

Meten van actief slib activiteit en bezinkingskarakteristieken: recente evoluties

*Krist Gernaey¹, Britta Petersen^{1,2}, Alexis Vanderhasselt^{1,3}, Willy Verstraete³
Jean-Pierre Ottoy¹ en Peter Vanrolleghem¹*

¹ Vakgroep voor Toegepaste Wiskunde, Biometrie en Procesregeling (BIOMATH), Universiteit Gent
Coupure Links 653, B-9000 Gent, Tel. +32 9 264 59 32, Fax +32 9 223 49 41,
E-mail: Krist.Gernaey@rug.ac.be

² EPAS NV, Technologiepark 3, 9052 Gent (Zwijnaarde), Tel. +32 9 241 56 18, Fax +32 9 221 82 18

³ Laboratorium voor Microbiële Ecologie en Technologie, Universiteit Gent
Coupure Links 653, B-9000 Gent, Tel. +32 9 264 59 76, Fax +32 9 264 62 48

Samenvatting

De tekst geeft in de eerste plaats een overzicht van technieken die bruikbaar zijn voor het meten van de biologische activiteit van actief slib. Daarbij wordt aandacht besteed aan traditionele en meer geavanceerde meetmethodes (in-sensor-experiment concept met o.a. model-gebaseerde interpretatie van de gecollecteerde meetgegevens). Het overzicht is voornamelijk toegespitst op de CZV verwijdering en de biologische stikstofverwijdering (geen bio-P verwijdering). Met het oog op het aanwenden van sensoren voor detectie van toxiciteit op afvalwaters wordt gewezen op de specifieke voordelen en beperkingen van zulke technieken. Daarnaast worden enkele recente ontwikkelingen bij het meten van slibbezinkingskarakteristieken toegelicht. Enkele slotbeschouwingen proberen duidelijk te maken in welke richting het onderzoek in dit vakgebied in de komende jaren verder zal evolueren.

1. Inleiding

Actief slib systemen zijn in Vlaanderen het meest voorkomende type zuiveringsinstallatie voor afvalwater. Tijdens het actief slib proces wordt het binnenkomende afvalwater vermengd met een geconcentreerde suspensie bacteriën (het actief slib) die verantwoordelijk is voor de afbraakprocessen. Het voorzien van een beluchtingssysteem is nodig omdat de afbraakprocessen zuurstof verbruiken. In de finale zuiveringsstap worden de slibvlokken in de nabezinktank door bezinking opnieuw afgescheiden van het gezuiverde afvalwater. Het geconcentreerde slib wordt onderaan de nabezinktank weggepompt en opnieuw vermengd met binnenkomend afvalwater, terwijl het gezuiverde afvalwater in het oppervlaktewater wordt geloosd. Een deel van de geconcentreerde slibsuspensie wordt gespuid en gaat naar de slibverwerking.

Actief slib systemen werden oorspronkelijk ontwikkeld voor de verwijdering van organische koolstofverbindingen (CZV), door combinatie van een aërobe reactor en een nabezinktank. Voor huishoudelijk afvalwater en voor de meeste industriële afvalwaters heeft men dit proces vrij goed onder de knie. Alleen wanneer het afvalwater toxische of moeilijk afbreekbare verbindingen bevat, moet gezocht worden naar alternatieve behandelingsmethodes om voldoende verwijdering van de organische belasting te bekomen (Ford, 1992). Omdat het effluent van de zuiveringsinstallaties door de jaren heen ook aan strengere lozingsnormen voor de nutriënten N en P moest voldoen, werden geleidelijk aan meer ingewikkelde reactorconfiguraties gebouwd, waarbij naast de traditionele aërobe reactor ook anoxische en soms anaërobe zones werden voorzien. Het inbouwen van anoxische en anaërobe zones is nodig om geschikte procescondities te scheppen waarbij naast afbraak van de organische belasting ook biologische verwijdering van de nutriënten N en P mogelijk wordt.

Er is nood aan eenvoudige testen die toelaten om de activiteit van de bacteriën betrokken bij de verschillende biologische processen op eenvoudige wijze te meten. Deze testen kunnen nuttige informatie leveren voor procesopvolging, procesdoorlichting, problemdiagnose, input voor controlesystemen, ... Experimenten ter karakterisatie van de verschillende groepen bacteriën in het actief slib hebben ook aan belang gewonnen door het toenemend gebruik van actief slib modellen. Allerlei korte experimenten met actief slib kunnen nuttige biokinetische informatie leveren voor de kalibratie van actief slib modellen. Voor meer uitgebreide lectuur i.v.m. modelkalibratie wordt verwezen naar Vanrolleghem *et al.* (1998). Uitvoeren van aparte en eenvoudige testexperimenten is in de meeste gevallen nodig omdat slechts zelden directe informatie over de activiteit van de biologische processen kan afgeleid worden uit continue metingen in de actief slib tanks zelf. In uitzonderlijke gevallen, zoals bv. in de sekventiële batchreactor (SBR), kan voldoende rijke informatie bekomen worden uit directe metingen in de tanks zelf. In dat geval worden de metingen immers niet verstoord door de continue en overheersende aanvoer van vers substraat via het influent. In de meeste gevallen is de aanvoer van afvalwater (met ongekeerde samenstelling) naar actief slib systemen continu zodat de concentratieprofielen gemeten in de reactor onbruikbaar zijn voor het afleiden van informatie over de snelheid van de biodegradatieprocessen.

Meestal worden daarom eenvoudige batchtesten uitgevoerd met actief slib dat op de zuiveringsinstallatie werd bemonsterd. In dit verband werd het zogenaamde “in-sensor-experiment” concept ontwikkeld (Vanrolleghem en Coen, 1995). Onder dit concept worden systemen verstaan waarbij een hoeveelheid actief slib naar een kleine reactor wordt overgebracht waar dan de respons van het actief slib op een gekende verstoring (vb. een substraattoevoeging, ...) wordt opgevolgd d.m.v. een robuuste sensor (opgeloste zuurstofelektrode, pH elektrode, ORP elektroden, turbiditeitsmeter, ...). Belangrijk bij de “in-sensor-experimenten” is dat informatie wordt bekomen over actief slib processen zonder dat een duur monstervoorbehandelingssysteem gebruikt wordt. Op deze wijze komen eenvoudige, goedkope en robuuste meetsystemen ter beschikking die inzetbaar zijn voor verschillende doelstellingen.

In wat volgt, wordt op beknopte wijze getracht om een beeld te schetsen van technieken die kunnen aangewend worden voor het karakteriseren van de biomassa (aërobe CZV verwijdering; nitrificatie; denitrificatie; slibbezinkingseigenschappen).

2. Karakterisatie van aërobe CZV verwijderingsprocessen

Bij de karakterisatie van aërobe CZV verwijderingsprocessen wordt in principe een organisch substraat d.m.v. zuurstof afgebroken tot CO₂ en water. Daarnaast wordt nieuwe biomassa gevormd. Het is evident dat men via het meten van de substraatverwijderingssnelheid of de productvormingssnelheid informatie kan verkrijgen over de degradatieprocessen. Tijdens een batchexperiment kan de substraatverwijdering als functie van de tijd gemeten worden door een combinatie van regelmatige monsternames en specifieke analyse van de af te breken componenten. Dit is natuurlijk alleen mogelijk indien de aard van de af te breken stoffen gekend is, bijvoorbeeld bij het uitvoeren van experimenten met (eenvoudige mengsels van) gekende organische verbindingen. Probleem bij een dergelijke benadering zijn de niet zo evidente voorbehandelingen die de monsters moeten ondergaan alvorens kan gemeten worden (vb. filtratiestap om slib en supernatans af te scheiden).

In het geval van afvalwater, een substraat dat meestal bestaat uit een mengsel van verschillende componenten, is dit een weinig realistische benadering. Het meten van een algemene parameter (vb. CZV) in de monsters kan een alternatief zijn. Het nadeel is dat een CZV analyse arbeidsintensief is, lang duurt, en daarbij nog een vrij hoge kostprijs heeft. Bovendien wordt

een CZV meting bemoeilijkt doordat organische verbindingen gaan sorberen op de biomassa zodat ze niet meer te scheiden zijn (vb. via filtratie) van het slib zelf (dat ook een belangrijke CZV waarde heeft).

