatsgrijpende en op elkaar inwerkende biologische fenomenen: het ontwerp van deze processen moet dan ook hoofdzakelijk op empirische gegevens berusten.

3. *Processen waarin een supplementaire elektronendonor gebruikt wordt in de denitrificatiestap*

De voornaamste drijfveer voor het ontwikkelen van oplossingen in deze richting was de behoefte aan biologische stikstofverwijderingssystemen waarvan de werking terdege onder controle gehouden kon worden. Om dezelfde reden is er een toenemende neiging waar te nemen om meer-slibsystemen in deze context toe te passen, en om goed gedefinieerde biodegradeerbare organische stoffen als elektronen- en koolstofdonor te gebruiken. De eenvoudigste manier om een bestaande aërobe zuiveringsinstallatie aan te passen met het oog op stikstofverwijdering bestaat erin twee afzonderlijke eenheden voor resp. nitrifikatie en denitrifikatie toe te voegen. Men heeft verder in drie-slibsystemen de mogelijkheid om een fosfaatprecipitatie te incorporeren in de eerste, hoogbelaste processtap [49]. Natuurlijk zijn er dan drie afzonderlijke bezinkingsinrichtingen en silbretourleidingen noodzakelijk, tenzij voor de denitrificatiestap een biologische filter toegepast wordt. De kosten voor stikstofverwijdering in het drie-slibstelsel met gebruikmaking van methanol zijn van de orde van 36 B.fr./kg N verwijderd [50], en het bekomen van stikstofverwijderingsrendementen van 90 % en hoger stelt geen bijzondere technische problemen.

4. *Enige probleemgebieden in verband met biologische stikstofverwijdering*

Het onderzoek betreffende de biologische stikstofverwijdering is tot heden op de volgende aspecten geconcentreerd geweest:

1. Onderzoek van de technische en economische haalbaarheid van bestaande of nieuwe procesvariëaties bij de behandeling van specifieke effluënten: daar het ontwerpen van processen vermoedelijk nog geruime tijd vooral op ervaringsgegevens zal moeten berusten, is het zeer belangrijk

dat alle relevante informatie, en niet alleen het uiteindelijke resultaat bekomen uit deze onderzoeken gepubliceerd wordt. In het verleden is men op dit gebied nogal eens in gebreke gebleven.

2. Fundamenteel onderzoek betreffende de 'microbiological reaction engineering' van deze processen: men mag niet vergeten dat biologische transformaties als nitrifikatie en denitrifikatie in essentieel tweefasige systemen plaatsvinden. De globale stoichiometrie en kinetika van de optredende reacties worden dus beïnvloed zowel door de eigenlijke microbiologische reactiestap als door fysische transportverschijnselen: factoren als reactorgeometrie, mengintensiteit, concentratie aan biomassa... hebben dus een niet-verwaarloosbare invloed. Een analyse als deze gebaseerd op de analogie tussen microbiële reacties en heterogene katalyse, zoals ze ontwikkeld werd door Atkinson & Daoud [51], lijkt hier dus meer aangewezen dan het blijven zweren bij eenvoudige Monod-vergelijkingen voor de beschrijving van de kinetika van nitrifikatie en denitrifikatie.

Tenslotte blijft er nog de belangrijke uitdaging van het ontwikkelen van gevoelige, selectieve en snelle bepalingsmethodes voor de stikstofverbindingen die in de verschillende stappen van de biologische stikstofverwijdering een rol spelen [52]. Niet alleen het onderzoek, doch ook de procescontrole van biologische stikstofverwijderingsinstallaties zou hiermee gebaat zijn. Op dit ogenblik zijn geautomatiseerde colometrische bepalingsmethodes (voor NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^- en Kjeldahlstikstof) het meest belovend, doch ook het duurst. Met ionselectieve elektrodes zijn snelle en zelfs continue metingen mogelijk, doch hun selectiviteit en nauwkeurigheid bij gebruik in milieus als rioolwater is eerder gering.

