

R94-03_vermindering-slibproduktie

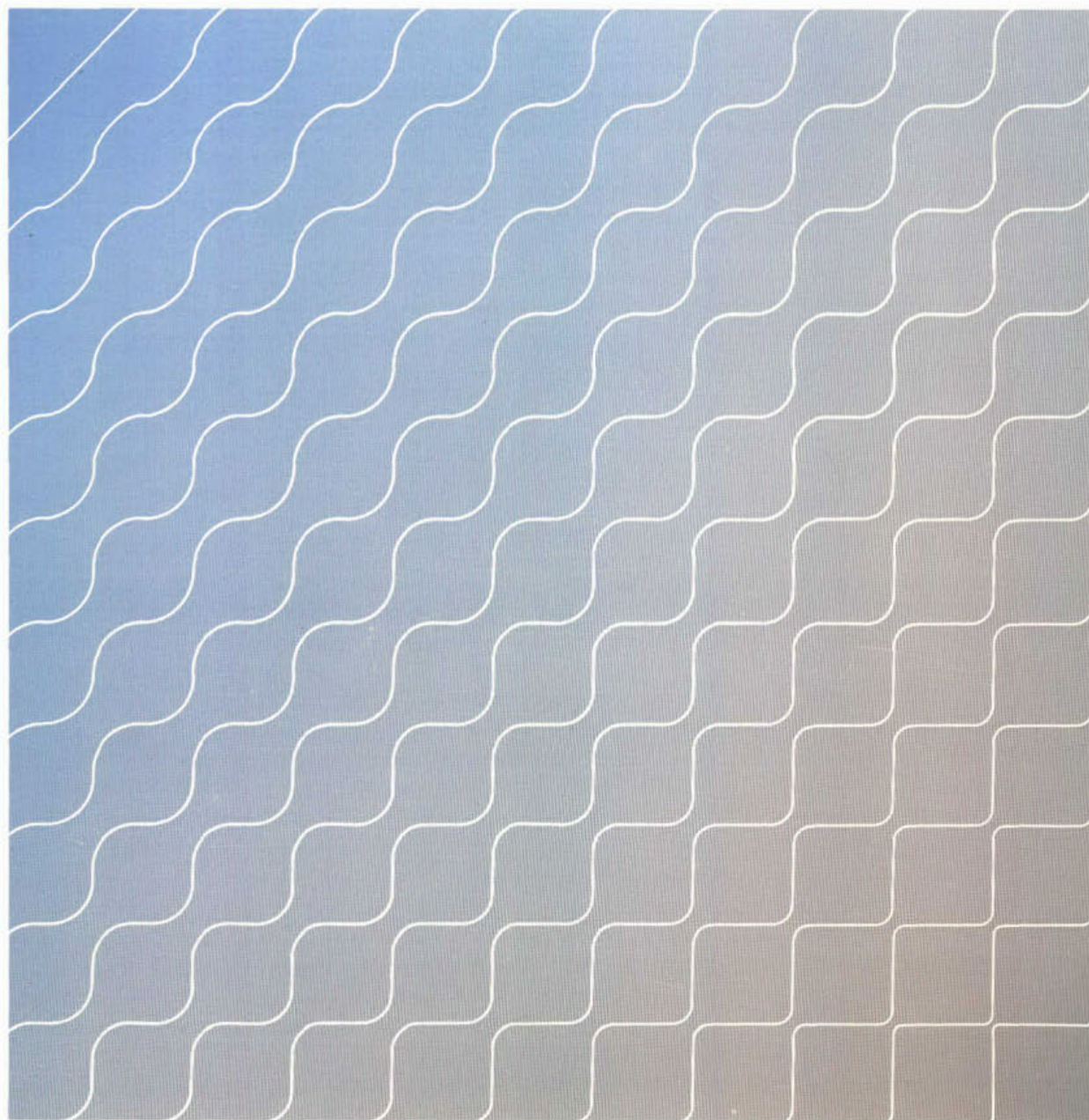
Toekomstige

generatie rioolwater-

zuiveringaansluitingen



FUNDAMENTEEL ONDERZOEK VERMINDERING SLIBPRODUKTIE





Vrije Universiteit Amsterdam

Faculteit der Biologie
De Boelelaan 1087, 1081 HV Amsterdam



TNO

Instituut voor Milieuwetenschappen
Postbus 6011, 2600 JA Delft



**Ministerie van Volkshuisvesting,
Ruimtelijke Ordening en Milieubeheer**

Directoraat-Generaal Milieubeheer
Postbus 30945, 2500 GX Den Haag



**Ministerie van Landbouw, Natuurbeheer en
Visserij**

Postbus 20401, 2500 EK Den Haag



RIZA

Rijkswaterstaat
Rijksinstituut voor Integraal Zoetwaterbeheer
en Afvalwaterbehandeling

Postbus 17, 8200 AA Lelystad

stowa

Stichting Toegepast Onderzoek
Waterbeheer

Postbus 8090, 3503 RB Utrecht



FUNDAMENTEEL ONDERZOEK VERMINDERING SLIBPRODUKTIE

auteur(s):

VU-Amsterdam:

dr.ir. B.W. Kooi
dr. H.W. van Verseveld
prof.dr. S.A.L.M. Kooijman

RWZI 2000 94-03

Inhoudsopgave

Voorwoord	3
Dankwoord	4
Samenvatting	5
Rapportages	7
1 Inleiding	11
2 Vermindering surplus slibproductie door middel van biomassaretentie	15
2.1 Aerobe behandeling van synthetisch en stedelijk afvalwater in laboratorium- schaal recyclingreactoren met 100% biomassaretentie	15
2.2 Aerobe zuivering van stedelijk afvalwater in een proefopstelling met 100% biomassaretentie door middel van "cross flow" filtratie	16
2.3 Ontwikkeling van een nieuwe methode voor de bepaling van nitrificatieca- paciteiten van zuiveringsinrichtingen	24
2.4 Ammonia-oxidatie en moleculaire stikstofproductie	27
2.5 Residuele substraatconcentraties in continue cultures en het effect op mo- delvorming	28
3 Biologische slibverwerking	31
3.1 Effecten van protozoën op koolstofmineralisatie in actief slib	31
3.2 Mathematische modellen	33
3.2.1 Algemeen	33
3.2.2 Mathematische modellen voor rioolwaterzuiveringsinrichtingen . . .	38
3.3 Experimenten	41
3.3.1 Experimenten met en individumodellen voor ciliaten	41
3.3.2 Experimenten met en individumodellen voor wormen	43
3.3.3 Experimenten in een twee-traps chemostaat	44
3.3.4 Experimenten in een één-traps chemostaat	48
3.4 Bemonstering	51
3.4.1 Wormen in RWZI's en hun effect op de zuivering	51
4 Conclusies en suggesties voor toekomstig onderzoek	55
5 Referenties	61

Voorwoord

De problematiek rond de nuttige afzet van zuiverings-slib heeft binnen het RWZI 2000 onderzoekprogramma ruim aandacht gekregen. Naast kwaliteitsverbetering van zuiverings-slib kan de omvang van het probleem worden verkleind door het volume van de hoeveelheid slib, die vrij komt, te beperken. Enerzijds door het drogestofgehalte van het gevormde zuiverings-slib te verhogen door een verbeterde ontwatering, anderzijds door een verminderde produktie van slib bij het zuiveren van rioolwater. Vanuit twee invalshoeken (de fysiologische en ecologische aanpak) is in dit fundamentele onderzoek nagegaan in hoeverre een verminderde slibproduktie kan worden verkregen bij behoud van zuiveringscapaciteit en -rendement. De fysiologische aanpak streeft door veranderingen in de procesvoering (biomassaretentie) er naar bacteriën te selecteren, die een hogere onderhoudsenergie nodig hebben, waardoor minder organische stof over blijft voor de groei. Dit resulteert in een lagere slibproduktie. De ecologische aanpak maakt gebruik van het energieverlies dat optreedt bij de overgang van de verschillende stappen in de voedselketen. Het slib wordt biologisch verder verwerkt door het introduceren van slib-etende organismen, die door deze consumptie energie (en dus biomassa) in de vorm van CO₂ kwijt raken.

Het onderzoek is uitgevoerd door de werkgroepen Theoretische Biologie en Microbiële Fysiologie van de Vrije Universiteit te Amsterdam in samenwerking met TNO-MW te Delft. De projectgroep bestond uit ir. D.H. Eikelboom (TNO-MW), dr.ir. B.W. Kooi, prof.dr. S.A.L.M. Kooijman, prof.dr. A.H. Stouthamer, dr. H.W. van Verseveld, drs. P.J.M. Bruijn (01/89 - 10/89), drs. E.B. Muller (12/89 - 12/93) en drs. C.H. Ratsak (12/89 - 12/93), allen werkzaam bij de VU.

Bij de uitvoering van het onderzoek werd de projectgroep begeleid door een commissie bestaande uit ir. C. Kerstens (Zuiveringsbeheer Provincie Groningen), ir. C. van Beersum (RIZA, tot 01/90), drs. N. Boots (STW), ir. A.J.M.L. Borghans (Gist-brocades tot 01/90), ir. E. Eggers (DHV Water B.V.), ir. B.A. Heide (TNO-MW), prof.dr.ir. J.J. Heijnen (TU-Delft), ir. S.S.J. Houtman (NOVEM, vanaf 05/93), drs. M.E. Ikelaar (NOVEM, tot 05/93), dr. R. Mulder (01/90 - 01/92), ing. G.B.J. Rijs (RIZA, vanaf 01/90), ir. P.C. Stamperius (STOWA), ir. W. van Starckenburg (RIZA, tot 01/92) en ir. B. Versprille (Biothane Systems Int., vanaf 01/92).

Dit onderzoekproject is mede mogelijk gemaakt door financiering vanuit de Stimuleringsregeling "Milieutechnologie" (projektnr. 15110-0810) van de Ministeries van VROM, V&W en LNV, en vanuit de stimuleringsregeling "Collectief bedrijfsgericht technologische onderzoek" van TNO en door een eigen bijdrage van de Vrije Universiteit.

Lelystad, september 1994

Voor de Stuurgroep RWZI 2000

prof.dr. J. de Jong

Dankwoord

Een viertal VU doctoraal-studenten hebben onder begeleiding van E. Muller en mw.C. Ratsak een aantal deel-problemen bewerkt, namelijk mw.K. Maarsen, mw.K. Karsten, R.van den Boogaard en mw.R. Horvers. Vanuit TNO-MW werd het project technisch ondersteund door E. Kats, P.J.M. van Kessel, J. Oskam en H.J. Wijngaarden.

Samenvatting

Dit rapport beschrijft het onderzoek verricht naar de biologische achtergronden van het zuiveringsproces in RWZI's. Het gaat hier om een vijfjarig laboratorium onderzoek in combinatie met wiskundige modelvorming en onderzoek op semi-praktijk schaal met Delft's rioolwater.

In het ideale geval zouden organische stoffen die bij een RWZI ter afbraak worden aangeboden, door micro-organismen moeten worden omgezet in kooldioxide, stikstof, water en fosfaat. De eerste twee componenten verlaten de RWZI als gas, de laatste zou opnieuw gebruikt kunnen worden. In de praktijk echter, worden als ongewenst bijproduct ook heel wat micro-organismen, surplusslib, geproduceerd. Deze groeiende produktie van surplusslib vormt een probleem, zowel voor het milieu als in financiële zin. (De meest voor de hand liggende verwerkingsmethode van slib is verbranding, die ruwweg zo'n fl 550 per ton droge stof kost.) Dit is de motivatie geweest van onderzoek naar de mogelijkheden afvalwater te zuiveren zonder surplusslib te produceren. Het onderzoek is vanuit twee invalshoeken verricht.

In de eerste benadering (de fysiologische aanpak) wordt voorkomen dat het slib samen met het water de reaktor verlaat. Op deze wijze hoopt het slib zich op in de reaktor, biomassa-retentie, zodat de beschikbare hoeveelheid substraat (organische stof) per micro-organisme afneemt. Organismen gebruiken substraat voor hun onderhoudsbehoefte en voor groei. Die onderhoudsbehoefte laat zich vertalen in een energetische behoefte waarin het organisme voorziet door organische stoffen te oxyderen. Door het aanbod van organische stof aan het organisme zodanig te verlagen dat er weinig of niets meer overblijft om van te groeien, benaderen we de situatie waarin alleen nog energieaanbod overblijft voor de onderhoudsbehoeften, de ideale zuiveringssituatie.

In dit onderzoek is ervoor gekozen de biomassa met membranen binnen de reaktor te houden. Het was mogelijk om een 600 liter reaktor, gevoed met voorbezonden huishoudelijk afvalwater, een vol jaar te laten draaien zonder surplusslibproductie. De omzetting van organisch koolstof naar kooldioxide was 50% hoger dan in een vergelijkbare conventionele reaktor. Meer dan 90% van de organische koolstof werd gemineraliseerd. De nitrificatiecapaciteit van beide reaktoren was even groot. Ongeveer 40% van de toegevoerde stikstof werd in de membraanreaktor gedenitrificeerd. Kennelijk zijn er toch nog veel zuurstof-arme plekjes in de reaktor. Aan de hand van aanvullende laboratoriumexperimenten is vastgesteld dat ook nitrificerende organismen (dus onder aerobe omstandigheden) in staat zijn stikstof te produceren. Er was nauwelijks sprake van ophoping van mineraal slib en van schadelijke elementen, die het zuiveringsproces zouden kunnen verstoren.

De tweede benadering (de ecologische aanpak) om de surplusslibproductie zo laag mogelijk te maken is om de bruto produktie van surplusslib biologisch te verwerken. Als het ene organisme het andere opeet, wordt slechts een deel van de organische koolstof uiteindelijk in het etend organisme ingebouwd. Een deel verlaat het organisme als faeces (organische stof), een ander deel wordt 'verademd' tot kooldioxide. In conventionele RWZI's worden de organische stof afbrekende bacteriën vrij intensief begraasd door ciliaten (zoals pantoffeldiertjes, dit zijn ééncellige organismen die vooral vrijzwevende bacteriën eten, en in mindere mate ook aan vlokken 'knabbelen'), raderdiertjes (een soort zeer kleine 'worm-

pjes' die vooral de vrijzwevers met hun rader wegfilteren), draadwormen (nematoden of aaltjes) en borstelwormen (oligocheaten, zoals de waternimf *Nais*), die vooral vlokken eten. Uit de literatuurstudie blijkt dat ciliaten de vrijzwevende bacteriën verwijderen, zodat het effluent helder wordt; ze verhogen de bezinkbaarheid van het overblijvende slib. Ze stimuleren de substraatopname door bacteriën door het veroorzaken van waterturbulentie-op-microschaal, door uitscheiding van groei-stimulerende stoffen, en vooral door het vrijmaken van fosfaat en ammonia uit hun voedsel (bacteriën), dat weer ten goede komt aan de groei van de bacteriën.

Met behulp van wiskundige modellen is nagegaan wat het effect is van beheersmaatregelen op het begrazingsproces. Er is daarbij gebruik gemaakt van de door Kooijman ontwikkelde Dynamische Energie Budget theorie. Daarmee is het mogelijk gebleken een goede beschrijving te geven van het vaak grillige gedrag in voedselketens. Deze theorie start met een beschrijving van het eet-, groei- en reproductiegedrag van afzonderlijke individuen. Dit is voor kleine organismen natuurlijk niet zo gemakkelijk experimenteel te onderzoeken. In het geval van bacteriën moet deze informatie op indirecte wijze worden afgeleid uit het gedrag van populaties. In het kader van dit project zijn bij ciliaten en wormen metingen gedaan aan individuen. Deze meetwaarden werden gebuikt om de parameters van het model te schatten en om het aantal en de soort parameters te selecteren. Daarmee zijn de consequenties van verschillende individuummodellen op het dynamisch gedrag van de populatie, waar de individuen deel van uitmaken, theoretisch onderzocht.

In een twee- en een één-traps chemostaat opstelling is de dynamica van voedselketens onderzocht. Er is aangetoond dat in een extra begrazingsstap van ciliaten op bacteriën inderdaad een substantiele hoeveelheid koolstof extra gemineraliseerd kan worden.

Er werd in de RWZI van Deventer een jaar lang bijgehouden hoe het aantal waternimfen (*Nais elinguis*) verliep in de aeratietanks. Als er veel wormen waren, was er weinig surplusslib dat moest worden afgevoerd. Hier wordt in de praktijk het belang van begrazing voor de onderdrukking van slibproductie gedemonstreerd. Soms worden deze dieren echter zo algemeen dat ze te veel bacteriën opeten en het zuiveringsproces storen.

De kunst van het zuiveren van afvalwater zonder surplusslib te produceren is dus het reguleren van de begrazingsactiviteit, mogelijk door de begrazingsstap in een andere reaktor onder te brengen dan de zuiveringsstap.

Rapportages

Proefschriften:

- Muller, E.B. 1994 Sludge production and treatment performance at complete sludge retention.
- Ratsak, C.H. 1994 The use of grazers to reduce sludge production in sewage treatment plants.

Publicaties:

- Eikelboom, D.H., Stouthamer, A.H., Verseveld, H.W. van en Muller, E.B. 1993 High performance bioreaktor; a physiological approach to wastewater treatment with complete sludge retention. TNO report IMW-P 93/051. Japan-Dutch Workshop Integrated Sewage Treatment., 16-23 okt 1993
- Kooijman, S.A.L.M. 1989 Vermindering van slibproductie. *H₂O*: 22 (22): 684
- Maarsen, K. 1993 Effecten van protozoën op koolstofmineralisatie in actief-slib. Werkdocument RWZI 2000 92-02W
- Muller, E.B. 1992 Vermindering van slibproductie door biomassaretentie: Afronding van het basisonderzoek. Handleiding voor praktisch werk
- Muller, E.B., Kooijman, S.A.L.M., Verseveld, H.W. van en Stouthamer, A.H. 1991 A physiological approach to wastewater treatment with complete sludge retention. Netherlands/Japan Workshop 'Municipal Waste water treatment', 9-11 april 1991
- Ratsak, C.H., Kooijman, S.A.L.M., Verseveld, H.W. van en Stouthamer, A.H. 1991 Bactivorious grazers: A way to reduce sludge production. Netherlands/Japan Workshop 'Municipal Waste water treatment', 9-11 april 1991
- Kooijman, S. A. L. M., Muller, E. B., en Stouthamer, A. 1991. Microbial dynamics on the basis of individual budgets. *Antonie van Leeuwenhoek*, 60, pp. 159-174
- Ratsak, C. H., Kooijman, S. A. L. M., en Kooi, B. W. 1993. Modelling the growth of an oligocheate on activated sludge. *Wat. Res.*, 27(5), pp. 739-747
- Ratsak, C.H., Kooi, B.W., en Verseveld, H. W. van 1993. First international specialized conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. In *Biomass reduction and mineralization increase due to the ciliate Tetrahymena pyriformis grazing on the bacterium Pseudomonas fluorescens* (pp. 119-128).: First International Specialized Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes, September 27-28 1993, Paris
- Verseveld, H.W. van, Muller, E.B., Ratsak, C.H. en Kooijman, S.A.L.M. 1992 Onderzoek vermindering slibproductie bij aerobe zuivering van stedelijke afvalwater. *Waterschapsbelangen* (8) 305-309
- Willems, J. 1990 Biologische waterzuivering: Magere veelvraten gezocht. Trouw woensdag 27 juni 1990, pagina 16
- Kooijman, S.A.L.M., Kooi, B.W., Verseveld, H.W. van, Ratsak, C.H., Muller, E.B. en

Eikelboom, D.H. 1994. Afvalwater zuiveren zonder slib te produceren. Land+Water, augustus 1994.

De volgende publikaties zijn in directe relatie met dit onderzoek door de vaste staf geschreven:

- Kooijman, S.A.L.M., Muller, E.B. en Stouthamer, A.H. 1991. Microbial dynamics on the basis of individual budgets. *Antonie van Leeuwenhoek* 60: 159-174.
- Kooijman, S.A.L.M. 1992. Biomass conversion at population level. In: DeAngelis, D.L. en Gross, L.J. *Individual based models; an approach to populations and communities*. Chapman en Hall: 338-358.
- Kooijman, S.A.L.M. 1993. *Dynamic Energy Budgets in Biological Systems. Theory and applications in ecotoxicology*. Cambridge University Press, pp 350.
- Stouthamer, A.H. en Kooijman, S.A.L.M. 1993 Why it pays for bacteria to delete disused DNA and to maintain megaplasmids. *Antonie van Leeuwenhoek* 63: 39-43.
- Kooi, B.W. en Boer, M.P. 1994. Discrete and continuous time population models, a comparison concerning proliferation by fission. In: Auger, P. en Demongeot, J. (eds) *Proc 2nd ESMTB, Lyon, 15-17 dec 93*. (subm.)
- Kooi, B.W. en Kooijman, S.A.L.M. 1994. Existence and stability of microbial prey-predator systems. *J. Theor. Biol.* (to appear)
- Kooi, B.W. en Kooijman, S.A.L.M. 1994. The transient behaviour of food chains in chemostats. *J. Theor. Biol.* (to appear)
- Kooi, B.W. en Kooijman, S.A.L.M. 1994. Many limiting behaviours in microbial food chain. In: Arino, O., Kimmel, M. en Axelrod, D. (eds) *Conf. Proc. 3rd Internat. Conf. Math. Pop. Dyn., Biological Systems*. Wuerz (to appear)
- Kooijman, S.A.L.M. 1994. Individual based population modelling. In: Grasman, J. en Straten, G. van (eds): *Predictability and Nonlinear Modelling in Natural Sciences and Economics*. Kluwer Publishing, Dordrecht (to appear)
- Kooijman, S.A.L.M. en Kooi, B.W. 1994. Catastrophic behaviour of myxamoebae. (subm.)

Lezingen en posters:

- 'Vermindering van de slibproductie' lezing door Kooijman, NVA-Symposium RWZI 2000 Toekomstige generatie rioolwaterzuiveringsinrichtingen. Congrescentrum de Reehorst, Ede, 5 okt 1989
- 'A physiological approach to wastewater treatment with complete sludge retention' door Stouthamer, Netherlands/Japan Workshop, 10 april 1991
- 'Bactivorous grazers: A way to reduce sludge production' lezing door Kooijman, Netherlands/Japan Workshop, 11 april 1991
- 'Bactivorous grazers: A way to reduce sludge production', poster door Ratsak, 4th Netherlands Biotechnology Congress, de Rai, Amsterdam, 20-21 febr. 1992

- 'Minimization of activated sludge production with complete ammonia removed in a recycling fermentor fed with domestic waste water', poster door Muller, 4th Netherlands Biotechnology Congress, de Rai, Amsterdam, 20-21 febr. 1992
- 'Methoden voor de reductie van slibproductie in zuiveringsinstallaties' lezing door van Verseveld, studiedag van het Nederlands Studie Centrum, Amsterdam, 1992
- 'Biomass reduction and mineralization increase due to the ciliate *Tetrahymena pyriformis* grazing on the bacterium *Pseudomonas fluorescens*' lezing door Ratsak, 1st Int. Specialized Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes, Parijs, 27-30 sept. 93
- 'High performance bioreaktor; a physiological approach to wastewater treatment with complete sludge retention' lezing door Eikelboom, Japan-Dutch Workshop Integrated Sewage Treatment., 16-23 okt. 1993

1 Inleiding

In het kader van het RWZI 2000 programma "toekomstige generatie rioolwaterzuiveringsinrichtingen" van RIZA-STOWA en van de stimuleringsregeling Milieutechnologie van VROM, is subsidie verleend aan het samenwerkingsverband TNO-MW (destijds MT-TNO, respectievelijk IMW-TNO geheten, maar thans genoemd TNO-Milieu Wetenschappen) en de Vrije Universiteit (VUA, afdelingen Microbiële fysiologie en Theoretische Biologie van de faculteit Biologie) in de periode 1 jan 1989 tot 1 okt 1993 om onderzoek uit te voeren naar de reductie van de slibproductie zoals die optreedt bij de zuivering van stedelijk huishoudelijk afvalwater.

