

KWR 2016.071 | Juli 2016

**Sulfaat
reducerende
bacteriën
toegepast op
huishoudelijk
afvalwater – een
pilotstudie**

Sulfaat reducerende bacteriën toegepast op huishoudelijk afvalwater – een pilotstudie

KWR 2016.071 | Juli 2016

Opdrachtnummer

400539

Projectmanager

Luc Palmen, Marthe de Graaff

Opdrachtgever

Paques, Delfluent Services BV

Kwaliteitsborger(s)

Mark van Loosdrecht

Auteur(s)

Tessa van den Brand, Luc Palmen

Verzonden aan

Paul Weij (Delfluent Services BV), Rogier van Kempen
(Delfluent Services BV) en Jan Sipma (Paques)

TKI

Dit TKI project is mede gefinancierd uit de Toeslag
voor Topconsortia voor Kennis en Innovatie (TKI's) van
het ministerie van Economische Zaken

Jaar van publicatie
2016

Meer informatie

Ph.D. M.Sc. Tessa P.H. van den Brand
T 030-6069629
E Tessa.van.den.Brand@kwrwater.nl

PO Box 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
F +31 (0)30 60 61 165
E info@kwrwater.nl
I www.kwrwater.nl



KWR2016.071 | Juli 2016 © KWR

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd,
opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand,
of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze,
hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën,
opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande
schriftelijke toestemming van de uitgever.

Samenvatting

Al sinds het gebruik van actief slib systemen wordt gezocht naar methodes om het surplusslib van rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's) te minimaliseren. Één van de mogelijke oplossingen is de inzet van sulfaat reducerende bacteriën (SRB). SRB kunnen namelijk efficiënt CZV (chemisch zuurstof verbruik) verwijderen, maar door de lage slibopbrengst zal dit resulteren in lagere slibvrachten. Bovendien geeft de vorming van sulfiden door SRB een kans om zware metalen uit het afvalwater te verwijderen.

SRB zijn zeer intensief bestudeerd, hoofdzakelijk voor het zuiveren van industrieel afvalwater. De toepassing van SRB op huishoudelijk afvalwater is wel onderzocht op labschaal, maar nog niet eerder op pilotschaal en op echt huishoudelijk afvalwater. Voorliggend rapport beschrijft de resultaten van het pilotonderzoek naar de toepassing van SRB op het huishoudelijke afvalwater dat binnenkomt op RWZI Harnaschpolder (Delfluent Services BV). Hierbij is vooral het gedrag onder wintercondities bekeken om het effect van de temperatuur te onderzoeken. De pilotproef duurde circa een half jaar. Het project is uitgevoerd in samenwerking met Paques en Delfluent Services BV.

De resultaten van dit pilotonderzoek laten zien dat sulfaatreductie op het afvalwater van RWZI Harnaschpolder plaatsvindt op basis van verschillende zwavelbronnen. Niet alle zwavelbronnen zijn gekarakteriseerd. Na een stabilisatie periode van ongeveer 70 dagen wordt het opgeloste CZV dat aanwezig is in het afvalwater voornamelijk verwijderd op basis van SRB activiteit. Deze conclusie is gebaseerd op het feit dat de sulfideproductie op gang komt, en dat autofluorescentie analyses laten zien dat er in het begin methanogenen zijn maar dat deze in loop van de tijd geleidelijk uitspoelen. Dit blijft het geval bij verdere verlaging van de temperatuur van 20°C naar ongeveer 10°C. Activiteitstesten hebben aangetoond dat de omzettingssnelheid van SRB in de loop van de tijd toeneemt. Desondanks neemt de biomassaconcentratie af, deze stabiliseert na circa 130 dagen. Hierbij is sprake van een duidelijke relatie met temperatuurverlaging in de pilot. De biomassa vormt een duidelijke korrelstructuur. Verschillende analyses maken aannemelijk dat de biomassa behouden blijft in de reactor onder de toegepaste condities en geteste temperaturen.

Sulfaat blijkt niet de enige aanwezige zwavelbron in huishoudelijk afvalwater te zijn die als bron kan dienen voor SRB. Het opgeloste CZV in het influent kan dan ook worden verwijderd op voornamelijk SRB activiteit bij toepassing op het getest huishoudelijke afvalwater. Verlaging van de temperatuur van 16 naar 10°C heeft daarbij niet tot operationele problemen geleid. Dit onderzoek bevestigt de potentie van de inzet van SRB voor de verwijdering van het opgeloste CZV uit afvalwater bij toepassing op huishoudelijke afvalwaterzuivering, ter verlaging van de hoeveelheid surplus slib dat afgevoerd moet worden.

Inhoud

1	Inleiding	5
1.1	Aanleiding	5
1.2	Sulfaat reducerende bacteriën	5
1.3	Voordelen van Sulfaat reducerende bacteriën	6
1.4	Doel en onderzoeksvragen	7
1.5	Leeswijzer	7
2	Materiaal en methoden	9
2.1	Inleiding	9
2.2	Pilot	9
2.3	Analyses	11
2.4	Thiosulfaat methode	13
2.5	Morfologie analyses	14
2.6	Activiteitstesten	14
3	Resultaten en Discussie	15
3.1	Inleiding	15
3.2	CZV en zwavel op RWZI Harnaschpolder	15
3.3	Influent en effluent karakterisatie pilot	15
3.4	Biomassa groei	19
3.5	SRB-activiteit versus andere microorganismen	21
3.6	Morfologie	23
3.7	Overige nutriënten en bepalingen	25
4	Conclusies en aanbevelingen	27
5	Referenties	29
Bijlage I	Verificatie zwavelmetingen	30
	Verificatie van de zwavel metingen	30
	Additietesten	30
	Controle met extern lab	31
Bijlage II	Protocol sulfide meting	34

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Actief slib is een conventioneel systeem dat al bijna een eeuw wordt ingezet voor een efficiënte zuivering van huishoudelijk afvalwater. In actief slib vinden verschillende biologische processen plaats, waaronder nitrificatie en denitrificatie. Aan dit conventionele systeem zijn verschillende nadelen verbonden, zo is er een relatief grote installatie benodigd en zijn de kosten voor de behandeling van het surplusslib hoog. De hoge energiekosten voor de verwerking en de afvoer van het slib worden vooral veroorzaakt door de hoge slibyield van de biologische processen in het actief slib. Anaerobe processen worden ondermeer gekenmerkt door een lagere slibyield, dit kan in potentie daardoor leiden tot een forse kostenreductie voor het zuiveren van huishoudelijk afvalwater.

De laatste jaren is de aandacht voor een anaerobe biologische zuivering sterk toegenomen, met als grote aanleiding het reduceren van de kosten voor de verwerking van surplusslib. De toepassing van sulfaat reducerende organismen in anaerobe huishoudelijk afvalwaterzuivering wordt doorgaans niet overwogen, met name doordat de activiteit van deze organismen wordt geassocieerd met corrosie, stankoverlast en toxiciteit voor het actief slib systeem.

Huishoudelijk afvalwater heeft, in vergelijking met industrieel afvalwater, veel lagere CZV en sulfaat concentraties. Ook is er doorgaans niet genoeg sulfaat aanwezig om al het CZV op basis van sulfaat reductie te verwijderen. Dit in tegenstelling tot toepassing van SRB op industrieel afvalwater, waar de vrachten CZV en sulfaat fors hoger liggen. In dit onderzoek wordt dan ook vooral het effect van een lage slibbelasting op SRB bestudeert.

Toch kent de toepassing van sulfaat reducerende organismen verschillende – tot nu toe onbelichte – voordelen, waaronder een lagere surplus slib verwerkingskosten en verwijdering van zware metalen (zie paragraaf 1.3).

1.2 Sulfaat reducerende bacteriën

Sulfaat reducerende micro-organismen kunnen zowel bacteriën als een *Archaea* zijn. Vandaar dat het correcter is om naar deze typen micro-organismen te verwijzen als organisme of prokaryoot. Echter, in de bestaande literatuur worden deze micro-organismen doorgaans sulfaat reducerende bacteriën genoemd. In dit rapport wordt daarom de naam 'sulfaat reducerende bacteriën (SRB)' aangehouden, maar in feite wordt daarbij ook prokaryoten bedoeld.

Sulfaat reducerende bacteriën zijn strikt anaeroob, bij de inzet kan een koolstofbron omgezet worden naar CO_2 en wordt sulfaat gereduceerd tot sulfide. Tabel 1-1 geeft enkele voorbeelden van zwavel reducerende reacties, zoals beschreven door Thauer et al. (1977). Samengevat kan in aanwezigheid van sulfaat en bisulfiet (HSO_3^-) door activiteit van sulfaat reducerende bacteriën sulfide gevormd worden. Dit wordt, zoals Tabel 1-2 laat zien, gekoppeld aan de verwijdering van chemisch zuurstof verbruik (CZV).

TABEL 1-1; SULFAAT REDUCTIE BIJ MICRO-ORGANISMEN, OVERGENOMEN VAN THAUER ET AL. (1977).

Reactie ^{*)}	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)
$\text{SO}_4^{2-} + 4\text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-152.2
$\text{SO}_4^{2-} + \text{H}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{HSO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	+19.7
$\text{HSO}_3^- + 3\text{H}_2 \rightarrow \text{HS}^- + 3\text{H}_2\text{O}$	-171.7
$3\text{HSO}_3^- + \text{H}_2 + \text{H}^+ \rightarrow \text{S}_3\text{O}_6^{2-} + 3\text{H}_2\text{O}$	-46.3
$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + \text{H}_2 \rightarrow \text{HS}^- + \text{HSO}_3^-$	-2.1
$\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+ + \text{ATP} \rightarrow \text{APS} + \text{PP}_i$	+46
$\text{PP}_i + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{P}_i$	-21.9
$\text{APS} + \text{H}_2 \rightarrow \text{HSO}_3^- + \text{AMP} + \text{H}^+$	-68

*) Nomenclatuur fosfaatverbindingen: ATP adenosinetriphosphate, AMP adenosinemonophosphate, APS Adenosine-5'-phosphosulfate, PP diphosphate.

Sulfaat reducerende bacteriën zijn in veel verschillende matrices actief. Zo kunnen SRB overleven bij een brede range aan temperatuur, zout gehaltes en pH. In eerder werk is het gelukt om een grote verscheidenheid aan SRB species te isoleren uit verschillende soorten monsters, zoals industriële afvalwaterzuiveringen, marine sedimenten, bodem, zoetwater en velen meer. De aanwezigheid van sulfaat, of een ander zwavelbron, is cruciaal om SRB activiteit waar te nemen, zeker gezien het feit dat sulfaat reducerende bacteriën in competitie staan met methanogenen en acetogenen. Tabel 1-2 laat zien dat deze drie typen micro-organismen competitie voeren over de aanwezige koolstofbron in de matrix. In aanwezigheid van sulfaat is de kans groot dat SRB de competitie wint, mede veroorzaakt door het feit dat er meer energie wordt gegenereerd uit acetaat omzetting door SRB (-47,6 kJ/reactie) dan bij omzetting door methanogenen (-31 kJ/reactie).

TABEL 1-2; VOORBEELDEN VAN TYPISCHE REACTIES DOOR SULFAAT REDUCERENDE BACTERIËN, METHANOGENEN EN ACETOGENEN. GIBBS VRIJ ENERGIE $\Delta G'^{\circ}$ (KJ/REACTION) WAARDEN ZIJN OVERGENOMEN VAN THAUER ET AL. (1977).

