

Inhibitie van actief slib systemen door cyanaat en cyanide

1. Inleiding

Met betrekking tot de bouw van een zuiveringsinstallatie voor een galvanisch bedrijf (in Limerick, Ierland) werd de invloed van cyanide en cyanaat op actief slib gemeten. Hiertoe werd uitgegaan van de procesomstandigheden zoals die ter plaatse te verwachten zijn, nl. een zeer laagbelaste installatie met een verblijftijd van 50 h en volledige nitrificatie.

Hoewel enerzijds adaptatie aan cyanide en cyanaat te verwachten was, werd anderzijds beseft dat juist de nitrificerende bacteriën relatief gevoelig zijn voor vergiftigingen.

Op laboratoriumschaal werd een en ander gesimuleerd in continue cultures waarbij de zuiveringsgraad en de nitrificatie onder verschillende belastingen van cyanaat en cyanide werden gemeten. Daarnaast werden proeven gedaan volgens 2 andere technieken waarbij het zuurstofverbruik van de bacteriën tijdens de substraat oxydatie werd gemeten. De meest bekende methode van deze twee is de groeitest waarbij het substraat geïnoculeerd wordt met een ent van actief slib en vervolgens gedurende enige dagen geoxideerd kan worden, waarbij het zuurstof-verbruik wordt gemeten. Bekende uitvoeringen van deze tests zijn de BOD₅²⁰ al of niet volgens de verdunningsmethode en de hierop gebaseerde methode van Bucksteeg. Voor ons onderzoek is een Sapromat¹⁾ gebruikt welke de volledige BOD curve registreert. Het is vanzelfsprekend dat zich tijdens de 5 dagen durende incubatie tal van verschillende processen voordoen, behalve groei en oxydatie treedt ook afsterving, selectie, remming en eventueel adaptatie op.

Eventuele remming op één van de processen kon dan ook wel eens moeilijk meetbaar zijn door het overheersen van de andere processen. De andere meetmethode is merkwaardigerwijs weinig bekend en weinig toegepast ondanks het feit dat het principe al zeer lang algemeen gehanteerd wordt. Het bekende verschijnsel van de „oxygen sac” in een met afvallozing belaste rivier wordt hierbij toegepast in een belucht actief slib monster (Farkas, Adamse, Bucksteeg, Vernimmen, Bhatla et al.) m.b.v. een laboratorium respirometer²⁾.

Door de grote hoeveelheid bacteriën

¹⁾ Voith Sapromat (Steinecke 1972).

²⁾ Binnenkort verkrijgbaar bij Kipp & Zn, te Delft.

tegenover een lage concentratie substraat ontstaat een zeer snelle responsie van het zuurstof verbruik, de tijd voor groei is te kort maar de relatieve toename van bacteriën is ook door de genoemde verhouding substr./bact. te verwaarlozen. Afsterving treedt wel continu op maar is als een afzonderlijke constante te verdisconteren. Adaptatie en selectie zijn eveneens tijdrovende processen die hierbij niet op kunnen treden.

Als criterium voor toxiciteitsmetingen volgens deze respirometrische methode kan het hoogste zuurstofverbruik na toediening van het substraat genomen worden. Dit treedt meestal op ca. 1-5 minuten na deze toediening.

Een van de voordelen van deze methode is, dat door de snelheid ervan een remming gemeten kan worden vlak nadat de giftige stof is toegediend, zodat afbraak hiervan nog nauwelijks kan hebben plaatsgevonden. De resultaten van deze meting zijn uit te zetten in een dosis-responsie curve welke de gevoeligheid van een bepaald slib goed weergeeft.

Voor de beide stoffen cyanide en cyanaat zijn deze 3 methoden: continue culture, sapromat en respirometer vergeleken.

2. Beschrijving van de experimenten

2.1. Cyanaat

2.1.1. Continue cultures

Drie cultures werden simultaan bedreven onder gelijke omstandigheden in gelijke units. Technische details zijn vermeld in tabel I.

Gedurende 64 dagen werden de drie units met verschillende Natriumcyanaat concentraties belast, waarbij steeds één unit geen cyanaat te verwerken kreeg. Na het belasten met een concentratie ontstond uiteraard een tijdelijke onevenwichtige situatie. De resultaten in deze onstabiele periodes van 3 à 5 dagen zijn niet bij de berekening van de gemiddelden betrokken. De resultaten van deze proeven zijn vermeld in tabel II. In tabel III zijn de hieruit berekende remmingspercentages voor COD-eliminatie en nitrificatie samengevat.