De biologische reiniging van stedelijk afvalwater is nationaal en internationaal een omvangrijke activiteit met een aanzienlijke omzet. De activiteit is zelfs nog steeds groeiende aangezien het aantal op een riolering aangesloten huishoudens toeneemt alsmede het aandeel van het aangeboden afvalwater, dat daadwerkelijk wordt gezuiverd. Bij de zuivering ontstaat slib, dat niet langer in de landbouw afgezet kan worden en dus moet worden gestort of verbrand. Aan het storten en verbranden van slib zijn tal van milieu-problemen verbonden, maar ook de kosten worden veel hoger.

Dit is de motivatie om onderzoek te doen naar de mogelijkheden om de slibproductie te beperken. Zoals de titel van het project aangeeft, gaat het in eerste instantie om een scherp inzicht te krijgen in de biologische achtergronden van deze mogelijkheden, opdat in een later stadium technologisch optimaal hiervan gebruik kan worden gemaakt. Een belangrijke belemmering voor het verkrijgen van dit inzicht is dat het toegeleverde substraat (organische stof) en de biomassa (zuiveringsslib) verre van constant zijn in samenstelling en hoeveelheid en dat de omstandigheden (temperatuur, pH, doorstroomsnelheid, etc) ook sterk wisselen. Deze ongedefinieerdheid van het uitgangsmateriaal en de wisseling van omstandigheden doen afbreuk aan elementaire wetenschappelijke beginselen van herhaalbaarheid, standaardisatie en eenvoud. Vaak is het niet mogelijk om eenvoudige proeven te doen, die wel recht doen aan deze beginselen en bovendien relevant zijn. Eén van de oorzaken is dat in microbiële samenlevingen, zoals die in een rioolwater-zuiveringsinrichting (RWZI), het ene soort micro-organismen leeft van de produkten van een ander, zodat proeven met 'rein-kulturen' snel hun relevantie kunnen verliezen.

Idealiter zouden organische stoffen die bij een RWZI ter afbraak worden aangeboden moeten worden omgezet in CO_2 , N_2 en andere anorganische componenten (mineralisatie). Twee belangrijke fysiologische processen, die energieverlies met zich meebrengen en hierdoor bijdragen aan de mineralisatie, zijn het onderhoudsproces voor de instandhouding van de biomassa (zuiveringsslib) en de omzetting van substraat (organische stof) naar biomassa (zuiveringsslib), of van de ene vorm van biomassa naar de andere (predatie), die minder dan 100% efficiënt zal zijn.

Het lijkt onmogelijk de omstandigheden in een RWZI zodanig te beïnvloeden dat micro-organismen geselecteerd zullen worden met een lage groeiopbrengst. Dit wordt veroorzaakt door het feit dat in de gebruikelijke RWZI bij de gevolgde werkwijze een populatie wordt geselecteerd, die een lage behoefte aan onderhoudsenergie vertoont en die een hoge omzettingsefficiëntie van substraat naar biomassa heeft. Deze organismen zijn immers het meest concurrentiekrachtig in een reactor; een lage omzettingsefficiëntie gaat gepaard met een

lage groeisnelheid, zodat deze organismen verdrongen worden door de snelle groeiers, die een hoge omzettingsefficiëntie hebben.

Er is een tweetal routes gevolgd om dit probleem op te lossen. De eerste route (de fysiologische aanpak) betreft de biomassaretentie, zie (Verseveld *et al.*, 1984; Verseveld *et al.*, 1986). Hierbij wordt de verblijftijd van het water ontkoppeld van die van de biomassa. Dit kan in principe op verschillende manieren gebeuren. Eén interessante mogelijkheid is met behulp van vaste dragers, zoals bijvoorbeeld (steen)korrels of sponsjes, die met een grof filter in de reactor worden gehouden. Doordat een belangrijk deel van de biomassa zich vastzet op deze drager, wordt hiermee dus meteen ook de biomassa in de reactor gehouden. Een voordeel van dit systeem is dat volstaan kan worden met een grof filter, dat goedkoop is, bedrijfszeker werkt en weinig onderhoud vergt. Een nadeel is dat de vrijzwevende biomassa wel gewoon met het water mee wordt afgevoerd en, indien de biomassa-laag op de drager te dik wordt en de kern begint af te sterven, de laag kan loslaten en alsnog uitspoe-len. In dikke lagen biomassa kan al gauw een anaërobe situatie ontstaan die ongewenst is. Deze mogelijkheid is binnen dit project niet verder onderzocht. Het onderzoek heeft zich geconcentreerd op biomassaretentie met behulp van een membraan. Een voordeel van deze methode is dat alle biomassa wordt binnengehouden, maar een nadeel is de hoge kosten; de methode is minder bedrijfszeker en ze vergt meer onderhoud. Parallel aan dit onderzoek heeft onderzoek door de RUG plaatsgevonden naar de technische en financiële aspecten van deze vorm van biomassaretentie, zie (Dolfing & Witholt, 1991). In het onderhavige onderzoek zijn vooral de biologische aspecten onderzocht.

Door alle biomassa binnen de reactor te houden hoopt de biomassa zich op, zodat de substraattoevoer (lees organische-stoftoevoer) per eenheid biomassa gering wordt. Het idee is dat de micro-organismen prioriteit geven aan onderhoudsprocessen ("maintenance") boven produktieprocessen (vooral groei). De cel-fysiologische basis van deze onderhoudsprocessen is overigens nog slecht begrepen. Twee belangrijke elementen zijn het in stand houden van concentratie-gradiënten over membranen en het afbreken en opnieuw weer opbouwen van enzymen. Dit laatste is nodig omdat de werking van enzymen bepaald wordt door de ruimtelijke structuur van de enzymen. Deze structuur wordt, afhankelijk van het enzym vooral bepaald door waterstof-bruggen die gemakkelijk (spontaan) verbroken kunnen worden. Dit heeft als resultaat dat een enzym al heel gauw zijn werk niet meer goed doet, waardoor het moet worden vervangen.

Een probleem bij deze methode van vermindering van groei is dat de delingstijd van een cel dus erg lang wordt. Dit kan nadelige gevolgen hebben voor de fysiologische activiteit van de cel. Eén mechanisme loopt via de activiteit van vrije radicalen, die het DNA aantasten. Dit mechanisme ligt mogelijk ook ten grondslag aan het verouderingsproces, zoals dat zich voordoet bij dieren. De achtergronden van dit proces zijn uitgewerkt (Kooijman, 1993). De praktische relevantie wordt duidelijk als men zich realiseert dat normaal minder dan 50% van de biomassa in een typische RWZI fysiologisch actief is. Een deel van de oorzaak hiervan kan overigens gelegen zijn in de bedrijfsvoering waar bezinken en terugvoeren van biomassa plaatsvindt. Een ander aspect van de reductie van de substraattoevoer naar de cel is dat de cel fysiologisch totaal van gedrag kan veranderen en in een toestand komt van "stringent response". Er is nog veel onbekend over de oorzaken van deze verandering en ook over wat de verandering nu precies inhoudt. Het algemene idee is dat de cel in

een soort "noodtoestand" komt, waarin tal van "repair"-processen extra intensief plaatsvinden. Aangezien deze processen veel energie kosten, verbruikt de cel dus geheel tegen de intuïtie in extra energie, die dus niet ten goede kan komen aan produktie-processen. Wellicht is het zo dat deze "stringent response" te maken heeft met het zojuist genoemde "verouderings"-proces, maar deze suggestie is op dit moment nog erg speculatief. Wel is het zo dat de omstandigheden waaronder beide processen naar verwachting een belangrijke rol spelen een grote mate van overeenkomst vertonen. Een probleem dat zich voordoet bij de biomassaretentie met behulp van membranen is dat er een behoorlijke drukval over het membraan moet worden aangelegd om voldoende debiet te halen. Dit is lethaal voor alle eukaryoten (de niet-bacteriën, zoals ééncelligen, raderdiertjes, etc, die normaal zeer algemeen zijn in RWZI's). Het nadeel hiervan wordt duidelijk uit de tweede route (de ecologische aanpak) die gevolgd is om te komen tot een reductie van de slibproduktie.

Deze route komt erop neer dat het slib biologisch wordt verwerkt. De omzetting van de ene vorm van biomassa naar de andere is namelijk verre van efficiënt, hetgeen resulteert in een verlies aan energie en een vrijkomen van CO₂. We kunnen hiervan gebruik maken door het slib te laten eten ("begrazen") door alles wat daartoe geneigd is, zoals flagellaten, ciliaten, raderdiertjes en borstelwormen. Deze laatste worden wetenschappelijk aangeduid met de term oligochaeten. De meest bekende is de regenworm uit deze groep, maar meer relevant is tubifex. De vertegenwoordigers uit de groep waar het hier om gaat, *Nais* en *Eleosoma*, zijn veel kleiner, maar ook veel algemener. Andere, niet verwante maar toch belangrijke "wormen", zijn de zogenaamde draadwormen of nematoden. Genoemde organismen zijn doorgaans niet erg kieskeurig en eten ten dele ook elkaar op. Ze komen van nature regelmatig in grote aantallen voor in RWZI's, vooral als de zuurstofspanning voldoende hoog is. Waar ze ongelimiteerd groeien, vormen ze soms een probleem omdat ze al het slib opeten, zodat de installatie niet meer goed zuivert. Het idee is om de begrazing dus in de hand te houden, mogelijk door de zuiveringsstap van de slib-verwerkingsstap ruimtelijk te scheiden door ze in verschillende reactoren onder te brengen.

Dit brengt ons op de modelvorming voor de afbraak van organische stof, de groei van de microbiële biomassa en van predatoren hierop. Bij het zoeken naar bestaande en veel gebruikte modellen valt op dat het model van Monod erg populair is. Het IAWPRC-model (Henze *et al.*, 1986) berust hierop. Een karakteristiek van dit model is dat opname van substraat rechtstreeks evenredig wordt genomen aan de groei, zodat het ten ene male ongeschikt is voor het huidige doel, waar onderhoudsprocessen een belangrijke rol spelen: substraatopname en groei moeten juist worden ontkoppeld. Het model van Marr en Pirt voorziet hierin, maar met dit model doen zich in de huidige toepassing nog een paar andere problemen voor: de chemische samenstelling van biomassa blijkt af te hangen van de groeisnelheid. Bovendien blijkt het zo te zijn dat biomassa niet onmiddellijk reageert (met veranderingen in groeisnelheid) op veranderingen in het milieu, maar het ijlt wat na. Het bleek dan ook niet mogelijk om gegevens over het gedrag van microbiële voedselketens met Monod- of het Marr-Pirt- model te beschrijven. Hiervoor was het nodig om zowel voor onderhoud als intra-cellulaire voorraden (reserves) in het model op te nemen. Deze combinatie lijkt ook essentiël voor het begrijpen van verschuivingen in biomassa-samenstellingen, met name van de vlok-vormers naar de draad-vormers. Dit is voor de afvalwater-zuivering erg relevant in verband met de lichtslib-problematiek die door

de draadvormers wordt veroorzaakt.

Hoewel realistisch, brengt de introductie van reserves overigens heel wat problemen met zich mee. Elke maat voor de hoeveelheid biomassa (volume, drooggewicht, organisch-koolstofgehalte) is, bijvoorbeeld, een combinatie van structurele biomassa en reserves, terwijl de groei-potentie en de onderhoudsbehoefte alleen verbonden zijn met de structurele biomassa. Op de één of andere manier moeten beide componenten in de metingen dus uit elkaar getrokken worden. Dit blijkt mogelijk te zijn door gebruik te maken van de wijze waarop de biomassa reageert op veranderingen in het milieu. De vertraging in de reactie biedt houvast voor het onderscheid van beide componenten. Een ander aspect is dat reserves ingewikkelder gedrag van biomassa toelaten, wat terug te vinden is in een groter aantal parameters die van een getalswaarde moeten worden voorzien. Dit bemoeilijkt praktische toepassing. Er is het uiterste gedaan het aantal parameters zo klein mogelijk te houden, juist met het oog op deze praktische toepassingen. Bovendien is, als integraal onderdeel van de Dynamische Energie Budget (DEB) modellering, theoretisch afgeleid hoe de parameterwaarden van verschillende soorten organismen gerelateerd zijn aan de lichaamsgrootte. Dit maakt het mogelijk van een soort "gemiddeld organisme" uit te gaan, wat betreft de keuze van parameterwaarden, en vervolgens deze waarden te corrigeren voor verschillen in lichaamsgrootte, om te komen tot zeer acceptabele parameterwaarden voor alle soorten die deel uitmaken van de levensgemeenschap in een RWZI.

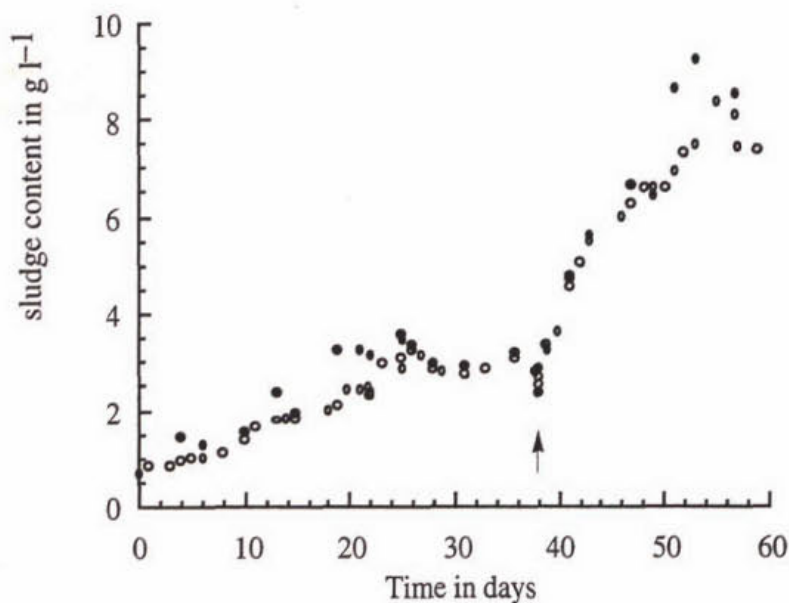
Bij de toepassing van modellen voor micro-organismen op dieren als wormen en raderdiertjes, wordt duidelijk dat er rekening gehouden moet worden met het feit dat biomassa uit een verzameling individuen bestaat en niet een amorfe massa is. Met name blijkt het noodzakelijk rekening te houden met het feit dat de opname evenredig is met het oppervlak van het organisme en dat de onderhoudsbehoefte evenredig is met zijn volume. Dit maakt dus de oppervlakte/volume verhouding van organismen van belang. De vraag deed zich voor of dit ook van belang was voor de micro-organismen zelf. Het is namelijk zeer aantrekkelijk voor alle organismen in een levensgemeenschap hetzelfde model te gebruiken omwille van de eenvoud. Er zijn eenvoudigweg te veel soorten om elke soort apart te nemen. Gedraagt een populatie bestaande uit een klein aantal grote cellen zich wel vergelijkbaar met een populatie bestaande uit een groot aantal kleine cellen. Het is niet moeilijk in te zien dat de gemiddelde celgrootte allesbehalve een constante is. Hoewel het laatste woord hierover zeker nog niet is gezegd, lijkt het ernaar uit te zien dat dit voor micro-organismen die zich in tweeën delen van minder belang is, omdat er (idealiter) slechts een factor twee zit tussen de grootste en de kleinste cel. Voor andere organismen lijkt het in geval van langzame veranderingen in het milieu, mogelijk de structuur van de populatie steeds in evenwicht te beschouwen, zodat deze structuur terecht komt in de omzettings-efficiëntie van substraat (voedsel) naar biomassa. De combinatie van op eenvoudige mechanismen gebaseerde kinetische overwegingen en de toepassing van de massa- en energie-behoudswetten hebben tot tal van nieuwe inzichten op het terrein van de populatiedynamika en de stabiliteit van voedselketens geleid. Hopelijk doet zich nog eens de gelegenheid voor deze kennis in te bouwen in een model als dat van het IAWPRC.

Dit rapport bespreekt eerst het onderzoek naar biomassaretentie, dan naar biologische slib-verwerking, alvorens de conclusies te trekken en enkele suggesties voor toekomstig onderzoek te geven.

2 Vermindering surplus slibproductie door middel van biomassaretentie

2.1 Aerobe behandeling van synthetisch en stedelijk afvalwater in laboratoriumschaal recyclingreactoren met 100% biomassaretentie

Synthetisch en stedelijk afvalwater (Delft) werden gebruikt als voeding van laboratorium recycling reactoren met een werkvolume van 1 liter om de slibproductie te bestuderen bij volledige biomassaretentie. De kwaliteit van de waterzuivering werd gemeten aan de efficiëntie van verwijdering van koolstof en Kjeldahlstikstof. De belasting van de verschillende reactoren bedroeg 24 tot 192 mmol koolstof per liter, per dag (zie Tabel 1). In elk uitgevoerd experiment nam de slibconcentratie toe tot een maximum (zie Figuur 1; dag 0-38). Na ongeveer 2 weken vond in de reactoren gevoed met synthetisch afvalwater een verandering plaats in de populatie als gevolg van lysis van bacteriën, die de competitie voor de substraten (glucose en acetaat) niet meer aankonden. Het eiwitpercentage in het slib was constant (zie Figuur 1), hetgeen inhoudt dat de levensvatbaarheid van de populatie als totaal niet werd aangetast door de gereduceerde slibbelasting.



Figuur 1 Slibconcentratie uitgedrukt als koolstof (○) en eiwit (●) in een cultuur gevoed met synthetisch afvalwater. De pijl geeft aan dat op dat moment (dag 38) de koolstofbelasting 4 maal verhoogd is.

Bij de maximum slibconcentratie werd zo goed als al het substraat gemineraliseerd

Tabel 1 Koolstof- en stikstofverbruik in de reactoren gevoed met synthetisch afvalwater.
 + onbekend door cel-lysis.

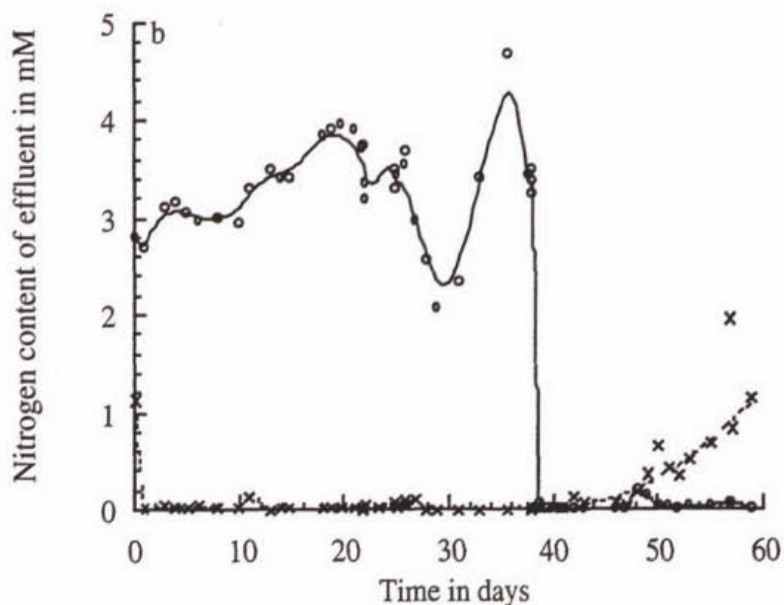
Run	Duur dag	Belasting		Verdeling van koolstof			Verdeling van stikstof		
		Koolstof mmol. l ⁻¹ .dag ⁻¹	Stikstof mmol. l ⁻¹ .dag ⁻¹	Effluent %	Slib %	CO ₂ %	NH ₄ ⁺ %	NO ₃ ⁻ %	Slib %
1	9	24	5	13	18	61	43	22	10
2	27	24	5	8	13	77	11	100	7
3	41	55	11	11	9	74	6	76	5
4a	38	48	10	13	11	76	1	68	7
4b	18	192	10	- ⁺	12	67	8	1	86

tot CO₂. Ook de Kjeldahlstikstof (5 - 11 mmol per liter, per dag) werd altijd volledig verwijderd. Tabel 1 geeft de zuiveringscapaciteiten weer van de vier experimenten met synthetisch afvalwater. Wanneer onder energiegeëlimiteerde condities werd gekweekt, werd alle Kjeldahlstikstof omgezet in nitraat door een nitrificerende populatie. Wanneer echter stikstof in limiterende hoeveelheden werd toegediend, zoals na "shock-loading" met koolstof in experiment 4b (zie Tabel 1), verdrong heterotrofe assimilatie de nitrificerende activiteit, hetgeen binnen een week leidde tot het verlies van nitrificatie en dus waarschijnlijk het verlies van de nitrificerende populatie. Dit is te zien in Figuur 2. Na dag 38 (begin van 4b) stopt de nitraatvorming vrijwel onmiddellijk en verschijnt er ammonia in het effluent, ongeveer op dag 45.

Het experiment uitgevoerd met stedelijk afvalwater bestond uit twee fases. Tijdens de eerste 40 dagen werd het afvalwater voorbehandeld in een hoogbelaste reactor. Vervolgens (tot dag 110) werd deze voorbehandeling weggelaten. Voor de zuiveringskarakteristieken zie Tabel 2. Daar de efficiënties van verwijdering stabiel bleven gedurende tenminste 100 dagen, lijkt het redelijk te concluderen dat 100% biomassaretentie niet uiteindelijk leidt tot een lagere prestatie van de aanwezige biomassa ten gevolge van veroudering.

2.2 Aerobe zuivering van stedelijk afvalwater in een proefopstelling met 100% biomassaretentie door middel van "cross flow" filtratie

Een aerobe proefopstelling voor de zuivering van stedelijk afvalwater met "cross flow" filtratie en een werkvolume van 600 liter is gedurende 300 dagen in bedrijf geweest op het terrein van TNO-MW te Delft. Het hoofddoel van dit semi-praktijk experiment was te bepalen of, net als in de laboratorium experimenten, een gereduceerde slibproductie en een stabiele zuiveringskarakteristiek behaald kan worden in een semi-praktijk installatie. Daarnaast werd als referentie een proefopstelling met ook een werkvolume van 600 liter in



Figuur 2 Nitraat (○) en ammonium (×) gehalte van het effluent van experiment 4b. Op dag 38 is de koolstofbelasting 4 maal verhoogd.