Tijdens de afbraakprocessen wordt ook nieuwe biomassa gevormd. In theorie zou men de aangroei van de biomassa kunnen opvolgen tijdens een batchexperiment met gekende substraattoevoeging. In praktijk is dit moeilijk haalbaar omdat de meeste experimenten worden uitgevoerd met een slibconcentratie van 2 tot 4 of zelfs meer gram droge stof per liter, terwijl de groei van de biomassa tijdens een batchexperiment waarbij bijvoorbeeld een initiële puls van 50 mg CZV/l wordt gedoseerd slechts een onmeetbare 30 tot 40 mg per liter bedraagt. Theoretisch bestaat de mogelijkheid wel om experimenten uit te voeren waarbij een toename aan biomassa-CZV gemeten wordt. Deze experimenten duren echter te lang waardoor ongewenste adaptatie van de bacteriële populaties kan optreden.

Respirometrie is 1 van de belangrijkste toepassingsgebieden van het hoger vernoemde “in-sensor-experiment” concept. Respirometrie is het meten en interpreteren van de respiratiesnelheid van actief slib. De respiratiesnelheid is de hoeveelheid zuurstof die per tijdseenheid wordt verbruikt door het actief slib (uitgedrukt als mg O₂/l.min of mg O₂/l.h). Doordat bij de aërobe afbraak van organische koolstofverbindingen zuurstof wordt verbruikt is respirometrie waarschijnlijk de meest populaire techniek om heterotrofe bacteriën in actief slib te karakteriseren. Er worden acht verschillende types respirometers onderscheiden (Spanjers *et al.*, 1998) op basis van twee criteria: (1) de fase waarin de zuurstofconcentratie wordt gemeten (vloeistoffase of gasfase) en (2) het feit of er al of niet een continue uitwisseling van vloeistof en/of gas plaats vindt tijdens de metingen (zie Fig. 1). In dit overzicht wordt de nadruk gelegd op de respirometers waarbij de zuurstofmeting gebeurt in de vloeistoffase d.m.v. een opgeloste zuurstofelektrode. De massabalans voor zuurstof kan voor dergelijke systemen als volgt beschreven worden:

$$\frac{dDO}{dt} = \frac{Q_{in}}{V}(DO_{in} - DO) + K_L a(DO_{sat} - DO) - OUR$$

Waarbij: DO = de opgeloste zuurstofconcentratie (gemeten) in de respirometer (mg/l)

Q_{in} = vloeistofdebiet dat door de respirometer wordt gepompt (l/min)

V = Volume van de respirometer (l)

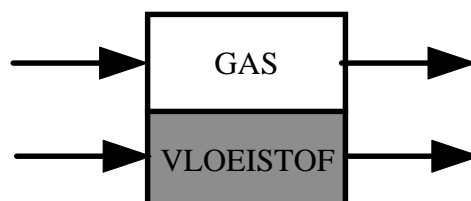
DO_{in} = zuurstofconcentratie in de vloeistof die de respirometer binnenkomt (mg/l)

DO_{sat} = de zuurstofverzadigingsconcentratie (mg/l)

K_La = de zuurstofoverdrachtscoëfficiënt (1/min)

OUR = zuurstofopnamesnelheid (mg/l.min)

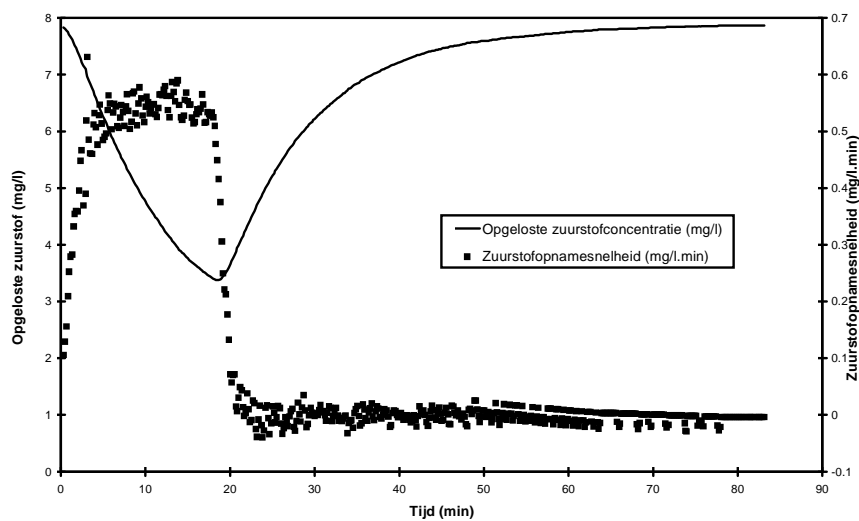
De respirometrische concepten die zullen besproken worden, kunnen echter geëxtrapoleerd worden naar andere types respirometers. Er worden twee belangrijke respirometrische methodes onderscheiden: “static gas” en “flowing gas” respirometers (Spanjers *et al.*, 1998). “Static gas” respirometers kunnen ofwel met een “static liquid” of met een “flowing liquid” vloeistoffase uitgevoerd worden.



Figuur 1. Algemeen schema van een respirometer

De “static gas gas/static liquid” respirometer is de eenvoudigste: Het actief slib wordt bemonsterd en overgebracht in een klein reactorvat. Na een korte beluchte fase wordt dan de daling van de zuurstofconcentratie als functie van de tijd opgemeten, al of niet na toevoeging van een substraat aan het actief slib. Het gebruik van zulke respirometers is beperkt omwille van het feit dat al gauw zuurstoflimitatie optreedt. Toch zijn dergelijke respirometers nog altijd populair omwille van de eenvoudige constructie van de sensor en het eenvoudige meetprincipe. Interpretatie van de data gegenereerd door zulke respirometers berust meestal op het uitvoeren van een lineaire regressie zodat uit de helling van de opgeloste zuurstofcurve de zuurstofopnamesnelheid kan afgeleid worden.

“Flowing gas - static liquid” respirometers worden continu belucht (vb. RODTOX respirometer). Het voordeel van zo’n systeem is dat kan gewerkt worden met hogere slibconcentraties omdat er continu zuurstof wordt ingebracht via de beluchting. Een typische respons van een “flowing gas - static liquid” respirometer is weergegeven in Figuur 2.



Figuur 2. Respons van RODTOX respirometer (flowing gas - static liquid respirometer) op een substraattoevoeging van 40 mg acetaat CZV per liter op tijdstip $t = 0$

De zuurstofconcentratie gemeten in een “flowing gas - static liquid” respirometer wordt bepaald door twee processen: zuurstofinbreng door het beluchtingssysteem en zuurstofopname voor de biologische afbraakprocessen. Dit kan als volgt uitgedrukt worden:

$$\frac{dDO}{dt} = K_L a (DO_{sat} - DO) - OUR_{ex} - OUR_{end}$$

De zuurstofopnamesnelheid OUR bestaat uit twee componenten: OUR_{ex} , de onmiddellijke zuurstofopname nodig voor afbraak van substraat, en OUR_{end} , de endogene zuurstofopnamesnelheid. Wanneer er geen substraat wordt toegevoegd is $OUR_{ex} = 0$ en bereikt de zuurstofconcentratie een steady-state DO_{eq} die het evenwicht weergeeft tussen zuurstoftransfer en endogene respiratie:

$$\frac{dDO}{dt} = 0 = K_L a (DO_{sat} - DO_{eq}) - OUR_{end}$$

De extra zuurstofopname OUR_{ex} die gemeten wordt na toevoeging van een substraat kan dus geschreven worden als:

$$OUR_{ex} = K_L a (DO_{eq} - DO) - \frac{dDO}{dt}$$

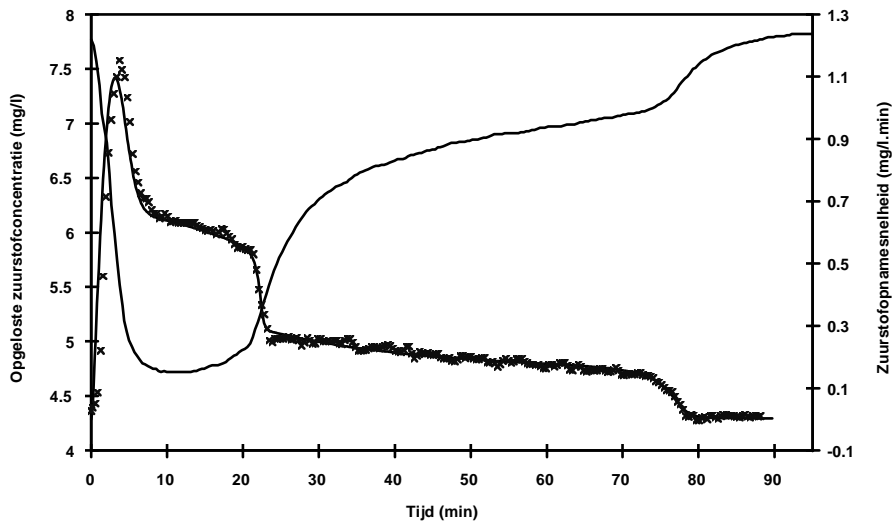
Voor dit type van respirometer moeten de zuurstofoverdrachtscoëfficiënt (K_La) en de steady state zuurstofconcentratie (DO_{eq}) gekend zijn vooraleer de OUR_{ex} kan berekend worden. Aan de OUR_{ex} die op die manier uit de respirogrammen wordt gegenereerd kan dan een model gefit worden om daaruit dan de kinetiek van 1 (of meerdere) actief slib processen af te leiden. Voor een eenvoudig voorbeeld met toevoeging van een enkelvoudig substraat met slechts 1 afbraakreactie wordt dat:

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_{max} * X_{B,H}}{Y_H} \frac{S}{K_s + S}$$

$$OUR_{ex} = -(1 - Y_H) \frac{dS}{dt}$$

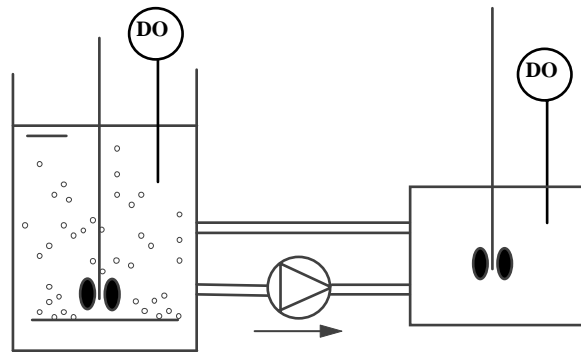
Waarbij: Y_H = heterotrofe biomassaopbrengstcoëfficiënt
 $X_{B,H}$ = heterotrofe biomassaconcentratie (mg CZV/l)
 μ_{max} = maximum specifieke groeisnelheid (1/min)
 S = substraatconcentratie (mg CZV/l)
 K_s = Monod halfsaturatieconstante (mg CZV/l)

Hoe meer verschillende substraten worden toegevoegd tijdens een experiment, des te ingewikkelder het model zal worden dat nodig is voor het beschrijven van de zuurstofprofielen die in de respirometer gegenereerd worden. Een voorbeeld van een respirogram en bijhorende OUR_{ex} data is terug te vinden in Figuur 3.

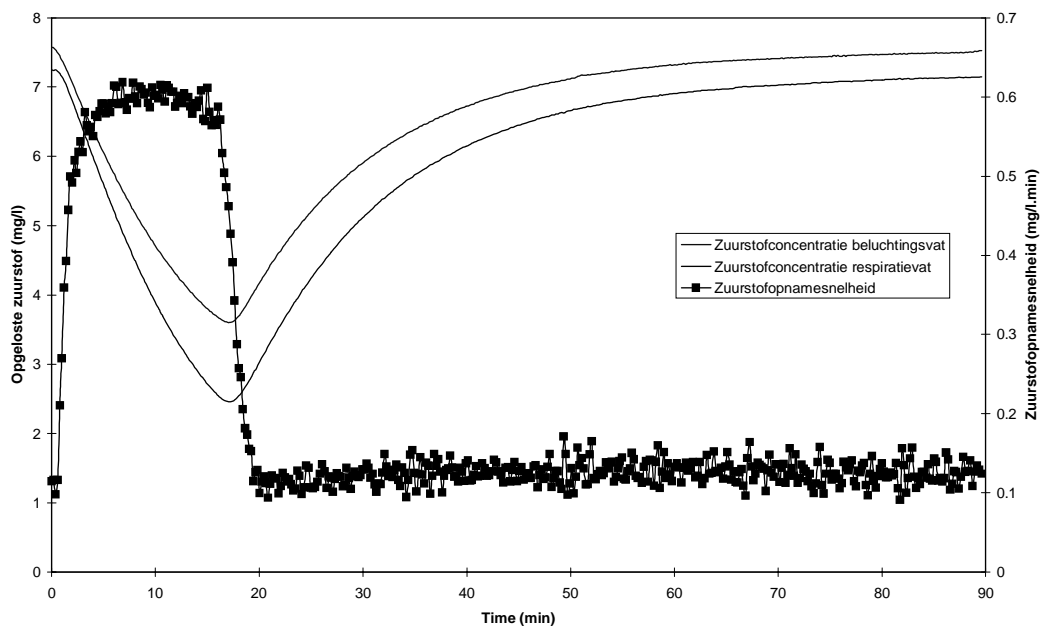


Figuur 3. Respons van RODTOX respirometer (flowing gas - static liquid respirometer) op de toevoeging van afvalwater dat bestaat uit een mengsel van drie biodegradeerbare substraten

Bij “static gas - flowing liquid” respirometers wordt de zuurstofconcentratie gemeten in de inlaat en de uitlaat van een gesloten respiratievat (vb. Manotherm RA-1000, hybride respirometer, ...). Voor de hybride respirometer (Vanrolleghem en Spanjers, 1998) zijn er twee reactorvaten: een aëratievat en een gesloten respiratievat (zie Fig. 4). Belucht slib wordt continu doorheen het respiratievat gepompt. De zuurstofopnamesnelheid kan berekend worden door het opstellen van een massabalans over het respiratievat, gebruik makend van de opgeloste zuurstofconcentratie gemeten in inlaat en uitlaat van het respiratievat en de verblijftijd in het respiratievat. Een voorbeeld van een dergelijke meting is weergegeven in Figuur 5. Analoog wordt ook hier de zuurstofopnamesnelheid gebruikt om de substraatafbraak te modelleren.



Figuur 4. Schematische voorstelling van de hybride respirometer (Vanrolleghem en Spanjers, 1998)



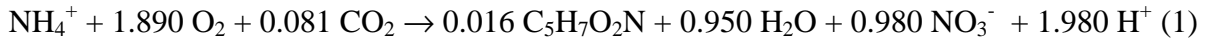
Figuur 5. Respons van hybride respirometer (static gas - flowing liquid) op de toevoeging van 30 mg acetaat CZV per liter op tijdstip $t = 0$

3. Meten van de activiteit van bacteriën betrokken bij de biologische stikstofverwijdering

Voor de verwijdering van nutriënten wordt in Vlaanderen de laatste jaren heel wat aandacht besteed aan het implementeren van biologische stikstofverwijdering op de zuiveringsinstallaties. Biologische stikstofverwijdering bestaat uit verschillende deelstappen (EPA, 1993). Het naar de zuivering aangevoerde influent bevat zowel anorganische (ammonium) als organische stikstofverbindingen. Tijdens de afbraak van organische stoffen wordt organisch gebonden stikstof vrijgesteld als ammonium (NH_4^+). Deze omzetting is normaliter niet snelheidsbepalend en wordt daarom vaak weggelaten bij het modelleren van stikstofverwijderingsprocessen. Onder aërobe condities wordt NH_4^+ door de nitrificerende bacteriën omgezet tot nitraat (NO_3^-). Bij die omzetting is nitriet (NO_2^-) een tussenproduct. In een derde stap tenslotte, wordt tijdens het denitrificatieproces het NO_3^- in aanwezigheid van een snel afbreekbare koolstofbron omgezet tot stikstofgas (N_2), dat aan de omgevingslucht wordt afgegeven. Voor de denitrificatie zijn anoxische procescondities vereist (= afwezigheid van moleculaire zuurstof), en wordt NO_3^- i.p.v. O_2 gebruikt als elektronenacceptor bij de afbraak van een organische koolstofbron.