Literatuur

- Popp, *Zur Aufstellung von Stickstoffbilansen*, Städtehygiene, 12, (1961), 21.
- Reeves, *Nitrogen removal: a literature review*, JWPCF, 44, (1972), 1895.
- Ruffer, *Nitrifikation und Denitrifikation bei der Abwasserreinigung*, Vom Wasser, 31, (1964), 134.
- Hanson, Lee, *Forms of organic nitrogen in domestic waste water*, JWPCF, 43, (1971), 2271.
- Nicholson, *Ammonia standards for sewage effluents*. Surv. local Govt. Technol., 142, No. 4233, 48.
- European Inland Fisheries Advisory Commission. *Water Quality Criteria for European Freshwater Fish - Report on Ammonia and Inland Fisheries*. Water Research, 7, (1973), 1011.
- Delwiche, *The nitrogen cycle*. Scientific American, 223, (1970), 136.
- Alexander, *Introduction to soil microbiology*. John Wiley & Sons, N.Y. 19761.
- World Health Organisation: *International Standards for drinking water*, 2nd ed., WHO, Geneva, 1970.
- Baars, *Verwijdering van fosfor en stikstofverbindingen*, H_2O , 1, (1968), 106.
- Wuhrmann, *Objectives, Technology and Results of nitrogen and phosphorus removal*. Advances in water quality improvement (Ed. Gloyna), University of Texas Press, Austin 1968, p. 21.
- Christensen, Harremöes, *Biological denitrification in water treatment*. A literature study. Rep. 2-72, Dept. of Sanitary Engineering, Technical University of Denmark, Lyngby, 1972.
- McCarty, Tonkasame, *Water Reclamation and Algae harvesting*. JWPCF, 43, (1971), 824.
- Painter, *A review of literature on inorganic nitrogen metabolism in microorganisms*. Water Research, 4, (1970), 393.
- Downing, Painter, Knowles, *Nitrification in the activated-sludge process*. J. Inst. Sew. Purific., 2, (1964), 130.
- Pallasch, Triebel, *Lehr- und Handbuch der Abwassertechnik*, Band II, Wilhelm Ernst & Sohn, München, 1969.
- Monod, *The growth of bacterial cultures*. Ann. Rev. Microbiol., 3, (1949), 371.
- Lawrence, McCarty, *Unified basis for biological treatment design and operation*. ASCE, J. San. Engng. Div., 1970, 757.
- Lijklema, *Nitrificatie in het actief-slib proces*, H_2O , 6, (1973), 444.
- Hultman, *Kinetics of biological nitrogen removal*. Publ. 71: 5, The Royal Institute of Technology, Institutions of Water Supply and Sewerage and Water Chemistry, Stockholm, 1971.
- Wuhrmann, *Nitrogen removal in sewage treatment processes*. Verh. Inst. Ver. Limnol., 15, (1964), 580.
- Johson, Schroepfer, *Nitrogen removal by nitrification and denitrification*. JWPCF, 36, (1964), 1015.
- Barnard, *Biological denitrification*, Wat. Pollut. Contr., 72, (1973), 705.
- Bringmann, Kühn, *Gesteuerte Nitrat-Eliminierung aus Oberflächenwässern durch Wasserstoffoxydanten*. Gesundheitsing., 89, (1963), 213.
- Wuhrmann, Mechsner, *Über den Einfluss von Sauerstoffspannung und Wasserstoffkonzentration des Milieus auf die microbielle Denitrifikation*. Path. Microbiol., 28, (1965), 99.
- Skerman, McRae, *The influence of oxygen on the reduction of nitrate by adapted cells of Speudomonas denitrificans*. Can. J. Microbiol., 3, (1957), 215.
- Smith, Masse, Feige, Kamphake, *Nitrogen removal from municipal waste water by columnar denitrification*. Env. Sci. Technol., 6, (1972), 260.