Tabel 2 Koolstof- en stikstofverbruik in een reactor gevoed met stedelijk afvalwater. ND = niet bepaald.

Tijd dag	Gemiddelde belasting		Verdeling van koolstof			Verdeling van stikstof		
	Koolstof mmol. l ⁻¹ .dag ⁻¹	Stikstof mmol. l ⁻¹ .dag ⁻¹	Effluent %	Slib %	CO ₂ %	NH ₄ ⁺ %	NO ₃ ⁻ %	Slib %
0-40	24	5	11	4	90	2	84	3
41-112	42	8	14	8	ND	0	88	7

Tabel 3 Experimentele condities voor de membraanreactor en de conventionele reactor.

Parameter	Membraan reactor	Conventionele reactor
Biomassa retentie	Membraan filtratie	Bezinker
Biomassa (g/l)	toenemend tot 50	2.5 - 3.5
Reactor volume (l)	600	600
Hydraul. verblijftijd (uur)	6 - 10	50
Belasting (kg CZV/m ³ .dag)	1.2 - 2.2	0.28
pH	6.3 - 7.5	6.3 - 7.5
Temperatuur (C)	15 - 24	10 - 22
Zuurstof concentratie (mg/l)	0.5 - 3	2

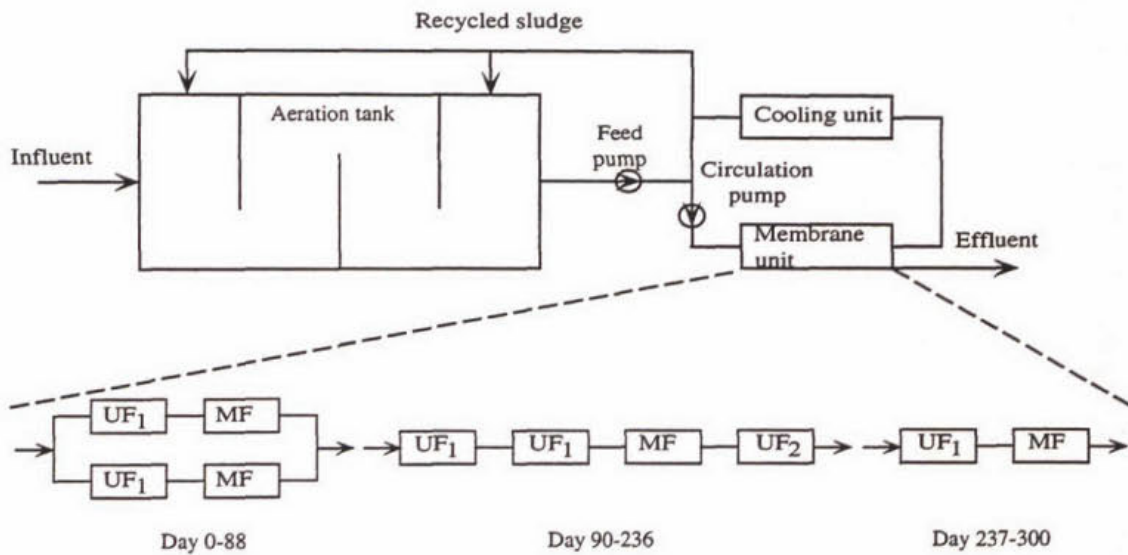
bedrijf gehouden, waarin de waterzuivering op de conventionele manier geschiedde.

Beide reactoren bestonden uit 4 compartimenten (zie Figuur 2). De experimentele condities waren zoals aangegeven in Tabel 3.

De reactoren waren overdekt teneinde zuurstofconsumptie en kooldioxideproductie te kunnen meten. In de conventionele reactor was de volumetrische belasting lager dan in de membraanreactor, vanwege het verwachte verschil in uiteindelijke biomassaconcentratie. De reactoren werden gevoed met voorbehandeld (0.1 mm screening en 1 uur bezinking) huishoudelijk afvalwater uit een woonwijk van Delft. De minimum waarde voor de pH werd gehandhaafd door indien nodig toediening van Natrium-carbonaat. In de membraanreactor fluctueerde de zuurstofconcentratie tussen 0.1 - 1.0 mg/l in het eerste compartiment en 2 - 4 mg/l in het vierde compartiment. Het routine analytisch programma omvatte:

- influent : TOC, Kjeldahl-N en Ammonium-N
- slib: TOC, drooggewicht, as en microscopische beschrijving
- effluent: TOC, Kjeldahl-N, Ammonium-N, Nitriet-N en Nitraat-N
- gasfase: % zuurstof en kooldioxide

“Cross-flow” membraanfiltratie werd gebruikt voor biomassa-retentie in de membraanreactor. De membranen werden geleverd door Stork Friesland B.V.. Wij willen hier benadrukken dat het project niet als doelstelling had het ontwikkelen of optimaliseren van membraanfiltratie voor biologische afvalwaterzuivering. Het bleek dat door frequent optredende verstoppingen etc. van het membraansysteem het moeilijk was het gewenste debiet van meer dan 100 liter/uur te handhaven. Om die reden is de configuratie van het membraansysteem tijdens het experiment tweemaal gewijzigd (zie Figuur 3). De eigenschappen van de gebruikte membraanmodules staan vermeld in Tabel 4. Een gedetailleerde lijst van condities voor beide reactoren staat vermeld in Tabel 5. Ongeveer 80% van het Kjeldahl-N in het influent bestond uit Ammonium-N. Er werd een duidelijk seizoenseffect gevonden,



Figuur 3 Schema van de membraanreactor met "cross-flow" filtratie. De karakteristieken van de membraanfiltratie-eenheden staan vermeld in Tabel 4.

Tabel 4 Karakteristieken van de membraanfiltratie-eenheden. ¹MF-Microfiltratie module, poriëgrootte 0.1 μm ; UF₁-polysulfone ultrafiltratiemodule, cut-off 50.000 voor dextranen; UF₂-Acryl ultrafiltratiemodule, cut-off 800.000 voor dextranen.

Configuratie ¹	Tijd dag	Aantal pijpen per module	Lengte van de pijpen m	Diameter van de pijpen mm	Oppervlakte per module m ²
2 x (UF ₁ -UMF)	1-88	73	2.0	5.2	2.30
UF ₁ -UUF ₁ -UMF-UF ₂	90-236	7	2.0	14.4	0.63
UF ₁ -UMF	237-290	7	3.0	14.4	0.95

Configuratie ¹	Snelheid langs de membranen m.s ⁻¹	Recirculatie snelheid m ³ .uur ⁻¹	Druk over de membraan MPa
2 x (UF ₁ -UMF)	1-2	3-9	0.35; 0.15
UF ₁ -UUF ₁ -MF-UF ₂	± 4	18-22	0.5; 0.4; 0.3; 0.2
UF ₁ -UMF	± 5	18-22	0.3; 0.2

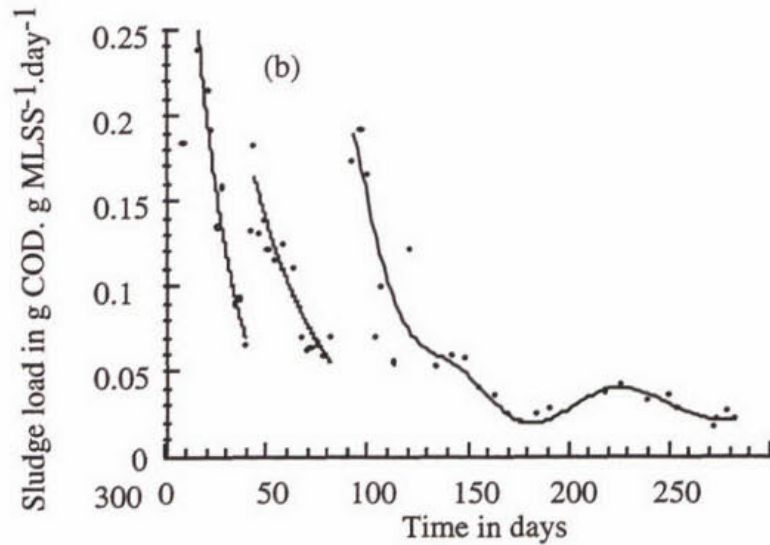
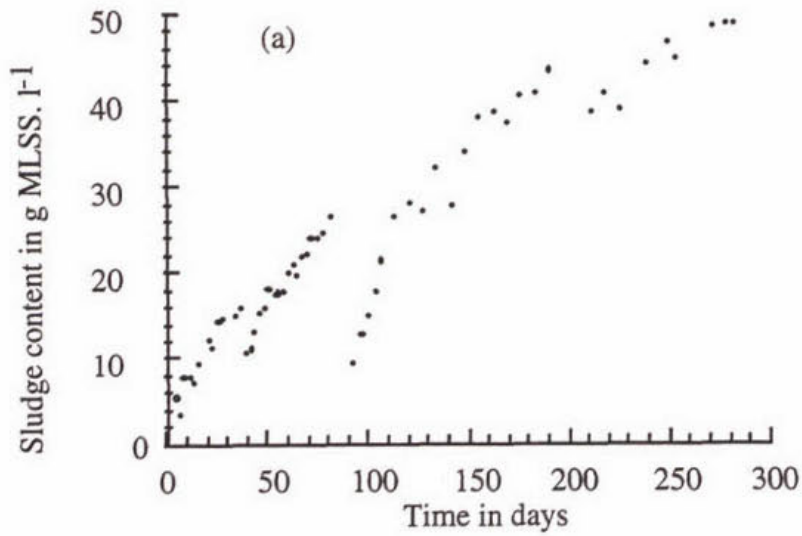
Tabel 5 Karakteristieken van de reactor met cross flow filtratie (Memb. reactor) en de conventionele reactor (Conv. reactor).

Tijd dag	HRT uur	C-belasting mmol.l ⁻¹ . dag ⁻¹	N-belasting mmol.l ⁻¹ . dag ⁻¹	T °C	pO ₂ in eerste compartiment mg.l ⁻¹	pO ₂ in laatste compartiment mg.l ⁻¹
Memb. reactor						
0-35	7.4	44.7	20.6	21.4	1.3	2.8
43-82	7.7	37.4	16.1	23.0	1.4	3.6
93-112	6.6	44.5	21.1	22.4	0.7	1.6
113-162	6.6	38.2	16.8	19.7	1.1	1.7
163-220	7.1	23.8	11.2	18.0	0.6	4.3
221-270	9.9	28.0	13.5	19.1	0.8	4.6
271-300	14.8	19.5	8.5	22.7	0.9	3.1
Conv. reactor						
0-35	48.3	7.4	3.4	20.7	≥ 3.0	≥ 3.0
43-82	50.5	6.4	2.7	16.3	≥ 3.0	≥ 3.0
93-270	50.0	5.3	2.5	11.7	≥ 9.0	≥ 9.0

hetgeen hoofdzakelijk werd veroorzaakt door extreme regenval in de laatste maanden van 1992 (dag 160 tot 220). Tijdens droog weer werd in het influent een TOC en Ammonium-N concentratie gevonden van respectievelijk 150-200 mg C/l en 60-90 mg N/l. Over de gehele meetperiode was de gemiddelde TOC waarde 141 mg C/l.

De experimenten duurden zeer lang en de groeicondities voor de zich ontwikkelende biomassa waren variabel. Zodoende werden de resultaten geklassificeerd in verschillende periodes (zie Tabel 5). In het algemeen geldt dat de slibconcentratie in de membraanreactor langzamer toenam naarmate het experiment vorderde (zie figuur 4a).

De snelheid van biomassatoename was evenredig met de slibbelasting, zoals duidelijk valt te zien bij vergelijking van Figuur 4a met 4b. Bij een gemiddelde slibbelasting van 0.021 g CZV.g MLSS⁻¹.dag⁻¹ (MLSS staat voor Mixed Liquor Suspended Solids) was de biomassa toename zeer laag, zoals valt te zien tussen dag 163 en 220 en tussen dag 271 en 300 in Figuur 4. Voor een verdeling van koolstof en stikstof over de verschillende compartimenten zie Tabel 6. Tabel 7 toont de chemische samenstelling van het slib en de capaciteit voor nitrificatie. Het asgehalte in de membraanreactor neemt slecht zeer weinig toe, hoewel hiervoor tevoren bezorgdheid was geuit door de begeleidingscommissie. Tabel 8 toont de hoeveelheid spore-elementen in het influent en in het slib van beide reactoren aan het eind van het experiment. Het is duidelijk dat Tabel 8 geen aanwijzingen geeft voor ophoping van schadelijke spore-elementen, die een negatieve invloed zouden kunnen hebben op het



Figuur 4 a: Ontwikkeling van de slibconcentratie in de membraanreactor met 100% biomassaretentie. Op dag 36 en 83 is er slib verloren door respectievelijk lekkage in de membranen en schuimvorming. b: Slibbelasting in de membraanreactor.

Tabel 6 Verdeling van influent koolstof en stikstof in de membraanreactor en de conventionele reactor. ND = niet bepaald.

Tijd dag	Verdeling van koolstof				Verdeling van stikstof			
	Effluent %	Slib %	CO ₂ %	Rec. %	Kj-N %	NO ₃ ⁻ %	Slib %	Rec. %
Memb. reactor								
0-35	9.2	26.7	ND	-	7.0	42.1	7.9	57.0
43-82	6.8	31.8	ND	-	2.8	58.2	10.0	71.0
93-112	7.1	60.9	ND	-	4.4	49.9	17.6	71.8
113-162	6.2	26.0	67.3	99.5	2.9	59.4	8.1	70.5
163-220	8.4	5.5	113.8	127.7	1.6	68.6	1.6	71.9
221-270	4.3	19.5	92.5	116.3	0.5	57.9	5.5	63.8
271-300	6.8	5.6	99.8	112.2	0.0	86.2	1.8	88.0
Conv. reactor								
0-35	10.0	22.2	ND	-	9.6	63.3	7.2	80.1
43-82	7.5	35.1	ND	-	4.1	73.0	12.2	89.3
93-270	8.3	23.1	ND	-	2.9	65.1	7.4	75.4

prestatieniveau van de membraanreactor. Het slib van de membraanreactor bevatte iets meer Cd, Cr en Ni en minder Ca, K, Mg, As, Ag en Hg dan het slib van de conventionele reactor. Groot verschil tussen de membraanreactor en de conventionele reactor was het voorkomen van een dichte suspensie van vrije cellen, zeer kleine vlokken ($<50 \mu\text{m}$), en vlokfragmenten in de membraanreactor, waardoor het slib niet wilde bezinken. Protozoa en metazoa werden niet in de membraanreactor waargenomen. De conventionele reactor daarentegen bevatte stevige compacte vlokken ($100-1000 \mu\text{m}$) en veel proto- en metazoa. Ondanks de opvallende verschillen in slib tussen beide reactoren was de nitrificatiecapaciteit in beide reactoren redelijk constant rond $0.2 \text{ mmol N.g MLSS}^{-1} \cdot \text{uur}^{-1}$ bij 30°C , hetgeen aangeeft dat de hoeveelheid nitrificeerders in het slib van de membraanreactor ongeveer gelijk is aan de hoeveelheid in een conventionele reactor bij lage belasting. Kjeldahlstikstof werd dan ook bevredigend verwijderd in de membraanreactor en er is aangetoond dat de toename aan nitrificeerders evenredig gebeurde met de toename van de totale biomassa. De levensvatbaarheid van de nitrificerende populatie werd niet aangetast door langdurige substraatlimitatie. Ongeveer 40% van het toegevoerde stikstof in het influent moet zijn gedenitrificeerd (zie Tabel 6). Denitrificatie kon gemakkelijk optreden in de membraanreactor, vanwege de aanwezigheid van een groot aantal micro-aerofiele niches in het systeem (bv. in het eerste compartiment door hoge zuurstofvraag en in het afgesloten membraansysteem).

Koolstofverwijdering in de membraanreactor was op z'n minst even goed als in een

Tabel 7 Samenstelling van het slib en maximale ammonium- en nitrietconsumptiesnelheden bij 30°C in de membraanreactor en de conventionele reactor. ND = niet bepaald.

Tijd dag	As %	Koolstof %	Stikstof %	Fosfor %	nitrificatiecapaciteit	
					mmol NH ₄ ⁺ . g MLSS ⁻¹ .uur ⁻¹	mmol NO ₂ ⁻ . g MLSS ⁻¹ .uur ⁻¹
Memb. reactor						
0-35	20.5	44.6	6.2	2.8	ND	ND
43-82	21.0	40.1	ND	ND	0.18	0.19
93-112	21.6	42.7	7.2	ND	0.25	0.19
113-162	21.7	44.0	ND	ND	ND	ND
163-220	23.6	43.9	7.3	2.6	0.22	0.20
221-270	23.1	ND	ND	ND	ND	ND
271-300	23.5	ND	6.6	2.3	ND	ND
Conv. reactor						
0-35	26.7	38.8	6.2	2.8	ND	ND
43-82	26.6	37.8	6.7	ND	0.17	0.26
93-270	25.4	41.2	7.1	1.8	0.23	0.17

conventionele reactor met een lage belasting. Koolstofmineralisatie tot CO₂ is 50% hoger bij biomassaretentie in de membraanreactor dan in een conventionele reactor, waarbij meer koolstof in biomassa terecht komt en dus moet worden afgevoerd als spuislib.

Er is het volgende geconcludeerd: Vanuit een biologisch standpunt gezien kan de aerobe zuivering van stedelijk voorbezonken afvalwater bij hoge belasting zeer goed uitgevoerd worden in een reactor met 100% biomassaretentie. De slibproductie wordt dan zeer laag en de zuiveringscapaciteit, zowel door heterotrofe als nitrificerende organismen, doet niet onder voor de conventionele manier van zuivering, maar dan bij lage belasting.

Voorwaarde is wel dat het influent wordt voorbehandeld door verwijdering van grote deeltjes (> 0.1 mm) en voorbezinking (1 uur). Geen slibproductie werd geobserveerd bij een slibbelasting van ongeveer 0.03 kg CZV/kg MLSS.dag. Bij deze lage belasting werd 90% van het koolstof in het influent gemineraliseerd tot kooldioxide. 30-40% van het Kjeldahl stikstof werd verwijderd door denitrificatie, dus omzetting in gasvormige N-verbindingen. Denitrificatie werd mogelijk bevorderd door de afname in zuurstofoverdracht tengevolge van de hoge biomassa concentratie in de membraanreactor.

Vanuit een technisch standpunt gezien is de technologie nog niet rijp genoeg voor een op grote schaal toepassen van membranen bij de waterzuivering. De energie- en membraankosten zijn op dit moment nog te hoog.

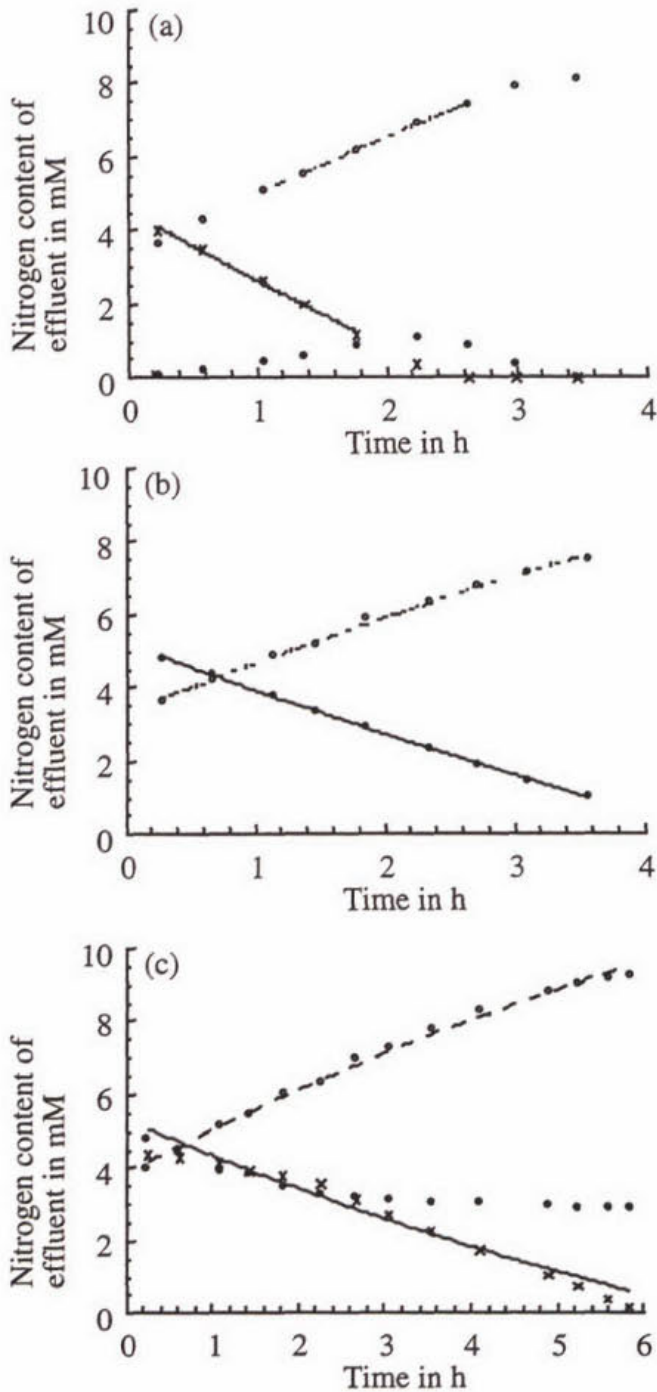
Tabel 8 Hoeveelheden spore-elementen in het influent en in slib van de membraanreactor en conventionele reactor na 300 dagen in bedrijf. ND = niet bepaald.

Element	Influent $\mu\text{g.l}^{-1}$	Slib membraan g.kg^{-1} reactor	Slib conventionele g.kg^{-1} reactor
Ag	180	0.003	0.005
As	5	0.004	0.009
Ca	ND	30.0	50.0
Cd	0.4	0.007	0.003
Cr	3	0.140	0.045
Cu	70	0.500	0.540
Fe	1000	9.3	9.5
Hg	0.1	0.001	0.002
K	ND	5.3	11.0
Mg	ND	3.3	5.9
Ni	8	0.110	0.025
Pb	17	0.110	0.140
Zn	ND	1.6	1.8

2.3 Ontwikkeling van een nieuwe methode voor de bepaling van nitrificatiecapaciteiten van zuiveringsinrichtingen

Een nieuwe methode is ontwikkeld voor de bepaling van nitrificatiecapaciteiten van zuiveringsslib. Een slib-monster wordt genomen uit een waterzuiveringsinrichting en in een recyclingreactor onder chemolithotrofe omstandigheden verder gekweekt. De maximale nitrificatiesnelheid werd bepaald door meting van concentratieveranderingen van N-verbindingen tegen de tijd. Deze snelheden kunnen gemakkelijk bepaald worden met behulp van eerste-orde-kinetiek, daar de substraten in overmaat aanwezig waren en groei van nitrificeerders tijdens het experiment verwaarloosbaar was. Figuur 5 toont een voorbeeldexperiment met slib uit de membraanreactor hiervoor beschreven.