3.1. Nitrificatie

Het karakteriseren van de bacteriën betrokken bij het nitrificatieproces is gebaseerd op vergelijking (1) (EPA, 1993). Uit die vergelijking kan afgeleid worden dat tijdens de nitrificatie zuurstof, ammonium en CO₂ worden verbruikt, terwijl biomassa, nitraat en protonen worden gevormd.



De hoeveelheid CO₂ die wordt verbruikt tijdens het nitrificatieproces voor de vorming van nieuwe biomassa is te klein om via metingen accurate informatie op te leveren over de nitrificatiesnelheid van het actief slib. Een belangrijke factor hierbij is dat de metingen zouden verstoord worden door vorming van CO₂ door de heterotrofe bacteriën. Ook de vorming van nieuwe nitrificerende biomassa (C₅H₇O₂N) kan niet gebruikt worden om het nitrificatieproces op te volgen tijdens een experiment. De belangrijkste reden is dat de nitrificerende bacteriën gewoonlijk slechts een paar procent van de totale slibmassa uitmaken. De aangroei van deze bacteriën kan in een actief slib matrix niet accuraat gemeten worden.

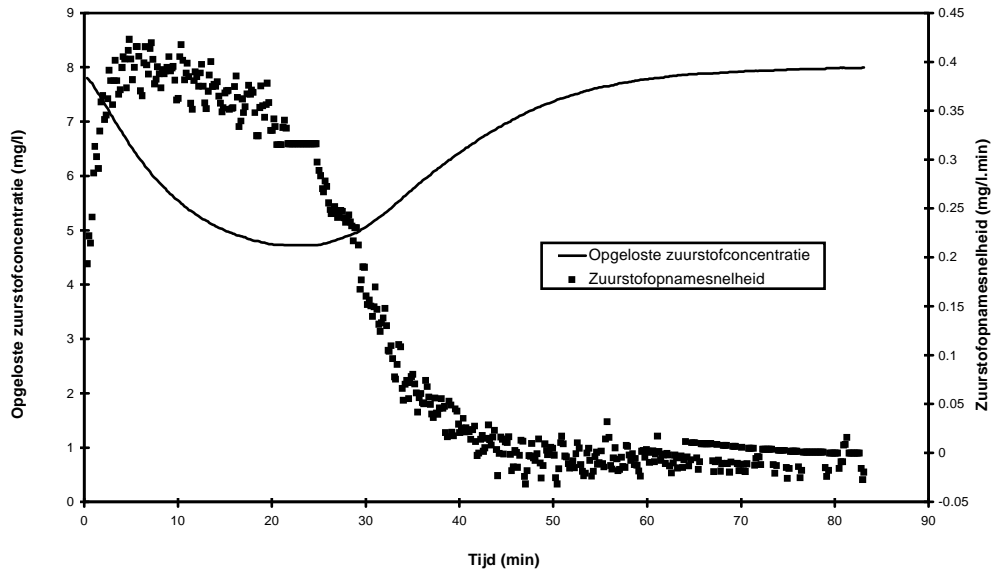
Het is evident om ofwel de substraatverwijderings- (NH₄⁺) of de productvormingssnelheid (NO₃⁻ of som NO₂⁻ + NO₃⁻) te meten tijdens het nitrificatieproces. Dit kan door frequente monstername gevolgd door chemische analyse van de monsters (Kristensen *et al.*, 1992). Dit is een arbeidsintensieve procedure die toch vaak wordt toegepast. Het meten van NO₂⁻ productie- of consumptiesnelheden in aanwezigheid van een selectieve inhibitor voor respectievelijk de NO₂⁻ of de NH₄⁺ oxiderende bacteriën kan eventueel ook gebruikt worden voor het afzonderlijk meten van de activiteit van respectievelijk de NH₄⁺ of de NO₂⁻ oxiderende bacteriën.

Andere componenten die nog kunnen gemeten worden zijn de zuurstofopname tijdens nitrificatie en de productie van protonen. In het eerste geval zal men gebruik maken van respirometrische methodes (zie hoger). In het tweede geval kan gebruik gemaakt worden van een titratiemethode (Gernaey *et al.*, 1997). Beide methodes zijn goed bruikbaar omdat tijdens de nitrificatie veel zuurstof wordt verbruikt (stoichiometrisch: 4,57 mg O₂ verbruikt per genitrificeerde mg NH₄⁺-N) en veel protonen worden gevormd (ongeveer 2 mol protonen per mol ammonium die genitrificeerd wordt).

Respirometrie

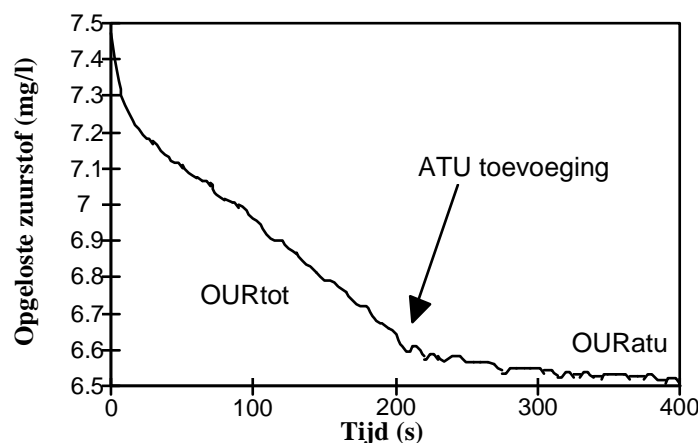
Voor biologische stikstofverwijderingssystemen kan respirometrie nuttig aangewend worden voor het meten van de nitrificerende activiteit van het slib. Het belangrijkste probleem bij deze metingen is het vinden van een geschikte methode om de zuurstofopname voor nitrificatie te onderscheiden van de zuurstofopname voor de oxidatie van organische koolstofverbindingen. In de praktijk worden verschillende methodes toegepast, zoals met enkele voorbeelden zal aangetoond worden.

Veelal worden ter bepaling van de nitrificerende activiteit batchexperimenten uitgevoerd met actief slib in de endogene respiratiefase. Tijdens het experiment wordt een beperkte hoeveelheid ammonium aan het actief slib toegevoegd en de respons van de biomassa op deze substraattoevoeging wordt gemeten. Bij "static gas - static liquid" respirometers kan na de toevoeging van ammonium een duidelijke stijging van de zuurstofopnamesnelheid waargenomen worden die het gevolg is van nitrificatie (Drtil *et al.*, 1993). Analoge technieken kunnen gebruikt worden bij andere types respirometers in het geval met actief slib in de endogene respiratiefase wordt gewerkt. In Figuur 6 wordt een voorbeeld gegeven van de respons van de biomassa op de toevoeging van ammonium in de RODTOX respirometer.