- Delwiche, *Denitrification*. Symposium on Inorganic Nitrogen metabolism (Ed. McElroy & Glass), John Hopkins Press, Baltimore, 1956, p 233.
- Dawson, Murphy, *The temperature dependency of biological denitrification*. Water Research, 6, (1972), 71.
- Hadjepetron, Etouthamer, *Energy production during nitrate respiration by aerobacter aerogenes*. J. Gen. Microbiol., 38, (1965), 29.
- Schroeder, Busch, *The role of nitrate-nitrogen in bio-oxidation*. JWPCF, 40, (1968), R445.
- McCarty, Beck, St. Amant, *Biological denitrification of waste waters by addition of organic materials*. Proc. 24th Ind. Waste Conf., Purdue Univ., 24, (1969), 1271.
- Moore, Schroeder, *The effect of nitrate feed rate on denitrification*. Water Research, 5, (1971), 445.
- Stensel, Loehr, Lawrence, *Biological kinetics of suspended growth denitrification*. JWPCF, 45, (1973), 249.
- Requa, Schroeder, *Kinetics of packed-bed denitrification*. JWPCF, 45, (1973), 1696.
- Eckenfelder, *A design procedure for biological nitrification and denitrification*. Chem. Engng. Progr. Symp. Ser., 63, (1967), 230.
- Johnson, *Process kinetics for denitrification*. ASCE, J. San. Engng. Div., SA4, Aug. 1972, 623.
- Stall, Sherrard, *One sludge or two sludges?* Water and Wastes Engineering, 11, (1974), 41.
- Bruce, Merckens, Haynes, *Pilot-scale studies on the treatment of domestic sewage by two-stage biological filtration - with special reference to nitrification*. Wat. Pollut. Control, 74, (1975), 80.
- Gast, *Meertraps biologische zuiveringsystemen* H_2O , 7, (1974), 377.
- Pretorius, *The complete treatment of raw sewage with special emphasis on nitrogen removal*. Presented at 6th Int. Conf. Wat. Pollut. Res., Jerusalem, June 1972.
- Hunerberg, Sarfert, *Versuche zur Stickstoffelimination aus dem Berliner Abwasser*. Gas u. Wasserfach, Wasser-Abwasser, 108, (1967), 966.
- Pasveer, *Beitrag zur Stickstoffbeseitigung aus Abwässern*. Münchner Beitr. zur Abwasser-, Fischerei- und Flussbiologie (Ed. Liebmann) 12, (1965), 197.
- Mechalas, Allen, Matyskiela, *A study of nitrification and denitrification*. Water Poll. Control Res. Ser., 17010 DRD07/10, U.S. Dep. Interior, FWQA, 1970.
- Balakrisnan, Eckenfelder, *Nitrogen relationship in biological treatment processes - III. Denitrification in the modified activated sludge process*. Water Research, 3, (1969), 177.
- Ludzack, Ettinger, *Controlling operation to minimize activated sludge effluent nitrogen*. JWPCF, 34, (1960), 920.
- Bringmann, Kühn, *Denitrifikation von Kommunalen Abwasser unter Einsatz des gesamer BSB*. Gesundheits-Ingenieur, 88, (1967), 377.
- Bringmann, Kühn, *Ein Schnell-Denitrifikationsverfahren mit automatischer Redox-Steuerung*. Gesundheits-Ingenieur, 83, (1962), 333.
- Barth, Brenner, Lewis, *Chemical-Biological control of nitrogen and phosphorus in waste water*. JWPCF, 40, (1968), 2040.
- Dijkstra, *De verwijdering van stikstofverbindingen uit afvalwater*. H_2O , 7, (1974), 489.
- Atkinson, Daoud, *The analogy between microbiological 'reactions' and heterogeneous catalysis*. Trans. Instn. Chem. Engrs., 46, (1968), T19.
- US Environmental Protection Agency, *Hazardous materials advisory Committee. Nitrogenous compounds in the environment*. Rep. EPA-SAB-73-001, Washington DC, 1973, p. 175.