TABEL I - Samenstelling van substraat en bedrijfsomstandigheden voor het in stand houden van continue cultures.

Influent COD 700 mg/l	
Gedurende opslag in voorraadvat van 5 l liep de COD terug tot ca. 550 mg/l.	
Samenstelling substraat	
Pepton	390 mg/l (NO ₃ ca. 45 mg/l)
Glycol	123 mg/l
Na acetaat	528 mg/l
Fosfaat oplossing	3 ml/l
NaCl	0,6 g/l
NaHCO ₃	1,4 g/l
pH Influent	7,5 - 8,0
pH Culture	8,5 - 9,0
Verblijftijd	50 h
Slibbelasting	0,03 - 0,02 COD/d/g. slib
Volume	van aeratie gedeelte 1,2 l
O₂-concentratie	in aeratie ruimte 3 mg/l

TABEL II - COD en NO₃ concentraties in effluenten van continue cultures met verschillende concentraties in het influent.

Periode	Unit 1			Unit 2			Unit 3		
	ppm cyanaat	COD	NO ₃	ppm cyanaat	COD	NO ₃	ppm cyanaat	COD	NO ₃
I: dag 1 t/m 14	0	23	163	20	33	139	40	25	206
II: dag 15 t/m 36	0	18	177	80	63	134	160	63	63
III: dag 37 t/m 46	160	42	175	80	44	178	0	30	200
IV: dag 49 t/m 57	500	57	42	300	72	62	0	27	175
V: dag 58 t/m 64	500	148	81	300	129	68	0	31	180

(slib uit Heiligenhaus)

TABEL III - Remming in % voor COD eliminatie en nitrificatie in continue cultures o.i.v. verschillende cyanaatconcentraties in het influent.

Cyanaat concentratie influent	% Remming COD eliminatie	Nitrificatie
20	0	0
40	0	0
80	5-7	30
160	5-7	85
300	6-8	85
500	6-8	100

Adaptatie en herstel:

In tegenstelling tot de verwachting bleek in Unit 1 de overgang van 0 naar 160 ppm cyanaat (periode II → III) minder gevolgen te hebben dan in Unit 3 de overgang van 40 → 160 ppm (periode I → II).

Waarschijnlijk is er dus geen adaptatie (gewenning) in Unit 3 gedurende periode I opgetreden. De stabiliteit en daardoor de weerstand van het ecosysteem in Unit 3 was (mogelijk) kleiner door de belasting met 40 ppm cyanaat.

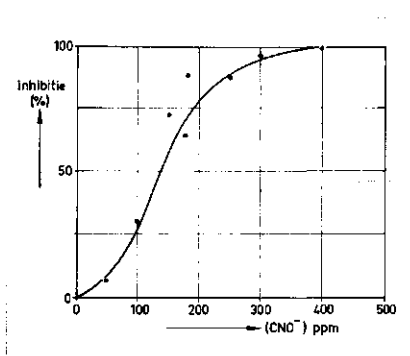
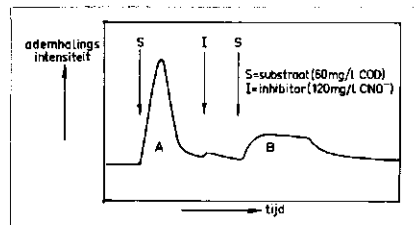
Het herstel van het ecosysteem in unit 3 totdat weer volledige nitrificatie plaatsvond duurde ca. 9 dagen (periode III). Toevoegen van een slib uit Heiligenhaus had een ongunstige invloed. Dit slib was afkomstig uit een installatie waarop cyanaat geloosd zou worden. Met behulp van de respirometer kon vastgesteld worden dat dit slib minder gevoelig was voor belastingsstoten met cyanaat.

Het was duidelijk aan de hoge effluent COD's en de troebele effluenten te zien dat hier afsterving van het nieuwe slib heeft plaatsgevonden die erger was bij de hogere cyanaat belastingen. Grotere stabiliteit t.o.v. schokbelastingen in het eigen milieu betekent dus nog niet een grotere weerstand tegenover continue belasting in een geheel nieuw milieu.