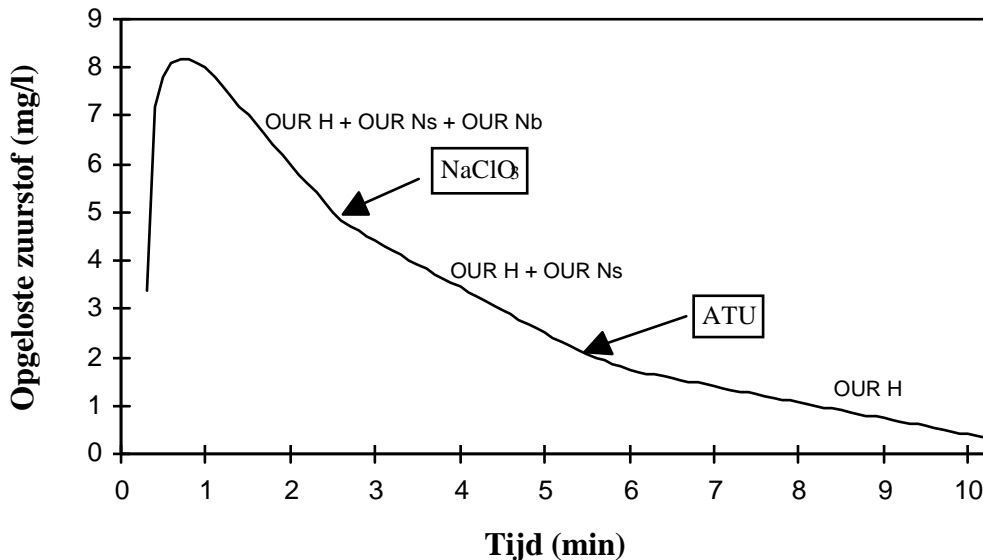
Figuur 6. Respons van de RODTOX respirometer na een puls substraattoevoeging van 3 mg NH_4^+ -N/l aan actief slib in de endogene respiratiefase op tijdstip $t = 0$

In veel gevallen kan niet gewerkt worden met actief slib in de endogene respiratiefase, bijvoorbeeld voor het schatten van de actuele nitrificatiesnelheid in een actief slib systeem op basis van respiatiemetingen. De respiatiemeting met een monster actief slib zal in zo'n geval een gemengde respons weergeven. Dit komt doordat naast nitrificatie de zuurstofopname ook deels afkomstig is van de afbraak van organische koolstofverbindingen die continu met het afvalwater worden aangevoerd naar het actief slib in de zuiveringsinstallatie. Indien men dan toch onmiddellijk informatie wil over de nitrificerende activiteit in het actief slib systeem kan gebruik gemaakt worden van selectieve nitrificatie inhibitoren (zie Fig. 7). Bij dergelijke toepassingen wordt in feite een dubbel experiment uitgevoerd waarbij eerst de totale respiratiesnelheid van het actief slib wordt gemeten. Na toevoeging van een selectieve nitrificatie inhibitor (vb. allylthio-ureum) wordt een tweede zuurstofopnamesnelheid gemeten. Door het verschil tussen beide respiratiesnelheden te berekenen kan op eenvoudige wijze de nitrificatiesnelheid van het actief slib bepaald worden.



Figuur 7. Voorbeeld van een meetcyclus in een “static gas - static liquid” respirometer, in dit geval de NITROX toxiciteitsmeter, waarbij na 200 seconden de nitrificatie wordt geïnhibeerd door toevoeging van allylthio-ureum. OUR_{tot} = totale zuurstofopnamesnelheid; OUR_{atu} = zuurstofopnamesnelheid gemeten na toevoeging van allylthio-ureum

Door gebruik te maken van selectieve nitrificatie inhibitoren voor zowel de eerste als de tweede stap van het nitrificatieproces kan d.m.v. 1 respirometrisch experiment de zuurstofopnamesnelheid voor de heterotrofe substraatafbreek en voor de beide stappen van het nitrificatieproces bepaald worden. Het meetprincipe is gebaseerd op de sekventiële toevoeging van NaClO_3 en allylthio-ureum (Surmacz-Gorska *et al.*, 1996). De zuurstofopnamesnelheden voor de verschillende actief slib processen worden bekomen door het verschil te maken tussen de verschillende zuurstofopnamesnelheden die tijdens het experiment gemeten worden (zie Fig. 8).



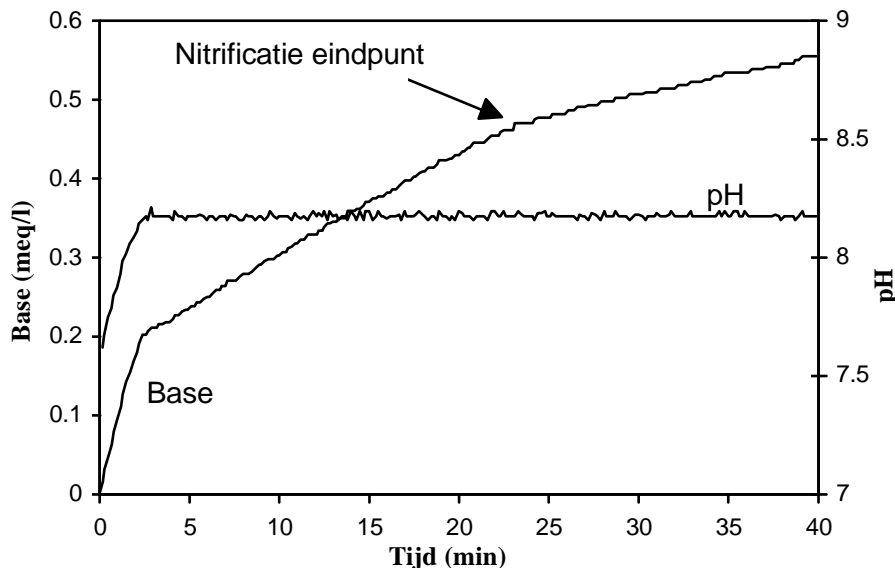
Figuur 8. Schematische voorstelling van een respirometrische experiment in een “static gas - static liquid” respirometer waarbij 2 selectieve nitrificatie inhibitoren worden toegevoegd. In een eerste fase wordt de totale zuurstofopnamesnelheid gemeten; na toevoeging van NaClO_3 is de tweede stap van de nitrificatie geïnhibieerd (OUR Nb). Toevoeging van allylthio-ureum inhibeert de eerste stap van het nitrificatieproces (OUR Ns). De resterende zuurstofopname (OUR H) wordt veroorzaakt door heterotrofe respiratie.

Toepassing van respirometrie bij stikstofverwijderingsprocessen is niet beperkt tot het bepalen van de nitrificatiesnelheid. Modelgebaseerde interpretatie van respirogrammen die worden opgemeten na toevoeging van afvalwater aan actief slib in de endogene respiratiefase kan bijvoorbeeld gebruikt worden voor het schatten van de stikstofconcentratie in het afvalwater (Spanjers en Vanrolleghem, 1995). Tevens kunnen tal van biokinetische en stoichiometrische parameters van actief slib geschat worden: affiniteitsconstanten, maximum specifieke groeisnelheden, afdodingscoëfficiënten, opbrengstcoëfficiënten en inhibitieconstanten (Vanrolleghem *et al.*, 1998).

Titrimetrie

Titrimetrische sensoren kunnen eveneens aangewend worden voor het opvolgen van het nitrificatieproces in actief slib (Gernaey *et al.*, 1997). Het principe van de metingen is gebaseerd op de stoichiometrische conversie van NH_4^+ tot ongeveer 2 H^+ (zie vergelijking 1). Aan het begin van elk experiment wordt actief slib bemonsterd en overgebracht naar het reactorvat van de titrator. In dat reactorvat wordt de pH van dit slib dan d.m.v. een pH sturing op een vast pH instelpunt gehouden totdat de nitrificatie is afgelopen. Het gebruik van een pH sturing is te verkiezen boven het meten van pH profielen omdat pH profielen niet kunnen geconverteerd worden tot een preciese hoeveelheid protonen die tijdens het nitrificatieproces werden gevormd. Dit komt doordat de buffercapaciteit van het actief slib niet constant is als functie

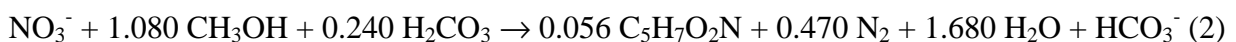
van de pH, wat op zijn beurt wordt veroorzaakt door de aanwezigheid van verschillende zuur/base buffersystemen. Een voorbeeld van een dergelijke actief slib titratie is weergegeven in Figuur 9. Op tijdstip $t = 0$ is in het reactorvat van de titrator een hoeveelheid actief slib aanwezig (vb. net overgepompt van beluchtingstank) met daarin wat ammonium. Tijdens de titratie wordt het reactorvat belucht, gaat dus de nitrificatie door, en worden de totale hoeveelheid zuur en base bijgehouden die aan het slib worden gedoseerd om de pH op het pH instelpunt te houden. De titratiecurve vertoont twee buigpunten: een eerste wanneer het pH instelpunt wordt bereikt, een tweede wanneer de nitrificatie is afgelopen. Op basis van die data kunnen dan de initiële $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentratie in het actief slib en de nitrificatiesnelheid bepaald worden. De nitrificatiesnelheid wordt berekend door het verschil te nemen tussen de basetoevoegingssnelheid voor en na het bereiken van het nitrificatie eindpunt. De initiële $\text{NH}_4^+\text{-N}$ concentratie wordt berekend op basis van de hoeveelheid base die gedoseerd werd ter compensatie van protonen gevormd door de nitrificatie activiteit van het actief slib. Die hoeveelheid kan geschat worden door extrapolatie van de verschillende hellingen van de curve die de cumulatieve hoeveelheid base gedoseerd tijdens het experiment weergeeft als functie van de tijd. Fitten van een model aan de titratiedata levert de kinetische parameters van de eerste stap van het nitrificatieproces op (Gernaey *et al.*, 1998).



