

# BIOBESCHIKBAARHEID VAN STIKSTOF EN FOSFAAT IN RWZI-EFFLUENT



RAPPORT

2009  
03

BIOBESCHIKBAARHEID VAN STIKSTOF EN FOSFAAT IN RWZI-EFFLUENT

DE BIOBESCHIKBAARHEID VAN NUTRIËNTEN IN RWZI-EFFLUENT, GEMETEN  
MET DE TESTALG RAPHIDOCELIS SUBCAPITATA

RAPPORT

2009

03

ISBN 978.90.5773.424.3



Publicaties van de STOWA kunt u bestellen op [www.stowa.nl](http://www.stowa.nl)

# COLOFON

UITGAVE STOWA, Utrecht 2008

## PROJECTUITVOERING

|                |                    |
|----------------|--------------------|
| dr. C. Bruning | Grontmij AquaSense |
| dr. J. Postma  | Grontmij AquaSense |
| drs. R. Jonker | Grontmij AquaSense |

## BEGELEIDINGSCOMMISSIE

|                      |                            |
|----------------------|----------------------------|
| ing. R. van Dalen    | Waterschap Veluwe          |
| ing. A.H.J. de Jonge | Waterschap De Dommel       |
| M. Ouboter           | Waternet                   |
| G. Eugelink          | Waterschap Regge en Dinkel |
| ir. C.A. Uijterlinde | STOWA                      |

DRUK Kruyt Grafisch Adviesbureau

STOWA rapportnummer 2009-03  
ISBN 978.90.5773.424.3

# SAMENVATTING

RWZI-effluent levert op veel plaatsen een belangrijke bijdrage aan de N- en P-belasting van het oppervlaktewater, en is daarmee mede de oorzaak van algenbloei en troebel water. Zonder extra zuiveringsinspanningen zal het in voorkomende gevallen moeilijk zijn om aan de kwaliteitsdoelstellingen van de Europese Kader Richtlijn Water te voldoen. Er zijn echter aanwijzingen dat niet alle N en P in RWZI-effluenten voor algen opneembaar is. In dat geval worden de negatieve effecten op de waterkwaliteit mogelijk overschat. Dit rapport beschrijft een methode om de biobeschikbaarheid van opgelost stikstof en fosfor in RWZI-effluenten te meten, en de eerste met deze methode bereikte resultaten.

Bij chemische analyse van opgelost N en P wordt onderscheid gemaakt tussen een anorganische en een organische fractie. Die laatste fractie kan pas gemeten worden na een destructiestap. Anorganische vormen van N en P zoals ammonium, nitriet, nitraat en ortho-fosfaat, worden gemakkelijk door algen opgenomen. Voor opname van N en P in organische vorm moeten deze verbindingen eerst afgebroken worden. Moeilijk afbreekbare stoffen zoals humuszuren en allerlei industriële verontreinigingen kunnen N en P bevatten dat niet beschikbaar is voor algengroei.

In een dataset van 22 zuiveringsinstallaties was gemiddeld 24% van P en 30% van N in de effluenten aanwezig in organische vorm. Vooral in zuiveringen met een hoog rendement en relatief lage effluent N- en P-concentraties was het aandeel van de organische fractie hoog. Het gaat dan om N en P in verbindingen die de diverse zuiveringsprocessen overleven, en die dus blijikbaar voor bacteriën moeilijk afbreekbaar zijn. Het lijkt aannemelijk dat zo'n nutriëntfractie ook voor algen niet of moeilijk opneembaar is. In dat geval zouden nageschakelde zuiveringstechnieken om 'de laatste restjes' N en P uit afvalwater te verwijderen overbodig kunnen zijn of minder vergaande prestaties behoeven te leveren.

Om biobeschikbaarheid van nutriënten te meten is een bioassay-methode uitgewerkt. Daarbij wordt een testalg gekweekt op een groeimedium waaraan RWZI-effluent is toegevoegd als enige N- of P-bron. Uit de yield van de testalg kan worden berekend welk deel van het effluent N of -P door de alg is opgenomen, en dus biobeschikbaar is. Er is gewerkt met over 0.45 µm gefiltreerd effluent. De biobeschikbaarheid van N en P in gesuspendeerde deeltjes is dus niet onderzocht.

Met deze methode zijn tien effluenten getest, afkomstig van zes zuiveringsinstallaties. In bijna alle effluenten was een deel van de opgeloste nutriënten niet biobeschikbaar. De gemiddelde biobeschikbaarheid van de in opgeloste vorm aanwezige nutriënten bedroeg voor P ongeveer 60% en voor N 70%. Er werd een duidelijke correlatie vastgesteld tussen de organische fractie niet-biobeschikbare fractie van N en P.

Extrapolatie van deze resultaten naar een algemene schatting van de biobeschikbaarheid van RWZI-effluenten is nog prematuur, vooral wegens de grote onderlinge verschillen tussen de RWZI's. Om een duidelijk beeld van het voorkomen van niet-biobeschikbaar N en P in RWZI-effluenten te krijgen, zijn meer tests nodig, en een goede analyse van de relatie tussen biobeschikbaarheid en zuiveringstechniek. De gebruikte methode is intussen zo ver ontwikkeld dat een wat grootschaliger scan van RWZI-effluenten haalbaar is. Ook kan de testmethodiek worden toegepast op oppervlaktewatermonsters.

Een uitgebreide dataset kan gebruikt worden om na te gaan of de werknormen voor het behalen van ecologische doelen bijgesteld kunnen worden op basis van het feit dat vooral bij zuiveringen met een hoog rendement een substantieel deel van het effluent niet snel biologisch beschikbaar komt.

# DE STOWA IN HET KORT

De Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer, kortweg STOWA, is het onderzoeksplatform van Nederlandse waterbeheerders. Deelnemers zijn alle beheerders van grondwater en oppervlaktewater in landelijk en stedelijk gebied, beheerders van installaties voor de zuivering van huishoudelijk afvalwater en beheerders van waterkeringen. Dat zijn alle waterschappen, hoogheemraadschappen en zuiveringsschappen en de provincies.

De waterbeheerders gebruiken de STOWA voor het realiseren van toegepast technisch, natuurwetenschappelijk, bestuurlijk juridisch en sociaal-wetenschappelijk onderzoek dat voor hen van gemeenschappelijk belang is. Onderzoeksprogramma's komen tot stand op basis van inventarisaties van de behoefte bij de deelnemers. Onderzoekssuggesties van derden, zoals kennisinstituten en adviesbureaus, zijn van harte welkom. Deze suggesties toetst de STOWA aan de behoeften van de deelnemers.

De STOWA verricht zelf geen onderzoek, maar laat dit uitvoeren door gespecialiseerde instanties. De onderzoeken worden begeleid door begeleidingscommissies. Deze zijn samengesteld uit medewerkers van de deelnemers, zonodig aangevuld met andere deskundigen.

Het geld voor onderzoek, ontwikkeling, informatie en diensten brengen de deelnemers samen bijeen. Momenteel bedraagt het jaarlijkse budget zo'n zes miljoen euro.

U kunt de STOWA bereiken op telefoonnummer: 030 -2321199.

Ons adres luidt: STOWA, Postbus 8090, 3503 RB Utrecht.

Email: [stowa@stowa.nl](mailto:stowa@stowa.nl).