	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/reactie)
Sulfaat reducerende bacteriën	
$4\text{H}_2 + \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightarrow \text{HS}^- + 4\text{H}_2\text{O}$	-36.4
$\text{Acetaat}^- + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{HS}^-$	-47.6
$1\frac{1}{3}\text{Propionaat}^- + 1\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 1\frac{1}{3}\text{Acetaat}^- + 1\frac{1}{3}\text{HCO}_3^- + \frac{3}{4}\text{HS}^- + \frac{1}{3}\text{H}^+$	-50.3
$2\text{Butyraat}^- + 1\text{SO}_4^{2-} \rightarrow 4\text{Acetaat}^- + 1\text{HS}^- + 1\text{H}^+$	-55.6
Methanogenen	
$4\text{H}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_4 + 3\text{H}_2\text{O}$	-33.9
$\text{Acetaat}^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{HCO}_3^-$	-31.0
Acetogenen	
$\text{Propionaat}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetaat}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 3\text{H}_2$	+71.6
$\text{Butyraat}^- + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{Acetaat}^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	+9.6
$\text{Lactaat}^- + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Acetaat}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}^+ + 2\text{H}_2$	-4.2

1.3 Voordelen van Sulfaat reducerende bacteriën

Wanneer het sulfaatreductieproces van micro-organismen goed beheerst en gecontroleerd wordt, met name de vorming van sulfide, kan het ingezet worden ten voordele van de afvalwaterzuivering. De aanwezigheid van sulfide is gunstig voor verschillende processen. Sulfide kan neerslaan met zware metalen. Hiermee is het mogelijk om zware metalen te

verwijderen uit afvalwater, en in potentie om zware metalen terug te winnen. Sulfide zorgt er door zijn toxiciteit voor andere micro-organismen ook voor dat er minder coliformen (pathogenen) in het milieu komen. Het lozen van minder coliformen leidt tot een verbetering van de oppervlaktewaterkwaliteit in de nabije omgeving van de afvalwaterzuivering. Door het feit dat sulfaatreductie een anaeroob proces is, kan de opgeloste CZV effectief verlaagd worden zonder aeratie. Dit houdt in dat dit proces in potentie minder energie verbruikt, maar alleen indien de nieuwe watercyclus wordt beschouwd, met o.a. zeewatertoiletspoeling waardoor het afvalwater hogere sulfaat concentraties bevat (van den Brand 2014).

Het meest interessante voordeel zit hem in het feit dat SRB een lage slibyield hebben, maar dat een hoog CZV verwijderingsrendement nog steeds haalbaar is. De groeiyield van sulfaat reducerende bacteriën is 0,13 gVSS/gCZV (Wang et al. 2009), dat is erg laag in vergelijking met aerobisch slib. De kosten die gepaard gaan met de verwerking van het surplus slib kunnen hiermee aanzienlijk verlaagd worden.

1.4 Doel en onderzoeksvragen

Er zit veel potentie in de toepassing van sulfaat reducerende bacteriën op huishoudelijk afvalwater. De toepassing van SRB kan voordelen bieden voor resource recovery, gezondheid, reductie van CO₂-uitstoot en kostenverlaging met betrekking tot de slibverwerking. Het is daarbij wel zaak om de activiteit van SRB goed te beheersen en te controleren, om toxiciteit- en corrosiegerelateerde problemen te voorkomen. Om dit te kunnen realiseren is aanvullende kennis nodig over hoe SRB zich gedragen, zeker in het specifieke geval van huishoudelijk afvalwater. Tot nu toe is zeer beperkt onderzoek gedaan naar de toepassing van SRB specifiek op huishoudelijk afvalwater, en het onderzoek werd vooral op labschaal uitgevoerd (van den Brand 2014). De kennis die bij voorliggend onderzoek is vergaard, is zowel bruikbaar voor het stimuleren en toepassen van SRB in een nieuw innovatief concept voor het behandelen van huishoudelijk afvalwater, maar ook voor het elimineren van SRB activiteit in de conventionele afvalwaterzuivering. In het conventionele systeem kan het inzicht dat met voorliggend onderzoek is verkregen de interactie tussen SRB en methanogenen beter in kaart brengen, waardoor de vergisting in potentie kan verbeteren.

Om meer inzicht te krijgen in het gedrag van SRB in huishoudelijk afvalwater zijn de volgende onderzoeksvragen geformuleerd in deze studie:

- Wat is het effect van de wintertemperatuur op SRB activiteit?
- Is er SRB activiteit op echt huishoudelijk afvalwater mogelijk in een gematigd klimaat?
- Kan het opgeloste CZV verwijderd worden op basis van SRB activiteit?
- Is de sulfaatreductiesnelheid op influent gelijk aan de snelheid op artificieel afvalwater?
- Is sulfaat limiterend voor de activiteit van SRB in de pilot?

Om deze onderzoeksvragen te beantwoorden is gedurende een half jaar pilotonderzoek uitgevoerd op de RWZI Harnaschpolder. Het onderzoek is uitgevoerd in samenwerking met Paques en Delfluent Services BV. De pilotinstallatie is ontworpen en gebouwd door Paques.

1.5 Leeswijzer

Hierna is achtereenvolgens beschreven: materiaal en methode in hoofdstuk 2, de resultaten en de discussie in hoofdstuk 3, en de conclusies en aanbevelingen in hoofdstuk 4.

2 Materiaal en methoden

2.1 Inleiding

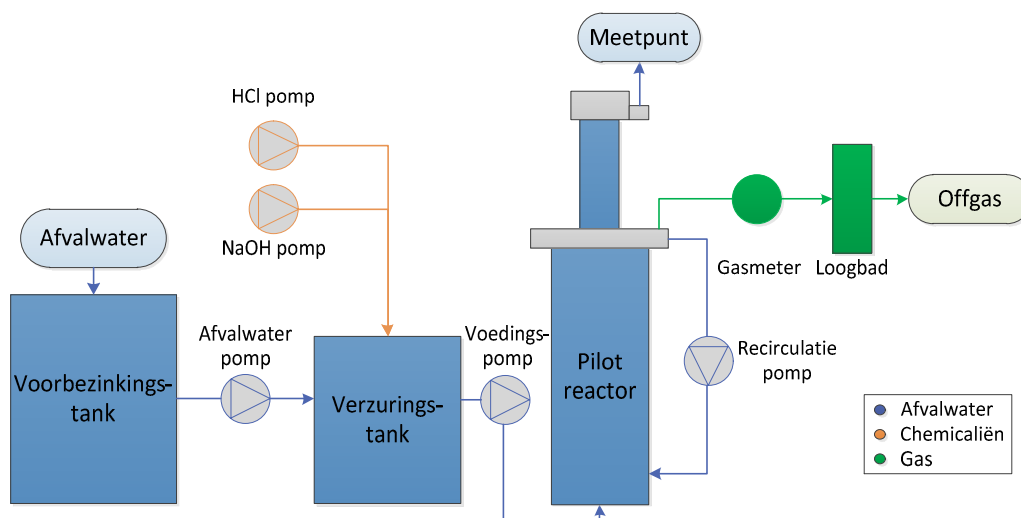
Om de onderzoeksvragen geformuleerd in paragraaf 1.4 te beantwoorden is pilotonderzoek uitgevoerd. Het aanbrengen van focus in dergelijk onderzoek is essentieel. In dit geval is besloten om de afhankelijkheid van één variabele te onderzoeken, namelijk de verlaging van de temperatuur. Omdat er geen mogelijkheid bestond om een externe koeler in te zetten was de watertemperatuur afhankelijk van de omgevingstemperatuur (seizoensafhankelijk). Tijdens het onderzoek is daarnaast aandacht besteed aan het grensgebied waarbij er net wel of net niet genoeg sulfaat aanwezig is om al het opgeloste CZV te verwijderen op basis van SRB-activiteit.

2.2 Pilot

De pilotinstallatie is ontworpen en gebouwd door Paques. De pilot is in bedrijf genomen in de pilothal van RWZI Harnaschpolder in september 2014 en is operationeel geweest tot en met mei 2015. De pilotopstelling is getoond in Figuur 2-1. Een schematische weergave van de pilot is weergegeven in Figuur 2-2. De operationele karakteristieken van de pilot zijn samengevat in Tabel 2-1. De pilot werd automatisch aangestuurd, alleen het aanvullen van voorraadtank afvalwater diende handmatig te gebeuren.



FIGUUR 2-1; FOTO VAN DE PILOT MET SULFAAT REDUCEREND SLIB IN DE PILOTHAL VAN RWZI HARNASCHPOLDER.



FIGUUR 2-2; SCHEMATISCHE WEERGAVE VAN DE PILOT.

Zoals Figuur 2-2 aangeeft, kent de pilotopstelling verschillende onderdelen. Op werkdagen is in de ochtend influent (inkomend afvalwater van Harnaschpolder) verzameld in een tank die tevens functioneert als voorbezinktank. Vanuit deze tank vindt een continue toestroom van influent naar de verzuringstank plaats, waarin het totaal volume gereguleerd is. In de verzuringstank is de pH ingesteld op 7.6 door dosering van zoutzuur (HCl) of natronloog (NaOH). Er vindt een continue toestroom van het afvalwater naar de pilot plaats vanuit de verzuringstank. Het influent komt de pilotreactor binnen vanaf de onderkant, evenals de aanvoer van de interne recirculatie van het reactormedium. Het effluent verlaat de pilot aan de bovenkant en wordt direct afgevoerd via het riool terug naar de RWZI.

In potentie kan er (bio)gas gevormd worden. Het volume van het biogas is met een gasmeter bepaald. Vervolgens is het gas door een loogbad geleid om de zwavel af te vangen. Het overige afgas is direct buiten de pilothal geleid.

TABEL 2-1; OPERATIONELE KARAKTERISTIEKEN VAN DE PILOT.

	Werkdag	Weekend
Hoogte reactor (m)	2,4	2,4
Volume reactor (L)	61	61
Hydraulische verblijftijd HRT (uur)	24,4	61,0
Debiet influent (L/uur)	2,5	1,0
Opstroomsnelheid (m/uur)	0,52	0,46

Het recirculatiedebiet stond ingesteld op 10,8 L/uur. De temperatuur in de pilot kon niet van buitenaf gereguleerd worden, omdat er geen aansluit mogelijkheid was met kraanwater voor externe koeling. De temperatuurvariatie in het influent en de pilot was daardoor dus volledig afhankelijk van de temperatuur van het inkomende water en de pilothal, en daarmee gerelateerd aan het seizoen.

2.2.1 Afvalwater samenstelling

Het afvalwater dat de pilot in gaat is voorbezonden afvalwater. Het afvalwater is afkomstig van het influent van RWZI Harnaschpolder. Het influent is één keer per dag (in de ochtend) verzameld in een tank die als voorraadvat dient voor de pilot. In de tank is een zeef aanwezig die voorkomt dat grote delen, zoals toiletpapier, in de pilot terecht komen. Vanuit het voorraadvat is de voeding (afvalwater) eerst in een verzuringstank gepompt, waarin de

pH op 7,6 gereguleerd wordt. Doordat gebruik is gemaakt van het influent van RWZI Harnaschpolder ondergaat het influent van de pilot dezelfde fluctuaties als bekend bij RWZI Harnaschpolder. Om deze dagelijkse fluctuatie van het influent in kaart te brengen is de samenstelling van het influent dagelijks geanalyseerd.

In het weekend was het niet mogelijk om de voorraadtank van de voeding aan te vullen. Om te voorkomen dat de pilot niet van voeding voorzien zou worden (en dus lucht aangevoerd zou worden), is het debiet van het influent verlaagd in het weekend. Dit heeft tot gevolg dat het debiet en opstroomsnelheid anders is op werkdagen dan op weekenddagen. De betreffende waarden zijn weergegeven in Tabel 2-2.

TABEL 2-2 DEBIETINSTELLINGEN WAARMEE DE VOEDING (AFVALWATER) VAN DE VERZURINGSTANK NAAR DE PILOT IS GEPOMPT PER FASE IN DE WEEK.

Fase van de week	Debiet influent (L/uur)	Opstroomsnelheid (m/uur)
Werkdag	2,5	0,52
Weekend	1,0	0,46

2.2.2 Inoculum

De pilot is geïnoculeerd met twee soorten slib: slib van RWZI Harnaschpolder en slib van de papierfabriek Eerbeek. Dit inoculum is toegevoegd in een volumeverhouding van 1:1. Er is gekozen voor twee soorten slib om de consumptie van het opgeloste CZV sneller op gang te brengen, ook op basis van SRB-activiteit. Het is belangrijk dat dit snel gebeurt omdat hoge concentraties opgelost CZV toxisch kunnen zijn voor SRB. Het influent van de pilot had een relatief hoog droge stof gehalte (0,5 g/L), en dus was er sprake van een continue inoculum van biomassa, gelijk aan de content van afvalwater dat op RWZI Harnaschpolder aankomt.

2.3 Analyses

De pilot werd met grote regelmaat bemonsterd. Zo werd de influent en effluent kwaliteit in kaart gebracht, maar ook de biomassavorming in de pilot. Tabel 2-3 geeft de frequentie aan waarin bepaalde analyses zijn uitgevoerd. Eenmalig zijn additionele testen voor ammonium, nitraat, nitriet en fosfaat uitgevoerd.

Alle analyses zijn gedaan op basis van puntmonsters. Wanneer er een enkele test is uitgevoerd, bepaalt het moment van monsternamen daardoor sterk het resultaat. Eenmalig zijn er 24-uurs debietproportionele monsters genomen. Bij de resultaten staat er bij vermeld als het om 24-uurs monsters gaat, standaard is er sprake van puntmonsters.