Figuur 9. Verloop van de hoeveelheid gedoseerde base als functie van de tijd tijdens een titratie experiment met nitrificerend actief slib. Op tijdstip $t = 0$ werd $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (1.3 mg N/l) gedoseerd, waarna de pH van het slib werd verhoogd tot het pH instelpunt (Gernaey *et al.*, 1997)

3.2. Denitrificatie

Voor het denitrificatieproces, in dit voorbeeld met methanol als elektrondonor, kan de algemene reactievergelijking uitgeschreven worden zoals in vergelijking (2) (EPA, 1993). Tijdens het denitrificatieproces worden nitraat (of nitriet), H_2CO_3 en een koolstofbron verbruikt, terwijl stikstofgas (N_2), alkaliniteit (HCO_3^-) en nieuwe biomassa worden gevormd.

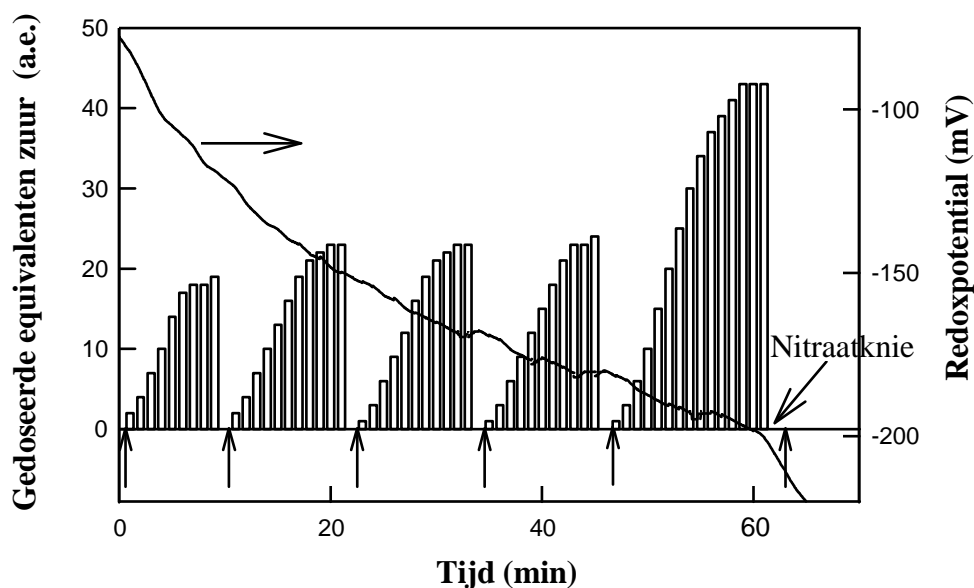


Het denitrificatieproces wordt tijdens experimenten meestal opgevolgd door regelmatige monsternamen en chemische analyse van de monsters voor $\text{NO}_x\text{-N}$ (= som van $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) (Kristensen *et al.*, 1992). Dit type experimenten is heel tijdrovend. Automatisering is echter mogelijk (en dit geldt natuurlijk ook voor chemische analyses ter opvolging van het nitrificatieproces), bijvoorbeeld door het koppelen van een automatisch meetsysteem (inclusief

monstervoorbehandeling) aan het reactorvat waarin het experiment wordt uitgevoerd. Noteer dat dergelijke meetsystemen tot hoge investeringskosten leiden.

Via regelmatige monsternamen en chemische analyses (vb. CZV) kan eventueel ook het verbruik van de koolstofbron tijdens denitrificatie opgevolgd worden. Naast de problemen met sorptie/flocculatie van CZV aan het slib en de altijd aanwezige achtergrond CZV, blijft het daarenboven heel moeilijk om de snelheid van verbruik van een koolstofbron om te rekenen naar de snelheid waarmee nitraat verbruikt wordt. Deze moeilijkheid is het gevolg van de variabele CZV/NO₃⁻-N verhouding die in praktijk wordt waargenomen voor denitrificatieprocessen (EPA, 1993). Ook in het geval van de denitrificatie is de hoeveelheid gevormde biomassa te laag om van praktisch nut te zijn bij het meten van de denitrificatiesnelheid van actief slib. De meting van N₂ gas in de gasfase is niet aangewezen omdat dit N₂ gas wordt vrijgesteld in omgevingslucht die al voor het grootste deel uit N₂ bestaat.

Respirometrische methodes kunnen niet gebruikt worden voor anoxische processen zoals bijvoorbeeld het denitrificatieproces. Specifiek voor het denitrificatieproces kunnen echter wel titrimetrische methodes toegepast worden omdat de denitrificatiereactie, net zoals de nitrificatie, ook een pH effect heeft. Dit werd aangetoond door Bogaert *et al.* (1997) die in de DECADOS sensor in een batch reactorvat de pH van een staal actief slib op een pH instelpunt instelden. Een pH sturing zorgt er dan voor dat door dosering van zuur en base de pH constant blijft terwijl de hoeveelheden zuur en base die werden gedoseerd op regelmatige tijdsintervallen worden bewaard. Op die manier kan de respons van het actief slib op kleine doseringen nitraat of koolstofbron opgevolgd worden (zie Fig. 10). Het concept berust in feite op een “biologische titratie” van het nitraat met een snel afbreekbaar substraat als koolstofbron. De koolstofbron wordt toegevoegd tot alle nitraat gerespireerd is. Op die manier kan via titratie informatie verkregen worden over de kinetiek en de stoichiometrie van het denitrificatieproces. Op het eind van een titratie is de hoeveelheid CZV immers bekend die nodig was om volledige denitrificatie te bereiken. Daarnaast kunnen ook de initiële nitraatconcentratie in het actief slib en de denitrificatiesnelheid berekend worden.



Figuur 10. Equivalenten toegevoegd zuur en redoxpotentiaal tijdens een titratie met de DECADOS sensor. De pijlen duiden CZV toevoegingen aan (Bogaert *et al.*, 1997)

4. Toepassing eenvoudige testen voor toxiciteitsdetectie

Toxische afvalwaters kunnen belangrijke problemen veroorzaken op biologische zuiveringsinstallaties. Algemeen zijn toxische afvalwaters gerelateerd met industriële activiteit. Installatie van on-line sensoren kan dus nuttig zijn op zuiveringsinstallaties die industrieel of een mengsel van industrieel en huishoudelijk afvalwater verwerken.

Voor de detectie van toxische influent op zuiveringsinstallaties wordt gebruik gemaakt van eenvoudige en, vooral, snelle testmethodes. Testen met biologisch materiaal laten een vrij nauwkeurige bepaling van de acute toxiciteit van het afvalwater toe. Voor actief slib processen worden de beste correlaties tussen de testresultaten en het eigenlijke gedrag van de zuiveringsinstallatie verkregen door de toxiciteitstesten uit te voeren met actief slib afkomstig van de zuiveringsinstallatie zelf. De laatste jaren is er een trend merkbaar om specifiek toxiciteitstesten te ontwikkelen voor nitrificerende actief slib bacteriën. Dit komt doordat de nitrificatie het aan toxiciteit meest gevoelige actief slib proces is (Blum en Speece, 1991). Er dient echter met nadruk gezegd dat op deze regel ook uitzonderingen voorkomen.