Accumulatie van nitriet had een negatieve invloed op de snelheid van ammoniumoxidatie (zie Figuur 5 b en c). Bij 3-5 mM nitriet waren ammoniumoxidatiesnelheden gehalveerd vergeleken met snelheden bij 0-1 mM. Daar het opgehoopte nitriet in een recyclingreactor voortdurend wordt verdund, zonder verlies van biomassa, is dit type reactor zeer geschikt voor de bestudering van nitrificatie. In Tabel 9 zijn de resultaten voor de initiële omzettingssnelheden weergegeven, aangenomen dat er gedurende het experiment geen groei optreedt. Dit is een redelijke aanname, daar na berekening van deze initiële omzettingssnelheden bij de maximaal mogelijke specifieke groeisnelheid van 0.08 uur^{-1} de uitkomsten meest niet significant afwijkend waren, tenzij de slibconcentraties laag waren zoals in de conventionele reactor. Er is gevonden dat de ontwikkeling van de nitrificatiecapaciteit



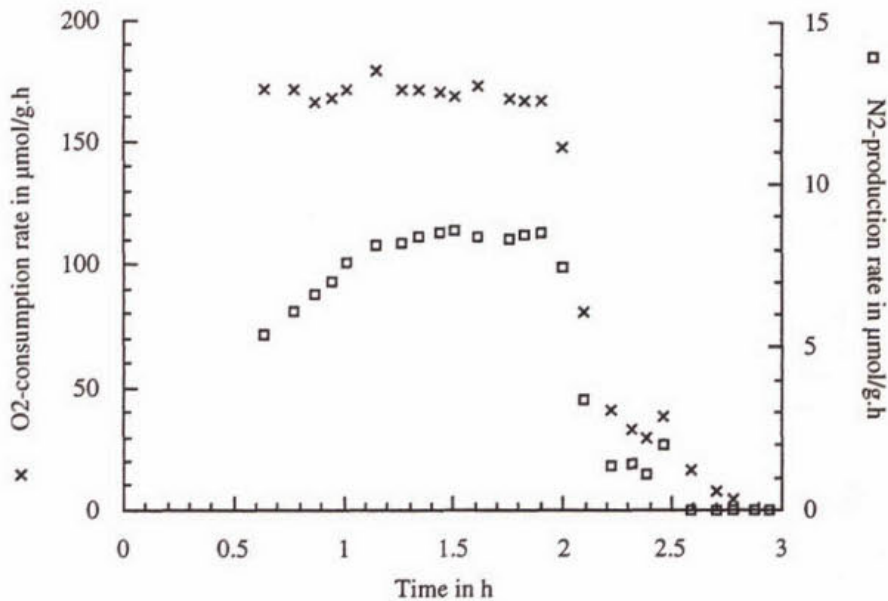
Figuur 5 Het verloop van $[\text{NH}_4^+]$ ($\times-\times$), $[\text{NO}_2^-]$ ($\bullet-\bullet$) en $[\text{NO}_3^-]$ ($\bullet-\bullet$) in het effluent van een recyclingreactor, die slib bevatte van de 600 liter membraanreactor. Op tijdstip 0 was er geen detecteerbaar $[\text{NH}_4^+]$ en $[\text{NO}_2^-]$ aanwezig en werd $[\text{NH}_4^+]$ gebracht op + 5 mM (a), $[\text{NO}_2^-]$ op + 5 mM (b) en zowel $[\text{NH}_4^+]$ als $[\text{NO}_2^-]$ op + 5 mM (c). Vervolgens werd chemolithotroof medium met $[\text{NH}_4^+]$ en/of $[\text{NO}_2^-]$ continu toegevoegd. De getrokken lijnen representeren fits voor $\mu = 0$.

Tabel 9 Bepaling van de initiële maximale ammonium- en nitrietconsumptiesnelheid door respectievelijk *Nitrosomonas*- en *Nitrobacter*-type micro-organismen. Tevens is de initiële maximale nitraatvormingssnelheid bepaald, hetgeen vergeleken kan worden met de nitrietconsumptie.

Bron van het slib	Medium mM NH ₄ + NO ₂	mmol NH ₄ ⁺ . l ⁻¹ .uur ⁻¹ μ = 0	mmol NO ₂ ⁻ . l ⁻¹ .uur ⁻¹ μ = 0	mmol NO ₃ ⁻ . l ⁻¹ .uur ⁻¹ μ = 0
Conventionele 600 l reactor	5 + 0	0.71 ± 0.01	-	0.52 ± 0.01
Membraan reactor (600 l)	5 + 0	2.08 ± 0.10	-	2.06 ± 0.03
	5 + 5	1.01 ± 0.05	-	1.58 ± 0.02
	0 + 5	-	1.34 ± 0.01	1.66 ± 0.04
Recycling reactor	5 + 0	4.76 ± 0.18	-	2.46 ± 1.31
	5 + 5	2.52 ± 0.17	-	3.83 ± 0.19
	0 + 5	-	4.37 ± 0.09	3.80 ± 0.63
	0 + 10	-	3.60 ± 0.15	4.60 ± 0.27

Tabel 10 Nitrificatiecapaciteit als functie van de stikstofbelasting.

Experiment	C/N ratio mol.mol ⁻¹	Droog-gewicht g MLSS.l ⁻¹	Nitrificatiesnelheid mmol N. g MLSS ⁻¹ .uur ⁻¹	Nitrificatiecapaciteit bij 30°C	
				mmol NH ₄ ⁺ . g MLSS ⁻¹ .uur ⁻¹	mmol NO ₂ ⁻ . g MLSS ⁻¹ .uur ⁻¹
Initieel	2.2	21.5	0.012	0.22	0.20
R1	10.0	16.7	0.014	0.04	0.06
R2	5.0	14.9	0.030	0.13	0.10
R3	2.5	17.0	0.056	0.23	0.26
R4	1.0	17.6	0.129	0.32	0.28



Figuur 6 Zuurstofconsumptie en stikstofproductie in het experiment bij DO=2.5%.

een functie was van de stikstofbelasting (gemeten bij 30°C), zoals is te zien in Tabel 10. Wanneer deze capaciteiten werden gecorrigeerd voor temperatuur lagen zij in de bandbreedte van 1.4 tot 2.1 maal de optredende nitrificatiesnelheden. Bij de hoogste belasting waren de nitrificatiecapaciteit en de optredende snelheid gelijk.

2.4 Gelijktijdige ammonia-oxidatie en moleculaire stikstofproductie bij gereduceerde zuurstofspanningen door slib, doorgekweekt in chemolithotroof medium

Monsters actief slib uit de eerder genoemde 600 liter reactor met 100% biomassa-retentie (semi-praktijk experiment) werden aerob gehouden in gecontroleerde batchreactoren gedurende twee dagen bij een zuurstofspanning boven 10% luchtverzadiging. De invoer van gas bestond uit een mengsel van puur zuurstof en Argon. Gedurende deze twee dagen daalde de zuurstofconsumptie van 44 naar 25 μmol per gram MLSS per uur en de CO_2 productie van 39 naar 15 μmol per gram MLSS per uur. Er was geen bruikbare koolstofbron meer in de vloeistof aanwezig en deze verlaagde gaswisselingsnelheid was dus het gevolg van endogene heterotrofe respiratie. Na stabilisatie van de gaswisseling werden de cultures 'gespiked' met ammonium tot een eindconcentratie van 5 mM en verder gekweekt als recyclingcultures bij verschillende zuurstofconcentraties tussen 0.15 en 5% luchtverzadiging.

Nitrificatiesnelheden van *Nitrosomonas europaea* en *Nitrobacter sp.* bleken afhankelijk van de zuurstofspanning. Opvallend was dat bij elke zuurstofspanning stikstofgasproductie optrad en dit alleen werd geobserveerd wanneer er nog detecteerbaar ammonia aanwezig was.

Bij de laagste zuurstofspanning van 0.15% stopte de stikstofproductie wanneer de zuur-

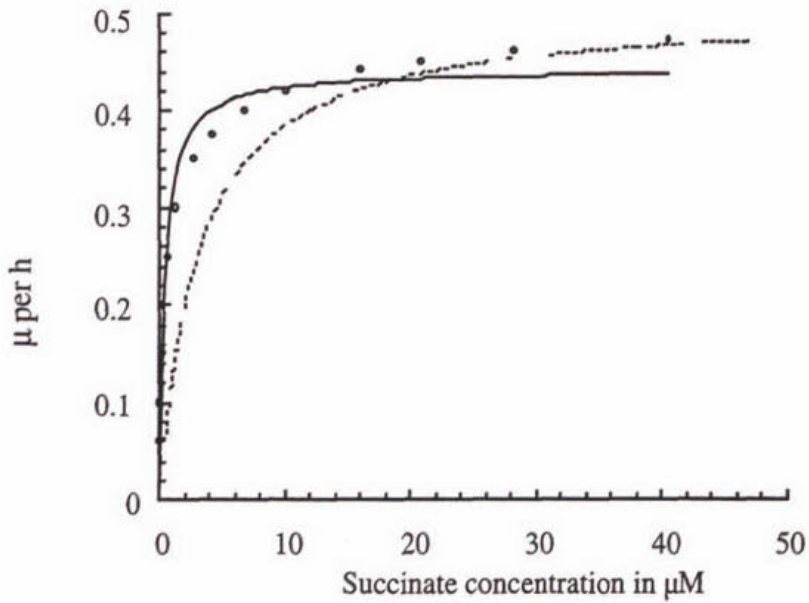
stofconsumptie stopte. Boven 0.15% luchtverzadiging was de stikstofproduktie onafhankelijk van de zuurstofspanning. De hoeveelheid volledig gedenitrificeerde N varieerde tussen 4.5 en 8.1%.

Figuur 6 toont de zuurstofconsumptie en stikstofproduktie in het experiment bij 2.5% luchtverzadiging. Het is duidelijk dat ook bij hogere zuurstofverzadiging de stikstofproduktie stopt op het moment dat de zuurstofconsumptie stopt omdat alle ammonia omgezet is.

Daar ammonia en nitriet in alle experimenten de enige leveranciers van reductie-equivalenten waren voor het proces van denitrificatie en daar stikstof alleen werd geproduceerd in aanwezigheid van detecteerbare hoeveelheden ammonia lijkt het een logische gevolgtrekking dat stikstofgas werd geproduceerd door nitrificerende organismen.

2.5 Residuele substraatconcentraties in continue cultures en het effect op modelvorming

Een nieuwe methode gebaseerd op het nemen van supernatantmonsters met behulp van bacteriële filters is ontwikkeld en gebruikt voor de bepaling van residuele substraatconcentraties. Het voordeel van deze methode is dat er geen tijd nodig is voor monstername, hetgeen de concentratiebepaling negatief kan beïnvloeden. Algemene conclusie uit deze experimenten is dat alle tot nu toe uitgevoerde residuele concentratie bepalingen een onderwaardering waren van de werkelijke "in situ" waarden. Belangrijk is dat alle van Monod afwijkende modelvorming, die is ontwikkeld ter verklaring van de door "normale" bemonstering verkregen gegevens onnodig bleken, omdat de verkregen gegevens het gevolg waren van een juiste interpretatie van verkeerd ("normaal") verkregen gegevens. Figuur 7 geeft het gesimuleerde effect van een monstername procedure, die slechts één seconde tijd in beslag neemt.



Figuur 7 Substraatconcentratie in steady state volgens Monod (- -) bij een K_s van $3 \mu\text{M}$ en een μ_{max} van 0.5 per uur, gemeten concentraties (\bullet) en Monod-fit aan gemeten concentraties ($—$) wanneer de tijd voor sampling slechts 1 seconde kost.

3 Biologische slibverwerking

Dit hoofdstuk begint met een beschrijving van organismen die in RWZI's voorkomen en bijdragen aan de afbraak van organisch materiaal in het influent. Daarna worden wiskundige modellen besproken. Er zijn modellen voor verschillende niveaus; individu, populatie, chemostaat, aeratietank en voor de RWZI.

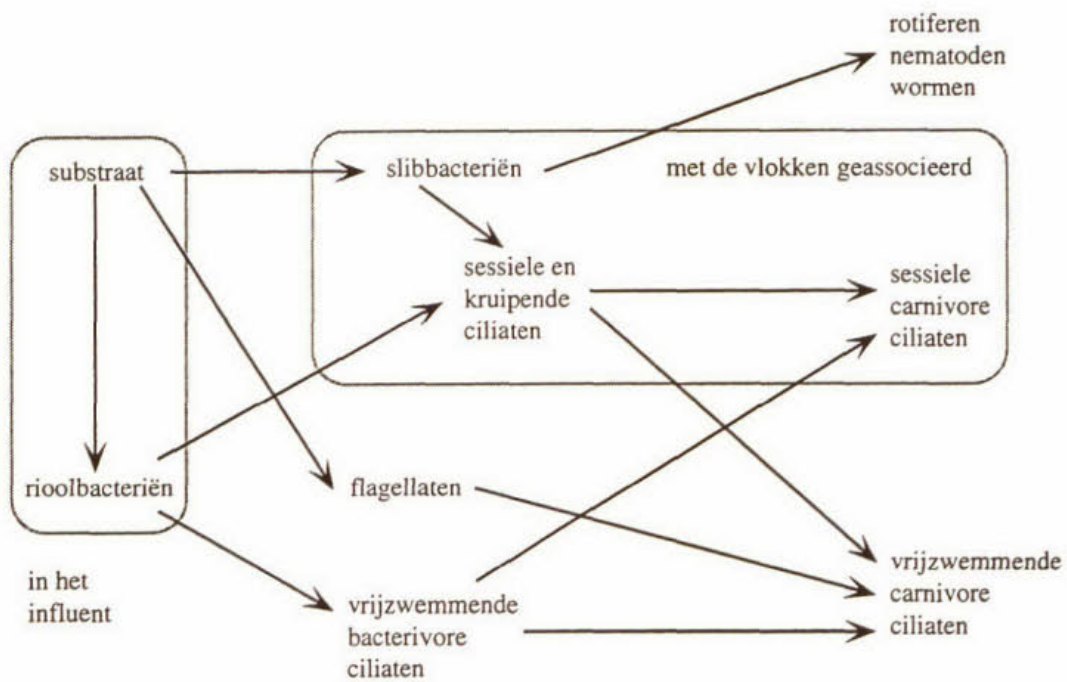
3.1 Effecten van protozoën op koolstofmineralisatie in actief slib

Om redenen die in de inleiding zijn genoemd, is het belangrijk dat de totale massa aan surplusslib wordt geminimaliseerd. Om toch een even efficiënte zuivering te behouden zal een groter deel van de opgenomen organische koolstof moeten worden gemineraliseerd tot CO_2 . Dit gebeurt bij dissimilatie van koolstof- en energiebronnen. Een relatief grote hoeveelheid van de koolstofbron wordt voor dissimilatie gebruikt wanneer de organismen die substraat opnemen op hun beurt door predatoren worden begraaasd. Een predator kan immers de gegeten hoeveelheid prooi maar voor een bepaald gedeelte in nieuwe biomassa omzetten. Er treedt energie- en dus organische koolstofverlies op. Wanneer deze predator zelf wordt opgevreten, treedt er opnieuw een energieverlies op. Het stimuleren van een zo lang mogelijke voedselketen is dus van belang voor de vermindering van biomassa- en daarmee spuislibproductie, zie Figuur 9.

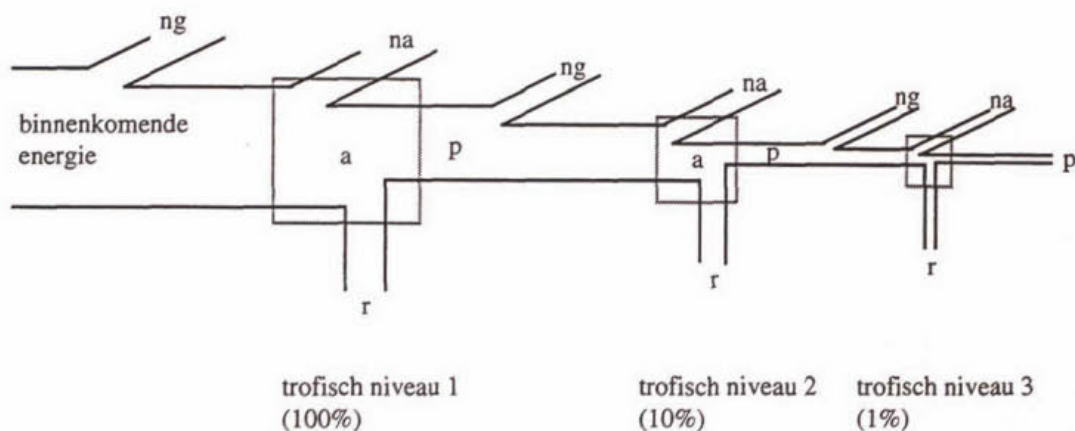
De meest voorkomende predatoren in actief slib zijn protozoën, zie Figuur 8. Ze komen voor in RWZI's in concentraties van zo'n 50.000 per ml. Dit is 5% van het totale drooggewicht (Curds, 1982). Protozoën dragen bij aan de vermindering van de slibproductie in RWZI's en aan de helderheid van het effluent in laboratoriumopstellingen door het begrazen van bacteriën (Curds *et al.*, 1968; Curds & Cockburn, 1968; Kuiper, 1973). In een enkel geval werd door losgeraakte protozoënkolonies het effluent juist troebeler (Wheale & Williamson, 1980). Protozoën nemen ook zelf organisch materiaal op, maar hun bijdrage ten op zichte van bacteriën lijkt hierbij gering, zie (Nisbet, 1984). Verschillende in de literatuur genoemde invloeden van protozoën op koolstofmineralisatie werden daarom vergeleken en tevens werd de relevantie voor het actiefslibproces bediscussieerd, zie (Maarsen, 1992).

Er zijn verschillende hypothesen opgesteld waarom protozoën mineralisatie van organische koolstofverbindingen door bacteriën zouden kunnen versnellen:

- Verandering van de C:N:P ratio van het substraat:
Uitscheiding van minerale nutriënten (fosfor in de vorm van fosfaat, stikstof in de vorm van ammoniak of nitraat) door protozoën leidt tot een versneld gebruik van koolstofbronnen door bacteriën (Coleman *et al.*, 1978)
- Uitscheiding van groeistimulerende stoffen:
Protozoën scheiden groeistimulerende stoffen uit, waardoor de bacteriële activiteit toeneemt, zie (Nisbet, 1984).



Figuur 8 Een vereenvoudigd schema van het voedselweb in een aeratietank (naar (Curds, 1973)). De pijlen geven aan welke groepen organismen (of substraat) door welke andere organismen worden geconsumeerd. Er wordt een duidelijk onderscheid gemaakt tussen riool- en slibbacteriën en tussen vrijzwemmende en met de vlokken geassocieerde protozoën.



Figuur 9 Een vereenvoudigd energiestroomdiagram door een biologisch systeem, naar (Odum, 1966). Een voedselketen wordt hier voorgesteld door drie trofische niveaus, waarvan ieder het voorgaande consumeert en het eerste niveau substraat van buitenaf (BZV en rioolbacteriën) consumeert. ng = niet-gebruikte energie, wordt opgeslagen (geabsorbeerd aan vlokken of in cellen opgeslagen) of geëxporteerd (met het effluent afgevoerd); a = geassimileerde energie ('bruto productie'); na = niet-geassimileerde energie; r = energieverlies door respiratie; p = netto productie.

- Stimulering van de substraatopname door bacteriën:
Protozoën veroorzaken microturbulentie, waardoor het contact tussen substraat en bacterie wordt bevorderd, zie (Nisbet, 1984)
- Begrazingseffecten:
Begrazing van bacteriën leidt tot selectie van bacteriestammen die sneller en inefficiënter groeien, (Sherr *et al.*, 1988), en dus koolstofbronnen versneld gebruiken. Inefficiëntere stammen moeten meer van de koolstofbron dissimileren om een zelfde hoeveelheid nieuwe biomassa aan te maken. Begrazing van bacteriën heeft op zich ook al een vermindering van de hoeveelheid biomassa tot gevolg (Kuiper, 1973). In de zo ontstane voedselketen treedt energieverlies op, zie Figuur 9.

3.2 Mathematische modellen

3.2.1 Algemeen

Mathematische modellen worden vooral gebruikt om de groei van biologische organismen in de tijd te beschrijven. Meestal komen organismen voor in populaties. In RWZI's is dit bijvoorbeeld in de aeratietank. Nu bestaan populaties uit individuen en het lijkt daarom logisch met het modelleren van individuen te beginnen. In de praktijk wordt evenwel vaak anders gewerkt, soms omdat er geen betere methode voorhanden is, soms ook omdat het handig werkt. Zo zijn de eerste populatiedynamiecamodellen beschreven op populatieniveau, waarbij voor het gemak alle individuen identiek worden genomen en waarbij bijvoorbeeld de biomassa van alle individuen tezamen de onbekende grootte is die in de

tijd kan veranderen. Zo'n populatiemodel wordt ongestructureerd genoemd. Immers er wordt geen onderscheid gemaakt tussen de verschillende individuen.

In fysiologisch gestructureerde modellen daarentegen wordt het individu wel als startpunt voor het moduleren genomen, zie ook (Fredrickson, 1991) en (Metz & Diekmann, 1986). Daarbij wordt evenwel aangenomen dat alle individuen van de populatie groeien volgens hetzelfde model met dezelfde waarden voor de parameters. Groei wil zeggen dat voedsel omgezet wordt in een gewichtstoename. Het in kaart brengen van wat elk individu met opgegeten voedsel doet, geeft meteen het mathematisch model als resultaat. Daarbij laat men zich leiden door twee fysische wetten, die van behoud van massa en energie. In (Kooijman, 1993) is de Dynamic Energy Budget DEB theorie ontwikkeld. Individuen eten voedsel wat een vergroting van de energievoorraad tot gevolg heeft. Energie uit deze voorraad wordt gebruikt voor groei en onderhoud aan de éne kant en ontwikkeling en voortplanting (in de meeste meer-celligen) aan de andere kant. Deze theorie beoogt een modelbeschrijving te geven voor zeer verschillende biologische organismen in zowel planten- als dierenrijk, van bacterie tot mens. Voor ons doel kunnen we toe met een vereenvoudigde versie van het model.

We geven nu eerst een korte beschrijving van veel gebruikte populatiedynamicamodellen. Deze modellen zijn geformuleerd op populatieniveau. Monod (Monod, 1942) stelde een verband tussen hoeveelheid per tijdseenheid opgenomen voedsel als functie van de voedseldichtheid op, dat nog altijd populair is. Dit verband is de bekende hyperbolische functionele response ook bekend in de oecologie en enzym-chemie. Kenmerkend voor dit verband is dat er een verzadiging optreedt. Als er relatief weinig voedsel is, neemt de eetsnelheid ongeveer evenredig toe met voedseldichtheid, zoals in de bekende Lotka-Volterra-modellen, maar bij hoger voedsel-aanbod convergeert de per tijdseenheid gegeten voedsel naar een maximum.

Zoals reeds gezegd wordt het voedsel omgezet in energie via een vaste omzettingcoëfficiënt, en deze energie wordt aan de voorraad toegevoegd. De organismen gebruiken die energie uit de voorraad om van te groeien en voor een deel voor onderhoud. We nemen nu eerst aan dat de omzetting van voedsel in energie quasi-statisch verloopt, dat wil zeggen dat binnenkomend energie meteen verbruikt wordt.