TABEL 2-3; WEERGAVE FREQUENTIE VAN ANALYSE UITVOERING.

	Aantal keer per week
Sulfaat concentratie	3
Sulfide concentratie	3
CZV concentratie	3
Biomassa groei: bedhoogte	5
Biomassa groei: VSS en TSS	1
Gasvorming	5
Morfologie (microscopie)	1

2.3.1 Sulfaat

Drie maal per week is de sulfaatconcentratie van het influent en het effluent van de pilot bepaald. Hiervoor is gebruik gemaakt van een Hach-Lange methode, namelijk LCK 153. Deze

meting is gebaseerd op een troebelheidsbepaling, daarom is het belangrijk om het biomassa vooraf uit het monster te verwijderen. De monsters zijn t.b.v. deze bepaling daarom gefiltreerd met een 0,45µm filter.

De metingen aan de pilot resulteerde in een niet kloppende zwavelbalans. Er is daarom een additioneel onderzoek naar de sulfaat methode uitgevoerd. Het onderzoek naar de verificatie van de zwavelmetingen is beschreven in Bijlage I.

2.3.2 Sulfide

Sulfide gaat makkelijk verloren tijdens bemonstering, onder andere doordat het in contact komt met zuurstof. Om verlies van sulfide te voorkomen dient de pH van het monster verhoogd te worden. Dit is bereikt door het monster direct aan te logen met één druppel 1M NaOH. Het monster is vervolgens gefiltreerd (0,45 µm) om vervolgens de sulfide concentratie te bepalen op basis van de aangepaste methylene blue methode, gebaseerd op APHA (1995). Een uitgebreide beschrijving van deze test is beschreven in Bijlage II.

De metingen in het influent en effluent van de pilot resulteerde in een niet kloppende zwavelbalans, er is daarom een additionele onderzoek naar de sulfaat methode uitgevoerd. Het onderzoek naar de verificatie van de zwavel metingen is beschreven in Bijlage I.

2.3.3 CZV

Het chemisch zuurstof verbruik (CZV), waar in het Nederlands toch ook vaak naar het Engels COD wordt verwezen, dient op verschillende wijzen gemeten te worden. Zo is het interessant om het totale CZV van een monster te bepalen (CZV_{totaal}), maar ook de opgeloste fractie CZV (CZV_{opgelost}). CZV_{opgelost} is bepaald door het monster eerst te filtreren over 0,45 µm. Vervolgens is voor beide CZV bepalingen dezelfde type Hach-Lange meting gebruikt; het gaat hier om het type LCK414 en LCK514.

2.3.4 Nutriënten concentraties

Eenmalig zijn additionele metingen met betrekking tot de stikstof en fosfaat content van het influent en effluent uitgevoerd in duplo. Het gaat om ammonium, nitraat, nitriet, opgelost fosfaat en totaal fosfaat. Alle monsters, behalve die voor de totaal fosfaat meting, zijn gefiltreerd over 0,45 µm. Alle metingen zijn verricht met de Hach-Lange test methode, zoals weergegeven in Tabel 2-4.

TABEL 2-4; OVERZICHT VAN GEBRUIKTE HACH-LANGE METHODE PER ANALYSE.

Analyse	Hach lange methode
Ammonium	LCK 304
Nitraat	LCK 339
Nitriet	LCK 341
Opgelost fosfaat	LCK 348
Totaal fosfaat	LCK 348

2.3.5 Biomassa groei

De ontwikkeling van de hoeveelheid biomassa in de reactor is op twee verschillende manieren in kaart gebracht. Dagelijks is het totale gesetelde bedvolume in kaart gebracht en één keer per week is ook de VSS (volatile suspended solids, ofwel vluchtig opgeloste stof gehalte) en TSS (zevende stof gehalte) in de pilot bepaald. Deze twee bepalingen zijn in de volgende paragrafen nader toegelicht.

2.3.5.1 Bedhoogte methode

Elke werkdag werd de recirculatiepomp en influenttoevoer tijdelijk stilgezet en kreeg het slib 30 minuten de tijd om te bezinken. Na deze bezinktijd werd het volume van het bed bepaald. De diameter van de pilot was bekend (18cm), waardoor het bedvolume bepaald is met behulp van de bedhoogte. Vervolgens werd de pilot weer aangezet.

2.3.5.2 VSS en TSS methode

Het bedvolume wordt sterk bepaald door de mate waarin korrelvorming optreedt. Ook ontstaan er lege ruimten tussen de korrel of vlokstructuur van het biomassa. De grootte van deze lege ruimten hangt sterk af van de structuur. Daarom is aanvullend aan de bedhoogte methode ook wekelijks de VSS en TSS bepaling uitgevoerd. Dit is gedaan op het slib uit de reactor, het influent en het effluent. Deze bepalingen vinden als volgt plaats.

Een bekend volume (V_{monster}) monster wordt gefiltreerd over een filter (2,7µm, glass microfibre filter) met een bekend gewicht (M_{filter}). Vervolgens is het filter met monster minstens een uur geïncubeerd op 105°C en is opnieuw het gewicht bepaald (M_{105C}). Als laatste stap is het filter met monster vier uur geïncubeerd op 550°C, waarna ook weer het eindgewicht is bepaald (M_{550C}). Met formule 1, 2 en 3 kan respectievelijk het zevende stof gehalte (TSS), as gehalte van monster (AS) en vluchtig onopgeloste stof gehalte (VSS) worden bepaald.

$$\text{TSS(g/L)} = (M_{105C}(\text{g}) - M_{\text{filter}}(\text{g})) / V_{\text{monster}}(\text{L}) \quad (\text{Formule 1})$$

$$\text{AS (\%)} = (M_{550C}(\text{g}) - M_{\text{filter}}(\text{g})) / (M_{105C}(\text{g}) - M_{\text{filter}}(\text{g})) \quad (\text{Formule 2})$$

$$\text{VSS (g/L)} = \text{TSS (g/L)} - (\text{TSS(g/L)} * \text{AS (\%)}) \quad (\text{Formule 3})$$

2.4 Thiosulfaat methode

In Bijlage I is toegelicht welke stappen zijn uitgevoerd om te onderzoeken in welke mate de zwavel metingen (sulfide en sulfaat) correct zijn uitgevoerd. Uit dat onderzoek bleek dat de toegepaste bepalingsmethoden correct zijn, en dat er geen verstoring effect van de (afvalwater) matrix is waargenomen. Op basis van deze bevindingen is geconcludeerd dat er een andere zwavelbron in het influent moet zitten.

In lange rioolwaterleidingstelsels is vaak sprake van anaerobe activiteit. Ondanks dat er weinig onderzoek is uitgevoerd naar de biologische processen die optreden in het rioolstelsel, is de sulfide productie als gevolg van SRB-activiteit een bekend verschijnsel. Wanneer het sulfide in het afvalwater vervolgens in contact komt met zuurstof, kan sulfide oxideren tot thiosulfaat.

Met een kleuringsreactie is geprobeerd aan te tonen of thiosulfaat aanwezig is in het afvalwater dat gevoed wordt aan de pilot. Dit is gedaan door aan het monster tri-jodide toe te voegen. Tri-jodide is een bruinoranje oplossing die ontstaat door aan kaliumjodaat zowel kaliumjodide als zoutzuur toe te voegen. Wanneer thiosulfaat in het monster aanwezig is wordt de oplossing lichter geel. Als er sprake is van een overmaat thiosulfaat, wordt de oplossing uiteindelijk kleurloos. Door de concentratie tri-jodide zeer laag te houden, kunnen ook kleine hoeveelheden thiosulfaat in het influent aangetoond worden. Deze methode is gebruikt om de aanwezigheid van thiosulfaat aan te tonen. De exacte concentratie thiosulfaat is niet kwantitatief bepaald, mede omdat het effect van de matrix van afvalwater en dergelijke parameters op deze meting onbekend zijn.

2.5 Morfologie analyses

Met grote regelmaat zijn er microscoop foto's genomen van het slib aanwezig in het influent, effluent en de pilot zelf. Er is gebruik gemaakt van een microscoop die ter beschikking was op KWR voor foto's van slib in de pilot.

2.6 Activiteitstesten

Om de activiteit van SRB in de pilot te bepalen is het zaak een test in een gecontroleerde omgeving uit te voeren. Er is gekozen om dezelfde methode toe te passen als beschreven in van den Brand et al. (2015). Deze test is specifiek voor de activiteit van SRB door toevoeging van sulfaat en het anaeroob maken van het medium. Hierna volgt een beknopte samenvatting van de procedure en gebruikte media.

Er is gekozen om gebruik te maken van artificieel afvalwater. In dat geval zijn de activiteit bepalingen makkelijker met elkaar te vergelijken zijn, omdat er sprake is van dezelfde uitgangspunten. Het medium is voorbereid door drie stock oplossingen te maken, met een C-bron (koolstof), een N-bron (stikstof) en een oplossing met sporenelementen, zoals beschreven in Tabel 2-5. De N en C stock oplossingen zijn apart bereid, zodat er geen groei in het medium kan plaatsvinden. Op de dag dat de test uitgevoerd wordt, is aan elke test 250 µl van zowel de N als de C bron toegevoegd. Ook is aquarium zout toegevoegd (als sulfaat bron), dusdanig dat de concentratie in het medium 7,3 gram/L is, en 1 mL sporen oplossing. Vervolgens is milliQ water toegevoegd tot 50mL. De CZV (opgelost) en sulfaat concentratie in het medium van de batch test is dan respectievelijk 300 en 500 mg/L.

In een anaeroob flesje is 50mL medium en 30mL slib afkomstig uit de pilot toegevoegd. Daarna is dit flesje afgesloten en via de rubber stop geflushed met N₂ gas (stikstof), zodat het zuurstof zowel uit de vloeistof- als gasfase verdwijnt. Een test met resazurine (zuurstof kleuring), gaf aan dat 1 minuut flushen met N₂ voldoende is om het zuurstof te verwijderen. Vervolgens is het flesje op een schudstelsel geplaatst, en zijn volgens het tijdschema monsters genomen om de sulfide concentratie in de tijd te bepalen. Aanvullend is ook de opgeloste CZV concentratie aan het begin van de test, en de VSS concentratie aan het begin en het eind van de test bepaald.

TABEL 2-5; MEDIA VOOR DE SRB-ACTIVITEIT BEPALING.

Stock oplossing	Componenten en concentratie (g/L)	Toevoegen aan batch test
C	97.23 NaAc3H ₂ O	250 µL
	29.42 NaPr	
	7.56 K ₂ HPO ₄	
	2.83 KH ₂ PO ₄	
N	76.4 NH ₄ Cl	250 µL
	18.68 MgCl ₂ ·6H ₂ O	
	11.68 CaCl ₂	
Sporen elementen	Zoals in Lau et al. (2006)	1 mL

3 Resultaten en Discussie

3.1 Inleiding

In dit hoofdstuk zijn de meetresultaten gepresenteerd en bediscussieerd en komen de verschillende onderzoeksvragen aan bod.

3.2 CZV en zwavel op RWZI Harnaschpolder

In 2002 is er door Delfluent Services B.V. al onderzoek gedaan naar de aanwezigheid van sulfaat en sulfide in het afvalwater. Dit onderzoek is gedaan op verschillende locaties in de omgeving, namelijk Delft, Monster, Den Haag en Zoetermeer. De resultaten van de CZV, BZV, sulfaat en sulfide gehalte bepalingen in 24-uurs monsters van deze locaties zijn weergegeven in Tabel 3-1. Deze gegevens uit 2002 laten zien dat de sulfaat en sulfide concentratie sterk afhankelijk is van de locatie, maar ook dat er sprake is van grote fluctuaties afhankelijk van de gemeten dag. Uit de gegevens blijkt dat RWZI Harnaschpolder een geschikte keuze is voor plaatsing van de SRB pilot, omdat er een significante hoeveelheid sulfaat aanwezig is in het influent.

Voor het verwijderen van 180 mg/L BZV (in 2002 gemiddeld aanwezig in het influent van RWZI Delft) is een minimale concentratie van 270 mg/L sulfaat nodig om dit BZV op basis van SRB activiteit te kunnen verwijderen. Deze verhouding wordt bepaald door de omzettingratio (yield) van 0,67 gCOD/gSO₄²⁻ (Thauer et al. 1977; Oude Elferink et al. 1994). De verwijdering van BZV zal dan gepaard gaan met een sulfide productie tot een concentratie van 90 mg/L, in overeenstemming met de standaardreactievergelijkingen in Tabel 1-1.