Website: [www.stowa.nl](http://www.stowa.nl)

# BIOBESCHIKBAARHEID VAN STIKSTOF EN FOSFAAT IN RWZI-EFFLUENT

## INHOUD

|            |   |          |
|------------|---|----------|
|            | SAMENVATTING  |          |
|            | STOWA IN HET KORT   |          |
| <b>1</b>   | <b>INLEIDING</b>  | <b>1</b> |
| <b>2</b>   | <b>METHODE</b>  | <b>2</b> |
| <b>2.1</b> | Meten van de biobeschikbaarheid van nutriënten            | 2        |
|            | 2.1.1 Principe  | 2        |
|            | 2.1.2 Uitvoering  | 2        |
|            | 2.1.3 Voorbeeld-meting                                    | 3        |
| <b>2.2</b> | Chemische analyses  | 4        |
| <b>2.3</b> | Variatie van de testresultaten                            | 5        |
| <b>2.4</b> | Effecten van invriezen en autoclaveren                    | 5        |
| <b>3</b>   | <b>RESULTATEN</b>   | <b>7</b> |
| <b>3.1</b> | Samenstelling en biobeschikbaarheid van effluent-P        | 7        |
|            | 3.1.1 P-fracties  | 7        |
|            | 3.1.2 Zuiveringsrendement en organisch P                  | 8        |
|            | 3.1.3 Biobeschikbaarheid van opgelost P                   | 9        |
|            | 3.1.4 Biobeschikbaarheid van anorganisch P                | 10       |
|            | 3.1.5 Biobeschikbaarheid van organisch P                  | 11       |
|            | 3.1.6 Relatie tussen niet-biobeschikbaar P en organisch P | 11       |

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| <b>3.2</b> | Samenstelling en biobeschikbaarheid van effluent-N             | 12        |
| 3.2.1      | N- fracties  | 12        |
| 3.2.2      | Zuiveringsrendement en organisch N                             | 13        |
| 3.2.3      | Biobeschikbaarheid van opgelost N                              | 14        |
| 3.2.4      | Biobeschikbaarheid van anorganisch N                           | 15        |
| 3.2.5      | Biobeschikbaarheid van organisch N                             | 16        |
| 3.2.6      | Relatie tussen niet-biobeschikbaar N en organisch N            | 17        |
| <b>4</b>   | <b>DATASET ORGANISCH N EN P IN RWZI-EFFLUENTEN</b>             | <b>18</b> |
| <b>4.1</b> | Dataset  | 18        |
| <b>4.2</b> | Organisch P in RWZI-effluenten                                 | 18        |
| <b>4.3</b> | Organisch N in RWZI effluenten                                 | 20        |
| <b>5</b>   | <b>CONCLUSIES</b>  | <b>22</b> |
| <b>5.1</b> | Organisch en biobeschikbaar N en P in geteste effluenten       | 22        |
| <b>5.2</b> | Dataset organisch N en P in RWZI-effluenten                    | 22        |
| <b>6</b>   | <b>DISCUSSIE</b>   | <b>23</b> |
| <b>6.1</b> | Interpretatie van de testresultaten                            | 23        |
| <b>6.2</b> | Extrapolatie   | 23        |
| <b>6.3</b> | Het effect en de noodzaak van aanvullende zuiveringstechnieken | 23        |
| <b>6.4</b> | Niet-biobeschikbaar N en P in oppervlaktewater                 | 24        |
| <b>7</b>   | <b>LITERATUURSCAN BIOBESCHIKBAAR N EN P IN RWZI EFFLUENTEN</b> | <b>25</b> |
| <b>8</b>   | <b>LITERATUUR</b>  | <b>26</b> |
|            | <b>BIJLAGEN</b>  |           |
| 1          | Aan het effluent toegevoegde nutriënten in de N- en de P-test  | 29        |
| 2          | P- en N-fracties van de geteste effluenten.                    | 30        |
| 3          | Organisch N en P in RWZI-installaties                          | 31        |
| 4          | Variatie van de testresultaten                                 | 33        |
| 5          | Effecten van invriezen en autoclaveren                         | 35        |

# 1

## INLEIDING

Stikstof (N) en fosfor (P) uit RWZI-effluënten zijn belangrijke nutriënten in het oppervlaktewater, die vaak tot overschrijding van waterkwaliteitsnormen (STOWA 2005) en bloei van (blauw-) algen leiden. De op dit moment toegepaste technieken voor het zuiveren van huishoudelijk afvalwater lijken soms ontoereikend om de gewenste kwaliteit van het oppervlaktewater in de toekomst mogelijk te maken. Mogelijk zijn aanvullende technieken vereist in de vorm van een nageschakelde zuivering of geïntegreerde zuiveringstechnieken om de vereiste emissiereductie te kunnen bereiken (STOWA 2005). Diverse STOWA-publicaties (STOWA 2005, 2006, 2007a,b, 2008) zijn gewijd aan de technische mogelijkheden op dit gebied.

RWZI-effluent bevat N en P in de vorm van anorganische opgeloste ionen. Daarnaast zijn gewoonlijk ook organische N- en P-verbindingen aanwezig. Het gaat daarbij ten dele om bij het zuiveringsproces gevormde stoffen, maar ook moeilijk afbreekbare N of P bevattende verbindingen die het zuiveringsproces hebben overleefd spelen een rol (Urgun-Demirtas et al 2007). Verwijdering van organische N en P-verbindingen is moeilijk. Nageschakelde zuiveringstechnieken leiden vooral tot verlaging van anorganisch N en P waardoor het aandeel van de stabielere N- en P-verbindingen toeneemt, zo blijkt ook uit het huidige onderzoek.

Algen zijn voor hun nutriëntvoorziening vooral afhankelijk van anorganische of gemakkelijk afbreekbare N- en P-verbindingen. Het lijkt daarom aannemelijk dat de moeilijk afbreekbare en moeilijk verwijderbare organische effluent-nutriënten voor algen nauwelijks biobeschikbaar zijn. In dat geval zijn inspanningen om 'de laatste restjes' N en P uit afvalwater te verwijderen wellicht overbodig.

Mede op basis van deze overwegingen was er bij meerdere waterschappen behoefte om het inzicht in de biologische beschikbaarheid van N en P in RWZI-effluent te vergroten. Het huidige onderzoek is hiervoor een eerste aanzet. Er is een methode uitgewerkt waarbij de hoeveelheid voor algengroei beschikbaar N of P berekend kan worden uit de biomassa van een testalg gekweekt op een groeimedium, waaraan RWZI-effluent wordt toegevoegd als enige N- of P-bron.

Als sprake is van een substantiële niet-biobeschikbare nutriëntfractie in RWZI-effluënten, dan zou dat mogelijk tot bijstelling van de werknormen voor het behalen van ecologische doelen voor N en P kunnen leiden. Ook zou in sommige gevallen de noodzaak voor aanvullende zuiveringstechnieken wellicht anders beoordeeld worden.