Gezien het makkelijke karakteriseren van het nitrificatieproces met respirometrie, is het niet verwonderlijk dat veel sensoren voor toxiciteitsdetectie opgebouwd zijn rond respirometers. De detectie van een toxisch afvalwater gebeurt over het algemeen door de respons van de biomassa in aanwezigheid van een gekende hoeveelheid afvalwater te vergelijken met de respons die bekomen werd na het toedienen van een niet-toxisch referentiesubstraat. Het inhiberend effect van een toxisch afvalwater wordt dan als volgt gekwantificeerd:

$$\% \text{inhibitie} = \frac{OUR_{ref} - OUR_{sample}}{OUR_{ref}} * 100$$

Waarbij: OUR_{ref} = zuurstofopnamesnelheid gemeten in aanwezigheid van een referentiesubstraat

OUR_{sample} = zuurstofopnamesnelheid gemeten voor het monster met onbekende toxiciteit

Bij toxiciteitsdetectie op het influent van de zuiveringsinstallatie zijn de sensoren voor toxiciteitsdetectie veelal in staat om een verhoging van de acute toxiciteit van het afvalwater te detecteren. Deze on-line sensoren kunnen echter niet gebruikt worden voor het detecteren van chronische toxiciteitseffecten, bijvoorbeeld wanneer een stof aan het actief slib sorbeert en daar na een bepaalde tijd, als de concentratie hoog genoeg is, een toxisch effect uitoefent.

Detectie van acute toxiciteit op het influent van de zuivering is 1 ding. Gepast ingrijpen na detectie van een toxisch afvalwater is iets anders. Het afleiden van een toxisch afvalwater naar een bufferbekken kan bijvoorbeeld voorkomen dat acute inhibitie van de zuiveringsprocessen (vb. nitrificatie) optreedt. Maar daarmee is het toxisch afvalwater nog niet verwerkt. Het is mogelijk dat de toxische stof afbreekbaar is zodat het afvalwater na verdunning met niet-toxisch afvalwater zonder problemen tot de zuiveringsinstallatie kan toegelaten worden. Een goed voorbeeld hiervan is fenol. Indien de toxische stof niet of slechts heel langzaam afbreekbaar is kan ze nog voor moeilijkheden zorgen in de zuiveringsinstallatie en in de oppervlaktewaters waarin het effluent van de zuiveringsinstallatie tenslotte geloosd wordt. Daarom is er nood aan eenvoudige en gestandaardiseerde testprotocols die toelaten om snel te bepalen wat met een toxisch afvalwater moet aangevangen worden. Hierbij dient de kostprijs van de verwerking afgewogen te worden tegen de kostprijs van het geheel of gedeeltelijk stilvallen van de zuiveringsprocessen. Er is een uitgebreid gamma verwerkingsmethodes beschikbaar om allerlei soorten toxische stoffen uit het afvalwater te verwijderen. Nadeel is dat de meeste methodes alleen geschikt zijn voor een specifieke groep toxische stoffen. Ze kunnen m.a.w. uitstekend aangewend worden om de toxiciteit van specifieke afvalstromen met gekende samenstelling te verminderen, bijvoorbeeld op industriële afvalwaters waar de aard

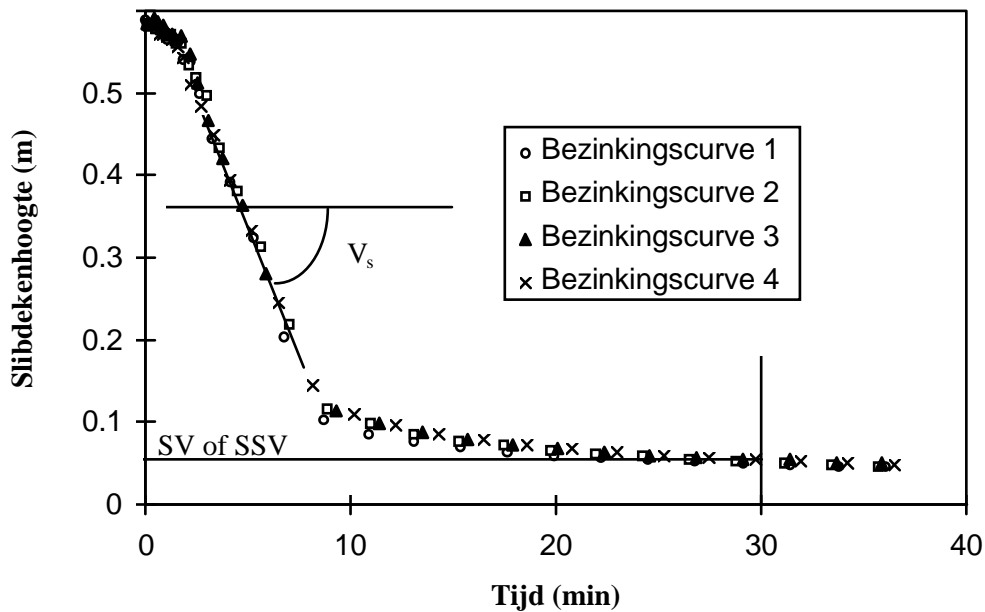
van de toxische stoffen gekend is. Op de huishoudelijke waterzuiveringsinstallaties, waar men meestal geconfronteerd wordt met mengsels van toxische stoffen, blijft de efficiënte verwerking van toxische piekbelastingen nog altijd een probleem. In het ideale geval zouden de meeste toxische afvalwaters bij de bron moeten gedetoxifieerd worden, vooraleer ze de zuiveringsinstallatie bereiken.

5. Meten van slibbezinkingskarakteristieken

Er wordt algemeen aangenomen dat de finale bezinkingsstap, waarbij de actief slibvlokken gravitair worden afgescheiden van het gezuiverde afvalwater, één van de meest cruciale deelstappen is binnen het actief slib proces (Wanner, 1994). Op veel installaties komen regelmatig slibbezinkingsproblemen voor die de uitspoeling van actief slibvlokken tot gevolg hebben. In geval van uitspoeling van het actief slib wordt een groot deel van de eerder geleverde inspanningen voor de zuivering van het afvalwater opnieuw teniet gedaan tijdens de finale bezinkingsstap. Naar schatting zou 50 tot 80 % van de effluent CZV vuilvracht toe te schrijven zijn aan de uitspoeling van slib. Bovendien zal die uitspoeling van slib ook een stijging van de totale gehalten aan stikstof en fosfor in het effluent veroorzaken.

De efficiëntie van het bezinkingsproces is afhankelijk van de slibbezinkingseigenschappen, de slibconcentratie en de hydraulische belasting van de nabezinktank. De hydraulische belasting kan vrij snel variëren, vb. als gevolg van plotse regenval en de daarmee gepaard gaande stijging van het influentdebiet. Daarnaast kunnen wijzigingen in de bezinkingseigenschappen van de slibvlokken optreden, die zowel door een verandering in de bedrijfsvoering van de actief slib installatie als door bepaalde klimaatswijzigingen (temperatuur) kunnen veroorzaakt worden. Ook de samenstelling van het afvalwater kan zowel op korte als op lange termijn een invloed hebben op de slibbezinking, vb. door een wijziging van de zoutsterkte die de flocculatie belemmert.