TABEL 3-1; CONCENTRATIES BZV, CZV, SULFAAT EN SULFIDE IN HET AFVALWATER OP LOCATIES IN DE OMGEVING VAN RWZI HARNASCHPOLDER, GEMETEN IN 2002.

Component	Delft	Monster	Den Haag	Zoetermeer
BZV (mg/L)	180 ± 16	150 ± 43	195 ± 38	183 ± 15
CZV (mg/L)	565 ± 23	455 ± 110	586 ± 62	524 ± 30
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	224 ± 35	77 ± 12	92 ± 33	68 ± 3
S ²⁻ (mg/L)	2,4 ± 1,8	0,62 ± 0,3	1,3 ± 0,7	0,48 ± 0,3

3.3 Influent en effluent karakterisatie pilot

Activiteit van SRB in de pilot wordt sterk bepaald door de condities van het afvalwater. Om de SRB activiteit te beoordelen is naast het effluent ook het influent gekarakteriseerd. Deze gegevens zijn weergegeven in Tabel 3-2. Volgens de sulfaat resultaten zoals beschreven in Tabel 3-2 kan niet al het opgeloste CZV verwijderd worden op basis van SRB activiteit. Bovendien is het onmogelijk om op basis van alleen deze sulfaat hoeveelheid (71 mg/L) de vorming van sulfide (netto 71 mg/L) te verklaren. Op basis van een standaardreactie zoals beschreven in Tabel 1-1 is voor de vorming van 71 mg/L sulfide namelijk een beschikbaarheid van 213 mg/L sulfaat nodig. Alleen al deze balans, maar ook de moeilijkheden die ervaren werden tijdens de uitvoering van de sulfaat meting, maakte dat de zwavel meting nader is onderzocht. Dat onderzoek is beschreven in Bijlage I. Daar is geconcludeerd dat sulfide als een betrouwbare meting mag worden beschouwd, maar dat de sulfaat of totale zwavel meting niet betrouwbaar is. Het is aannemelijk dat er een andere zwavelbron aanwezig is, op basis waarvan aanvullende SRB activiteit plaatsvindt.

Op basis van de geobserveerde gemiddelde sulfide productie (71 mg/L) kan er maximaal 142 mg/L opgelost CZV geoxideerd zijn. Gemiddeld was er echter sprake van een opgelost CZV verwijdering van 179 mg/L. Bij de opgeloste CZV metingen zijn sulfide en thiosulfaat niet meegenomen, deze componenten zijn namelijk verwijderd voordat de CZV analyse is uitgevoerd. Dit houdt in dat er tenminste 37 mg/L opgelost CZV door andere micro-organismen dan SRB is geoxideerd. Dit houdt in dat er 79% van het opgeloste CZV wordt verwijderd op basis van SRB-activiteit wanneer de zwavelbron uit sulfaat bestaat.

Echter het is zaak rekening te houden met het feit dat de oorsprong van het zwavel niet geheel vaststaat. Mocht er SRB activiteit op basis van een andere zwavelbron plaatsvinden, dan is bovenstaande rekensom niet correct. Bij SRB activiteit op basis van thiosulfaat, wordt er namelijk relatief minder opgelost CZV verwijderd. In voorliggend onderzoek is het niet gelukt om hier uitsluitsel over te geven.

Additioneel zijn indicatieve afgas metingen uitgevoerd. Hierbij is geen methaan in de afgas van de pilot aangetroffen (onder detectiegrenzen). De activiteit van methanogenen in de pilot is dan ook verwaarloosbaar. Dit wordt bovendien bevestigd door autofluorescentie beoordelingen. Methanogenen zijn in het inoculum in grote mate aanwezig, terwijl het methanogenen gehalte gedurende de tijd sterk afneemt in de pilot (visuele beoordeling).

TABEL 3-2; GEMIDDELDE WAARDEN CZV, SULFAAT EN SULFIDE VOOR HET INFLUENT EN EFFLUENT VAN DE PILOT IN DE PERIODE VAN SEPTEMBER 2014 TOT EN MET MAART 2015.

Component	Influent	effluent
CZV totaal (mg/L)	512 ± 180	1079 ± 313
CZV opgelost (mg/L)	208 ± 51	29 ± 12
Sulfaat (mg/L)	71 ± 41	Niet gemeten
Sulfide (mg/L)	11 ± 9	82 ± 75

Naast de puntmetingen, die tenminste drie keer per week plaatsvonden, zijn er tussen 11 en 18 februari 2015 ook 24-uurs monsters verzameld en geanalyseerd (Tabel 3-3). Voor het opgeloste CZV, de sulfaat en sulfide concentraties komt dit redelijk overeen met de gemiddelde waarden zoals weergegeven in Tabel 3-2. De CZV totaal concentratie die gemeten is voor de 24-uurs monsters ligt wel significant lager (ongeveer de helft) dan de gemiddelde waarden zoals weergegeven in Tabel 3-2. Dit wordt vermoedelijk veroorzaakt door het feit dat deze 24-uurs monsters zijn genomen aan het einde van het pilotonderzoek, toen het biomassavolume in de pilot al iets aan het stabiliseren was (Figuur 3-4), waardoor er sprake was van minder uitspoeling van biomassa. De geobserveerde toename van CZV totaal wordt bediscussieerd in paragraaf 3.4.

TABEL 3-3; GEMIDDELDE WAARDEN VOOR ANALYSES VAN 24-UURS MONSTERS VAN HET INFLUENT EN EFFLUENT VAN DE PILOT TUSSEN 11 EN 18 FEBRUARI 2015. BIJ EEN 24-UURS MONSTER WORDT ER ELK UUR VOLUME PROPORTIONEEL BEMONSTERD, EEN DEEL HIERVAN IS DIRECT DOORGEZET NAAR EEN TWEEDE MONSTERVAT WAAR NAOH IN ZAT VOOR DE COLLECTIE VAN HET SULFIDE MONSTER.

Component	Influent	Effluent
COD totaal (mg/L)	421 ± 29	586 ± 49
COD opgelost (mg/L)	231 ± 21	40 ± 3
Sulfaat (mg/L)	72,3 ± 13	Niet gemeten
Sulfide (mg/L)	6,7 ± 4	104 ± 8

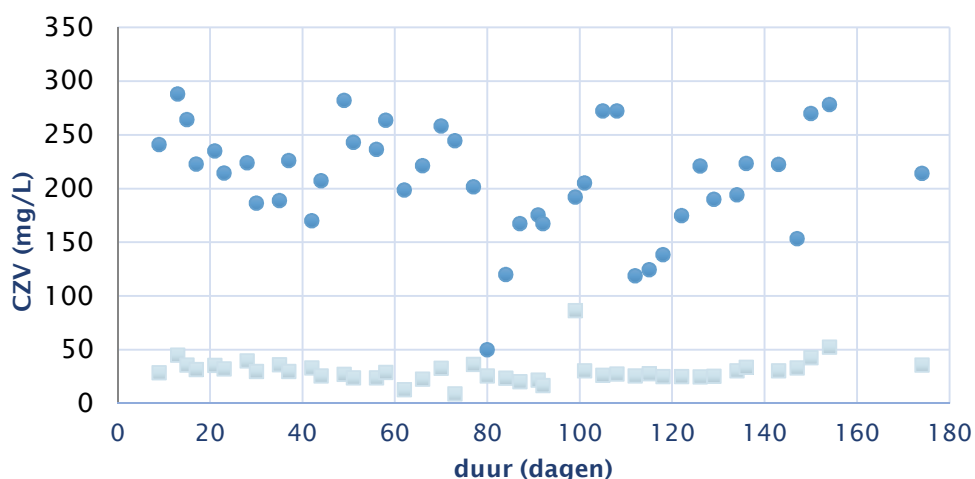
In Tabel 3-4 zijn de VSS en TSS resultaten van het influent, het effluent en het monster uit de pilot weergegeven. In alle gevallen was er sprake van een puntmeting. In het geval van bemonstering van de pilot was het moeilijk om een representatief gemengd sample te nemen. Harde conclusies, bijvoorbeeld ten aanzien van de VSS concentratie in de pilot ten opzichte van de waarde in het effluent, kunnen hierdoor niet worden vastgesteld. Uit Tabel 3-4 blijkt dat er veel meer biomassa uitspoelt dan met het influent naar de pilot wordt aangevoerd. Dit is in overeenstemming met de CZV totaal waarden zoals gepresenteerd in Tabel 3-2. De geobserveerde toename in het effluent wordt bediscussieerd in paragraaf 3.4.

TABEL 3-4 GEMIDDELDE VSS EN TSS WAARDEN VOOR HET INFLUENT EN EFFLUENT VAN DE PILOT IN DE PERIODE VAN SEPTEMBER 2014 TOT EN MET MAART 2015.

Component	Influent	effluent	pilot
VSS (g/L)	$0,48 \pm 0,44$	$5,03 \pm 3,48$	$3,32 \pm 3,27$
TSS (g/L)	$0,40 \pm 0,39$	$3,42 \pm 2,30$	$2,55 \pm 2,38$
VSS/TSS (%)	16	32	23

3.3.1 CZV profiel

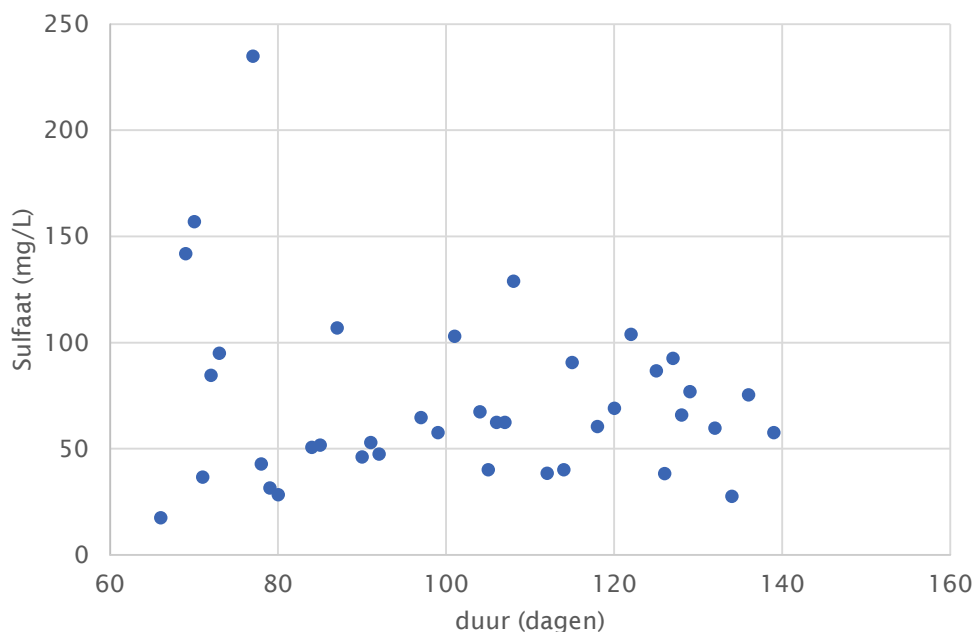
Eerder werden de gemiddelde waarden van CZV in het influent en effluent beschreven, maar dat geeft geen gedetailleerde informatie in de tijd. In Figuur 3-1 zijn de opgeloste CZV waarden in de tijd van het influent en effluent weergegeven. Ondanks de sterke fluctuatie van het opgeloste CZV in het influent, van 50 tot 300 mg/L, wordt de CZV concentratie over de gehele tijd teruggebracht tot onder de 50 mg/L. De daling van temperatuur, zoals beschreven in Figuur 3-4, heeft dan ook geen invloed op de effectiviteit van de verwijdering van het CZV in de pilot. Figuur 3-1 laat zien dat het opgelost CZV in het effluent lager is dan in het influent, ondanks dat de CZV totaal concentratie in het effluent volgens Tabel 3-3 hoger lijkt dan in het influent.



FIGUUR 3-1; INFLUENT (●) EN EFFLUENT (■) PROFIELN VAN HET OPGELOSSTE CZV VAN DE PILOT.