# 2

## METHODE

### 2.1 METEN VAN DE BIOBESCHIKBAARHEID VAN NUTRIËNTEN

#### 2.1.1 PRINCIPE

In dit onderzoek is de hoeveelheid biobeschikbaar N en P afgeleid uit de yield (hoogste dichtheid) van een testalg in cultures waarin òf alle stikstof, òf de fosfor uitsluitend van RWZI-effluent afkomstig was. Om opneembaar N te meten, is de test uitgevoerd in effluent waaraan alle nutriënten in overmaat zijn toegevoegd, behalve N. N zal dan als eerste opgebruikt zijn, en de yield is een maat voor de hoeveelheid voor de testalg beschikbaar N in het effluent. In tests waarin opneembaar P werd gemeten zijn alle nutriënten behalve P in overmaat toegevoegd. De hoeveelheden toegevoegde nutriënten in de N-test en de P-test (Bijlage 1) zijn gebaseerd op de samenstelling van een veel gebruikt algenkweekmedium (ISO-zoetwatermedium). Algen zijn in het algemeen zeer effectief in het opnemen van N en P, vooral als deze nutriënten limiterend zijn, zoals in de biobeschikbaarheidstests. Voor de berekening van de hoeveelheid biobeschikbaar N en P is dan ook aangenomen dat alle beschikbare N en P door de testalg is opgenomen.

Als alternatief voor de hier beschreven methode wordt de beschikbaarheid van nutriënten ook wel bepaald op basis van de groeisnelheid ipv de yield van een testalg. Deze methode kan echter de biobeschikbaarheid onderschatten omdat RWZI-effluenten groeiremmende stoffen kunnen bevatten (STOWA 2003). De yield-methode geeft bovendien een realistischer beeld van de opneembaarheid van nutriënten omdat de los gebonden nutriëntfractie, die beschikbaar komt op een termijn een aantal dagen, wel een hogere yield, maar geen hogere groeisnelheid veroorzaakt.

#### 2.1.2 UITVOERING

De tests zijn uitgevoerd in 50 ml erlenmeyers met 30 ml medium in een incubator bij continu licht met een niet-limiterende intensiteit van ongeveer  $120 - 150 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ , temperatuur  $23^\circ\text{C}$ , menging 200 rpm. Per conditie zijn drie test-erlenmeyer ingezet. Het verloop van de algen-dichtheid is gevolgd door het meten van in vivo chlorofyl-fluorescentie. Chlorofyl is een voor algen specifiek pigment, zodat storing door eventuele in het effluent voorkomende kleurstoffen minimaal is. De tests zijn uitgevoerd met de veelvuldig voor bioassays gebruikte testalg *Raphidocelis subcapitata* (nieuwe naam: *Pseudokirchneriella subcapitata*). Deze alg wordt gekweekt op ISO-zoetwater medium, zoals beschreven in de richtlijn ISO 8692. Er is geënt met een zeer klein volume test-alg (20  $\mu\text{L}$ ), waardoor het met de ent meekomende N en P verwaarloosbaar is. Om uit de maximale dichtheid van de testalg de hoeveelheid opgenomen (dus biobeschikbare) N en P te berekenen moet het interne N- en P-gehalte van de alg bekend zijn. Om deze grootte te berekenen zijn bij iedere effluent-test tevens tests ingezet met een bekende hoeveelheid N of P in plaats van effluent.

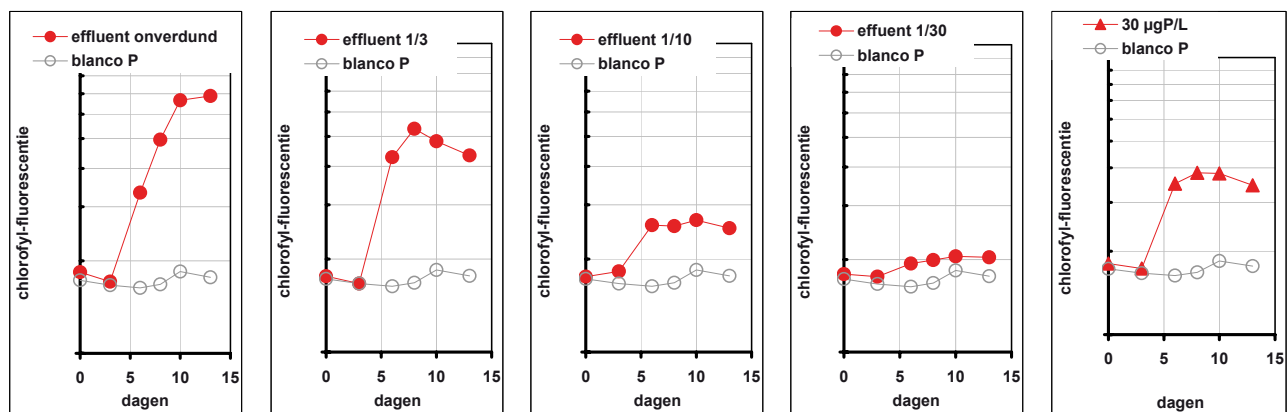
Het voor de tests gebruikte effluent is vooraf over 0,45  $\mu\text{m}$  gefiltreerd. Hierbij blijven deeltjes achter, de nutriënten in het filtraat worden als opgelost beschouwd. De test meet dus de biobeschikbaarheid van de in opgeloste vorm aanwezige nutriënten.

Als het effluent veel N of P bevat, kan de algendichtheid in de test zo hoog worden dat niet meer N of P, maar licht de yield gaat bepalen, met een onderschatting van biobeschikbaar N of P als gevolg. Om dat te voorkomen zijn de tests ingezet met een reeks verdunningen van het effluent. Alleen de verdunning die een goed meetbare algendichtheid oplevert zonder dat er van lichtlimitatie sprake kan zijn is gebruikt om de biobeschikbaarheid te berekenen. De biobeschikbaarheid is daardoor bij relatief lage algendichtheden gemeten, waardoor ook het optreden van onnatuurlijk hoge pH-waarden wordt voorkomen.

### 2.1.3 VOORBEELD-METING

Ter verduidelijking van de procedure laat figuur 1 een meting zien van biobeschikbaar P in effluent van RWZI Leiden-Zuidwest. Er zijn tests ingezet met onverdund effluent, en met 3x, 10x en 30x verdund effluent. Er wordt biobeschikbaar P gemeten, dus N en alle overige nutriënten behalve P zijn toegevoegd. Door meting van in vivo chlorofyl-fluorescentie is 14 dagen lang het verloop van de algendichtheid gevolgd (●). De fluorescentie op dag 0 wordt niet door chlorofyl veroorzaakt, maar is van het meetinstrument afkomstige achtergrondfluorescentie. De test met onverdund effluent (links) had na 14 dagen nog niet de maximale dichtheid bereikt. De algendichtheid in deze test was zo hoog dat hier lichtlimitatie door zelfschaduw optrad. Ook in de 3x verdunde test was lichtlimitatie niet uit te sluiten, daarom is de 10x verdunde test gebruikt om de yield op effluent-P te berekenen. De algendichtheid in de 30x verdunde test was zo laag dat signaal en achtergrond onvoldoende verschilden om nog nauwkeurig chlorofyl-fluorescentie te meten.

FIGUUR 1 BIOMASSAVERLOOP EN TESTCONDITIES BIJ EEN METING VAN BIOBESCHIKBAAR P IN RWZI-EFFLUENT



Er loopt ook een blanco-test mee (○), zonder effluent, om eventuele groei op sporen niet uit het effluent afkomstige P te achterhalen. De blanco-yield was iets hoger dan de achtergrond, en is van de yield op effluent afgetrokken om de netto effluent-yield te berekenen. Deze bedroeg 800 fluorescentie-eenheden.