2.1.2. Respirometertest

In afb. 1 wordt een algemeen voorbeeld gegeven voor een toxiciteitsmeting m.b.v. de respirometer. Het remmingspercentage wordt gemeten als de vermindering van de tophoogte t.o.v. een controle meting. Piek A geeft een beeld van de ademhalingsactiviteit van het slib tengevolge van een substraattoevoeging (S). Na toevoeging van de inhibitor (I) wordt wederom substraat toegevoegd (Piek B). De verhouding van de piekhoogten geeft

Afb. 1 - Respirometrische bepaling van inhibitie t.a.v. substraat oxidatie.



Afb. 2 - „Dose-response” curve voor inhibitie van substraat oxidatie door cyanaat in actief slib.

het percentage remming, zoals vermeld in afb. 2.

In afb. 2 zijn de resultaten weergegeven in een zgn. „dose-response” curve, waarbij het % remming tegen de concentratie toegediende stof uitgezet wordt.

Hieruit blijkt duidelijk een veel grotere gevoeligheid dan gemeten werd in de continue cultures. Dit kan verklaard worden door chemische of biochemische afbraak van cyanaat in de continue culture, waardoor in de reaktor in feite een lagere concentratie aanwezig is dan in de voeding.

Actief slib uit de verschillende continue cultures had steeds dezelfde gevoeligheid voor belastingsstoten in de respirometer. Er is dus geen sprake van gewenning.

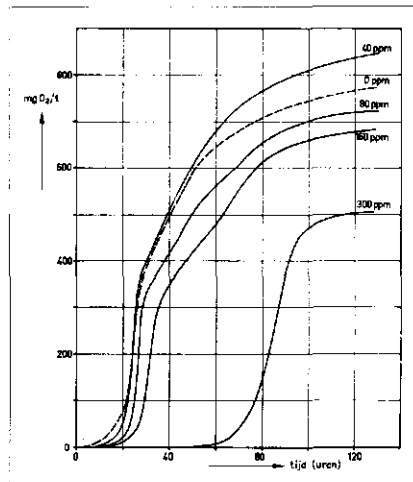
2.1.3. BOD₅²⁰ curve (Sapromat)

De reacties die optreden na inoculatie van een substraat met actief slib zijn enigszins te herleiden m.b.v. de BOD curven uit afb. 3.

Puntgewijs zijn de volgende conclusies te noemen:

1. De aanlooperperiode wordt langer bij hogere cyanaat concentraties.
2. Met 40 ppm CNO treedt pas na 60 h incubatie een verschil op en wel een verhoging van het zuurstofverbruik.

Afb. 3 - BOD curven met verschillende hoeveelheden cyanaat (gemiddelden van 3 proeven).



Het is onwaarschijnlijk dat er na 60 h nog CNO⁻ aanwezig is en deze verhoging zou kunnen samenhangen met een verhoging van indirecte oxydatieprocessen.

3. Duidelijke remming treedt pas op bij 80 en 160 ppm CNO⁻ en zeer duidelijke remming bij 300 ppm.
4. Het is zeer moeilijk deze beelden om te zetten in een remmingspercentage voor een continue culture.

2.2. Conclusie voor de giftigheid van cyanaat voor actief slib

Met de respirometer werd een duidelijke remming gemeten van de exogene oxydatiesnelheid. Ook uit de BOD-curve blijkt een remming, deze meting is echter minder gevoelig. Uit de BOD curven blijkt de remming van tijdelijke aard te zijn doordat cyanaat kennelijk wordt afgebroken. De hoge concentraties die aan een continue culture toegediend kunnen worden, versterken dit vermoeden. Concentratiegrenzen in influenten kunnen dus alleen aangegeven worden in relatie tot verblijftijd en andere procesomstandigheden.

2.2.1. Invloed op nitrificatie

Van de drie nu gebruikte methodes kon alleen met de continue culture de remming van de nitrificatie gemeten worden. De nitrificerende bacteriën blijken inderdaad veel gevoeliger te zijn. Op grond hiervan werd geadviseerd bij verblijftijden van 50 h de cyanaat concentratie lager dan 150 ppm te houden.