Onderhoud kan op meerdere manieren geïntroduceerd worden. Herbert (Herbert, 1958) stelde voor het groei-model van de populatie aan te passen. De populatie groeit minder snel vanwege onderhoud. Impliciet wordt dan aangenomen dat onderhoud evenredig is met biomassa. Pirt (Pirt, 1965) stelde een andere versie voor. Hierbij wordt de eetsnelheid gelijk genomen aan de som van één voor onderhoud en één voor groei. Gelukkig leiden beide mechanismen wiskundig gezien tot dezelfde formulering. Het resulterend model wordt het Marr-Pirt model genoemd.

Eén van de belangrijke modelparameters is dan de populatiegroeisnelheid, dat is de snelheid waarmee voedsel omgezet kan worden in biomassa. Een andere grootte in de zogenaamde 'yield', dat is hoeveel biomassa die per hoeveelheid voedsel wordt gevormd. Vanwege onderhoud is deze 'yield' niet een constante, zoals in het model van Monod, maar hangt hij af van de groeisnelheid en impliciet van voedseldichtheid.

Bovengenoemde modellen werden geformuleerd op populatieniveau waarbij de totale biomassa de afhankelijke grootte is. In (Kooi & Kooijman, 1994a) is beschreven hoe deze modellen ook verkregen kunnen worden door op het individuniveau te starten. De

aannames over voedselopname en verdeling tussen groei en onderhoud worden dan op individuniveau gemaakt. Wiskundig zien de formules er op het populatieniveau hetzelfde uit, maar de parameters hebben nu opeens een betekenis op individuniveau. Dit maakt deze formulering attractiever en daarnaast geeft de afleiding meteen inzicht in de aannames die gemaakt moeten worden om van individuniveau naar populatieniveau komen. Immers de interactie tussen de individu via gezamenlijk voedsel moet geëxpliciteerd worden. Er wordt bijna altijd aangenomen dat de reactor goed gemengd wordt. Een ander aanname is dat het afval voor de organismen koolstof-, en daarmee energie-, gelimiteerd is en dat alle ander bouwstoffen voor groei van de organismen overvloedig aanwezig zijn.

In het DEB model wordt aangenomen dat alle individuen voedsel opnemen evenredig met hun buiten-oppervlakte dat inaanraking komt met het voedsel. Grotere organismen eten dus meer. Immers voedselopname gaat via de buitenkant die in aanraking komt met het voedsel, bijvoorbeeld een membraan, maar ook de doorbloedde darmwand. De grootte van de buitenkant ten opzichte van de biomassa (evenredig met biovolume via soortelijke massa) is steeds een veranderende verhouding, maar dit verband is voor organismen die gelijkvormig groeien, gemakkelijk uit te drukken in de biomassa van het individu. Nu vormen delers wat dit betreft een uitzonderlijke groep. Immers elk individu kan in de delingscyclus slechts twee keer zo groot worden en het blijkt zo te zijn dat geen grote fout optreedt als de opname evenredig met het volume wordt genomen, in plaats van met het oppervlak. Dit vereenvoudigt de relatie individu-populatie enorm. Bovendien is het zo dat veel micro-organismen tijdens de groei van vorm veranderen, zodanig dat oppervlakte en volume ten naaste bij ook evenredig zijn. Dat dit wiskundig voordelen biedt kan men gemakkelijk inzien. Immers het onderhoud was al evenredig met de grootte en nu ook het voedselaanbod, zodat ook de groei nu evenredig is met de grootte. Dit wordt exponentiële groei genoemd. De werkelijk eetsnelheid hangt ook van het voedselaanbod af en hiervoor wordt de functionele afhankelijkheid genomen die door Monod op populatieniveau werd voorgesteld.

Dus, individuen nemen voedsel op, gebruiken dat voor onderhoud en groei, en als ze een vaste grootte bereiken delen ze zich in tweeën, waarna alles weer van voren af aan begint.

Alle individuen groeien volgens hetzelfde model met dezelfde waarden voor de parameters maar hun toestandsvariabelen, zoals grootte, mogen nog verschillen; ze kunnen nog in een verschillende levensfase zijn. Op deze manier worden wiskundige uitdrukkingen voor de zogenaamde 'stabiele-grootteverdeling' gevonden. Deze verdeling geeft aan, hoeveel individuen van een bepaalde grootte in de populatie zitten en wel relatief ten opzichte van het totale aantal individuen in de populatie.

Met het model op individuniveau kan na formulemanipulaties de populatiegroeisnelheid uitgedrukt worden als functie van onder andere de individuele groeisnelheid. Vaak zijn deze uitdrukkingen zeer ingewikkeld en zelfs moeilijk met de computer numeriek op te lossen. Vandaar dat er naar technieken gezocht wordt om de groei van de gehele populatie toch met één of slechts een beperkt aantal variabelen te beschrijven.

Ook nieuw in het DEB model is de energievoorraad als extra, naast grootte, toestandsvariabele. Een individu wordt niet alleen door zijn grootte maar ook door zijn energievoorraad gekenmerkt. Voor aquatische organismen zoals die in RWZI's voorkomen, is het aannemelijk te veronderstellen dat deze voorraden niet bijdragen aan een extra volume, dat

wil zeggen dat het volume van het organisme meteen het zogenaamde structurele volume is waarvoor onderhoud betaald moet worden. Als de voorraden verbruikt worden, wordt hun volume ingenomen door water.

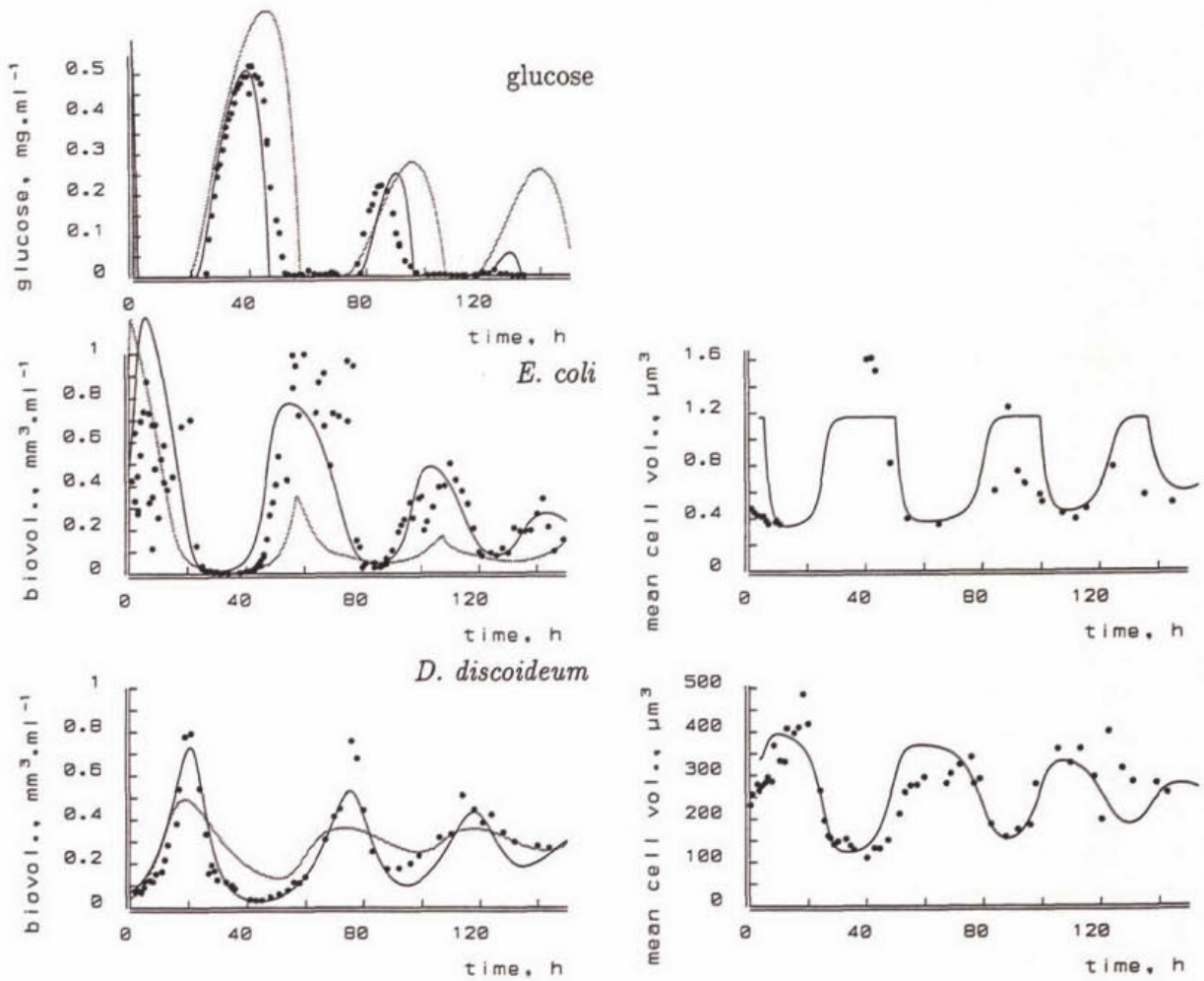
Het toevoegen van voorraden maakt het bijna noodzakelijk vanaf het individuniveau te starten met het redeneren. Men kan voor delers aannemelijk maken dat het toegestaan is dat alle organismen dezelfde energievoorraad hebben. Dan kan op populatieniveau gesproken worden over de totale energievoorraad, en dit vergemakkelijkt dan natuurlijk de formulering op populatieniveau. Zo'n model met voorraden was reeds door Droop (Droop, 1973) voorgesteld voor het modelleren van algen.

In (Kooijman *et al.*, 1991) worden meetgegevens over groei van populaties bacteriën zoals *Escherichia coli*, verzameld uit de literatuur, gebruikt om parameters van het DEB model te schatten bij constante voedseltoevoer. Daarbij worden meerdere groeivormen bekeken, isomorphe groei (naar alle kanten evenveel) bijvoorbeeld *Paramecium caudatum*, staafjes bestaande uit een cilinder met aan beide kopzijden halve bollen waarbij tijdens de groei alleen de cilinder langer wordt, bijvoorbeeld *Bacillus cereus*, en staafjes bestaande uit een cilinder die alleen in de lengterichting groeit, de zogenaamde filamenten, bijvoorbeeld *Fusarium graminearum*. Resultaten zijn de populatie groeisnelheid, stabiele-volumeverdeling maar ook de 'yield' (de omzettingsefficiëntie van substraat naar biomassa).

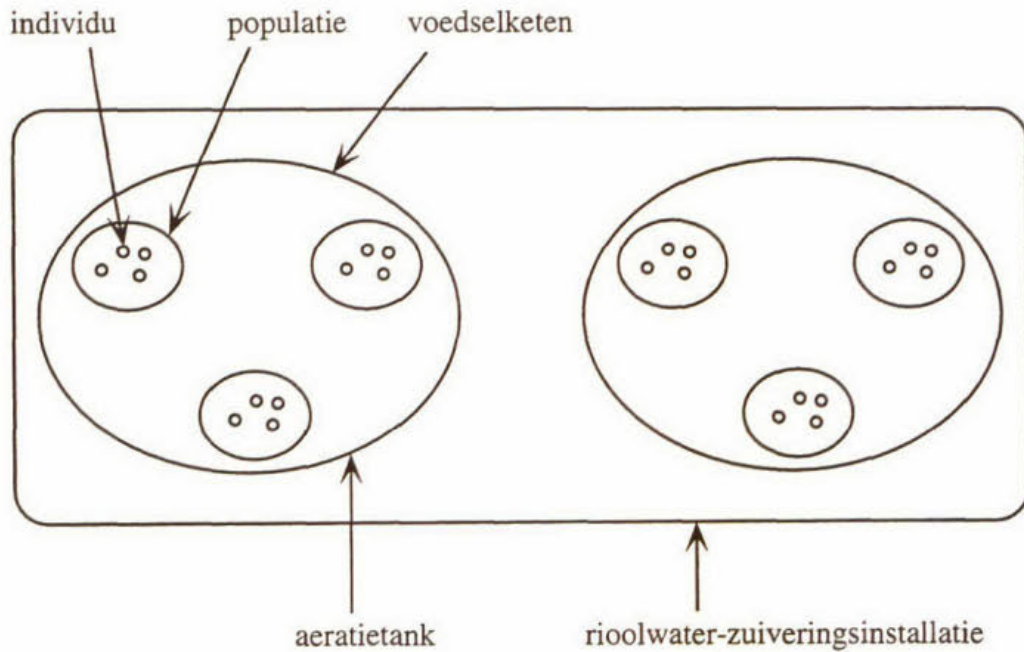
In het DEB model worden de twee aanvullingen op het oorspronkelijk Monod model, die voor kosten van onderhoud en energievoorraden gecombineerd. Dat beide fenomenen bijdragen tot betere voorspellingen is aangetoond (Kooi & Kooijman, 1994b). Het betreft een voedselketen van glucose, bacteriën en amoeben. In Figuur 10 links staan de gemeten en de DEB model voorspellingen als functie van de tijd uitgezet. Ook is de best fit van het Monod model aangegeven. Deze laatste fit is een stuk minder dan die van het DEB model. In Figuur 10 rechts staat de gemiddelde cel-grootte uitgezet als functie van de tijd. Daarbij is aangenomen dat een organisme niet deelt bij een vaste grootte maar dat DNA-duplicatie begint bij een vaste grootte en dat het daarna een vaste tijd duurt voordat de duplicatie klaar is en het organisme zich deelt. Het model laat goed zien hoe de gemiddelde cel-grootte afhangt van de voedseldichtheid. Dit resultaat laat zien dat modellen gebaseerd op individugedrag niet alleen maar theoretisch interessant zijn, maar ook voor de praktijk belangrijk zijn.

Bij toepassing van modellen voor begrazing houdt de beschrijving niet op bij het populatieniveau. Men heeft in een reactor te maken met een voedselketen. In een mathematisch model van een voedselketen worden de vergelijkingen op populatieniveau gekoppeld via 'eten en gegeten worden'; bacteriën leven van organische stoffen in afvalwater, ciliaten of wormen leven van bacteriën. Daarnaast is de beschrijving van het toegeleverde substraat (organische stof) in het influent en de doorstromingsnelheid belangrijk.

Het resulterend model bestaat uit een aantal gekoppelde differentiaalvergelijkingen met als variabelen, de dichtheid van het substraat in het influent en de biomassa van de verschillende populaties. Merk op dat in elke populatie alle individuen volgens hetzelfde model met dezelfde parameterwaarden groeien, maar dat in voedselketens deze waarden tussen de populaties verschillen. Deze parameterwaarden kunnen gemeten grootheden zijn maar in (Kooijman, 1993) worden ook schalingsrelaties gegeven zodat er per populatie maar één nieuwe parameter geïntroduceerd hoeft te worden; dit levert een belangrijke reductie van



Figuur 10 Een chemostaat met een drie-staps voedselketen van glucose, de bacterie *E. coli* en de myxamoeba *D. discoideum* bij 25 °C. De laatste twee grafieken geven de 'mean cell size' van *E. coli* en *D. discoideum*. De gegevens zijn overgenomen uit (Dent *et al.*, 1976). DEB model (getrokken lijnen) and Monod's model (grijze lijnen).



Figuur 11 Schema van een gestructureerd model voor RWZI's. In elke aeratietaank (twee in de figuur) is een voedselketen aanwezig.

het totaal aantal parameters op.

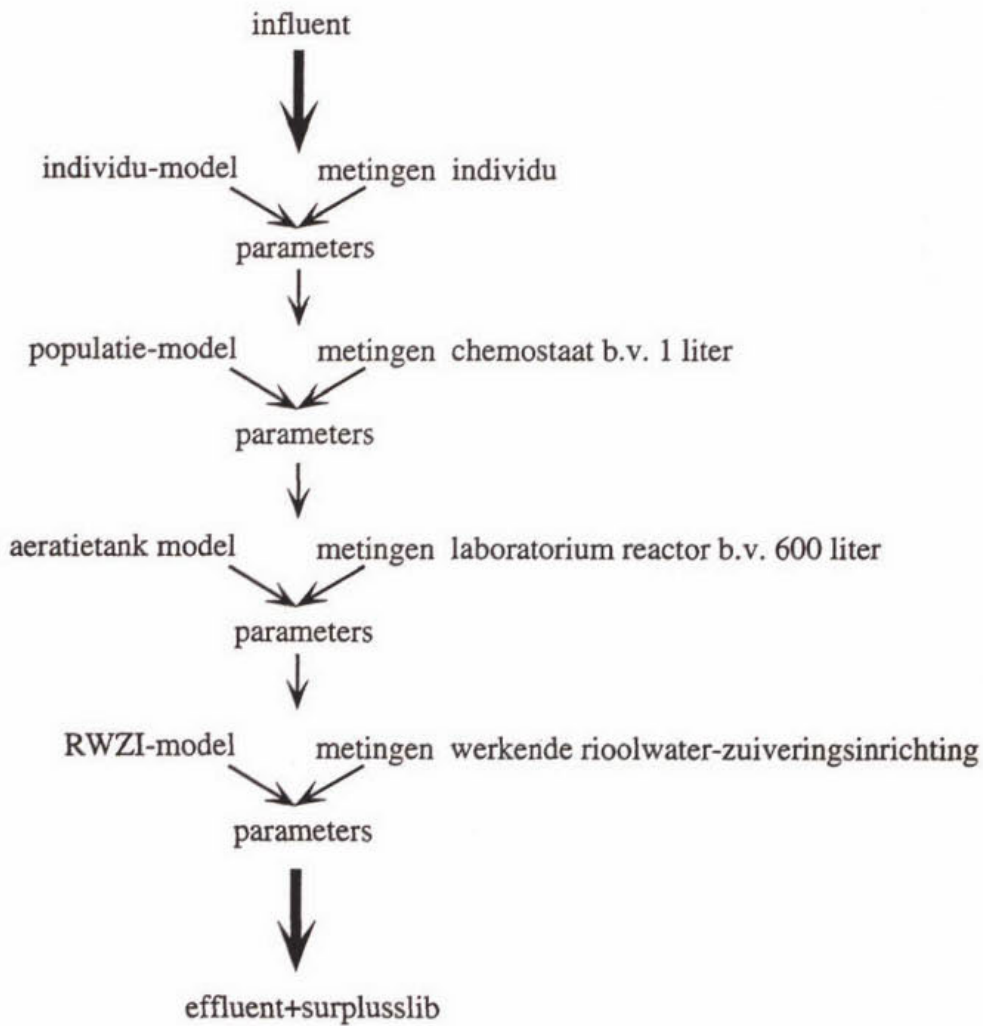
Een belangrijke vraagstelling is nu het bestaan van evenwichten waarin de verschillende niveaus naast elkaar leven of dat er slingeringen optreden. Daarnaast is het belangrijk te weten of deze 'steady-states' stabiel zijn. Is dat het geval dan verdwijnen kleine verstoringen in de loop der tijd. Als bijvoorbeeld de doorstromingsnelheid hoog is kan het voorkomen dat de top-predator uitspoelt. Wiskundig vertaald betekent dit dat het evenwicht optreedt bij een situatie waarbij de biomassa van de top-predator nul is. Al deze vragen kunnen beantwoord worden met de theorie van de niet-lineaire dynamische systemen.

Zo'n model, zie ook Figuur 11 vormt de basis voor modellen die gebruikt kunnen worden voor het ontwerpen van regelsystemen voor RWZI's. Doel daarbij is het zuiveringsproces te optimaliseren naar energieverbruik voor beluchting bijvoorbeeld, waarbij aan alle gestelde normen met betrekking tot hoeveelheid schadelijke stoffen in het effluent voldaan wordt.

3.2.2 Mathematische modellen voor rioolwaterzuiveringsinrichtingen

In Figuur 12 wordt een schema gepresenteerd voor de opbouw van wiskundige modellen voor RWZI's. We zullen ons beperken tot het beschrijven van de voedselketen: organisch materiaal in rioolwater, bacteriën, ciliaten of wormen. Er wordt geen aandacht besteed aan nitrificatie/denitrificatie en defosfatering, en ook niet aan de eventuele consequenties hierop door de introductie van begrazing.

Het bovenste onderdeel geeft het schatten van parameterwaarden weer waarin het indi-



Figuur 12 Schema voor het van modelleren van een rioolwaterzuiveringsinrichting gebaseerd op gestructureerde fysiologische modellen voor de biologische organismen die bijdragen aan de afbraak van organisch materiaal in het influent.

vidu model en de experimentele gegevens aan elkaar gekoppeld worden. Deze parameters moeten de groei van alle individuen éénduidig vastleggen. In de praktijk is het echter vaak moeilijk een bepaalde gewenste experimentele omgeving te realiseren. Zo kunnen bacteriën, voor wat betreft hun groei, (nog) niet op individuniveau bestudeerd worden. Maar ook is het bij ciliaten moeilijk het voedselaanbod te variëren. Om de onderhoudscoëfficiënt betrouwbaar uit de meetwaarden te kunnen schatten is het bijna noodzakelijk dat de groei van de ciliaten bij verschillende voedselconcentraties gemeten wordt.

In een chemostaat heeft men een continu-cultuur en dat maakt het mogelijk de voedselconcentratie voor de ciliaten, namelijk concentratie aanwezige bacteriën, te variëren door de doorstromingsnelheid of de concentratie bacteriën in het reservoir te veranderen. Strikt genomen zou deze stap in Figuur 12 niet nodig zijn. Maar om van individu- naar populatieniveau te komen moeten extra aannamen gedaan worden, bijvoorbeeld voor wat betreft menging en verdeling van voedsel. Daarom moet ook een experiment op dit niveau gedaan worden. Later wordt zo'n experiment besproken. Het betreft dan een twee-traps experiment met in de eerste chemostaat bacteriën levend van toegevoerd substraat en in de tweede ciliaten levend van de toegevoerde bacteriën.

In bovenstaande onderdelen hadden we steeds met één organisme en één voedselbron te maken (In de eerste chemostaat bacteriën die van substraat leven en in de tweede ciliaten die van bacteriën leven). In de voorgestelde techniek van begrazing zal er een voedselketen ontstaan. Zo'n voedselketen kan men in een één-traps chemostaat bestuderen. Een één-traps chemostaatexperiment wordt later beschreven waarbij in één chemostaat, substraat, bacteriën en ciliaten te zamen aanwezig zijn. De op deze manier verkregen parameterwaarden kunnen in een gegevensbestand opgeslagen worden voor later gebruik in modellen voor RWZI's.

Dit experiment kan men op semi-praktijk schaal doen waarbij rioolwater gezuiverd wordt. De experimentele omstandigheden zijn nu veel minder regelbaar, immers het influent is nu afkomstig uit het riool met al z'n fluctuaties en niet uit een zo goed mogelijk constant gehouden voorraadvat. Het verschil met de echte praktijk-situatie is dat extra metingen gedaan kunnen worden (bijvoorbeeld overdekt teneinde zuurstofconsumptie en kooldioxideproductie te meten). Deze extra metingen moeten meer informatie verschaffen over de groei-processen. Ook is men met zo'n installatie in staat eventueel een aantal gewenste instel-parameters redelijk gemakkelijk te variëren.