Om vanuit deze effluent-yield de hoeveelheid door de testalg opgenomen P te berekenen moet de relatie tussen yield en opgenomen P bekend zijn. Daartoe is bij iedere test tevens een interne-P meting ingezet, waarin de yield op een ijk-concentratie goed opneembaar P wordt gemeten, ▲ in de meest rechtse grafiek van figuur 1. Hier werd een netto-yield gemeten van ongeveer 1800 fluorescentie-eenheden bij een P-concentratie van 30 µgP/L. Daaruit volgt de interne P van de testalg: 0.017 µgP/L per fl-eenheid.

Uit de nu verzamelde gegevens, samen met de chemische P-analyse, kan de biobeschikbaarheid van P in dit effluent worden berekend, zie Tabel 1.

TABEL 1

BEREKENING BIOBESCHIKBAAR P

|   |                            |
|---|----------------------------|
| <u>test op effluent</u>                         |                            |
| netto yield testalg in effluent                 | 800 fl. eenheden           |
| verdunding effluent                             | 10 x                       |
| <i>dus:</i>                                     |                            |
| geextrapoleerde yield in onverdund effluent (a) | 8000 fl. eenheden          |
| <u>test op ijk-concentratie P</u>               |                            |
| netto yield testalg in ijkmedium                | 1800 fl. eenheden          |
| P-concentratie ijkmedium                        | 30 µgP/L                   |
| <i>dus:</i>                                     |                            |
| interne P testalg (b)                           | 0.017 µgP/L per fl-eenheid |
| <u>berekening biobeschikbaarheid P</u>          |                            |
| opgenomen effluent-P (a x b)                    | 132 µgP/L                  |
| totaal-P vlg chemische analyse                  | 160 µgP/L                  |
| <i>dus:</i>                                     |                            |
| <b>biobeschikbaarheid effluent-P</b>            | <b>83 %</b>                |

## 2.2 CHEMISCHE ANALYSES

Van ieder monster is een totaal-N of totaal-P meting in gefiltreerd effluent nodig om het percentage biobeschikbaar nutriënt te berekenen. Aanvullend zijn nog andere N- en P-analyses uitgevoerd om die bij de interpretatie van de gegevens te kunnen gebruiken. In Tabel 2 staat welke analyses zijn uitgevoerd, met de daarbij gebruikte chemische technieken. Kjeldahl-N en totaal-P zijn ook in het ongefiltreerde effluent gemeten, zodat de hoeveelheid aan deeltjes gebonden nutriënt kan worden berekend.

TABEL 2

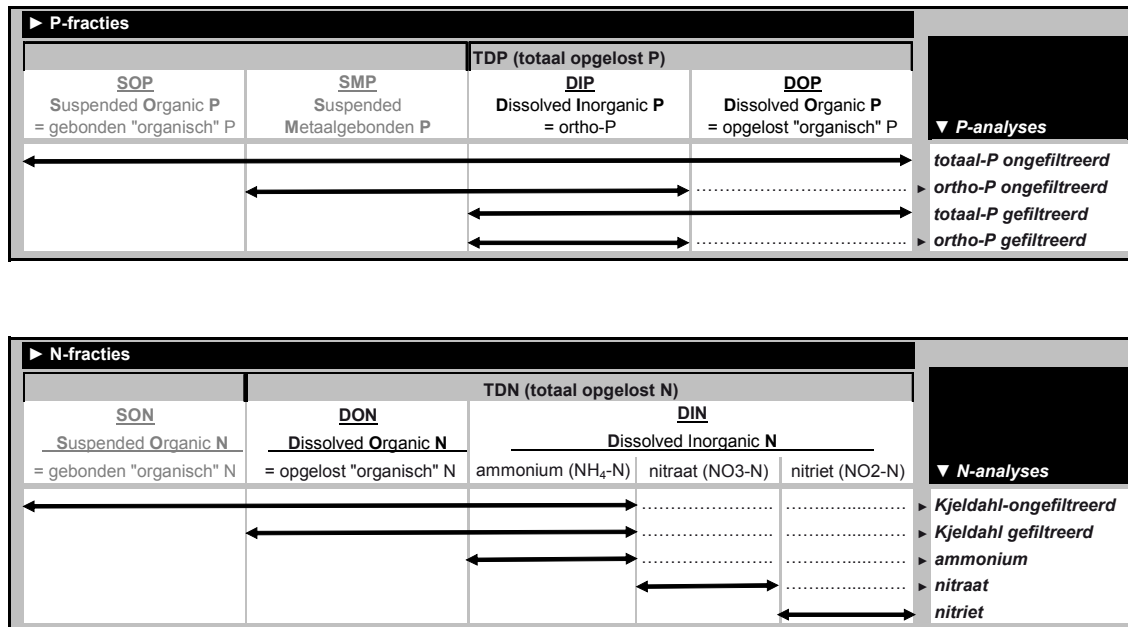
TECHNIKEN EN REFERENTIEMETHODEN VAN DE CHEMISCHE ANALYSES VAN DE EFFLUENTEN

| Analyse                    | Techniek      | Referentiemethode                  |
|----------------------------|---------------|------------------------------------|
| totaal-P (na destructie)   | ICP-MS        | NEN-EN-ISO 17294-2 / Gel. CMA2/I/B |
| ortho-P                    | spectrometrie | NEN 6604                           |
| Kjeldahl-N (na destructie) | spectrometrie | NEN-ISO 5663                       |
| nitriet                    | spectrometrie | NEN 6604                           |
| nitraat                    | spectrometrie | NEN 6604                           |
| ammonium                   | spectrometrie | NEN 6604                           |

Zowel voor N als voor P wordt onderscheid gemaakt tussen een fractie die zonder voorbehandeling gemeten kan worden, en een fractie die pas na een destructie/ontsluitingsstap kan worden gemeten. De eerste fractie wordt de anorganische fractie genoemd, (ortho-P, nitriet, nitraat, ammonium). De fractie die pas na destructie meetbaar is wordt gewoonlijk de 'organische' fractie genoemd. Het is vooral deze fractie die mogelijk niet-biobeschikbaar nutriënt bevat.

Uit de diverse N- en P-analyses kunnen vier verschillende P-fracties en vijf verschillende N-fracties worden berekend, die gewoonlijk met een afkorting van hun engelse naam worden aangeduid. figuur 2 geeft een overzicht van de gebruikte terminologie. Ook is aangegeven hoe de fracties worden berekend uit de afzonderlijke analyses. De biobeschikbaarheids-test zijn uitgevoerd aan gefiltreerd effluent, dus zonder SOP-, SMP- en SON-fractie.

FIGUUR 2 P-EN N-ANALYSES EN DE DAARUIT BEREKENDE FRACTIES MET BIJBEHORENDE TERMINOLOGIE.



### 2.3 VARIATIE VAN DE TESTRESULTATEN

Om een indruk te krijgen van betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van de testresultaten zijn van één effluent-monster in vier replica's geheel onafhankelijk van elkaar biobeschikbaarheids-test uitgevoerd. De resultaten zijn beschreven in Bijlage 4 en worden hieronder kort samengevat.

De spreiding van de chemische analyses kwam goed overeen met de door het uitvoerende laboratorium opgegeven waarden.

De spreiding van de in triplo uitgevoerde biobeschikbaarheidstests lag in de grootte-orde van 20%, een niet ongebruikelijke waarde voor biologische analyses.