3.3.2 Sulfaat en sulfide profiel

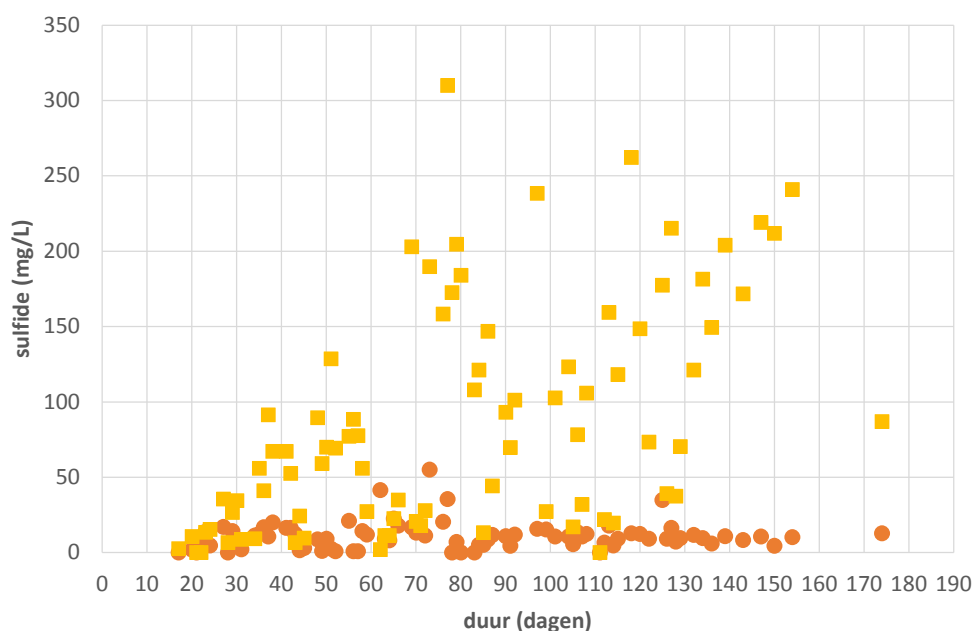
Net als het (opgelost) CZV fluctueert ook het sulfaat gehalte in het influent sterk (10 – 240 mg/L). Deze schommelingen zijn geobserveerd ondanks bemonstering op vaste tijdstippen. De waarden konden niet vergeleken worden met de sulfaat concentratie van het effluent (beneden detectiegrens).



FIGUUR 3-2; SULFAAT PROFIEL IN HET INFLUENT VAN DE PILOT.

Ondanks de sterke variatie die zichtbaar is voor de sulfideconcentratie in het effluent van de pilot (Figuur 3-3), laten gemiddelde waarden zien dat de sulfide concentratie in het effluent toeneemt in de tijd tot een duur van 70 dagen. Dit houdt in dat de SRB activiteit toeneemt in de eerste 70 dagen, en daarna een stabiele activiteit lijkt te vertonen. Figuur 3-1 laat zien dat ondanks een lage SRB activiteit gedurende de eerste dagen wel sprake is van een vergelijkbaar effectieve verwijdering van opgeloste CZV. De pilot is onder andere geïnoculeerd met slib van de afvalwaterzuivering te Eerbeek. In dat slib was reeds sprake van SRB en methanogenen activiteit, echter onder andere condities dan huishoudelijk afvalwater. Omdat er sprake is van een continue inoculatie van slib vanuit het influent aan de pilot, en de reeds aanwezige SRB nog moeten adapteren aan de nieuwe condities, is het opgeloste CZV deze eerste periode vooral verwijderd door andere micro-organismen dan SRB.

Het is ook mogelijk dat het sulfide dat in het effluent wordt teruggevonden deels afkomstig is van het gebonden sulfide (precipitaat) aan het biomassa dat in het inoculum reeds aanwezig was. Echter, omdat het sample is gefiltreerd alvorens de sulfide concentratie is bepaald, is het sulfide gehalte van het slib niet meegenomen. Enkele keren is er wel een controle meting uitgevoerd, waarbij het monster niet gefiltreerd is, maar in die gevallen is geen significant hogere sulfide concentratie gemeten (<10%).



FIGUUR 3-3; SULFIDE PROFIEL VAN HET INFLUENT (●) EN EFFLUENT (■) VAN DE PILOT.

S-balans verstoord

Op basis van de sulfaat en sulfide metingen blijkt dat er in het effluent meer zwavel gevonden wordt dan dat bij het influent binnenkomt. Er is veel vertrouwen in de sulfide meting, ook specifiek voor deze matrix. Er is veel aandacht besteed aan de verificatie van de sulfaat meting (Bijlage I). Het bleek dat een filtratiestap resulteert in een lagere sulfaatconcentraties. Hieruit ontstaat het vermoeden dat sulfaat is ingevangen in het slib, in een neergeslagen toestand, of dat sprake is van de aanwezigheid van elementair zwavel dat eruit wordt gefiltreerd. Er is uiteraard ook een mogelijkheid dat het zwavel in het influent in een andere vorm dan sulfaat of sulfide aanwezig is. Dit wordt bevestigd door de sulfaat-additie testen, welke laten zien dat de matrix niet verstorend werkt op de meting. Op basis daarvan kan geconcludeerd worden dat zwavel in een andere vorm dan sulfaat aanwezig moet zijn. Dit zou betekenen dat sulfaatreductie in deze pilot niet louter is gebaseerd op sulfaat, maar mogelijk ook op poly-S of thiosulfaat. Het is theoretisch mogelijk dat er thiosulfaat in het influent zit, wellicht door de aanwezigheid van persleidingen in het rioolstelsel (zie daarvoor ook paragraaf 2.4).

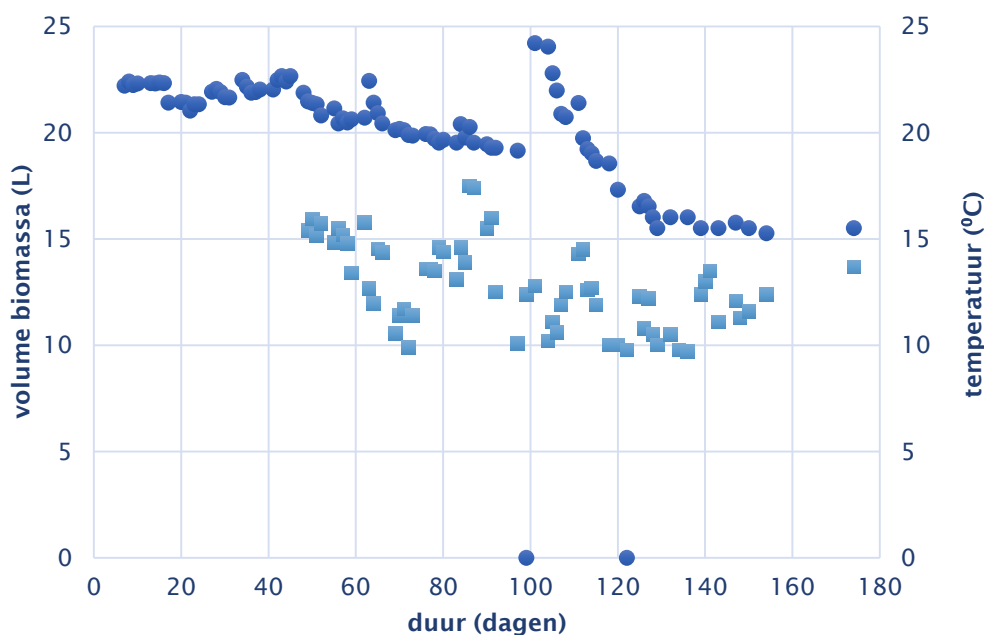
3.4 Biomassa groei

Tabel 3-3 laat zien dat de CZV totaal concentratie in het effluent (1079 mg/L) hoger is dan de waarde in het influent (512 mg/L). Dit is in overeenstemming met zowel de VSS als TSS waarden in Tabel 3-4, waarbij de waarden in het effluent ook hoger zijn dan wat in het influent wordt gemeten. Toch lijkt na een bedrijfsvoeringsperiode van 140 dagen dat het volume biomassa in de pilot stabiliseert op 15 L biomassa. Voor deze observatie is geen relatie met een verdere afname of een toename van de temperatuur gevonden. Na 100 dagen is er een plotselinge toename van het biomassa volume in de pilot zichtbaar. Mogelijkerwijs is dit veroorzaakt door het veranderen van de vlokstructuur. De vlokstructuur kan niet alleen de compactheid van het biomassabed beïnvloeden, maar eventueel ook de wijze van beoordeling van de bedhoogte in de pilot. Deze resultaten kunnen slecht vergeleken worden met de concentratie biomassa (VSS) in de pilot, omdat het moeilijk is een goed gemengd en representatief sample van de biomassa in de pilot te nemen. De plotselinge toename van het

biomassavolume in de reactor wordt niet bevestigd door de biomassaconcentratie bepalingen in de pilot.

De hoge CZV_{totaal} en VSS waarden in het effluent suggereren dat uitspoeling van biomassa plaatsvindt (Tabel 3-2 en Tabel 3-4). Dit wordt bevestigd door het vergelijk van het verbruikte substraat (gemiddeld 8,4 gCZV/dag) en de biomassa vrachten die op basis van de VSS waarden gevormd zouden zijn in de pilot (283 gCZV/dag). Voor de laatstgenoemde waarde is de standaard omrekenfactor van 1,32 gCZV/g biomassa gebruikt. Deze CZV balans laat zien dat de biomassa in korte tijd volledig uit de reactor gespoeld zou zijn indien daadwerkelijk 283 gCZV/dag aan biomassa uit zou spoelen. Het was niet mogelijk om een representatief monster van het bed te nemen, waardoor de CZV concentratie in de pilot niet bepaald kon worden. Maar stel dat de dichtheid van het bedvolume 1kg/L is (deze waarde is erg hoog), dan zou op basis van deze CZV balans de biomassa in 100 dagen uitgespoeld zijn. Gezien dit niet het geval is, kan verwacht worden dat er een onvolkomenheid zit in de monsternamen. Een dergelijke onvolkomenheid in de monsternamen maakt niet alleen dat de CZV_{totaal} meting hoog uit valt, maar ook de biomassaconcentratie.

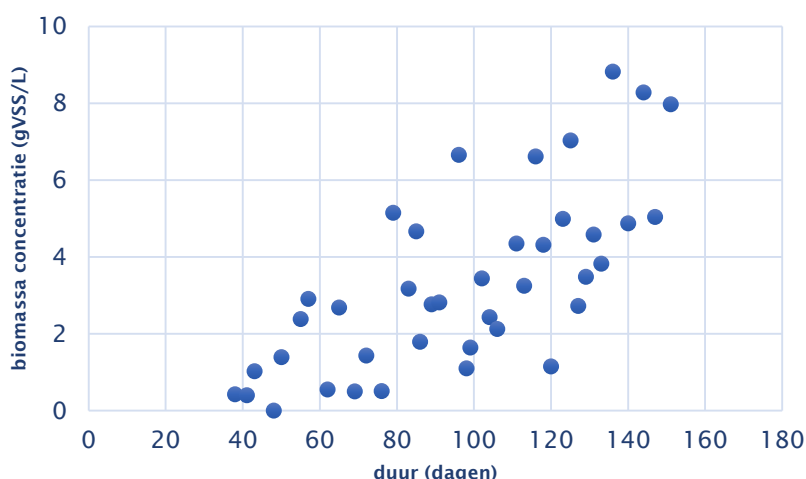
De vlokstructuur kan zoals benoemd in belangrijke mate de beoordeling van het bedvolume beïnvloed hebben. Echter, met de huidige vrachten zou het bedvolume wel snel geslonken zijn. Gezien het feit dat een stabilisatie van het bedvolume optreedt in de pilot wordt het veranderen van de vlokstructuur ook niet als verklaring verwacht voor de hoge CZV_{totaal} en VSS waarden in het effluent.



FIGUUR 3-4; ONTWIKKELING VAN BIOMASSA VOLUME (●) EN TEMPERATUUR (■) IN DE PILOT.

Op basis van de massabalans kan er geen sprake zijn van extreme uitspoeling, ook de vlokstructuur lijkt niet de oorzaak te zijn. Dit doet sterk vermoeden dat de methode van bemonstering van invloed is op de metingen. Figuur 2-2 laat zien dat het monster aan de bovenkant van de pilot wordt genomen, uit een klein bakje waar het effluent in gestort wordt.