De experimenten op werkende RWZI's zijn in eerste instantie bedoeld om de verkregen inzichten aan de praktijk te toetsen. De gemeten parameters kunnen alsdan gebruikt worden in modellen voor computer simulaties die gedaan worden bij het ontwerpen van een regelsysteem voor de gehele RWZI.

Eén van de meest gebruikte modellen voor RWZI's is het IAWPRC model, tegenwoordig aangeduid met het IAWQ model, zie (Henze *et al.*, 1986; Bibstrup & Grady, 1988; Dold, 1986; Lessard, 1993; Griffiths, 1994).

Dit model is een aangepaste versie van het University of Cape Town (UCT) model van 1973. In een matrix worden de relaties tussen de verschillende processen gepresenteerd. Dit model is voor wat betreft de modellering van het verwijderen van organisch materiaal door bacteriën nogal eenvoudig. Zo wordt er van uitgegaan dat er één soort substraat is en één biologisch organisme in de aeratietank aanwezig is. Er wordt alleen indirect rekening

gehouden met eventueel aanwezige begrazers.

De implementatie van dit model wordt vaak gebruikt als onderdeel van een groter programma voor het ontwerpen van het regelsysteem. Daarvoor zijn er momenteel een aantal programma's op de markt. Voorbeeld van zulke pakketten zijn SIMPLEX, zie (Kuij van der & Roest van der, 1994) en GPS-X, zie (Witteborg, 1994). Merk op dat in deze situatie het model voor de biologische afbraak een andere status heeft, immers de parameters die dit proces beschrijven worden nu als bekend verondersteld en tijdens de simulaties worden de regel-parameters optimaal aangepast. In het beschreven onderzoek gaat het juist om de parameters die het biologische afbraakproces beschrijven en wordt gezocht naar optimale combinaties van organismen, zoals in een voedselketen. Hierbij worden juist de parameters in het model dat de groei van deze organismen beschrijft als (discreet) te veranderen grootheden gezien.

3.3 Experimenten

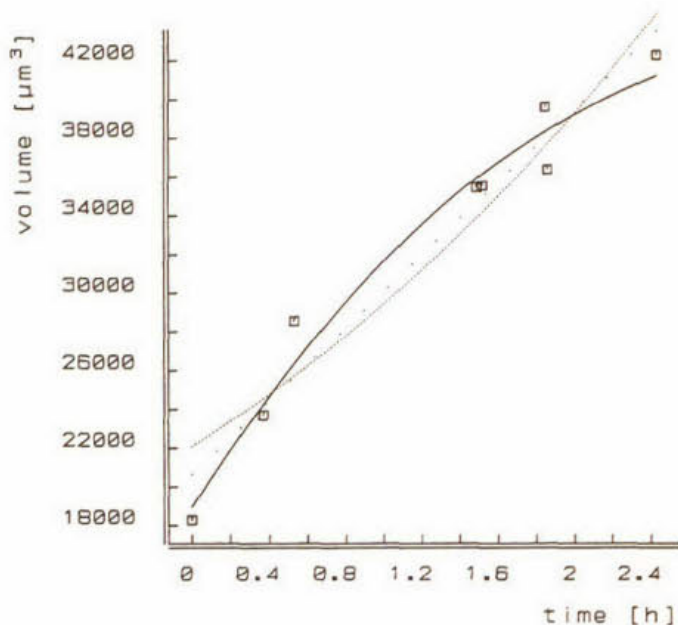
In deze paragraaf worden de uitgevoerde experimenten besproken. Omdat het model uitgaat van individuen werden van de twee, veel in RWZI's voorkomende begrazers, de groei experimenteel onderzocht. Daarbij gaat het vooral om de consequenties van verschillende modellen en hun parameterwaarden op het populatieniveau.

Van bacteriën is het moeilijk de groei van een individu in de tijd, van deling tot deling te volgen. Vandaar dat bij bacteriën het gedrag doorgaans alleen op populatieniveau met mathematische modellen wordt beschreven. Deze bacteriën kunnen te zamen in de reactor van een chemostaat aanwezig zijn. Vaak wordt een RWZI beschouwd als een aantal goed gemengde compartimenten die met elkaar in verbinding staan. In dat laatste geval heeft elk compartiment z'n eigen vergelijking die de biomassa's van de populatie beschrijft als functie van de tijd met de voedseldichtheid in het toegevoerde rioolwater als invoervariabele. Merk op dat goed voldaan wordt aan de aanname die bij het modelleren gemaakt is, namelijk goede menging.

3.3.1 Experimenten met en individuummodellen voor ciliaten

Ciliaten zijn zo groot dat het experimenteel, hoewel met grote moeite, mogelijk is hun groei van deling tot deling in de tijd te volgen. Daartoe werden door een microscoop foto's genomen. De buitenste rand van de cilium op de foto werd gedigitaliseerd. Om het volume van de cilium te bepalen werd een gladde curve door deze punten getrokken en werd de verkregen gesloten lijn om de langste as van het ingesloten oppervlakte, gewenteld. Het volume van het zo ontstaand drie-dimensionaal lichaam, dat een soort rugby-bal vorm heeft, is dan het volume van de cilium. Door dit proces op verschillende tijdstippen te herhalen krijgt men meetpunten die het volume als functie van de tijd vanaf de deling weergeven, zie Figuur 13.

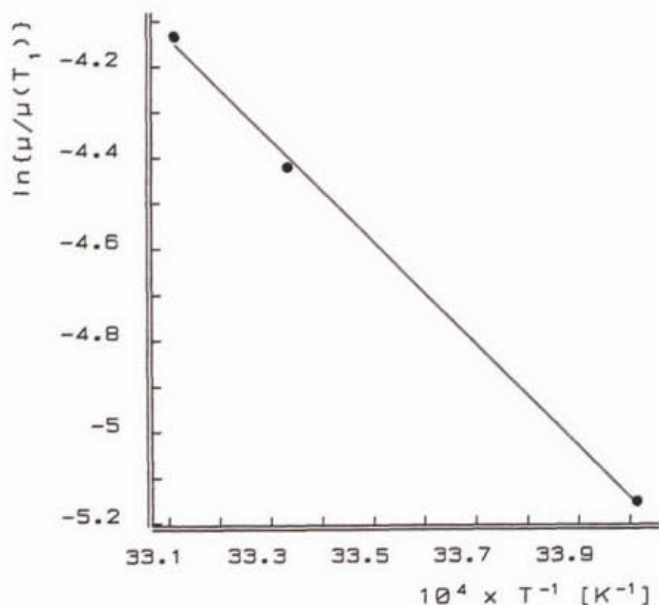
Verschillende groeimodellen waaronder het DEB model zijn aan deze meetpunten 'gefit'. Dit betekent dat de parameters van een model zo gekozen worden dat de verkregen modelkromme zo goed mogelijk door de meetpunten loopt. Door meetfouten maar ook door vereenvoudigingen in het model zal de theoretische kromme nooit precies door de



Figuur 13 De individuele groeikromme van een ciliaat. Het volume wordt als functie van de tijd weergegeven. Dikgestippelde lijn is het lineair model met constante eetsnelheid, dungestippelde lijn is het exponentieel-groei-model en getrokken lijn is het DEB-groei-model.

meetpunten lopen. Vandaar dat men zich tevreden stelt met het idee van een zo goed mogelijke benadering. Wat precies 'zo goed mogelijk' betekent moet natuurlijk dan nog precies omschreven worden. Vaak wordt de 'kwadraten som' (dat is de som van de verticale afstanden tussen de meetpunten en de curve) minimaal gemaakt. De parameterwaarden die de kleinste kwadraten som geven worden dan opgevat als de waarden die de groei van het betreffende organisme vastleggen. Figuur 13 laat ook de model-krommen zien. Alle drie modellen beschrijven de groei redelijk goed. Wat nog belangrijker is dat de voorspelde populatie groeisnelheid voor alle modellen ongeveer dezelfde is. Dit laat zien dat voor praktische toepassingen niet alle detailgegevens over de individuen bekend behoeven te zijn om op populatieniveau goede schattingen voor de populatie groeisnelheid te verkrijgen. Maar, de populatie groeisnelheid moet dan beschouwd worden als een samengestelde parameter waarbij men over de aparte onderdelen, zoals kosten voor onderhoud, geen inzicht heeft. Een soortgelijke procedure wordt gevolgd bij de calibratie van parameters van het IAW-PRC model dat vaak gebruikt als basis element voor het modelleren van de aeratietanks van een RWZI. Het onderhoud wordt niet expliciet gemodelleerd maar zit impliciet in de zogenaamde 'decay' parameter. Wil een model voorspellende waarde hebben dan is het voordelig van alle parameters afzonderlijk hun invloed op veranderende omstandigheden (zoals temperatuur) te weten.

De parameters die een snelheid voorstellen, zoals de groeisnelheid, zijn in het algemeen erg afhankelijk van de temperatuur. In (Kooijman, 1993) wordt voorgesteld de temperatuursafhankelijkheid te modelleren met de Arrhenius relatie. In Figuur 14 is dit gedaan voor de populatie groeisnelheid bij exponentiële groei van de ciliaten bij verschillende temperaturen.



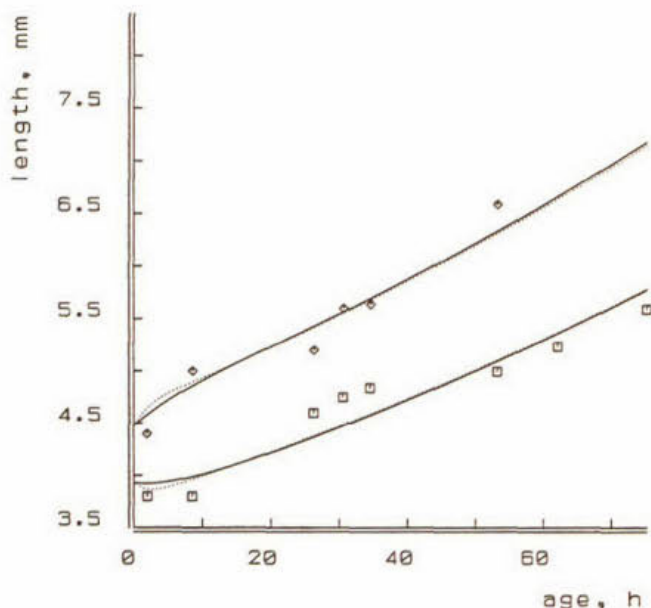
Figuur 14 De Arrhenius plot voor de logaritme groeisnelheid als functie van de reciproke van de absolute temperatuur $1/T$ voor de *Tetrahymena pyriformis*. Hieruit kan worden afgeleid dat de Arrhenius temperatuur voor de groei van *Tetrahymena pyriformis* 11209 K is.

3.3.2 Experimenten met en individuummodellen voor wormen

Andere organismen die bacteriën prederen zijn wormen, in dit geval *Nais elinguis*. De lengte van deze worm is in het algemeen kleiner dan 12 mm en de gemiddelde diameter is 0.15 mm. Het is een hermaphrodit (zowel mannetje als vrouwtje) die onder normale condities zich vermenigvuldigt door delen. Echter de voorworm is direct na deling wat kleiner dan z'n zuster, de achterworm. Toch gaan beide wormen weer delen bij het bereiken van dezelfde lengte.

Figuur 15 geeft meetpunten met de groeikrommen weer voor twee zuster wormen, zie (Ratsak *et al.*, 1993b). De lijnen zijn de modelvoorspellingen waarbij de energiekosten voor onderhoud nog gevarieerd zijn; de getrokken lijn voor weinig kosten voor onderhoud en de stippellijn bij meer kosten voor onderhoud. We zien dat, vooral bij hogere kosten voor onderhoud de groeisnelheid van de achterworm direct na het delen kleiner is, terwijl juist bij de voorworm deze groter is. Na verloop van tijd worden beide groeisnelheden gelijk. Dit kan men als volgt met het DEB model verklaren. Vlak voor de deling heeft de worm een energie voorraad die van voren naar achteren afneemt doordat segmentatie in dit type wormen voorkomt dat ze in de lengterichting als goed gemengd kunnen worden beschouwd. Het verloop van het verteringsproces veroorzaakt de gradiënt in de energie-invoer voor de worm als functie van de afstand tot de kop. Als nu de worm zich deelt, start de voorworm met grotere energiereserves dan de achterworm. Dit maakt het mogelijk dat de achterworm zelfs eerst krimpt; de energiereservers met de energie uit het gegeten voedsel te zamen zijn te klein om de kosten voor onderhoud te kunnen opbrengen.

Een apart probleem is het bepalen van de populatiegroeisnelheid. Immers het is ge-



Figuur 15 Groeikrommen van twee zuster naids. De onder en boven krommen zijn de DEB model fit-curves voor de meetpunten, respectievelijk van de voorworm (\diamond) en de achterworm (\square). Twee waarden voor de 'maintenance rate coefficient' werden gebruikt, $\dot{m} = 0.01 \text{ uur}^{-1}$ (—) and $\dot{m} = 0.05 \text{ uur}^{-1}$ (···). De verschillen in groei worden veroorzaakt door verschillen in energievoorraad vlak na deling.

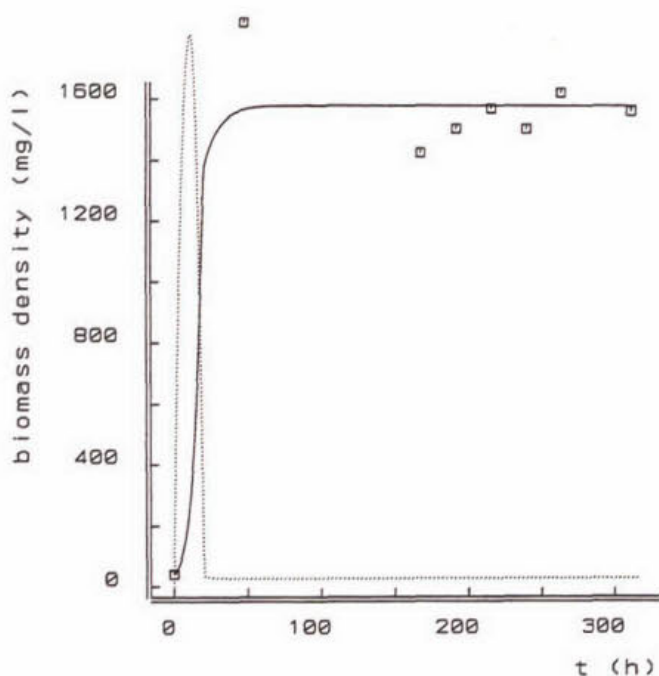
makkelijk in te zien dat de populatie uit steeds meer voorwormen dan achterwormen gaat bestaan. In (Ratsak *et al.*, 1993b; Kooi & Boer, 1994) is afgeleid hoe deze details in groei-gedrag bijdragen in de populatiegroeisnelheid als functie van de delingstijden van de voor- en achterworm.

3.3.3 Experimenten in een twee-traps chemostaat

Omdat vooral de consequenties op populatieniveau belangrijk zijn is het noodzakelijk ook experimenten op dit niveau te doen en de resultaten terug te koppelen naar individuniveau. Dit is gedaan voor ciliaten in een twee-traps (zie (Ratsak *et al.*, 1993a)) en een één-traps chemostaatopstelling.

In een twee-traps chemostaatopstelling kan men tegelijkertijd de groei van twee organismen afzonderlijk bestuderen. In de eerste chemostaat van de gebruikte experimentele opstelling groeide de bacterie *Pseudomonas fluorescens* die van het toegevoerde substraat leeft. Via de overloop werden bacteriën toegevoerd naar de tweede chemostaat waarin de ciliaat *Tetrahymena pyriformis* groeide. Beide organismen werden geïsoleerd van de RWZI Amsterdam-Oost. In een Coulter Counter (Coulter Multisizer II from Coulter Electronics Limited) werden op bepaalde tijden zowel aantallen als biovolume van beide organismen bepaald.

Modelparameters werden geschat gebruik makend van de meetpunten, zie Figuur 16. De resulterende krommen laten zien dat het DEB model dat gebruikt wordt voor het beschrijven van de bacteriële biomassa en biomassa van de ciliaten in de tijd, de gegevens



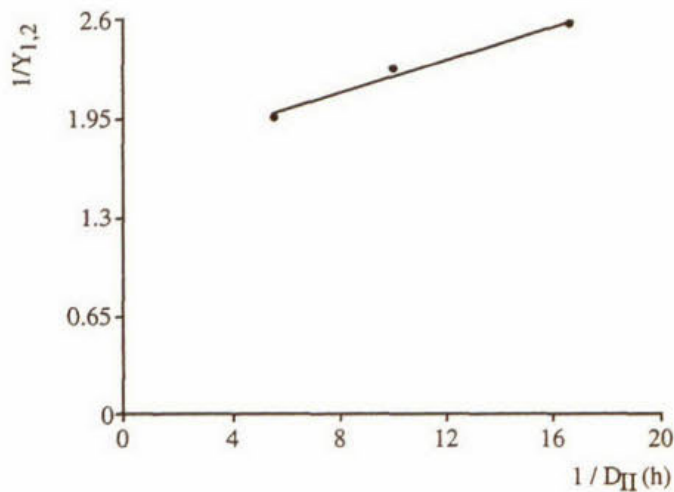
Figuur 16 Curve-fit van de experimentele gegevens voor de twee-traps chemostaat. De doorstroomsnelheid van beide, de bacteria en de ciliaten, is 0.1 per uur. De getrokken lijn is het berekende concentratieverloop van de ciliaten en de gestippelde lijn die van de bacteriën. Beide concentraties zijn functies van de tijd gemeten vanaf het koppelen van de twee chemostaten.

goed beschrijft. Alleen vlak na het begin $t = 0$ volgt de fit de gegevens niet. De experimentele gegevens suggereren dat er een 'overshoot' ontstaat voordat zich een 'steady-state' instelt. Dit wordt veroorzaakt doordat we aannemen dat op het moment dat de bacteriën aan de ciliaten gevoerd worden ($t = 0$), er geen bacteriën aanwezig zijn in de tweede trap. Als deze aanname niet gemaakt wordt dan geeft de fit ook een 'overshoot'. In Tabel 11 zijn de waarden voor een aantal gemeten parameters opgesomd en de daarmee geschatte waarden voor de 'yield' die dan gebaseerd is op natgewichten. Figuur 17 laat de reciproque van de 'yield' zien als functie van de reciproque van de doorstroomsnelheid, die gelijk is aan de groeisnelheid van de ciliaten omdat er evenwicht heerst. Met deze gegevens is de 'maintenance rate coefficient' geschat op 0.032 uur^{-1} en de zogenaamde maximale 'yield' (als er geen onderhoud zou zijn) $0.6 \text{ mg natgewicht ciliaten per mg natgewicht bacteriën}$. De 'maintenance coefficient' zoals door Pirt gedefinieerd, en in de microbiologie een veel gebruikte grootte, is gelijk aan 0.053 .

Bij een doorstroomsnelheid van 0.1 uur^{-1} in beide chemostaten wordt 36% koolstof in de eerste chemostaat geassimileerd and 55% gemineraliseerd. In de tweede chemostaat wordt nogeens 35% koolstof geassimileerd en $22-44\%$ gemineraliseerd, afhankelijk van de doorstroomsnelheid in deze chemostaat en dus van de groeisnelheid van de ciliaten. Als the groeisnelheid toeneemt dan neemt de residuele koolstofconcentratie in het supernatant ook toe. De koolstofbalans klopte $99-105\%$ (zie Tabel 12). Tabel 13 geeft de gemeten drooggewichten voor zowel de bacteriën als de ciliaten bij verschillende doorstroomsnelheden in de tweede chemostaat. We zien dat in de tweede chemostaat met ciliaten $12-43\%$ reductie van biomassa mogelijk is.

Tabel 11 Gemeten Coulter Counter, dus natgewicht, gegevens voor de twee-traps chemostaat. De groeisnelheid werd bepaald door curve-fitting van groeikrommen van individuele ciliaten.

doorstroomsnelheid uur ⁻¹	bacteriën mg/l	saturatie mg/l	groeisnelheid uur ⁻¹	'yield' mg/mg
0.06	3590	50	0.29	0.39
0.1	3590	50	0.29	0.44
0.18	3590	50	0.29	0.51



Figuur 17 De reciproque van de 'yield' $1/Y_{1,2}$) uitgezet tegen de reciproque van de doorstroomsnelheid $1/D_{II}$, waarbij de 'yield' geschat is uit de meetresultaten verkregen met de Coulter Counter.