De spreiding in de uitkomsten van de biobeschikbaarheidstest ontstond niet zozeer tijdens de monster-voorbehandeling en het inzetten van de test, maar vooral tijdens de test zelf. Dat is ook wel enigszins te verklaren. Om lichtlimitatie te voorkomen moet de test uitgevoerd worden met lage algendichtheden. Daardoor is de achtergrondfluorescentie relatief hoog. Het toepassen van speciale fluorescentie-arme meetcuvetten kon maar gedeeltelijk aan dat probleem tegemoetkomen. Bij een laag signaal en een hoge achtergrond is een relatief grote spreiding te verwachten.

### 2.4 EFFECTEN VAN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEN

Een biobeschikbaarheids-test duurt 2 à 3 weken. P of N dat na die periode nog niet door de testalg is opgenomen wordt als niet-biobeschikbaar beschouwd. Afhankelijk van de stabiliteit van de verbindingen waaruit deze fractie bestaat, is het denkbaar dat deze nutriënten op langere termijn wel vrijkomen.

Om een indruk te krijgen van de stabiliteit van de niet-biobeschikbare fractie is bij enkele effluënten nagegaan of door bepaalde behandelingen de biobeschikbaarheid van N en P toeneemt. Er is gekeken naar het effect van invriezen (-20°C) en ontdooien, en naar het effect van autoclavieren (120°C). De resultaten zijn beschreven in Bijlage 5 en worden hieronder kort samengevat.

De hoeveelheid biobeschikbaar P of N werd niet groter door invriezen, ontdooien of autoclavieren. Een grotere fractie biobeschikbaar N of P na deze behandelingen zou erop kunnen

wijzen dat de niet-biobeschikbare fractie uit weinig stabiele verbindingen bestaat. Er zijn dus geen aanwijzingen gevonden dat niet-biobeschikbaar P of N gemakkelijk voor de testalg beschikbaar komt.

Deze tests hebben ook nog een praktische consequentie. De biobeschikbaarheidstests werden tot nu toe steeds met recent gemonsterd effluent ingezet. Vanwege de sterk overeenkomende biobeschikbaarheid in verse en ontdooide monsters lijkt meting in monsters die ingevroren zijn geweest verantwoord, wat een effectievere proefopzet mogelijk maakt.

## 3

## RESULTATEN

Er zijn 10 effluënten getest, afkomstig van 6 verschillende RWZI's, zie Tabel 3.

Enkele monsters zijn meerdere malen getest. Aan een effluentmonster van RWZI Leiden ZW vier maal onafhankelijk biobeschikbaar N en P gemeten om een indruk te krijgen van de variabiliteit van de testresultaten. Voor inzicht in de stabiliteit van de niet-opneembare N- en P-fractie is van effluent van de RWZI's Tilburg Noord, Dinther en Land van Cuijk aan hetzelfde monster na invriezen en na autoclaveren nogmaals biobeschikbaar N en P gemeten.

TABEL 3 EFFLUENTEN WAARVAN BIOBESCHIKBAAR N EN P IS GEMETEN

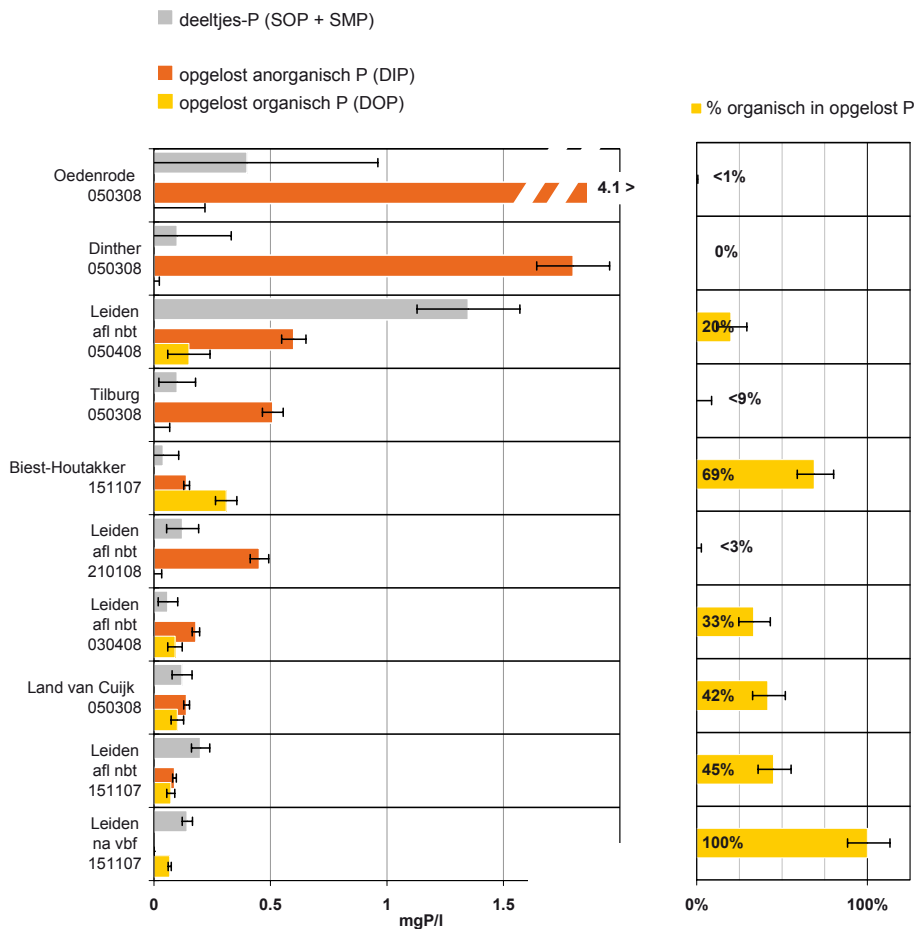
| Waterschap | RWZI            | type   | testmonster                  |                              |
|------------|-----------------|--|------------------------------|------------------------------|
| Rijnland   | Leiden ZW       | Actief slib systeem met voordenenitrificatie, chemische P-verwijdering | 15 Nov 2007                  | afloop nabezinktank          |
|            |                 |  | 21 Jan 2008                  | afloop nabezinktank          |
|            |                 |  | -                            | zelfde monster 2e meting     |
|            |                 |  | -                            | zelfde monster 3e meting     |
|            |                 |  | -                            | zelfde monster 4e meting     |
|            |                 |  | 03 Apr 2008                  | afloop nabezinktank          |
|            |                 |  | 03 Apr 2008                  | afloop nabezinktank          |
| De Dommel  | Biest-Houtakker | Oxidatiesloot, chemische P   | 15 Nov 2007                  |                              |
|            |                 |  | 05 Mar 2008                  |                              |
|            | Sint-Oedenrode  | Oxidatiesloot, chemische P   | 05 Mar 2008                  |                              |
|            | Tilburg Noord   | Actief slib systeem met voordeni trificatie, chemische P-verwijdering  | 05 Mar 2008                  | onbehandeld                  |
| -          |                 |  | na invriezen en ontdooien    |                              |
| -          |                 |  | na ontdooien en autoclaveren |                              |
| Aa en Maas | Dinther         | Oxidatiesloot, biologische P-verwijdering                              | 05 Mar 2008                  | onbehandeld                  |
|            |                 |  | -                            | na invriezen en ontdooien    |
|            |                 |  | -                            | na ontdooien en autoclaveren |
|            | Land van Cuijk  | Ronde tank, biologische P-verwijdering                                 | 05 Mar 2008                  | onbehandeld                  |
|            |                 |  | -                            | na invriezen en ontdooien    |
| -          | -               | na ontdooien en autoclaveren   |                              |                              |

### 3.1 SAMENSTELLING EN BIOBESCHIKBAARHEID VAN EFFLUENT-P

#### 3.1.1 P- FRACTIES

De totaal-P concentratie van de geteste effluënten varieerde van 0,2 – 4,2 mgP/l. In figuur 3 is links de concentratie weergegeven van de drie fracties waaruit totaal-P is opgebouwd: deeltjes-P, opgelost anorganisch P en opgelost organisch P. De concentratie opgelost P lag tussen 0,07 en 4,1 mgP/l.