3. Cyanide

3.1. Gebruik makende van dezelfde drie methodes is ook de giftigheid van cyanide onderzocht. De continue cultures werden echter bij pH 7.5 gehouden zonder toevoeging van NaCl en NaHCO₃.

3.1.1. Continue cultures

In tabel IV staan de COD eliminatie in % en de nitrificatie in mg/l weergegeven voor continue cultures met verschillende hoeveelheden Natriumcyanide toegevoegd. De getallen zijn de gemiddelden van 20 dagen proefperiode.

Het blijkt dat alleen de nitrificatie bij 10 en 20 ppm duidelijk geremd is. Na ca. 1 maand trad gewenning op en werd alle CN⁻ stikstof in NO₃⁻ omgezet, zelfs met 100 ppm CN⁻ in het influent.

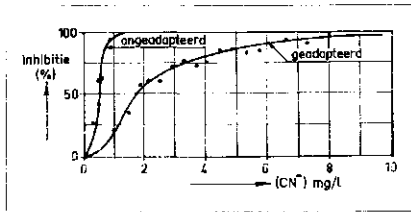
3.1.2. Respirometer

In afb. 4 is het percentage remming weergegeven in de zgn. dose-response curve voor ongeadapteerd slib en voor slib dat na 6 weken adaptatie 100 ppm Natriumcyanide in het influent verwerkte.

3.1.3. De BOD curves met verschillende toevoegingen aan CN⁻ zijn weergegeven in afb. 5.

TABEL IV - Procentuele COD eliminatie en nitrificatie bij verschillende belasting met cyanide.

	ppm CN ⁻	% COD eliminatie	nitrificatie mg/l	%
Unit 1	0	94,2	148,5	100
2	5	94,2	144,4	97
3	10	93,2	103,3	79
4	20	90,5	54,9	37



Afb. 4 - Dose-response curve voor acute toxiciteit van CN⁻ bij twee actief slibsoorten.

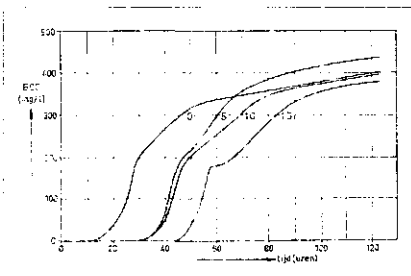
Het is duidelijk dat de BOD waarde na 5 dagen in dit geval geen enkele informatie geeft. De cyanide concentraties blijken een tijdelijke remming te veroorzaken. Opvallend is het optreden van een veel duidelijker knik in de curve. Dit zgn. plateau van Busch vormt waarschijnlijk de overgang tussen directe en indirecte oxydatieprocessen. De juiste betekenis hiervan is nog niet geheel duidelijk (Busch).

3.2. Conclusies voor de giftigheid van cyanide

Evenals bij cyanaat blijkt er bij cyanide sprake te zijn van een remstof die afgebroken kan worden. Hoewel met de respirometer methode een duidelijke remming bij lage concentraties gemeten werd, blijkt uit de BOD curven dat de remming van tijdelijke aard is, terwijl in continue cultures voortdurend afbraak plaatsvindt. Op grond van de remming der nitrificatie in de continue cultures wordt geadviseerd de concentratie in het influent van een installatie met ongeadapteerd slib kleiner dan 10 ppm te houden.

Hierbij dient echter wel vermeld te worden dat er onder gunstige omstandigheden adaptatie voor cyanide kan ontstaan. In de bij ons uitgevoerde proeven duurde dit ca. 4 weken. Na deze periode verdween de remming volkomen en werd

Afb. 5 - BOD curven van de Sapromat met verschillende cyanide concentraties.



alle cyanide stikstof tot nitraat omgezet. Zelfs cyanide concentraties van 100 ppm in het influent bleken onder deze speciale omstandigheden acceptabel.

3.3. Discussie

Uit de vergelijking van de verschillende meetmethoden blijkt dat er sprake moet zijn van afbreekbare toxische stoffen zowel bij cyanide als bij cyanaat. Daarom wordt voorgesteld onderscheid te maken tussen het begrip „acute toxicity” in mg/l slib en „toxic load” in mg/l slib/h. Onder „acute toxicity” kan worden verstaan het effect van een plotseling toegediende dosis, terwijl onder „toxic load” een voortdurende toevoer van geringe hoeveelheden kan worden verstaan. In een dergelijk continu systeem zal er een evenwicht optreden tussen afbraaksnelheid en toevoersnelheid. Ligt dit evenwicht bij een concentratie die acute toxiciteit tot gevolg heeft, dan zal het systeem geremd zijn.