In feite wordt er daardoor een kleine nieuwe reactor gevormd, waar sprake is van een continue aanvoer van $CZV_{opgelost}$ van 29 mg/L en aanvoer van biomassa. In potentie kan dit dus leiden tot biomassa groei in dit vaatje. Hierdoor kan er sprake zijn biomassaophoping in dit bakje. Dat kan ook de verhoging van de biomassa concentratie in het effluent in de tijd verklaren zoals is weergegeven in Figuur 3-5. Door de beperkte maten van het vaatje, en het samplen met behulp van een spuit, is het onmogelijk om langs deze biomassa (film) te bemonsteren. Door biomassaophoping gedurende de tijd wordt op die plek een hogere biomassa concentratie gemeten dan de pilot in feite verlaat. Dit vormt ook een verklaring voor de hoge CZV_{totaal} waarden die gevonden worden voor het effluent ten opzichte van het influent (Tabel 3-2).



FIGUUR 3-5; ONTWIKKELING VAN BIOMASSA CONCENTRATIE IN HET EFFLUENT VAN DE PILOT.

3.4.1 Relatie met temperatuur

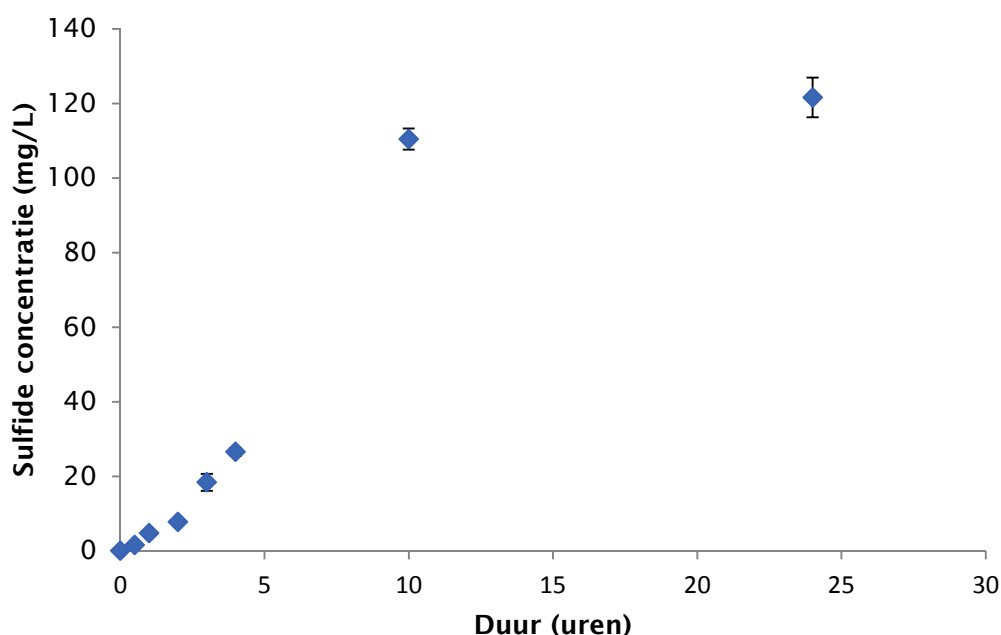
Er is een duidelijke relatie te zien tussen het biomassavolume in de pilot en de temperatuur. Maar ook door de dag heen is er sprake van relatief veel temperatuur verschil. Omdat de pilot hal maar beperkt geïsoleerd is, volgt de temperatuur van de pilot de buitentemperatuur. Dit heeft tot gevolg dat het afvalwater 's middags rond 16.00 uur ongeveer 1 à 2°C warmer is dan in de ochtend om 8.30 uur.

3.5 SRB-activiteit versus andere microorganismen

De mate waarin verwijdering van opgeloste CZV en productie van sulfide plaatsvindt in de pilot, gebaseerd op metingen uit het influent en effluent, is een goede indicatie voor de activiteit van SRB in de pilot. Bij de interpretatie van de data dient echter ook rekening gehouden te worden met de mogelijke aanwezigheid en activiteit van andere micro-organismen. Bovendien vormt het feit dat sulfaat in de pilot limiterend is, een beperkende factor voor de activiteit van SRB. Hierdoor is het onmogelijk om de specifieke activiteit van SRB te bepalen. Bij bepaling van de activiteit in een batch wordt geen rekening gehouden met het fluctuerende aanbod van de voeding. In dit onderzoek is gekozen om de specifieke omzettingssnelheid te bepalen op basis van een batch methode waarin gebruik is gemaakt van artificieel afvalwater, met condities ten gunste van SRB activiteit (zie paragraaf 2.6). Sulfaat (300 mg/L) was aanwezig in het medium in de vorm van aquariumzout. Om de ontwikkeling van SRB activiteit in de tijd te bepalen, is er op twee verschillende momenten een SRB-activiteitsbepaling van het slib uit de pilot uitgevoerd (uitgedrukt als sulfide productiesnelheid). Na een bedrijfsvoering van 55 dagen is er sprake van een hoge mate van SRB activiteit. Ondanks dat de SRB activiteit wat later op gang komt (na een adaptatie van 2 á

3 uur), wordt het opgeloste CZV binnen 24 uur geoxideerd. Dit gebeurt voornamelijk op basis van SRB activiteit, er wordt namelijk een sulfide concentratie van 122 mg/L bereikt aan het eind van de test. De productie van 122 mg/L sulfide correspondeert met een opgelost CZV verwijdering van 243 mg/L. Dit houdt in dat 81% ($243/300 \cdot 100\%$) van het opgeloste CZV is verwijderd op basis van SRB activiteit.

In aanvulling hierop laten ook autofluorescentie analyses zien dat het gehalte methanogenen in de pilot gedurende de tijd sterk afneemt.



FIGUUR 3-6; SRB-ACTIVITEITSBEPALING VAN HET SLIB UIT DE PILOT OP 17 NOVEMBER 2014 (55 DAGEN BEDRIJFSVOERING).

Zoals getoond in Figuur 3-3 in hoofdstuk 3.3.2 neemt in de eerste 70 dagen de SRB activiteit toe in de pilot. Het is dan ook niet verwonderlijk dat Figuur 3-7 laat zien dat de snelheid waarmee sulfide wordt geproduceerd op 22 januari 2015 (na 121 dagen bedrijfsvoering) fors hoger ligt dan op 17 november 2014 (na 55 dagen bedrijfsvoering). Het opgeloste CZV wordt niet alleen sneller verwijderd, maar dit gaat ook gepaard met een hogere sulfide productie, namelijk van 144 mg/L. SRB in het slib dat bemonsterd is op 22 januari 2015 zorgt voor een verwijdering van meer dan 95% van het opgeloste CZV.

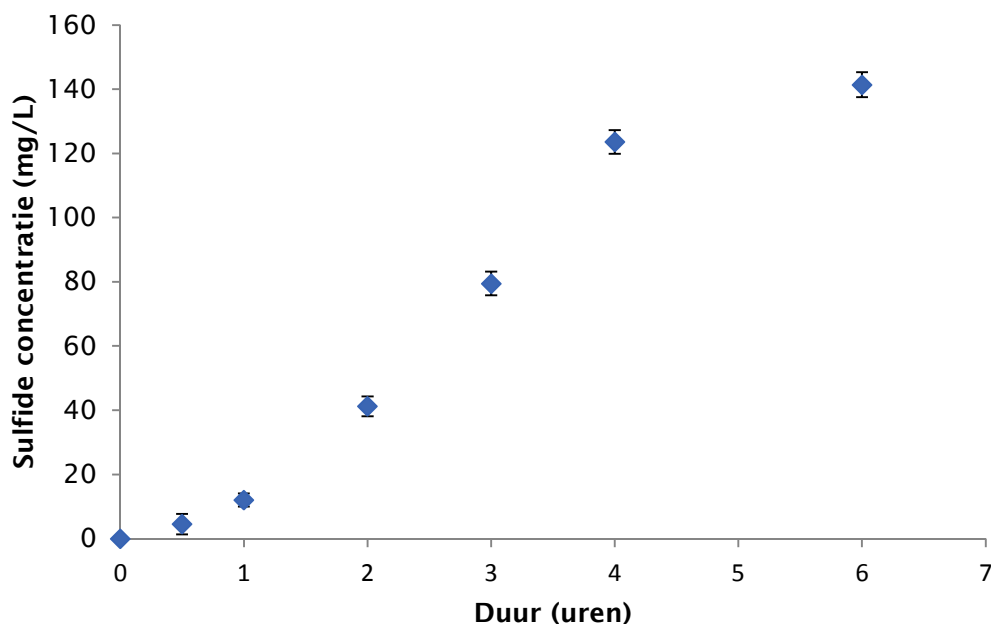
TABEL 3-5; SRB OMZETTINGSSNELHEID VAN HET SLIB (ALS SULFIDE PRODUCTIESNELHEID) UIT DE PILOT.

Bedrijfsvoering (dagen)	VSS in test (g/L)	Sulfide productiesnelheid (mgS*gVSS-1*h-1)
55	3,0	6,09
121	2,4	26,3

Het feit dat het slib dat bemonsterd is na 121 dagen bedrijfsvoering een snellere omzetting vertoont dan het slib na 55 dagen bedrijfsvoering wordt niet veroorzaakt door een hogere

biomassa concentratie in de test. Tabel 3-5 laat zien dat de omzettingssnelheid in het slib (uitgedrukt in de sulfide productiesnelheid) bemonsterd na 121 dagen vier maal hoger is dan na 55 dagen, waarbij gecorrigeerd is voor de biomassaconcentratie in de test. Dit resultaat bevestigt het beeld van Figuur 3-3 dat de SRB activiteit in de eerste 70 dagen nog niet tot maximaal niveau is ontwikkeld.

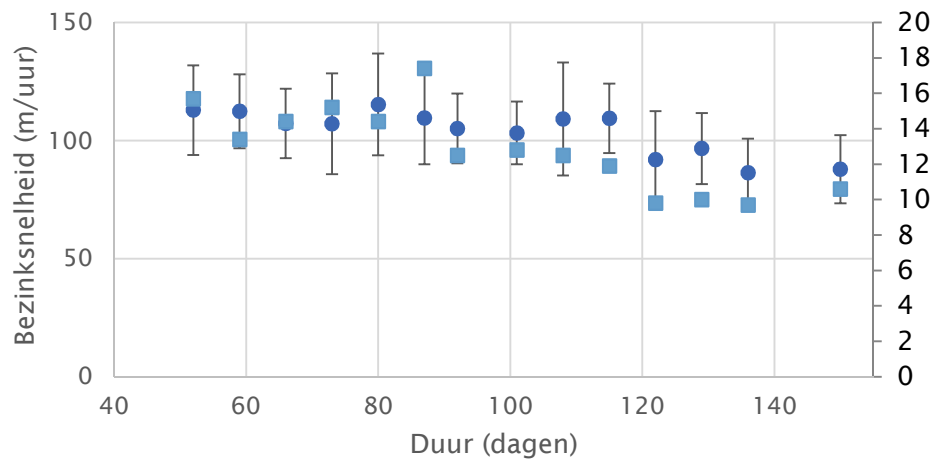
De omzettingssnelheid van SRB na 121 dagen bedrijfsvoering van de pilot is iets hoger dan de snelheid die gevonden is op labschaal: bij een temperatuur van 10°C is een snelheid van $62,7 \text{ mgSO}_4^{2-} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ gemeten (van den Brand et al. 2014), dat komt overeen met een sulfide productie van $20,9 \text{ mgS} \cdot \text{gVSS}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Temperatuur heeft een sterk effect op de omzettingssnelheid van SRB, een temperatuurverhoging van 10°C naar 20°C doet de omzettingssnelheid namelijk verdubbelen (van den Brand et al. 2014). Gezien het feit dat de temperatuur zelden 10°C (of lager) was, is een iets hogere omzettingssnelheid niet verwonderlijk. Wel blijkt uit deze resultaten dat een complexer medium, namelijk echt in plaats van artificieel afvalwater, geen drastisch lagere SRB activiteit veroorzaakt.



FIGUUR 3-7; SRB-ACTIVITEITSBEPALING VAN HET SLIB UIT DE PILOT OP 22 JANUARI 2015 (121 DAGEN BEDRIJFSVOERING).