Tabel 12 Percentage van mineralisatie, assimilatie, koolstof in supernatant en overblijvende koolstof als functie van de doorstromingsnelheid in het twee-trapsexperiment. De doorstromingsnelheid in de eerste chemostaat (D_I) is steeds 0.1 uur^{-1} en die van de tweede chemostaat (D_{II}) is gevarieerd.

	mineralization %	assimilation %	supernatant %	carbon recovery %
$D_I = 0.1$	55	36	8	99 ± 3
$D_{II} = 0.06$	42	34	29	105 ± 3
$D_{II} = 0.1$	44	35	26	105 ± 3
$D_{II} = 0.18$	22	34	45	101 ± 3

Tabel 13 Gemeten drooggewichten (DW) in het twee-trapsexperiment. De doorstromingsnelheid in de eerste chemostaat is in alle experimenten 0.1 per uur , het drooggewicht van de bacteriën is 1.03 g/l . Het werkvolume van de tweede chemostaat is gevarieerd om verschillende doorstromingsnelheden in de tweede chemostaat te krijgen. Het percentage biomassa-reductie werd als volgt berekend: $100 \times (\text{DW bacteriën} - \text{DW ciliaten}) / \text{DW bacteriën}$.

doorstromingsnelheid uur^{-1}	drooggewicht ciliaten g/l	biomassa reductie %	'yield' g/g
0.06	0.59 ± 0.04	43	0.57
0.1	0.66 ± 0.02	36	0.64
0.18	0.91 ± 0.01	12	0.88

3.3.4 Experimenten in een één-traps chemostaat

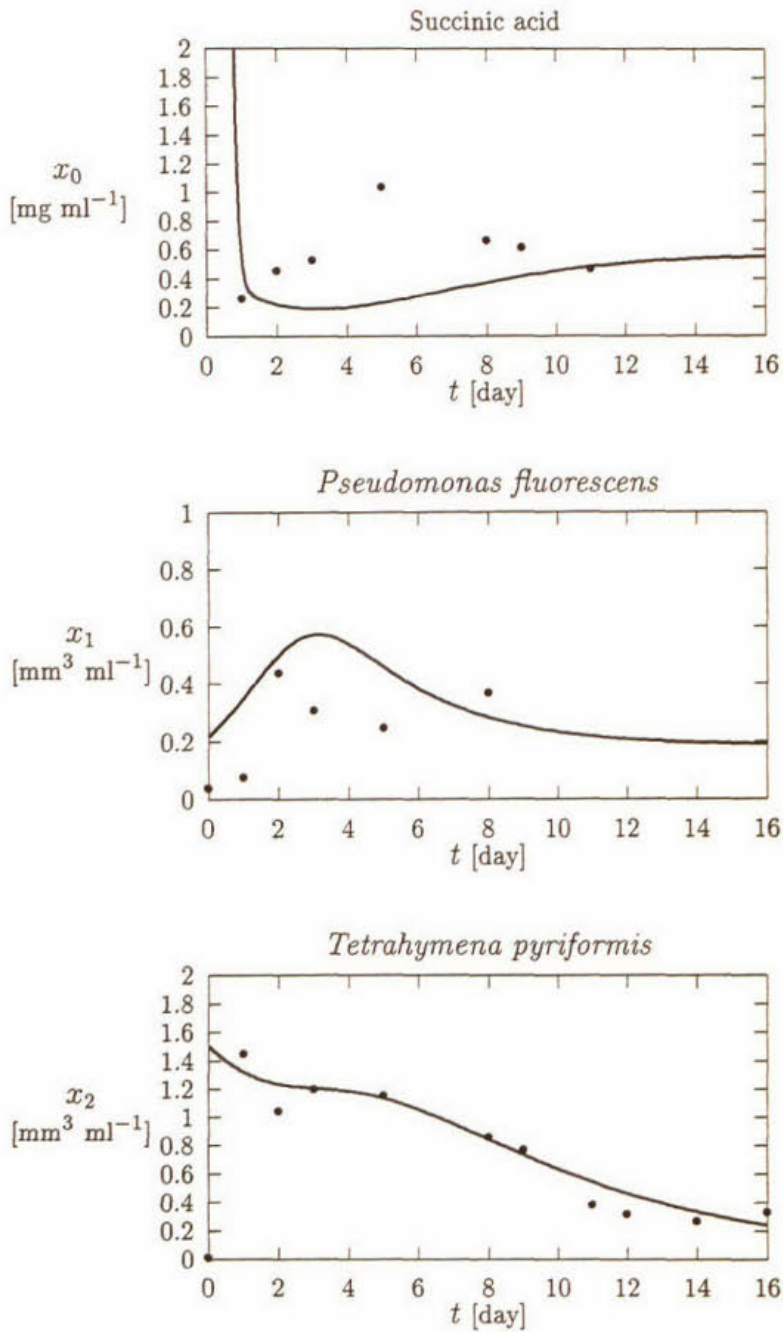
Bij het één-traps chemostaatexperiment, is in de reactor een voedselketen aanwezig. Vanuit het voorraadreservoir wordt succinaat toegevoerd naar de reactor. Van dit substraat leven de bacteriën die zelf weer opgegeten worden door de ook in de reactor aanwezige ciliaten. Dit betekent dat in principe oscillerende oplossingen, zoals afgebeeld in Figuur 10, kunnen ontstaan. Er is een aantal metingen uitgevoerd met verschillende doorstroomsnelheden. In het laatste experiment is de doorstroomsnelheid na het instellen van een evenwicht, veranderd. Dit heeft als voordeel dat dan de begincondities goed bekend zijn, immers dit zijn de evenwichtswaarden bij de eerst ingestelde doorstroomsnelheid. Helaas is het niet mogelijk geweest bij dit laatste experiment de bacterie-concentraties als functie van de tijd te meten, zodat deze resultaten niet gebruikt kunnen worden voor het schatten van parameters.

Bij één van de metingen was het mogelijk van de drie niveaus, succinaat, bacteriën en ciliaten de concentraties in de reactor te meten als functie van de tijd. In Tabel 14 staan de geschatte parameters vermeld. In Figuur 18 zijn de modelvoorspellingen te zien te zamen met de meetpunten. We zien dat het model wel in staat is de meetpunten redelijk goed te volgen, maar dat sommige parameterwaarden niet realistisch zijn, zoals een 'yield' die groter is dan 1 mg/mg en negatieve kosten voor onderhoud. Het eerste zou betekenen dat een massa bacteriën een groter massa aan ciliaten op zou leveren (ontstaan van materie) en het laatste dat de organismen hun energie ergens van buiten toegevoerd zouden krijgen. Als randcondities aan deze twee grootheden opgelegd worden volgen de berekende resultaten de meetpunten zeer slecht.

De slechte fit wordt veroorzaakt doordat er te weinig meetpunten zijn, maar daarnaast ook doordat er in het tijdsverloop blijkbaar te weinig informatie zit om de dynamische parameters goed te kunnen schatten. Om dit laatste te verduidelijken beschouwen we een experiment waarbij de chemostaat in zijn evenwicht opgestart wordt. Dat betekent dat er dan drie meetpunten zijn, namelijk de drie concentraties. Echter het model heeft 10 parameters en daarmee is het probleem overbepaald. Uit de resultaten van deze metingen kunnen we leren dat het noodzakelijk is met mathematische modellen een goede aansturing van de regelgrootheden tijdens het experiment, namelijk de doorstroomsnelheid en de concentratie in het reservoir, van te voren te bepalen. Met behulp van redelijke waarden voor de parameters, verkregen met batch-experimenten of twee-trapsexperimenten, is het proces te simuleren. Met een ruisgenerator kunnen meetfouten gesimuleerd worden. Door de zo verkregen waarden op te vatten als meetwaarden kan dan de parameterschattingsprocedure onderzocht worden. Op deze manier kan geprobeerd worden die omgevingssituaties te creëren (zoals het plotseling veranderen van de doorstroomsnelheid zodat het systeem van het éne evenwicht naar een andere gaat, of het vinden van situaties waarbij slingeringen ontstaan zoals in Figuur 10) waarbij wel voldoende informatie in de meetresultaten komt te zitten. In (Kooijman, 1993) is een model (DEB) ontwikkeld en uitgewerkt over relaties tussen substraatverbruik, gaswisseling en biomassa- en productvorming. Omdat de metingen van de concentraties succinaat, bacteriën en ciliaten niet voldoende nauwkeurig zijn en daarom dus weinig hoopgevend zijn, is niet geprobeerd de meetgegevens met betrekking tot O_2 -verbruik en CO_2 -productie in een schattingsprocedure met dit model uit te voeren.

Tabel 14 Geschatte modelparameters. Sommige van de parameterwaarden zijn niet realistisch zoals 'yield' groter dan 1 mg/mg (spontaan ontstaan van materie) en negatieve kosten voor onderhoud. De indices 0,1 slaan op de bacterie-succinaat combinatie en 1,2 op de ciliaat-bacterie combinatie.

Parameter	eenheden	waarde
suc.-bac. 'yield' _{0,1}	mg/mg	0.048
suc.-bac. max. groeisnelheid _{0,1}	dag ⁻¹	11
suc.-bac. saturatie constante _{0,1}	mg/ml	7.9
bac. onderhoudsfactor ₁	dag ⁻¹	-0.16
bac. kosten voor groei ₁	—	0.10
bac.-cil. 'yield' _{1,2}	mg/mg	21
bac.-cil. max. groeisnelheid _{1,2}	dag ⁻¹	1.8
bac.-cil. saturatie constante _{1,2}	mg/ml	3.7
cil. onderhoudsfactor ₂	dag ⁻¹	-0.29
cil. kosten voor groei ₂	—	1000
initiële substraat concentratie	mg/ml	32
initiële bac. biomassa	mg/ml	0.22
initiële cil. biomassa	mg/ml	1.5
initiële bac. energievoorraad	—	1
initiële cil. energievoorraad	—	1
suc. concentratie in reservoir	mg/ml	5.9
doorstroomsnelheid	dag ⁻¹	0.55



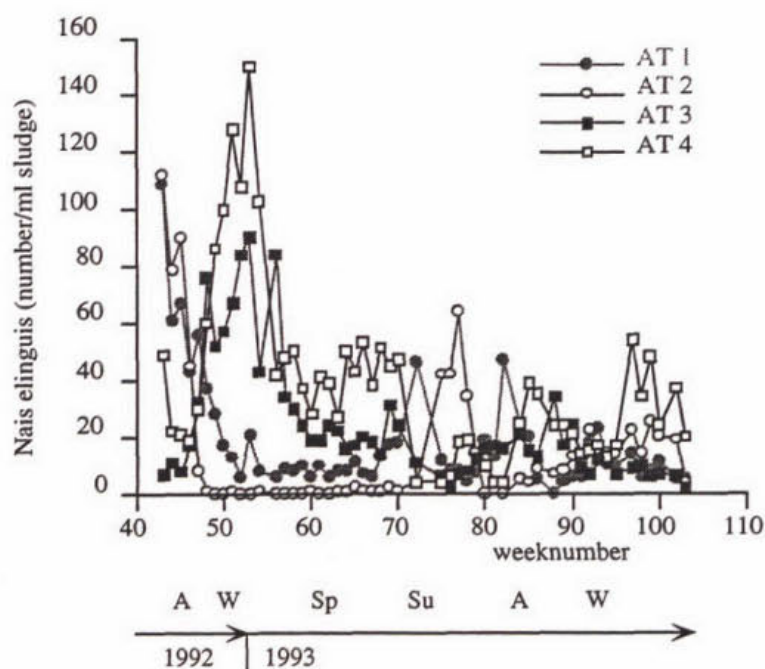
Figuur 18 Modelresultaten (—) en de meetpunten (•) van een één-traps chemostaat experiment; x_0 is concentratie van succinaat, x_1 is concentratie van bacteriën en x_2 is concentratie van ciliaten.

3.4 Bemonstering

Met wormen zijn er geen experimenten zoals met de ciliaten, op populatieniveau gedaan, maar is de aanwezigheid van wormen en het effect daarvan op de zuivering in een RWZI in de praktijk bestudeerd. In deze paragraaf wordt een één jaar lange bemonstering op aanwezigheid van wormen in de RWZI te Deventer besproken.

3.4.1 Wormen in RWZI's en hun effect op de zuivering

In oktober 1992 was er in twee aeratietanks (ATs) van de RWZI te Deventer geen surplusslib productie, terwijl in dezelfde periode grote aantallen wormen in die tanks werden waargenomen. De andere twee tanks werkten normaal, er waren weinig tot geen wormen aanwezig en de surplusslib productie was normaal. Drie weken later werden de wormen gedetermineerd en hun aantal gemeten. De wormen bleken *Nais elinguis* te zijn. Vanaf toen werd gedurende één jaar de RWZI te Deventer op de aanwezigheid van deze wormen bemonsterd. Eén keer per week werd het aantal wormen in de vier aeratietanks geteld. Daarnaast werd de kwaliteit van het effluent (CZV, BZV, Kjeldahl-N $\text{NH}_4\text{-N}$ $\text{NO}_3\text{-N/NO}_2$ en P), energieverbruik voor zuurstoftoevoer en slibproductie gemeten.



Figuur 19 Aantal wormen in de vier aeratietanks (AT1, AT2, AT3, AT4) van de RWZI te Deventer als functie van de weeknummer.

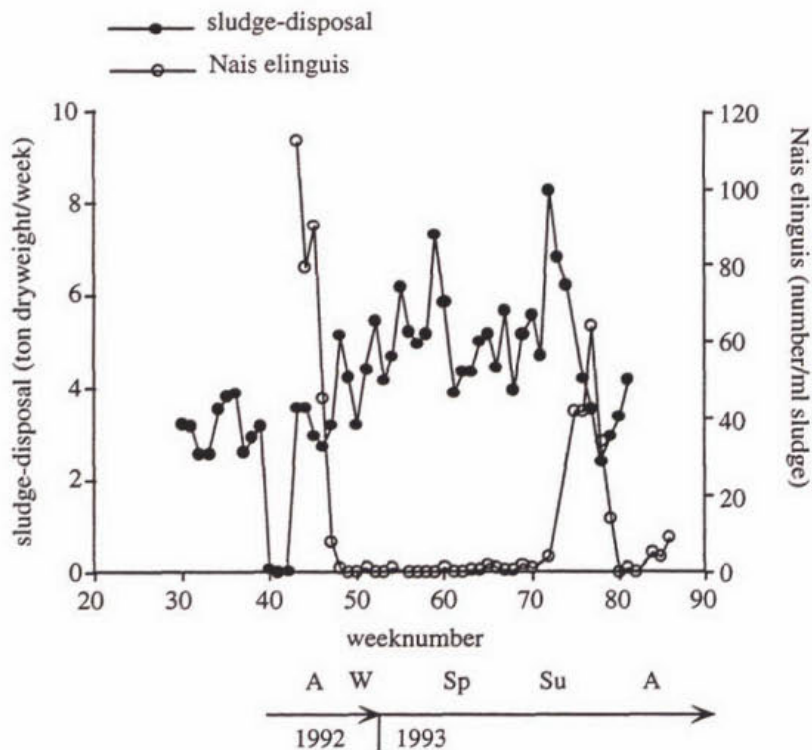
Figuur 19 geeft de gemeten aantallen wormen als functie van de weeknummers in 1992. Voor het begin van de meet-periode werd een grote wormenbloei waargenomen in de aeratietanks AT1 en AT2. Bij de start van het experiment nam het aantal in AT1 en AT2

Tabel 15 De resultaten van de analyse van het effluent (in mg/l) van twee aeratietanks met een verschillend aantal wormen. Het - teken staat voor het effluent van de aeratietank zonder wormen en het + teken voor het effluent van de aeratietank met wormen. Het aantal wormen in deze periode was 30-44, 20, 5 and 5 wormen per ml in respectievelijk AT4, AT2, AT1 en AT3. Vier verschillende vergelijkingen zijn gemaakt. Vanaf de bovenste rij de bovenste set gegevens zijn van AT2 en AT3, dan van AT1 en AT4, dan van AT3 en AT4 en de laatste rij van AT2 and AT4.

CZV		BZV		Kjeldahl-N		NH ₄ -N		NO ₃ -N/NO ₂		P	
-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
40	43	3.2	3.9	2.4	2.5	0.43	0.42	37	39	2.4	1.9
38	44	5.3	6.9	2.6	2.9	0.25	0.39	33	35	2.4	2.0
35	41	5.6	5.7	4.8	6.7	3.3	4.2	27	27	2.0	1.7
40	47	3.1	5.1	2.4	3.0	0.41	0.76	32	34	2.6	1.7
25	31	2.3	4.2	1.6	1.6	0.17	0.20	16	18	1.1	1.4
26	21	7.9	9.5	14	17	12.3	14.4	5.3	8.9	1.1	1.4
20	27	4.4	5.8	2.3	2.7	0.41	0.75	31	37	1	1.5
44	48	6.1	5.8	3.2	6.9	1.4	3.9	41	38	2.9	3.0
46	41	4.7	5.7	2.6	3.0	0.35	0.47	41	42	2.8	2.7
45	46	4.9	6.2	2.9	3.2	0.45	0.66	39	39	3.0	2.9
57	54	6.4	5.3	3.4	3.7	0.63	1.3	36	34	3.7	3.6
42	43	5.8	5.7	3.0	2.7	0.32	0.31	39	38	3.1	3.0
51	61	5.2	5.7	27	7	19.6	3.3	16	38	2	3.4

reeds af en juist toe in de tanks AT3 en AT4. Daarna is het aantal wormen in de bemonsteringsperiode in alle aeratietanks kleiner dan 60 per ml slib.

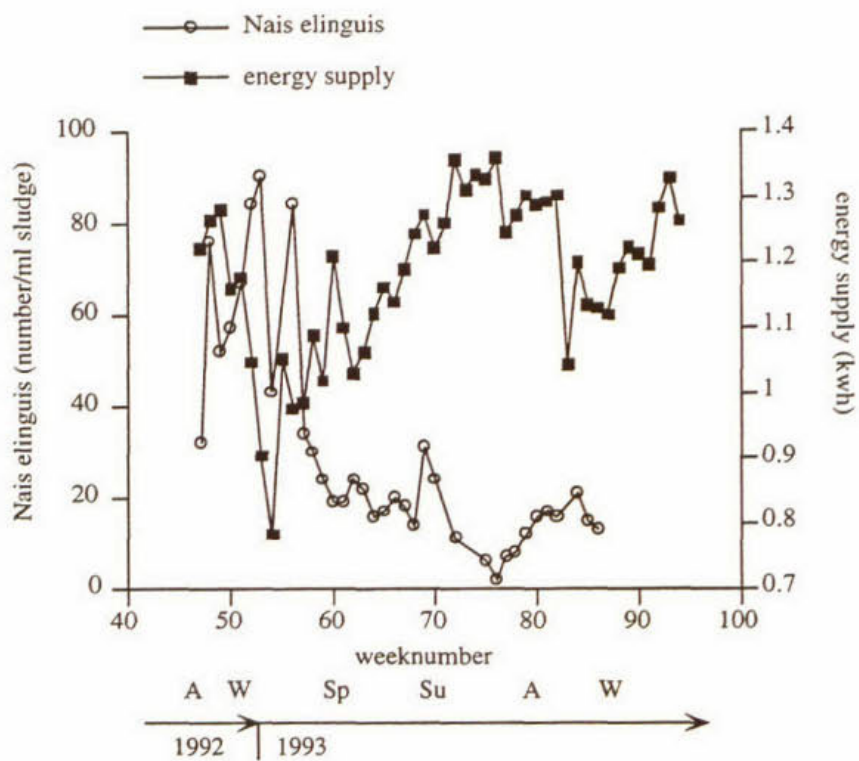
In Figuur 20 staat voor aeratietank AT2 naast het aantal wormen ook het surplusslib tegen het weeknummer uitgezet. Merk op dat de hoeveelheid surplusslib bekend is vanaf weeknummer 30, dus ook in de periode van de opgemerkte grote wormenbloei zo rond weeknummer 39. We zien dat er in de korte periode voordat het experiment begon, er veel (precies hoeveel is niet geteld) wormen aanwezig waren en dat de hoeveelheid surplusslib in die periode klein is. Later (rond weeknummer 77) nam het aantal wormen, na een lange periode met weinig wormen, weer toe en ook nu ging dit gepaard met een afname van de surplusslib produktie. Voor aeratietank AT3 wordt in Figuur 21 het verband tussen de energieverbruik voor zuurstoftoevoer en aantallen wormen weergegeven. We zien dat als er veel wormen zijn het energieverbruik kleiner is. Dit resultaat ligt niet voor de hand. Immers meer mineralisatie door de wormen gaat gepaard met een hoger zuurstofverbruik



Figuur 20 Aantal wormen per ml slib en surplusslibproductie in ton drooggewicht per week in aeratietank AT2 als functie van weeknummer.

en men zou dus juist een hogere energieverbruik verwachten. Hierop wordt in dit verslag niet verder ingegaan.

In Tabel 15 staan de resultaten van de analyses van het effluent vermeld. Deze metingen werden verricht in de periode weeknummer 95-105. In deze periode liep het verschil in aantal wormen in de aeratietanks op tot 39 per ml slib, namelijk in weeknummer 98 in AT4 44 en in AT3 5 per ml slib. Het verschil in de samenstelling van het effluent van tanks met en zonder wormen was klein. Dit toont aan dat de kwaliteit van het effluent niet afneemt met een toename van het aantal wormen, althans niet in het waardenbereik van de waargenomen aantallen wormen.



Figuur 21 Aantal wormen per ml slib en energieverbruik voor zuurstoftoevoer in kWh voor aeratietank AT3 als functie van weeknummer.

4 Conclusies en suggesties voor toekomstig onderzoek

Conclusies

De volgende conclusies kunnen uit de onderzoeksresultaten worden getrokken:

1. Bij de behandeling van voorbezonken stedelijk afvalwater is volledige koolstofverwijdering en omzetting van stikstofverbindingen in nitraat mogelijk met behulp van actief slib dat in de installatie wordt gehouden door middel van biomassaretentie met behulp van cross-flow filtratie. Dit is getest in reactoren op laboratoriumschaal en semi-praktijkschaal gedurende een periode van één jaar. Er is niet gebleken dat de slib-activiteit door bijvoorbeeld veroudering achteruit gaat.
2. Met behulp van biomassaretentie wordt de biomassatoename en dus de surplusslibproductie zeer laag. In een proefopstelling bleek het gedurende één jaar niet nodig slib te spuien. Er is sprake van een verminderde zuurstofoverdracht.
3. Langzaam groeiende organismen worden in een installatie met 100% biomassaretentie niet uitgespoeld tijdens belastingen waarbij de verdunningssnelheid van de reactor groter wordt dan de maximale groeisnelheid van deze organismen.
4. Ammonium- en zuurstofconsumptie door actief slib gaan samen met de productie van moleculaire stikstof. Bij opgeloste-zuurstofspanningen van 1.25% en hoger was de stikstofproductie gelijk aan 20% van de ammoniumconsumptie. Bij 0.3% was dit zelfs 58%. Hoogst waarschijnlijk vond er denitrificatie plaats door nitrificeerders.
5. Uit resultaten van experimenten blijkt dat het DEB model het biologische afbraakproces in de aeratietank beter beschrijft dan andere, vaak gebruikte modellen.
6. Slibreductie door begrazing is mogelijk. In een twee-traps-chemostaatexperiment was 12-43% reductie van biomassa mogelijk in de tweede chemostaat met ciliaten. De grootte van de reductie hangt af van de groeisnelheid van de ciliaten.
7. Bij wormenbloei in de RWZI te Deventer ontstond veel minder surplusslib. Dit laat zien dat wormen in principe kunnen bijdragen tot reductie van de surplusslibproductie.
8. Zowel de groei van bacteriën als die van eukariote één-celligen en van dieren blijkt door het DEB model goed beschreven te worden. Dit maakt het mogelijk de dynamica van complexe voedselwebben te bestuderen. Een begin van deze theorie-vorming is al gemaakt. Het blijkt dat onderhoud en reserves erg stabiliserend werken op het dynamisch gedrag van voedselketens, die doorgaans notoir grillig gedrag laten zien, hetgeen niet erg realistisch is.
9. Het effect van de temperatuur op omzettingssnelheden bleek voor alle organismen goed te beschrijven met behulp van de Arrhenius relatie.

10. Gelet op de stabiliteit van het zuiveringsproces lijkt het raadzaam om de predatie door ciliaten op zwevende bacteriën in een aparte trap onder te brengen.

Opmerkingen en Spin-offs van het onderzoek

De volgende samenvattende opmerkingen kunnen naar aanleiding van de onderzoeksresultaten worden gemaakt:

Studie en metingen:

- 1a De rol van verschillende organismen in het biologisch afbraakproces is geëvalueerd. Dit is gedaan door literatuuronderzoek, het doen van experimenten met chemostaten en het bemonsteren van aantallen wormen in een RWZI.
- 1b Van individuen van twee belangrijke begrazers in RWZI's, namelijk de ciliaten en wormen, is het groeigedrag gemeten en het vermenigvuldigen bestudeerd.
- 1c Met behulp van chemostaten is de groei van populaties van verschillende in de praktijk relevante micro-organismen experimenteel bepaald.
- 1d Voor deze relevante micro-organismen zijn waarden geschat voor energetische parameters die de voedselopname, de grootte van de behoefte aan onderhoudsenergie en het groeigedrag bepalen. De waarden kunnen worden gebruikt als gegevensbestand voor invoer van parameterwaarden in programma's ten behoeve van het optimaliseren van de bedrijfsvoering van RWZI's.