De slibbezinkingseigenschappen worden meestal manueel bepaald, d.m.v. batch sedimentatie experimenten (SVI of slibvolume index). Nadeel is de lage frequentie van dergelijke metingen (typisch 1 meting per dag), en het feit dat de experimentele condities sterk kunnen afwijken van de omstandigheden in de nabezinktank. Bovendien zijn de SVI waarden afhankelijk van de slibconcentratie. Dit kan eventueel verholpen worden door verdunning van het slib (DSVI of "diluted" slibvolume index). De beperkte hoeveelheid beschikbare data i.v.m. het bezinkingsproces staat in schril contrast tot de grote invloed van de finale bezinkingsstap op de efficiëntie van het totale zuiveringsproces. In bepaalde (nog steeds uitzonderlijke) gevallen wordt de nabezinktank bewaakt met een slibdekenhoogtemeting, die de operator kan alarmeren indien slib dreigt uit te spoelen. Daarmee is men echter nog altijd niet toe aan het opsporen van de oorzaken van slibuitspoeling. Om dit te verwezenlijken werden sensoren ontwikkeld die specifiek de bezinkingseigenschappen van het actief slib gaan karakteriseren d.m.v. geautomatiseerde batch sedimentatie experimenten in een glazen cylinder, onder condities die dicht aanleunen bij de volschalige nabezinktank (vb. Settrometer; Vanrolleghem *et al.*, 1996). Bij deze sensor wordt tijdens een bezinkingsfase van ongeveer een half uur de hoogte van het slibdeken opgemeten als functie van de tijd. Op basis van de bezinkingscurve die hieruit resulteert (zie Fig. 11), kan de maximum slibbezinkingssnelheid (V_s) en, op voorwaarde dat de slibconcentratie gekend is, de SVI van het slib bepaald worden. Op die manier zijn continu data beschikbaar over de bezinkingseigenschappen van het actief slib. De sensor kan bezinkingscurven opnemen mét en zonder roering in de glazen cylinder (leidend tot SVI en SSVI (stirred SVI) respectievelijk), en indien nodig kan een automatische verdunning van het slib doorgevoerd worden zodat de DSVI kan bepaald worden.



Figuur 11. Herhaalbaarheidstest met de Settlometer: 4 bezinkingscurves werden opgenomen met hetzelfde slibstaal. V_s = slibbezinkingsnelheid, (S)SV = (geroerd) slibvolume

6. Slotbeschouwingen

Doordat er door de jaren heen heel wat kennis is opgedaan over het meten van de activiteit van de verschillende groepen bacteriën die bij het actief slib proces betrokken zijn, wordt er meer en meer getracht om eenvoudige testmethodes te automatiseren. De “biosensoren” die daaruit resulteerden, kunnen nu naast hun nut in het laboratorium ook ingezet worden voor het on-line detecteren van toxiciteit op het influent van de zuiveringsinstallatie of voor het on-line meten van de nitrificerende activiteit in een actief slib systeem. Daarnaast zijn er ook belangrijke ontwikkelingen op het gebied van on-line sensoren voor het meten van bijvoorbeeld NH_4^+ en NO_3^- , hoewel de monstervoorbehandeling daar nog altijd een teer punt blijft. Een belangrijke uitdaging is nu het implementeren van dergelijke on-line sensoren in regelkringen zodat een betere stabiliteit van bijvoorbeeld biologische stikstofverwijderingsprocessen of slibbezinkingsprocessen bekomen wordt. Enkele recente studies op dit vlak hebben het potentieel en de mogelijke kostenreductie reeds overtuigend aangetoond (Coen *et al.*, 1996; Vanderhasselt *et al.*, 1998).

Doordat het geheel van de processen op een biologische zuiveringsinstallatie vrij ingewikkeld is, kan modelbouw en simulatie een belangrijke bijdrage leveren bij het doorlichten van installaties en bij de opbouw van regelkringen. Door simulaties kan met een actief slib model vrij nauwkeurig nagegaan worden wat het effect van verschillende voorgestelde regelacties op de efficiëntie van de biologische stikstofverwijdering zal zijn. Op die manier kunnen de meest efficiënte regelstrategieën geselecteerd worden voor implementatie en evaluatie, terwijl de regelaars tevens reeds voor een groot deel kunnen getuned worden op basis van simulatie met het model. Een belangrijk probleem echter blijft het vele werk dat nog steeds nodig is bij de opbouw van een actief slib model en meer specifiek zijn kalibratie. Onderzoek op dit vlak concentreert zich ondermeer op het uitwerken van technieken en proefopzetten die toelaten om het actief slib model met een minimum aan inspanningen en kosten te kalibreren. Meettechnieken als degene die in deze bijdrage de revue passeerden, vormen een belangrijk element in de huidige ontwikkelingen in deze richting.

Dankwoord

Het onderzoekswerk van Dr. ir. Krist Gernaey wordt gefinancierd met een onderzoeksmandaat van het Vlaams Instituut voor de Bevordering van het Wetenschappelijk-Technologisch Onderzoek in de Industrie (IWT), BRUSSEL. Onderzoek waarvan de resultaten hier werden voorgesteld, werden o.a. ook bekomen dankzij de financiële steun van het Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek (FWO-)Vlaanderen, meer bepaald project G.0286.96. Ook hoort hier een dankbetuiging voor de uitgebreide steun van EPAS nv (Zwijnaarde).

Referenties

- Blum D.J.W. en Speece R.E. (1991) A database of chemical toxicity to environmental bacteria and its use in interspecies comparisons and correlations. *Res. J. Water Pollut. Control Fed.*, **63**, 198 - 207.
- Bogaert H., Vanderhasselt A., Gernaey K., Yuan Z., Thoeye C. en Verstraete W. (1997) A new sensor based on the pH-effect of the denitrification process. *J. Environ. Eng.*, **123**, 884-891.
- Coen F., Vanderhaegen B., Boonen I., Vanrolleghem P.A. en Van Meenen P. (1996) Nitrogen removal upgrade of a WWTP within existing reactor volumes: A simulation supported scenario analysis. *Wat. Sci. Tech.*, **34**(3-4), 339-346.
- Drtil M., Németh P. en Bodik I (1993) Kinetic constants of nitrification. *Water Res.*, **27**, 35 - 39.
- E.P.A. (1993) Manual: Nitrogen Control. United States Environmental Protection Agency, Washington DC, 311 p.
- Ford D.L. (1992) Toxicity reduction: Evaluation and control. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, 337 p.
- Gernaey K., Bogaert H., Massone A., Vanrolleghem P. en Verstraete W. (1997) On-line nitrification monitoring in activated sludge with a titrimetric sensor. *Environm. Sci. Technol.*, **31**, 2350-2355.
- Gernaey K., Vanrolleghem P. en Verstraete W. (1998) On-line estimation of kinetic parameters of NH_4^+ oxidizing bacteria in activated sludge samples using titration in-sensor-experiments. *Wat. Res.*, **32**, 71-80.
- Kristensen G.H., Jorgensen P.E. en Henze M. (1992) Characterization of functional microorganism groups and substrates in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR. *Water Sci. Technol.*, **25**(6), 43 - 57.
- Spanjers H. en Vanrolleghem P. (1995) Respirometry as a tool for rapid characterization of wastewater and activated sludge. *Water Sci. Technol.*, **31**(2), 105 - 114.
- Spanjers H., Vanrolleghem P.A., Olsson G. en Dold P. (1998) Respirometry in control of the activated sludge process: principles. IAWQ Scientific and Technical Report No. 7.
- Surmacz-Gorska J., Gernaey K., Demuyne C., Vanrolleghem P. en Verstraete W. (1996) Nitrification monitoring in activated sludge by oxygen uptake rate (OUR) measurements. *Water Res.*, **30**, 1228 - 1236.
- Vanderhasselt A., De Clercq B., Vanderhaegen B., Verstraete W. en Vanrolleghem P.A. (1998) On-line control of polymer addition to prevent massive wash-out from the settler. (Submitted).
- Vanrolleghem P. en Coen F. (1995) Optimal design of in-sensor-experiments for on-line modelling of nitrogen removal processes. *Water Sci. Technol.*, **31**(2), 149 - 160
- Vanrolleghem P.A. en Spanjers H. (1998) A hybrid respirometric method for more reliable assessment of activated sludge model parameters. *Water. Sci. Tech.*, **37**(12), 237-246.
- Vanrolleghem P., Spanjers A., Petersen B., Ginestet P en Takacs I. (1998) Estimating (combinations of) activated sludge model No. 1 parameters and components by respirometry. *Water. Sci. Tech.*, (in Press).
- Vanrolleghem P., Van Der Schueren D., Krikilion G., Grijspeerd K., Willems P. en Verstraete W. (1996) On-line quantification of settling properties with In-Sensor-Experiments in an automated Settrometer. *Water Sci. Technol.*, **33**(1), 37 - 51.
- Wanner J. (1994) Activated sludge bulking and foaming control. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, 327 p.