3.6 Morfologie

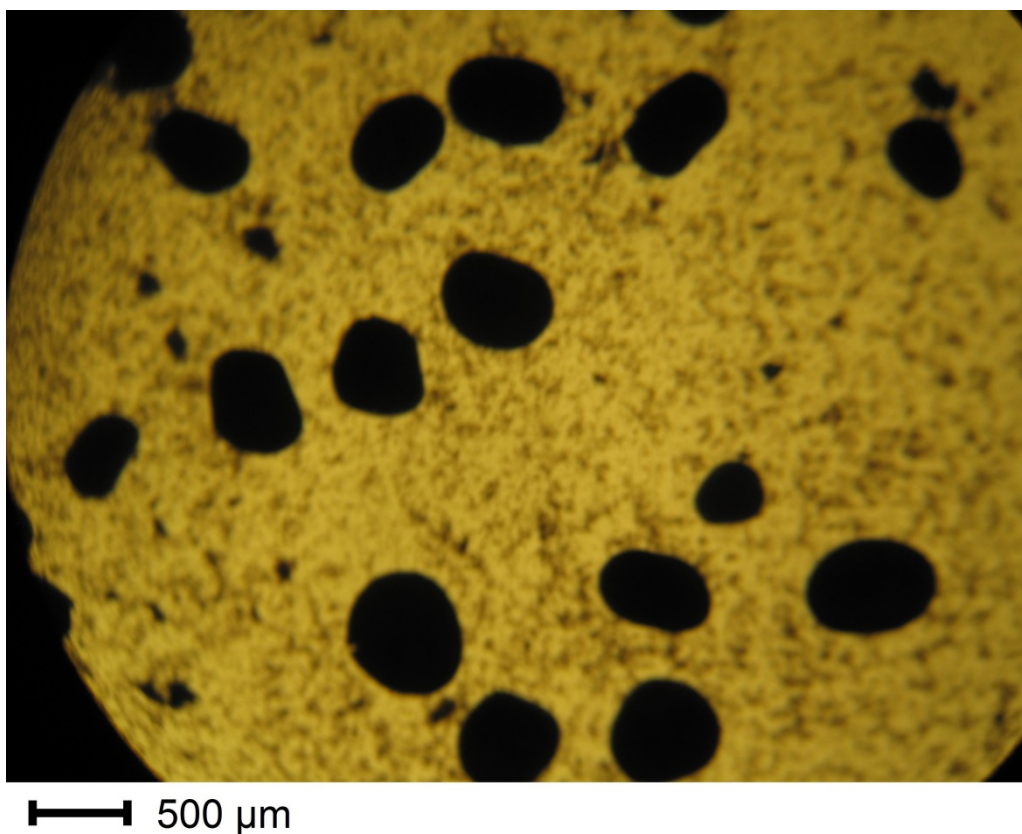
De bezinkingsnelheden die voor het slib zijn bepaald gedurende de bedrijfsvoering van de pilot, geven voor een deel inzicht in de morfologie. De compactheid van het slib bepaalt namelijk in sterke mate de bezinkingssnelheid (Van loosdrecht et al. 1995). Maar ook temperatuur en zout zijn voorbeelden van sleutelparameters bij het bepalen van bezinkingssnelheid. Er is aangenomen dat de gemiddelde zoutconcentratie in de pilot onveranderd is gedurende dit onderzoek, maar Figuur 3-4 laat zien dat de temperatuur in de pilot wel verlaagt in de tijd. Een daling van de temperatuur maakt de bezinkingssnelheid lager, en dit wordt inderdaad bevestigd in Figuur 3-8, waarin de temperatuurdaling in de pilot dezelfde trend volgt als de bezinkingssnelheid.



FIGUUR 3-8; BEZINKSNELHEID VAN KORRELS (●) EN DE TEMPERATUUR (■) IN DE PILOT IN DE TIJD.

De bezinkingssnelheden zoals gepresenteerd in Figuur 3-8 zijn aanzienlijk hoger dan de opstroomsnelheid in de pilot (0,46 – 0,52 m/uur). Bij zulke grote verschillen tussen de bezinksnelheid en de opstroomsnelheid zou geen sprake zijn van een zwevend bed. Echter, uit visuele inspectie tijdens de bedrijfsvoering blijkt dat er sprake is van een zwevend bed. Deze discrepantie kan deels verklaard worden door het feit dat de biomassa of de vlokken ten behoeve van de bezinkingstest zijn bemonsterd vanuit de onderkant van de pilot, waardoor er onbedoeld een selectie van snel bezinkend slib heeft plaats gevonden. In dat geval is de geobserveerde bezinksnelheid niet representatief voor al het slib in de reactor.

Om de morfologie van de vlok structuur in kaart te brengen zijn regelmatig microscoop foto's gemaakt. De diameter en het oppervlak (smooth of korrelig) van de vlok bleef constant gedurende de hele bedrijfsvoering van de pilot. Figuur 3-9 is één van deze microscoop foto's die is genomen, en is representatief voor de structuur van de biomassa over de gehele periode. Wel is het noodzakelijk om te realiseren dat de biomassa die bekeken is onder de microscoop aan de onderkant van de reactor is bemonsterd. Door onder in de pilot te bemonsteren heeft er een selectie plaatsgevonden voor goed bezinkbaar slib, dit verklaart mogelijk dat het oppervlak smooth is, en tevens verklaart dit de compactheid van de korrel.



FIGUUR 3-9; MORFOLOGIE VAN VLOKSTRUCTUUR IN DE PILOT.

3.7 Overige nutriënten en bepalingen

De focus van dit onderzoek ligt op sulfaat reducerende bacteriën, waarbij met name het sulfaat, sulfide en de opgeloste CZV componenten van belang zijn. Echter, om een totaal beeld te realiseren is beperkt onderzoek uitgevoerd naar stikstof en fosfaat. De ammonium, nitraat en nitriet concentratie blijft onveranderd tussen het in- en effluent (Tabel 3-6). Voor het opgeloste fosfaat is geen verschil te zien, maar voor de concentratie van totale fosfaat wel, deze is drie maal hoger in het effluent dan in het influent (Tabel 3-6). Dit komt vermoedelijk door het feit dat er veel biomassa wordt uitgespoeld. Echter, de verhouding van VSS/TSS ratio tussen het influent en effluent van de sample komt niet overeen met de verhouding van de totaal fosfaat meting.

TABEL 3-6; CONCENTRATIES VAN NUTRIËNTEN IN HET INFLUENT EN EFFLUENT VAN DE PILOT OP BASIS VAN PUNT-MONSTERS.

Component	Influent (mg/L)	Effluent (mg/L)
Ammonium (NH ₄ -N)	46 ± 7	45 ± 7
Nitraat (NO ₃ -N)	2,0 ± 1	1,9 ± 1
Nitriet (NO ₂ -N)	0,07 ± 0,04	0,05 ± 0,04
Opgelost fosfaat (PO ₄ -P)	6,1 ± 0,4	6,1 ± 0,03
Totaal fosfaat (PO ₄ -P)	24 ± 2	65 ± 18

4 Conclusies en aanbevelingen

Uit het pilotonderzoek met sulfaat reducerende bacteriën (SRB) op huishoudelijk afvalwater op de RWZI Harnaschpolder volgen onderstaande conclusies en aanbevelingen.

Het pilotonderzoek bevestigt dat sulfaat reducerende bacteriën in het algemeen in sterke mate actief zijn op huishoudelijk afvalwater. Ondanks het feit dat de exacte oorsprong van het zwavel op basis waarvan SRB activiteit plaatsvindt niet bekend is, lijkt het er op dat het merendeel van het opgeloste CZV op basis van SRB activiteit is verwijderd. Na verloop van tijd wordt een vrijwel stabiele procesvoering bereikt, ook nadat de temperatuur van het water daalt tot ongeveer 12°C, met als dieptepunt 10°C. Hieruit blijkt dat sulfaat reducerende bacteriën goed overweg kunnen met een typisch winterseizoen in een gematigd klimaat. Er worden significante hoeveelheden sulfide geproduceerd. Dat sulfide kan in potentie worden ingezet ten behoeve van de additionele voordelen die gepaard kunnen gaan bij het toepassen van SRB in de bedrijfsvoering van een RWZI, zoals het verwijderen van zware metalen en het reduceren van pathogenen.

Uit het feit dat het slib aan het begin van het pilotonderzoek voornamelijk methanogenen bevat en na verloop van tijd SRB, blijkt dat sulfaat reducerende bacteriën de competitie kunnen winnen van methanogenen bij toepassing op huishoudelijk afvalwater in een winterperiode. Er wordt een stabiele verwijdering van opgelost CZV gerealiseerd bij een $\text{CZV}_{\text{opgelost}}/\text{TSS}$ ratio van 0,5 (0,21 g/L : 0,4 g/L). Bovendien is aangetoond dat er een stabiele en goede korrelvorming plaatsvindt. Dat maakt verdere optimalisatie van SRB bij toepassing op huishoudelijk afvalwater mogelijk.

De $\text{CZV}_{\text{totaal}}$, VSS en TSS metingen van het effluent, en de bepalingen van de korrelvorming zijn onbetrouwbaar vanwege beperkingen van de bemonstering van de pilot op de betreffende plekken. Aanbevolen wordt om eerst de bemonstering van het effluent te verbeteren. Deze bemonstering kan bijvoorbeeld verbeterd worden door het bakje waarin het effluent tijdelijk wordt opgevangen zeer regelmatig schoon te maken. Een goed alternatief is om dit opvangbakje op een andere manier vorm te geven, zodat korrelvorming ter plekke wordt voorkomen. De bemonstering ten behoeve van het bepalen van de korrelvorming kan verbeterd worden door ook te bemonsteren op verschillende hoogten van de kolom, naast bemonstering van het ingaande en uitgaande water van de pilot. Dit maakt het makkelijker om een goed representatief (gemengd) monster te nemen van het slib als de pilot in bedrijf is.

Een andere belangrijke aanbeveling is om meer duidelijkheid te verschaffen over de vorm van het aanwezige zwavel in het influent dat door SRB wordt omgezet in sulfide en daarmee samenhangend de zwavelbalans. Deze zwavelbalans op een huishoudelijke afvalwaterzuivering is nog niet intensief bestudeerd, waardoor er geen indicatie van de gemiddelde vrachten bekend zijn. De ratio tussen het opgeloste CZV dat verwijderd is en sulfide dat geproduceerd is kan sterk variëren afhankelijk van de zwavelbron. Om de fractie opgelost CZV dat op basis van SRB wordt verwijderd gedetailleerder te berekenen is aanvullend onderzoek nodig. Een mogelijkheid hierbij is om het monster te beluchten, waardoor het zwavel volledig wordt omgezet naar sulfaat. Deze omzetting maakt het mogelijk om de mate van zwavel in de onbekende bronnen in kaart te brengen.

Nu met dit onderzoek aangetoond is dat SRB goede activiteit vertonen op huishoudelijk afvalwater bij lage temperaturen (12°C) is het aanbevelingswaardig om het effect van deze bacteriën op het zuiveringsproces te beoordelen. Het verder in kaart brengen van de groeiyield van SRB op huishoudelijk afvalwater is in dat kader van belang. Op labschaal is getoond dat sprake is van een slibyield van 0.03 gVSS/gCZV_{opgelost} (van den Brand et al. 2014). Kennis over de fractie van het opgeloste CZV dat verwijderd is op basis van SRB activiteit zou helpen om te beoordelen of de toepassing van SRB daadwerkelijk leidt tot een significante vermindering van surpluslib dat afgevoerd moet worden. De significante productie van sulfide die in deze pilot is geobserveerd kan voordelen bieden met betrekking tot reductie van coliformen, en de verwijdering van zware metalen en microverontreinigingen. Daarom wordt aanbevolen om verder te evalueren hoe de activiteit van SRB een rol kan spelen bij deze facetten van de afvalwaterzuivering.

5 Referenties

- APHA (1995). "Standard methods for the examination of water and wastewater." 19th edition ISBN:0-87553-223-3.
- Lau, G. N., K. R. Sharma, G.-H. Chen and M. C. M. van Loosdrecht (2006). "Integration of sulphate reduction, autotrophic denitrification and nitrification to achieve low-cost excess sludge minimisation for Hong Kong sewage." Water Sci. Technol. **53**(3): 227-235.
- Oude Elferink, S. J. W. H., A. Visser, L. W. Hulshoff Pol and A. J. M. Stams (1994). "Sulfate reduction in methanogenic bioreactors." FEMS Microbiol. Rev. **15**(2-3): 119-136.
- Thauer, R. K., K. Jungermann and K. Decker (1977). "Energy conservation in Chemotrophic Anaerobic Bacteria." Bacteriol. Rev. **41**(1): 100-180.
- van den Brand, T. P. H. (2014). "Sulfate reducing bacteria in wastewater treatment." ISBN:978-94-6108-767-6.
- van den Brand, T. P. H., K. Roest, G. H. Chen, D. Brdjanovic and M. C. M. van Loosdrecht (2014). "Temperature effect on acetate and propionate consumption by sulphate reducing bacteria in saline wastewater." Appl. Microbiol. Biot. **98**(9): 4245-4255.
- van den Brand, T. P. H., K. Roest, G. H. Chen, D. Brdjanovic and M. C. M. van Loosdrecht (2015). "Effects of COD, nutrients and salinity on sulphate reduction." Environ. Eng. Sci. **32**(10): 1675-1681.
- Van loosdrecht, M. C. M., D. Eikelboom, A. Gjaltema, A. Mulder, L. Tijhuis and J. J. Heijnen (1995). "Biofilm structures." Water Sci. and Technol. **32**(8): 35-43.
- Wang, J., H. Lu, G.-H. Chen, G. N. Lau, W. L. Tsang and M. C. M. van Loosdrecht (2009). "A novel sulfate reduction, autotrophic denitrification, nitrification integrated (SANI) process for saline wastewater treatment." Water Res. **43**(9): 2363-2372.