FIGUUR 3 LINKS: DEELTJES-P, OPGELOST ORGANISCH P EN OPGELOST ANORGANISCH P VAN DE GETESTE EFFLUENTEN. RECHTS: ORGANISCH P ALS % VAN TOTAAL OPGELOST P. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL



Voor het huidige onderzoek is vooral de organische P-fractie (DOP) van belang, omdat verwacht wordt dat niet-biobeschikbaar P vooral in deze fractie voorkomt. DOP wordt berekend als het verschil tussen totaal-P en ortho-P in gefiltreerd monster (zie figuur 2). De totaal-P en de ortho-P analyse hebben een schattingsinterval van ongeveer 10%. Bij relatief weinig organisch P kan daardoor de schatting van DOP negatief worden. Negatieve DOP-waarden zijn in figuur 3 als nul-waarden geplott.

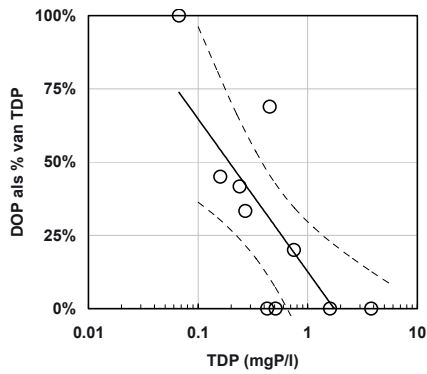
Het aandeel van organisch P in de opgeloste P-fractie staat rechts in figuur 3. Gemiddeld over alle geteste effluenten was 28% van het opgeloste P in organische vorm. In vier effluenten was DOP niet of niet significant aanwezig. In de zes effluenten met een significante DOP-fractie was 20% - 100% van het opgeloste P in organische vorm.

Een volledig overzicht van resultaten van de P-analyses en de daaruit berekende P-fracties is te vinden in Bijlage 2.

### 3.1.2 ZUIVERINGSRENDEMENT EN ORGANISCH P

In figuur 4 zijn voor de geteste effluenten de totale hoeveelheid opgelost P (TDP) en de organische fractie daarin (DOP) tegen elkaar uitgezet. Er blijkt een duidelijk verband te zijn tussen TDP en het percentage DOP. De hogere percentages DOP komen vooral voor in effluenten met weinig opgelost P. In het effluent met de laagste P-concentratie, Leiden ZW na vastbedfiltratie, was het effluent-P geheel in organische vorm. Deze relatie kan verklaard worden uit het feit dat hoogrendement-RWZI's vooral de anorganische P-fracties verwijderen, waardoor de relatief resistente DOP-fractie overblijft in het effluent.

FIGUUR 4 RELATIE TUSSEN TOTAAL OPGELOST P (TDP) EN HET PERCENTAGE OPGELOST ORGANISCH P (DOP) IN DE GETESTE EFFLUENTEN. DE TREND IS AANGEDUID MET EEN LOGARITMISCHE CURVE MET 95% SCHATTINGSINTERVALLEN

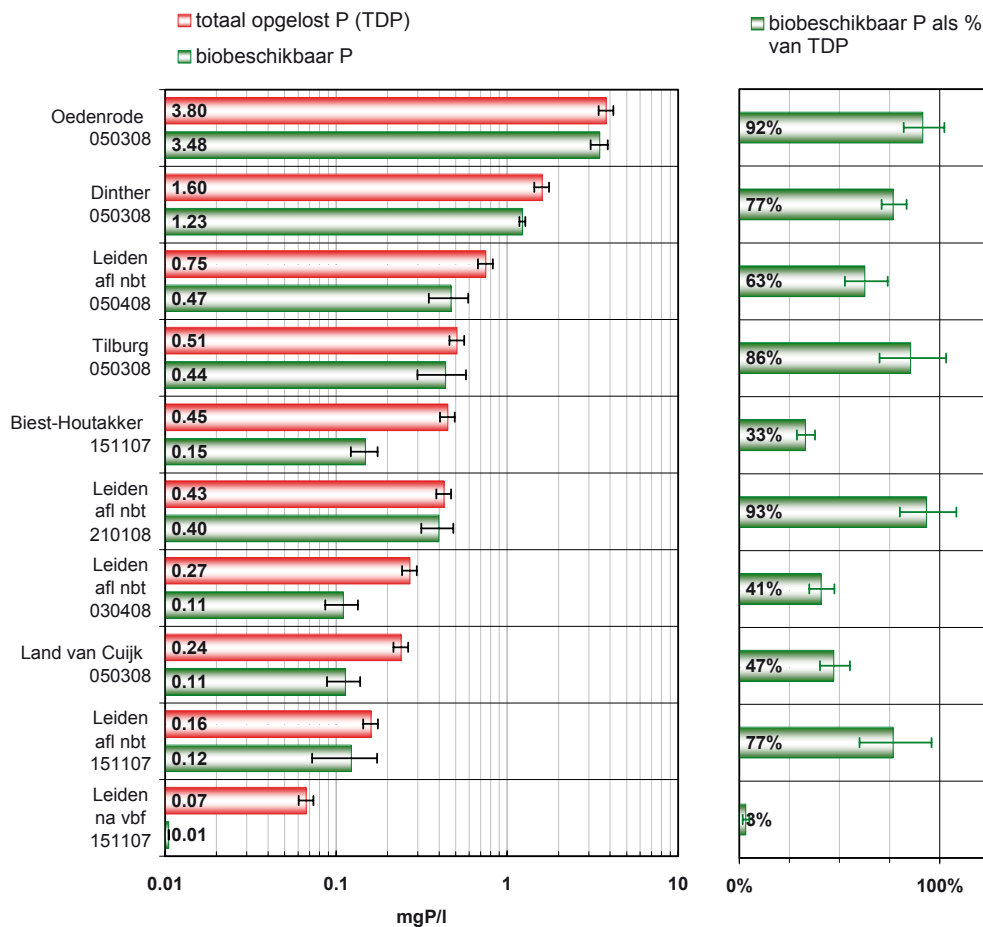


### 3.1.3 BIOBESCHIKBAARHEID VAN OPGELOST P

In figuur 5 is links voor de tien geteste effluenten de chemisch bepaalde concentratie opgelost P (□) en de met de testalg gemeten concentratie biobeschikbaar P (□) onder elkaar gezet. De figuur laat zien dat biobeschikbaar P in alle effluenten lager uitkomt dan opgelost P. Uit de rechter figuur blijkt dat de biobeschikbaarheid van opgelost P in 7 van de tien effluenten significant lager was dan 100%. In deze effluenten was 23-97% van het opgeloste P niet biobeschikbaar.

De gemiddelde biobeschikbaarheid van opgelost P in de geteste effluenten was 61±21%.