Modelontwikkeling en toepassingen:

- 2a Een model, het Dynamisch Energie Budget (DEB) model, is ontwikkeld voor relaties tussen substraatverbruik, gaswisseling en slibproductie.
- 2b Het is mogelijk het verschil in groeisnelheid van de voor- en achterworm vlak na de deling met het DEB model te verklaren.
- 2c Onderhoud is als apart onderdeel in het DEB model voor groei van organismen opgenomen en niet als onderdeel van een samengestelde, 'decay' parameter zoals dat bijvoorbeeld in het IAWPRC model voor de groei van de bacteriën wel gedaan is. Omdat het DEB model beter rekening houdt met de verschillende eigenschappen van organismen, zijn er ook meer experimentele gegevens nodig om de parameters van getalswaarden te kunnen voorzien.
- 2d Een mathematisch model (DEB) is ontwikkeld dat de relaties binnen een (microbiële) voedselketen alsmede de energiebudgetten hierbinnen in voldoende mate beschrijft. Voor chemostaatomgevingen geeft dat model de omstandigheden waaronder voedselketens kunnen bestaan.

Methoden:

- 3a Een nieuwe methode is ontwikkeld voor de bepaling van de capaciteit van nitrificatie van actief slib.
- 3b Er is bepaald hoe de maximale autotrofe ammoniumconsumptiesnelheid in actiefslib afhangt van de opgeloste-zuurstofspanning.
- 3c Een monsternamemethode is ontwikkeld, die gebruik maakt van een 'in situ' membraanunit. Deze methode maakt het nauwkeurig bepalen van de residuele substraatconcentratie mogelijk, wat van grote betekenis is voor het testen van modellen voor microbiële productie.

Suggesties voor toekomstig onderzoek

Het ontwikkelde mathematische model kan reeds gebruikt worden voor het opzetten van een goede chemostaat-meetopstelling voor het bepalen van modelparameters. Geavanceerdere modellen bevatten meer parameters en dat brengt hogere eisen van de nauwkeurigheid van de metingen met zich mee. Dat is de prijs die betaald moet worden voor de betere voorspellingen door deze modellen, ook in situaties waarin niet direct gemeten is. In een vervolgstudie zouden experimenten tezamen met simulaties met modellen gebruikt kunnen worden voor het ontwerpen van testprocedures en calibratieprogramma's die meetresultaten moeten opleveren die voldoende informatie bevatten om er alle relevante energetische parameters mee te kunnen schatten. Dit kan eerst op laboratoriumschaal en daarna, met gebruikmaking van de verkregen inzichten, op praktijkschaal gedaan worden.

Gelet op de hoge kosten van retentie via membranen, zou aanvullend onderzoek moeten worden uitgevoerd naar alternatieve retentiemethoden, met name door dragers, b.v. sponsjes. De zuivering in één aeratietank ten opzichten van een splitsing van de zuiverings- en de verwerkingsstap zou hierbij onderzocht moeten worden.

De gevonden resultaten en conclusies leiden tot een schets voor een toekomstige aerobe stedelijke waterzuiveringsinrichting, gebaseerd op de volgende overwegingen:

- (i) Biomassaretentie zou een onderdeel kunnen vormen; het zuiveringsgedrag van de biomassa in slib wordt niet nadelig beïnvloed door veroudering. De surplusslibproductie wordt op deze manier geminimaliseerd.
- (ii) Biomassaretentie geeft de mogelijkheid organismen te handhaven die anders met het spuislib uitgespoeld zouden worden (nitrificeerders). Een installatie kan geënt worden met specifieke organismen, die een bepaalde specifieke afbraak kunnen uitvoeren van bijvoorbeeld xenobiotica. Zulke organismen zouden in de huidige installaties mogelijk geen overlevingskansen hebben en uitspoelen.
- (iii) Denitrificatie zou moeten worden bevorderd, zodat alle N-verbindingen uiteindelijk tot moleculaire stikstof worden gemineraliseerd.

- (iv) Onderzoek zal moeten worden uitgevoerd naar een alternatief voor biomassaretentie met behulp van membranen.

- (v) Modellen zullen moeten worden gemaakt om de reactoren optimaal te dimensioneren en de bedrijfsvoering te perfectioneren. Daarvoor is het nodig in bestaande modellen, als dat van het IAWPRC, de biologische modulen te vervangen door meer realistische modellen, zoals die in het kader van dit project ontwikkeld zijn.

Als we bovenstaande punten in aanmerking nemen leidt dit tot de volgende schematische voorstelling van een installatie bestaande uit drie compartimenten; een anaeroob, een anoxisch of oxisch en een aerob deel (A-AO-O). In het schema is aangenomen dat er volledige fosfaatverwijdering plaatsvindt. Verder moet het geheel flexibel zijn om piekbelastingen en veranderingen in C/N-verhoudingen aan te kunnen.

In Figuur 22 is tank I een anaerobe tank waarin met snelheid A (voorbezonden) afvalwater wordt gepompt en waarin opname van vetzuren kan plaatsvinden door een fosfaatophopend organisme en indien fosfaatverwijdering niet nodig is denitrificatie plaats kan vinden met behulp van in tank III gevormd nitraat. Bij fosfaatverwijdering wordt met snelheid 2A (de factor 2 is hier als voorbeeld genomen) verpompt naar tank III (stroom '1'). Bij geen fosfaatverwijdering: terugvoer uit tank III met snelheid A ('4') en afvoer naar tank II met snelheid 2A ('2').

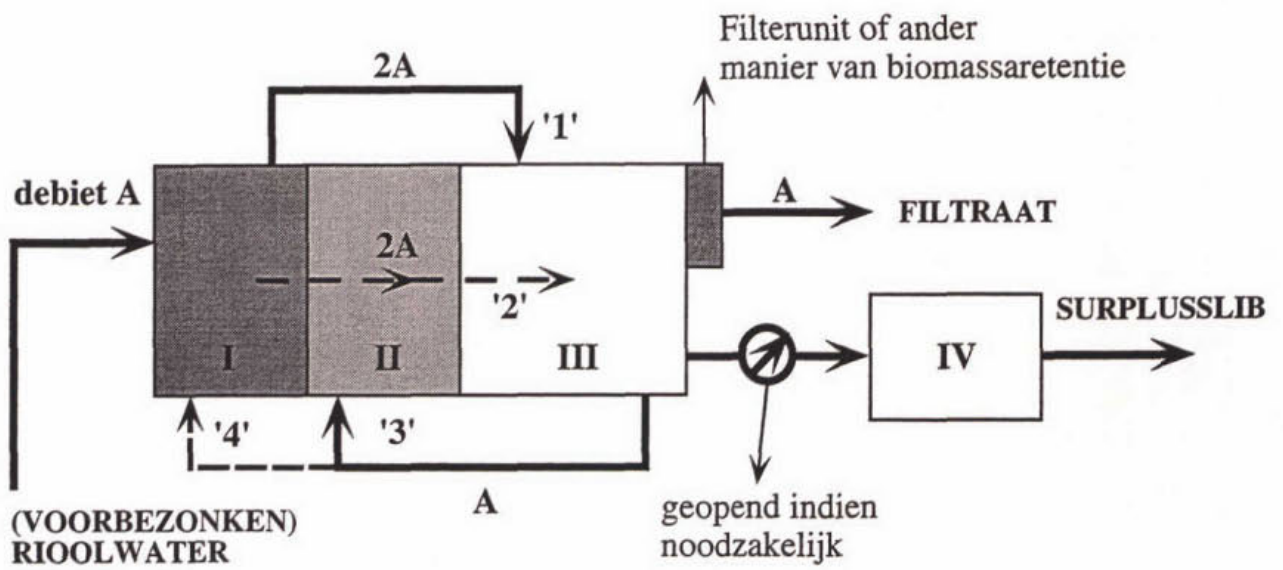
Tank II is een anoxische tank waarin denitrificatie kan plaatsvinden met behulp van in tank III gevormd nitraat (is obligaat bij fosfaatverwijdering). Indien geen fosfaatverwijdering nodig is, kan in deze tank II de rest van de organische koolstof, die is overgebleven na denitrificatie in tank I, aerob worden gemineraliseerd.

Tank III is een aerobe tank waarin fosfaatverwijdering en nitrificatie kunnen plaatsvinden. Indien fosfaatverwijdering plaatsvindt, is slibafvoer noodzakelijk en zal het bovenstaande nitraatbevattende water na snelle bezinking teruggevoerd moeten worden naar tank III. Terugvoer vanuit tank III vindt dan plaats met snelheid A naar tank II en gedeeltelijk naar tank I voor nieuwe start fosfaatverwijdering ('3' en '4'). Bij geen fosfaatverwijdering wordt alles naar tank I teruggevoerd ('4'). Gezuiverd filtraat wordt met snelheid A afgevoerd naar het oppervlaktewater.

Tank IV is een extra zuiveringsstap waarin door begrazing het slib biologisch wordt afgebroken voor een reductie van eventueel gevormd surplusslib. Fosfaatbevattend slib kan niet op deze manier worden verwerkt omdat dan het opgehoopte fosfaat weer vrijkomt.

Daar nitrificeerders zich gemakkelijk op dragers vestigen en fosfaatophopende organismen na ophoping makkelijk bezinken is het filtersysteem mogelijk te vervangen door slib op drager in compartiment III, mits er weinig toevoer is van (moeilijk bezinkbaar) slib uit de compartimenten I en II.

Het gehele proces is gemakkelijk aan te passen al naar gelang de wensen voor zuivering en de kwaliteit van het aangevoerde voorbezonden afvalwater. Het lijkt zinvol een dergelijk systeem in een vervolgonderzoek uit te testen in combinatie met de aangegeven mogelijkheden voor de verwijdering van xenobiotica uit afvalwater met of zonder het gebruik van specifieke micro-organismen voor de verwijdering/omzetting van deze xenobiotica.



Figuur 22 Schema van een A-AO-A installatie voor de zuivering van stedelijk afvalwater.

5 Referenties

- Bibstrup, S. M. & Grady, C. P. L. (1988). SSSP-Simulation of single-sludge processes. *J. Water Pollut. Control Fed.*, **60**, 351-361.
- Coleman, D. C., Cole, C. V., Hunt, H. W., & Klein, D. A. (1978). Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. i. introduction. *Microb. Ecol.*, **4**, 345-349.
- Curds, C. R. (1973). A theoretical study of factors influencing the microbial population dynamics of the activated-sludge process-i. the effect of diurnal. *Water Research*, **7**, 1269-1284.
- Curds, C. R. (1982). The ecology and role of protozoa in aerobic sewage treatment processes. *Annu. Rev. Microbiol.*, **36**, 27-46.
- Curds, C. R. & Cockburn, A. (1968). Studies on the growth and feeding of *Tetrahymena pyriformis*. *J. gen. Microbiol.*, **54**, 343-358.
- Curds, C. R., Cockburn, A., & Vandyke, J. M. (1968). An experimental study of the role of ciliated protozoa in the activated-sludge process. *Water Pollution Control*, **67**, 312-329.
- Dent, V. E., Bazin, M. J., & Saunders, P. T. (1976). Behaviour of *Dictyostelium discoideum* amoebae and *Escherichia coli* grown together in chemostat culture. *Arch. Microbiol.*, **109**, 187-194.
- Dold, P. L. en Marais, G. V. R. (1986). Evaluation of the general activated sludge model proposed by the IAWPRC task group. *Wat. Sci. Tech.*, **18**, 63-89.
- Dolfing, J. & Witholt, B. (1991). *Perspectives for the utilization of membrane-assisted sludge retention in municipal wastewater treatment*. Technical report, RWZI2000 91-03.
- Droop, M. R. (1973). Some thoughts in nutrient limitation in algae. *J. Phycol.*, **9**, 264-272.
- Fredrickson, A. G. (1991). Segregated, structured, distributed models and their role in microbial ecology: A case study based on work done on the filter-feeding ciliate *Tetrahymena pyriformis*. *Microb. Ecol.*, **22**, 139-159.
- Griffiths, p. (1994). Modifications to the IAWPRC task group general activated sludge model. *Wat. Res.*, **28**, 657-664.
- Henze, M., Grady, C. P. L., Gujer, W., Marais, G. v. R., & Matsuo, T. (1986). *IAWPRC Task Group on Mathematical Modeling for Design and Operation of Biological Wastewater Treatment*. IAWPRC Scientific and Technical Reports 1, IAWPRC.
- Herbert, D. (1958). Some principles of continuous culture. In G. Tunevall (Ed.), *Recent progress in Microbiology* (pp. 381-396). Oxford, England: Blackwell.

- Kooi, B. W. & Boer, M. P. (1994). Discrete and continuous time population models, a comparison concerning proliferation by fission. In P. Auger & J. Demongeot (Eds.), *Proceedings of the 2 nd ECMBM- Lyon, 15-17 December 1993*.
- Kooi, B. W. & Kooijman, S. A. L. M. (1994a). Existence and stability of microbial prey-predator systems. *J. theor. Biol.*
- Kooi, B. W. & Kooijman, S. A. L. M. (1994b). The transient behaviour of food chains in chemostats. *J. theor. Biol.*
- Kooijman, S. (1993). *Dynamic Energy Budgets in Biological Systems; Theory and Applications in Ecotoxicology*. Cambridge University Press.
- Kooijman, S. A. L. M., Muller, E. B., & Stouthamer, A. (1991). Microbial dynamics on the basis of individual budgets. *Antonie van Leeuwenhoek*, **60**, 159-174.
- Kuij van der , R. J. & Roest van der , H. F. (1994). Upgrading waste water treatment plants using computer simulation. Studiedag 'Dynamisch modelleren aktiefslibsystemen' Wageningen.
- Kuiper, J. (1973). De rol van protozoën in de waterzuivering. *H₂O*, **6**(19), 491-496.
- Lessard, P. en Beck, M. (1993). Dynamic modelling of the activated sludge process: A case study. *Wat. Res.*, **27**, 963-978.
- Maarsen, K. (1992). *Effecten van protozoën op koolstofmineralisatie in actief-slib*. Technical report, RWZI 2000 92-02W. In Dutch.
- Metz, J. A. J. & Diekmann, O. (1986). *The dynamics of physiologically structured populations*, volume 68 of *Lecture Notes in Biomathematics*. Springer-Verlag.
- Monod, J. (1942). *Recherches sur la croissance bactériennes*. Hermann, Paris.
- Nisbet, B. (1984). *Nutrition and feeding strategies in protozoa*. London and Canberra: Croom Helm.
- Odum, E. P. (1966). *Ecology. Ch. 3. Energy flow and nature's metabolism*. U. S. A.: Holt, Rinehart and Winston.
- Pirt, S. J. (1965). The maintenance energy of bacteria in growing cultures. *Proceedings of the Royal Society London (B)*, **163**, 224-231.
- Ratsak, C. H., Kooi, B. W., & Verseveld, H. W. v. (1993a). First international specialized conference on microorganisms in activated sludge and biofilm processes. In *Biomass reduction and mineralization increase due to the ciliate Tetrahymena pyriformis grazing on the bacterium Pseudomonas fluorescens* (pp. 119-128).: First International Specialized Conference on Microorganisms in Activated Sludge and Biofilm Processes, September 27-28 1993, Paris.

- Ratsak, C. H., Kooijman, S. A. L. M., & Kooi, B. W. (1993b). Modelling the growth of an oligochaete on activated sludge. *Wat. Res.*, **27**(5), 739-747.
- Sherr, B. F., Sherr, E. B., & Hopkinson, C. S. (1988). Trophic interactions within pelagic microbial communities: Indications of feedback regulation of carbon flow. *Hydrobiol.*, **159**, 19-26.
- Verseveld, H. W. v., Arbige, M., & Chesbro, W. R. (1984). Continuous culture of bacteria with biomass retention. *Trends in Biotechnology*, **2**, 8-12.
- Verseveld, H. W. v., de Hollander, J. A., Frankena, J., Braster, M., Leeuwerik, F. J., & Stouthamer, A. H. (1986). Modelling of microbial substrate conversion, growth and product formation in a recycling fermentor. *Ant. v. Leeuwenhoek*, **52**, 325-342.
- Wheale, G. & Williamson, D. J. (1980). Unusual behaviour of ciliated protozoa in a secondary settlement tank. *Wat. Poll. Contr.*, **1980**, 496-500.
- Witteborg, A. S. M. (1994). Experiences with GPS-X on full-scale plants. Studiedag 'Dynamisch modelleren aktiefslibsystemen' Wageningen.

**PUBLIKATIREEKS "TOEKOMSTIGE GENERATIE
RIOOLWATERZUIVERINGSINRICHTINGEN RWZI 2000" ¹**

- 1 "Behandeling van stedelijk afvalwater in de toekomst"
Een haalbaarheidsonderzoek. I. Eindrapport II. Werkrapport
RIZA, TNO-Maatschappelijke Technologie en Witteveen & Bos Raadgevende
ingenieurs
Juli 1986
- 2 "Toekomstige generatie rioolwaterzuiveringsinrichtingen; RWZI 2000"
Onderzoekplan
RIZA, STORA
Januari 1988
- 3 "Jaarverslag 1988"
RIZA, STORA
Maart 1989
- 4 "Slibontwatering; een voorstudie"
TU-Delft, TU-Eindhoven
RWZI 2000 89-01
Januari 1989
- 5 "Knelpunten bij de invoering van defosfatering"
Witteveen & Bos Raadgevende ingenieurs
RWZI 2000 89-02
April 1989
- 6 "Selectieve verwijdering van zware metalen uit ruw rioolwater met behulp van een
magneetsysteem"
Smit-Nymegen, TNO-Maatschappelijke Technologie
RWZI 2000 89-03
Oktober 1989
- 7 "Verwijdering van zware metalen uit zuiveringsslib door elektrolyse"
TNO-Maatschappelijke Technologie
RWZI 2000 89-04
Oktober 1989

¹ Te bestellen bij:
STOWA, Postbus 8090, 3503 RB Utrecht
tel. 030-321199

- 8 "Hydrolyse van zuiveringsslib in combinatie met anaërobe vergisting"
TNO-Maatschappelijke Technologie
RWZI 2000 89-05
Oktober 1989
- 9 "Het drogen van zuiveringsslib met het Carver-Greenfieldproces"
TNO-Maatschappelijke Technologie, Witteveen & Bos Raadgevende
ingenieurs
RWZI 2000 89-06
December 1989
- 10 "Natte oxydatie van zuiveringsslib met het Vertech-systeem"
TNO-Maatschappelijke Technologie, Witteveen & Bos Raadgevende
ingenieurs
RWZI 2000 89-07
December 1989
- 11 "Symposium "RWZI 2000" d.d. 5 oktober 1989"
RIZA, STORA
RWZI 2000 89-08
December 1989
- 12 "Jaarverslag 1989"
RIZA, STORA
RWZI 2000 90-01
Maart 1990
- 13 "AB-Systemen; een inventarisatie"
DHV Raadgevend Ingenieursbureau BV
RWZI 2000 90-02
September 1990
- 14 "Vergisting van aëroob gestabiliseerd slib"
DHV Raadgevend Ingenieursbureau BV
RWZI 2000 90-03
Augustus 1990
- 15 "Het afleiden van procestechnologische relaties uit bedrijfsgegevens van rwzi's"
DHV Raadgevend Ingenieursbureau BV
RWZI 2000 90-04
December 1990
- 16 "Automatische regeling van het slibgehalte in beluchtingstanks"
Adviebureau BKH
RWZI 2000 90-05
September 1990

- 17 "Verkenning Bio-Denitro/Bio-Denipho"
Witteveen & Bos Raadgevende ingenieurs
RWZI 2000 90-06
Juni 1990
- 18 "Linpor-sponsjes als dragermateriaal bij de aërobe zuivering van rioolwater"
TNO-Maatschappelijke Technologie
RWZI 2000 90-07
Oktober 1990
- 19 "Jaarverslag 1990"
RIZA, STORA
RWZI 2000 91-01
Maart 1991
- 20 "Deep Shaft-systemen; een inventarisatie"
DHV Raadgevend Ingenieursbureau BV
RWZI 2000 91-02
Maart 1991
- 21 "Perspectives for the utilization of membrane-assisted sludge retention in municipal waste water treatment plants"
A feasibility study
RU-Groningen
RWZI 2000 91-03
Juni 1991
- 22 "Jaarverslag 1991"
RIZA, STOWA
RWZI 2000 92-01
Maart 1992
- 23 "Vergisten van zuiveringslib; een vergelijking tussen thermofiele en mesofiele slibgisting"
Haskoning B.V., RIZA, LU-Wageningen, DHV Water B.V.
RWZI 2000 92-02
Maart 1992
- 24 "First Dutch-Japanese workshop on the treatment of municipal waste water;
8-11 april 1991, Heelsum, The Netherlands. Part I and part II.
RIZA, STOWA, TU-Delft
RWZI 2000 92-03
Maart 1992

- 25 "Biologische fosfaatverwijdering in combinatie met een korrelreactor"
LU-Wageningen, DHV Water B.V.
RWZI 2000 92-04
Augustus 1992
- 26 "Anaërobe behandeling van stedelijk afvalwater in Nederland"
Covernota van het uitgevoerde onderzoek 1976 - 1991
LU-Wageningen, Haskoning B.V.
RWZI 2000 92-05
Mei 1992
- 27 "Vergaande nutriëntenverwijdering op een zeer laagbelaste aktiefslibinstallatie"
Zuiveringsschap Hollandse Eilanden en Waarden, Grontmij N.V.
RWZI 2000 92-06
Oktober 1992
- 28 "Ontwikkeling van een slib-op-drager systeem voor de aërobe zuivering van stedelijk afvalwater"
Fase II: Onderzoek naar de processtabiliteit en optimalisatie van het zuiveringsrendement.
TNO-IMW
RWZI 2000 92-07
Oktober 1992
- 29 "Behandeling van stedelijk afvalwater met het schachtreactorsysteem"
V & P Waste Water Management B.V.
RWZI 2000 92-08
Juli 1994
- 30 "Stikstofverwijdering uit interne stromen op rwzi's"
DHV Water B.V.
RWZI 2000 92-09
December 1992
- 31 "Jaarverslag 1992"
RIZA, STOWA
RWZI 2000 93-01
April 1993
- 32 "Onderzoek demonstratie-installaties magnetische defosfatering"
Envimag B.V.
RWZI 2000 93-02
April 1993

- 33 "Modelvorming en optimalisatie van biologische defosfatering van afvalwater:
Microbiële aspecten"
LU-Wageningen, vakgroep Microbiologie
RWZI 2000 93-03
November 1993
- 34 "Jaarverslag 1993"
RIZA, STOWA
RWZI 2000 94-01
Juli 1994
- 35 "Fundamentele aspecten van slibontwatering"
Deel 1: Samenvattend verslag
Deel 2: Flocculatiemechanismen
Deel 3: Filtratie-expressie modellering
Deel 4: Filtratie expressie experimenten
Deel 5: Slib-water binding
Deel 6: Karakterisering van slibben
Deel 7: Ontwikkeling nieuw CST-apparaat
Deel 8: Congresbijdragen
TU-Eindhoven, Laboratorium voor Scheidingstechnologie
RWZI 2000 94-02
Juli 1994
- 36 "Fundamenteel onderzoek vermindering slibproductie"
VU, werkgroepen Theoretische Biologie en Microbiologie
RWZI 2000 94-03
September 1994