Bijlage I Verificatie zwavelmetingen

Verificatie van de zwavel metingen

De zwavelbalans kon niet kloppend worden gemaakt op basis van sulfaat en sulfide metingen. Het is bekend dat er gedurende sampling sprake kan zijn van significante verlies van sulfide, waardoor een zwavelbalans regelmatig niet tussen de 95 en 100% is. Maar in dit geval is de zwavelbalans structureel lager dan 50%.

Om te onderzoeken waar het gat in de sulfaatbalans vandaan kan komen zijn verschillende testen uitgevoerd. Het doel was om te controleren of de meetmethode en wijze van monsternamen correct is. In de twee navolgende paragrafen staan de details van de additietesten en de meetmethode controle met het extern lab beschreven. Hieruit is geconcludeerd dat de sulfaat en sulfide meting niet beïnvloed worden door de specifieke matrix van influent en effluent monsters. Bovendien lijkt het aannemelijk dat er een andere zwavelbron aanwezig is dan het sulfaat en sulfide dat met de gebruikte meetmethoden gedekt wordt. Helaas was het binnen het lopende onderzoek niet mogelijk om verder te onderzoeken wat de oorsprong is van deze zwavelbron.

Wel is er onderzoek gedaan naar de verwijdering van sulfaat over een voorbezinktank van RWZI Harnaspolder. Het bleek dat de sulfaat concentratie ongeveer wordt gehalveerd in de voorbezinktank (februari 2015).

Additietesten

De matrix van een monster kan grote invloed hebben op de toepassingsmogelijkheden en de nauwkeurigheid van de uitkomsten van een meetmethode. Additietesten, waarbij een bekende hoeveelheid aan het originele monster wordt gedoseerd, geeft inzicht in hoeverre de gekozen meetmethode wordt beïnvloed door de matrix van het monster. Omdat er verschillen in matrix bestaan tussen de influent en effluent monsters, zoals de biomassa, sulfaat en sulfide concentraties, zijn op beide soorten monsters apart additie testen uitgevoerd. Deze additietesten zijn uitgevoerd tussen 16 en 23 oktober 2014. De additietesten voor sulfaat en sulfide zijn in aparte monstervaatjes uitgevoerd. Voor zowel sulfaat als sulfide was er een additie van 100 mg/L gedaan, gecorrigeerd voor de toename van het volume. Er werd dus een netto toename van 100 mg/L van het betreffende component verwacht. Bij de sulfaatmonsters is wel de biomassa afgefiltreerd. De additietesten voor de influent en effluent monsters staan genoteerd in respectievelijk Tabel I-1 en Tabel I-2.

TABEL I-1; ADDITIETESTEN TER CONTROLE VAN HET EFFECT VAN DE MONSTERMATRIX VAN HET INFLUENT MONSTER OP DE METING. VOOR ZOWEL SULFAAT ALS SULFIDE IS ER EEN ADDITIE GEDAAN (IN APARTE MONSTERS), ZODAT HET TOTAAL (BEOOGD) MET 100 MG/L ZAL TOENEMEN IN HET NIEUWE MONSTER.

Influent Monster	Sulfaat			Sulfide		
	Originele meting (mg/L)	Meting na additie (mg/L)	Verschil (mg/L)	Originele meting (mg/L)	Meting na additie (mg/L)	Verschil (mg/L)
A	36,5	132	95,5	0	104	104
B	15,2	118	102,8	0	98	98
C	9,6	109	99,4	0,2	99	98,8
D	8,2	112	103,8	0,1	94	93,9
E	42,1	138	95,9	0	97	97
gemiddeld			99 ± 4			98 ± 4

TABEL I-2; ADDITIETESTEN TER CONTROLE VAN HET EFFECT VAN DE MONSTERMATRIX VAN HET EFFLUENT MONSTER OP DE METING. VOOR ZOWEL SULFAAT ALS SULFIDE IS ER EEN ADDITIE GEDAAN (IN APARTE MONSTERS), ZODAT HET TOTAAL (BEOOGD) MET 100 MG/L ZAL TOENEMEN IN HET NIEUWE MONSTER.

Effluent Monster	Sulfaat			Sulfide		
	Originele meting (mg/L)	Meting na additie (mg/L)	Verschil (mg/L)	Originele meting (mg/L)	Meting na additie (mg/L)	Verschil (mg/L)
A	0,6	99	98,4	42	139	97
B	0	102	102	32	126	94
C	0	103	103	16	115	99
D	0,5	105	104,5	28	131	103
E	0	97	97	48	141	93
gemiddeld			101 ± 3			97 ± 4

Tabel I-1 en Tabel I-2 laten zien dat addities van sulfaat of sulfide voor zowel influent als effluent monsters nagenoeg volledig worden teruggevonden. Op basis hiervan wordt geconcludeerd dat de aanwezige matrix geen verstrend effect heeft op de meetmethode.

Controle met extern lab

Er zijn verschillende controles m.b.t. de sulfaat meting uitgevoerd. Externe labs vragen een deeltjes vrij monsters, waardoor influent en effluent monsters van de pilot helaas geschikt waren. Eerder is al aangetoond dat de matrix, na verwijderen van de biomassa, geen effect heeft op de meetmethode (zie vorige paragraaf). Daarom is aangenomen dat het meten van de sulfaatgehalten in verschillende drinkwatersamples volstaat om te beoordelen of de hoeveelheid gemeten sulfaat met verschillende bepalingmethoden overeenkomt.

Het externe lab (AL-West BV) heeft bovendien een totaal zwavelmeting uitgevoerd (ICP methode). Deze totaal zwavel bepaling zou een indicatie kunnen geven of er ook andere bronnen dan sulfide en sulfaat voor zwavel in het afvalwater aanwezig zijn. Voor deze testen waren het influent en effluent geschikt. De methode van de totaal zwavel bepaling voorzagt niet in een oplossing voor het potentieel verloren gaan van sulfide (persoonlijke communicatie AL-West, H. Berenpas).

TABEL I-3; VERGELIJKING VAN SULFAAT ANALYSES UITGEVOERD IN HET PROJECT (HACH-LANGE) EN EEN EXTERN LAB OP DEZELFDE SAMPLES

Sample	Onze meting (mg/L)	Extern lab (mg/L)
Drinkwater Zaandam 1	65,6	68
Drinkwater Zaandam 2	65,0	67
Drinkwater Purmerend 1	94,4	94
Drinkwater Purmerend 2	96,0	93
Drinkwater Harnaschpolder 1	49,9	48
Drinkwater Harnaschpolder 2	49,9	49

TABEL I-4; VERGELIJKING VAN DEZELFDE MONSTERS OP BASIS VAN OPTELSOM SULFIDE EN SULFAAT GEMETEN IN HET PROJECT EN DE METING VAN TOTAAL ZWAVEL DOOR EEN EXTERN LAB.

Monster	sulfaat (mg S/L) Onze eigen meting	Totaal zwavel (mg S/L) Meting extern lab
Influent pilot 1	19,2	35
Influent pilot 2	13,0	27
Effluent pilot 1	/	75
Effluent pilot 2	/	72
Drinkwater Harnaschpolder 1	17,6	17
Drinkwater Harnaschpolder 2	16,5	16

Tabel I-3 laat zien dat de sulfaatmeting uitgevoerd met Hach-Lange metingen overeen komen met de resultaten van het externe lab met een afwijking die kleiner is dan 4% voor drinkwater. Deze marge valt binnen de meetonauwkeurigheid van Hach-Lange bepalingen. Dit is ook in lijn der verwachting, omdat er wel sulfaat wordt verwacht in het drinkwater, maar geen andere zwavelbron.

Echter, voor de influent en effluent monsters is wel een grote afwijking gevonden. In eerste instantie is de vergelijking van de totaal zwavel bepaling door het externe lab gedaan met de optelsom van de eigen sulfaat en sulfide metingen. Dit gaf als resultaat dat de optelsom van eigen metingen hoger is dan wat extern gemeten worden. Echter, omdat het conserveringsmiddel gebruikt voor de ICP analyse (standaard gedaan) verzuurt het monster verzuurt en verdwijnt in potentie alle sulfide. De hypothese dat het conserveringsmiddel zorgt dat sulfide verloren gaat is getoetst op eigen monsters, door middel van dosering van dit middel aan de monsters waarna het sulfidegehalte is bepaald. De sulfide concentratie was verlaagd met meer dan 95%. In de totaal zwavel bepaling die uitgevoerd is door het externe lab is dus in principe geen sulfide meegenomen. Vandaar dat de bepalingen van het externe lab is vergeleken met de eigen sulfaat meting om te kijken of er sprake kan zijn van een andere zwavelbron dan sulfaat of sulfide.

De sulfaatconcentratie in het effluent is dusdanig laag dat deze niet bepaald kan worden, deze zou als nul beschouwd kunnen worden. Wel is het opvallend dat er meer totaal zwavel aanwezig is in het effluent dan in het influent. In beide gevallen zit er geen sulfide in het monster, en wordt het sulfaat of andere zwavelbronnen hoger verwacht voor het influent monster. Echter, mogelijk geeft de veel hogere biomassa concentratie in het effluent monster (Tabel I-5) een verstoring die resulteert in hogere totaal zwavel resultaten. Gezien

het grote verschil tussen de sulfaat meting en de totaalzwavel meting wekt dit sterk de suggestie dat er ook sprake kan zijn van een andere zwavelbron, bijvoorbeeld thiosulfaat.

TABEL I-5; 24-UURS MONSTERS DEBIET PROPORTIONEEL. ER IS GECORRIGEERD VOOR EEN VERBLIJFTIJD VAN ÉÉN DAG. ER IS GEMETEN ONDER DROOGWEERCONDITIES.

Monster	Influent	Effluent
COD totaal (mg/L)	421 ± 29	586 ± 49
COD opgelost (mg/L)	231 ± 21	125 ± 69
Sulfide (mg/L)	6,7 ± 4,8	14,8 ± 10
Sulfaat (mg/L)	72,3 ± 13	/

Bijlage II Protocol sulfide meting

De sulfide meting is gebaseerd op een aangepaste methylene blue methode. Voor deze methode is aangetoond dat fluctuaties van zout, sulfaat, CZV, N, P en dergelijke geen effect hebben op de meting.

Benodigde oplossingen:

- **10% ZinkAcetaat (500 mL)**
50 gr ZnAcetaat
Vul aan tot 500 mL met demi water

- **Reagent A (1L)**
2 gr dimethylparafenyldiamine
200 mL demiwater
200 mL H_2SO_4 (geconcentreerd)
Vul aan tot 1L met demi water
Wikkel in aluminium folie

- **Reagent B (100mL)**
10 gr $\text{Fe(III)(NH}_4\text{)}_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$
50 mL demiwater
2 mL H_2SO_4 (geconcentreerd)
Vul aan tot 1L met demi water
Wikkel in aluminium folie

De sulfide concentratie wordt bepaald door in cuvet het volgende toe te voegen:

- 10 μl monster
- 490 μl zinkacetaat oplossing
- 1280 μl demi water
- 200 μl Reagentia A
- 20 μl Reagentia B

Deze cuvet dient goed gemend te worden. Na 30 minuten kan de absorptie op 675 nm gemeten worden. De sulfide concentratie wordt bepaald op basis van een eerder gemaakte kalibratie-curve.

Een kalibratie-curve voor de sulfide test wordt gemaakt met een standaardoplossing van 0,2 gram Na_2S in 200 mL demi water. Vervolgens de volgende verdunningsreeks testen: 1,2, 4, 5, 10 en 20 maal verdund.