FIGUUR 5 LINKS: TOTAAL OPGELOST P (TDP) EN BIOBESCHIKBAAR P VAN DE GETESTE EFFLUENTEN. RECHTS: BIOBESCHIKBAAR P ALS % VAN TDP. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL





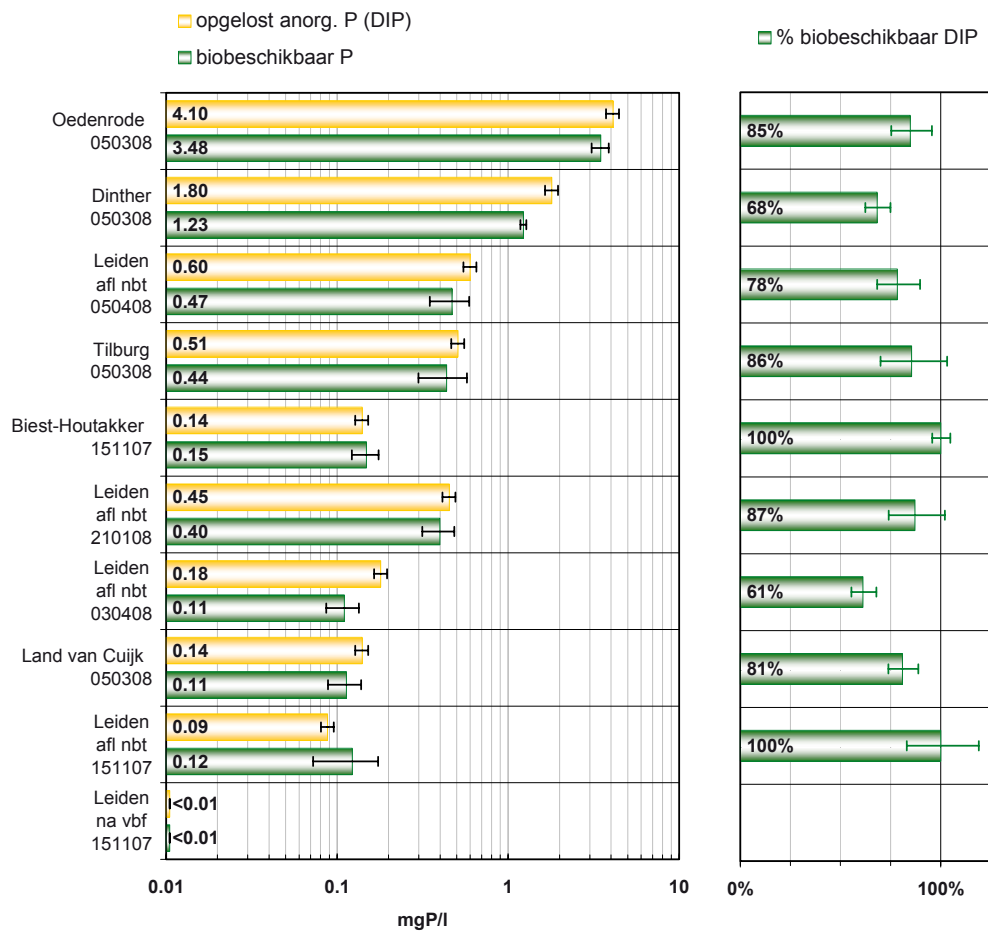
### 3.1.4 BIOBESCHIKBAARHEID VAN ANORGANISCH P

De verwachting was dat niet-biobeschikbaar P vooral in de organische P-fractie zou zitten en dat de anorganische P-fractie (ortho-P) grotendeels biobeschikbaar zou zijn. Het blijkt echter dat ook de anorganische P-fractie vaak niet geheel biobeschikbaar is.

In figuur 6 worden opgelost anorganisch P (DIP, □) en biobeschikbaar P (□) met elkaar vergeleken. De figuur laat zien dat in 7 van de 9 effluënten DIP maar voor een deel biobeschikbaar is. Uit het rechter deel van figuur 6 blijkt dat bij vijf effluënten de biobeschikbaarheid van DIP significant lager is dan 100%. Een van de effluënten, het in een vastbedfilter nagezuiverde effluent van Leiden bevatte geen meetbare hoeveelheid DIP.

De gemiddelde biobeschikbaarheid van opgelost anorganisch P in de geteste effluënten bedraagt  $83 \pm 10\%$ .

FIGUUR 6. LINKS: OPGELOST ANORGANISCH P (DIP) EN BIOBESCHIKBAAR P VAN DE GETESTE EFFLUENTEN. RECHTS: % BIOBESCHIKBAAR P IN DE DIP-FRACTIE. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL



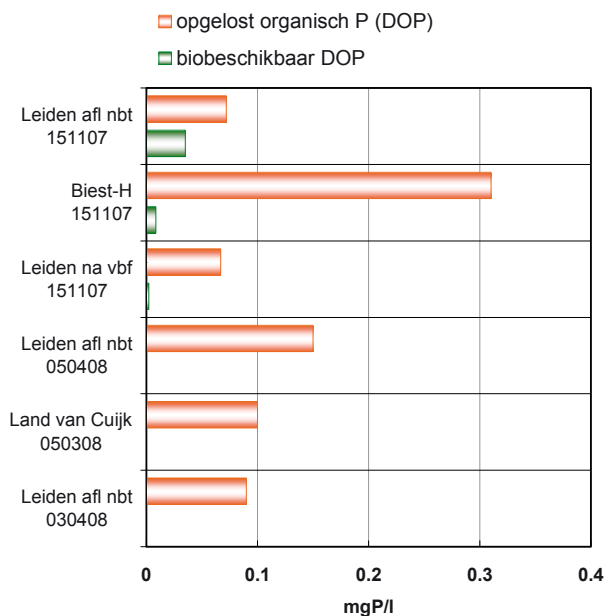
Het feit dat volgens de biobeschikbaarheidstests ook de 'anorganische' P-fractie maar voor een deel biobeschikbaar is, blijkt goed te verklaren. Voor meting van anorganisch P wordt algemeen de molybdaat-methode gebruikt. Het is bekend dat deze methode feitelijk méér P meet dan uitsluitend opgeloste  $\text{PO}_4$ -ionen (Rigler 1966, Bostrom 1988). Deze fractie wordt dan ook vaak met ruimere termen aangeduid, zoals 'soluble reactive P' of 'molybdate-reactive P'.

### 3.1.5 BIOBESCHIKBAARHEID VAN ORGANISCH P

In effluent waarin niet alleen de anorganische DIP-fractie, ook de organische DOP-fractie biobeschikbaar P bevat, kan zal de fractie biobeschikbaar P groter zijn dan de DIP-fractie. Het verschil tussen de hoeveelheid biobeschikbaar P en de hoeveelheid anorganisch P geeft dus een indicatie van de hoeveelheid biobeschikbaar organisch P.

In figuur 7 is de op deze wijze berekende fractie biobeschikbaar organisch P vergeleken met de fractie opgelost organisch P. De figuur laat zien dat in vijf van de zes effluënten die organisch P bevatten, dit organische P niet of nauwelijks biobeschikbaar was. Alleen in effluent van Leiden ZW (15 nov 2007, afloop nabezinktank) leek een substantieel deel van organisch P biobeschikbaar.