Adaptatie kan optreden in die zin dat het slib een hogere afbraaksnelheid ontwikkelt, dit hoeft niet te betekenen dat de gevoeligheid voor acute toxiciteit verandert.

Van de drie gebruikte meetmethodes is de respirometer verreweg het gevoeligst gebleken. Toch kan de continue culture proef vooral ook vanwege de nitrificatie niet gemist worden. De BOD curve levert in combinatie met deze andere methoden een waardevolle bijdrage. Het

Literatuur

- Adamse, A. D. 1966. *Bacteriological studies on dairy waste activated sludge*. Thesis H. Veenman en Zonen NV, Wageningen.
- ASTM Method D 1329-65 T (2) Appendix 5 and 3, Schwatz, H. G., Water Pollution Control Federation, 39, 1702 (1967).
- Bhatla, M. N., Stack Jr., V. T. and Weston, R. F. J. Water Pollution Control Federation 38, 601 (1966).
- Bucksteeg, W., *Schriftenreihe des Deutschen Arbeitskreises Wasserforschung e.V.* (DAW) Heft. 9, Erich Schmidt Verlag, Berlin, Bielefeld, München.
- Busch, A. W., *An Improved short term BOD test*. Water and Sewage Works, juli 1961, 255-266.
- Clark, J. W., New Mexico State Univ. Eng. Exp. Station Bull. no. 11, 1959.
- Farkas, P., 1966. *Method for measuring aerobic decomposition activity of activated sludge in a open system*. Adv. Water poll. res. 19, 309-328.
- Liebmann, H., *Handbuch der Frischwasser- und Abwasserbiologie* 282-842, Band II, Oldenburg, München 1958.
- Ludzack, Mooze, F. J., Krieger, W. A., H. L. and Ruchkoft, C. C. Serv. and Ind. Wastes, 23 (1951).
- Offhaus, K.; *Wasser- und Abwasser-Forschung* nr. 1; 7-20, 1968.
- Steinecke, H., *Stuttgarter Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft* 34, Oldenburg Verlag München, 1968.
- Vernimmen, A. P., Henken, E. R. and Lamb J. C. J. Water Pollution Control Federation 39, 1006 (1967).

gebruik van alleen een BOD curve lijkt onmogelijk om kritische concentraties te meten.

Aan de toxiciteitsonderzoekingen gebaseerd op de BOD₅-waarde — bijv. Ludzak e.a. (1951) — moet dan ook niet te veel waarde gehecht worden.

De methode volgens Offhaus om percentages inhibitie te berekenen uit de oppervlakten onder BOD curven lijkt ook zeer willekeurig en niet toepasbaar voor het vaststellen van criteria.

De methode van Bucksteeg is misschien bruikbaar als het onderzoek betrekking heeft op rivieren, maar is zeker niet juist als het gaat om lozing op zuiveringsinstallaties.

De gevonden criteria voor CN⁻ en CNQ⁻ in het influent van een zuiveringsinstallatie met een verblijftijd van 50 h zijn 10 mg/l resp. 150 mg/l. Dit is niet geheel in overeenstemming met de op zichzelf reeds tegenstrijdige literatuurberichten. De tegenstrijdigheid kan geheel verklaard worden door verschil in verblijftijden, waarbij de concentratie in het influent geen goed criterium is. Een andere oorzaak voor de verdeeldheid is de gebrekkigheid der meetmethoden, waardoor onvoldoende onderscheid wordt gemaakt tussen „acute toxicity” en „toxic load”.

Tevens is er nog de mogelijkheid van adaptatie die bij sommige onderzoekers wel en bij andere niet kan optreden. Het gebruik van de drie beschreven meetmethodes levert een goede mogelijkheid om ook dit aspect te kunnen meten, zoals blijkt uit afb. 4.

Tenslotte dient opgemerkt te worden dat het hier beschreven onderzoek alleen de natriumzouten van cyanide en cyanaat betreft. Over de giftigheid van complexe zouten van koper en zink geven deze proeven geen informatie.