FIGUUR 7 OPGELOST ORGANISCH P (DOP) EN BIOBESCHIKBAAR DOP VAN DE ZES EFFLUENTEN MET EEN SIGNIFICANTE ORGANISCHE P-FRACTIE



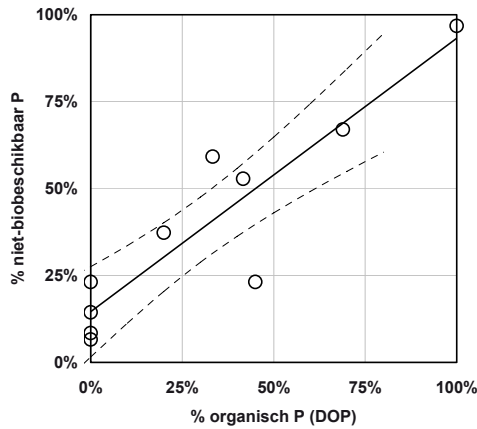
### 3.1.6 RELATIE TUSSEN NIET-BIOBESCHIKBAAR P EN ORGANISCH P

Als niet-biobeschikbaar P vooral in de organische P-fractie zit, is te verwachten dat het voorkomen van niet-biobeschikbaar P vooral door de grootte van de organische P-fractie wordt bepaald.

In figuur 8 is het percentage niet-biobeschikbaar P in de geteste effluënten uitgezet tegen het percentage organisch P. Er is een significante correlatie: bij een toenemende organische P-fractie in het effluent neemt ook het percentage niet-biobeschikbaar P toe. De niet-biobeschikbare fractie lijkt vooral uit organisch P te bestaan.

Er is wel een asafsnode: bij 0% organisch P is nog zo'n 15% niet-biobeschikbaar P aanwezig. Dat kan de bovenbeschreven P-fractie zijn die door de ortho-P analyse ten onrechte als anorganisch P wordt meegemeten.

FIGUUR 8 RELATIE TUSSEN NIET-BIOBESCHIKBAAR P EN ORGANISCH P (DOP) IN DE GETESTE EFFLUENTEN. BEIDE P-FRACTIES ZIJN WEERGEGEVEN ALS % VAN TOTAAL OPGELOST P (TDP). LIJNEN GEVEN LINEAIRE REGRESSIE MET 95% SCHATTINGSINTERVAL

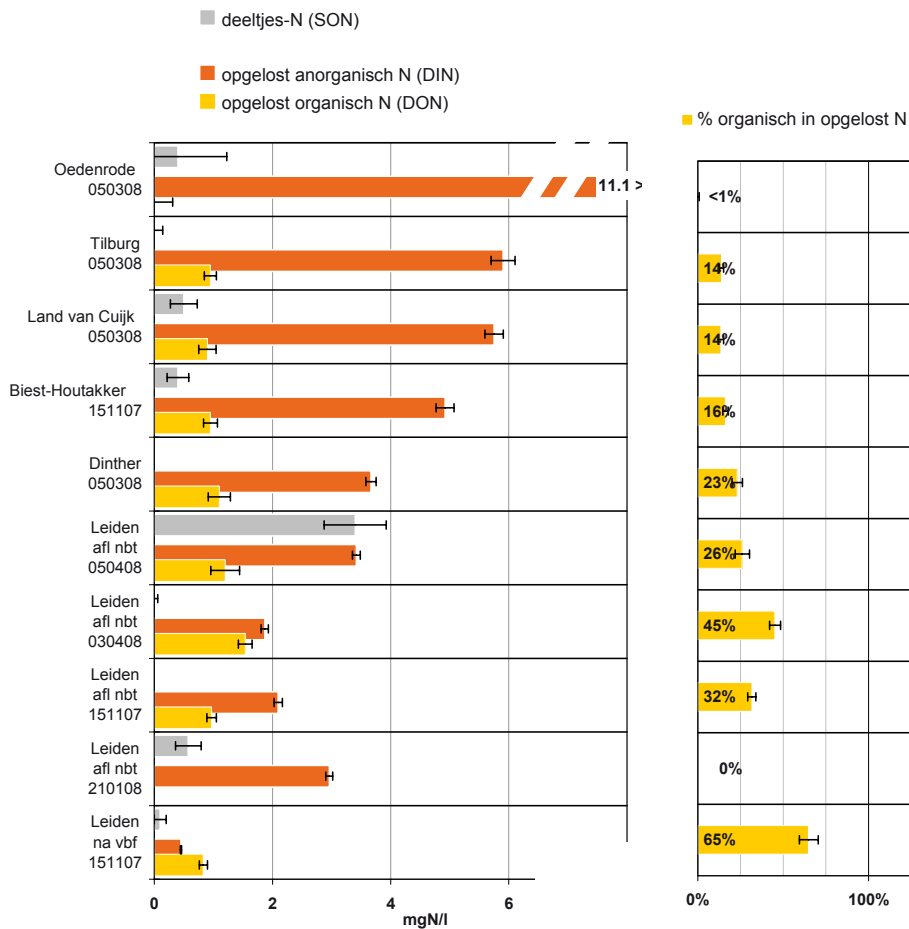


### 3.2 SAMENSTELLING EN BIOBESCHIKBAARHEID VAN EFFLUENT-N

#### 3.2.1 N- FRACTIES

De totaal-N concentratie van de geteste effluënten varieerde van 1,4 – 11,2 mgN/l. In figuur 9 is links de concentratie weergegeven van de drie fracties waaruit totaal-N is opgebouwd: deeltjes-N, opgelost anorganisch N (ammonium, nitriet, nitraat) en opgelost organisch N. De concentratie opgelost N lag tussen 1,3 en 10,8 mgN/l.

FIGUUR 9 LINKS: N-FRACTIES VAN DE GETESTE EFFLUENTEN. RECHTS: OPGELOST ORGANISCH N ALS % VAN TOTAAL OPGELOST N. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL



Voor het huidige onderzoek is vooral de organische N-fractie (DON) van belang, omdat verwacht wordt dat niet-biobeschikbaar N vooral in deze fractie voorkomt. DON wordt berekend als het verschil tussen Kjeldahl-N en ammonium in gefiltreerd monster (zie figuur 2). De Kjeldahl-N en ammonium analyse hebben een 95% schattingsinterval van respectievelijk 7 en 3%. Bij relatief weinig organisch N kan daardoor de schatting van DON negatief worden. Negatieve DON-waarden zijn in figuur 9 als nul-waarden geplott.

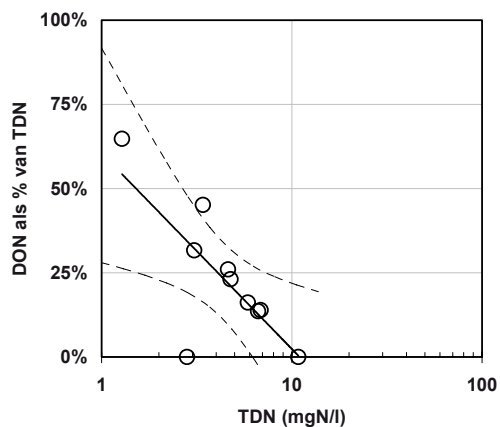
Het aandeel van organisch N in de opgeloste N-fractie staat rechts in figuur 9. Gemiddeld over alle geteste effluënten was 23% van het opgeloste N in organische vorm. In twee effluënten was DON niet of niet significant aanwezig. In de acht effluënten met een significante DON-fractie was 14 – 65% van het opgeloste N in organische vorm aanwezig.

### 3.2.2 ZUIVERINGSRENDEMENT EN ORGANISCH N

In figuur 10 zijn voor de geteste effluënten de totale hoeveelheid opgelost N (TDN) en de organische fractie daarin (DON) tegen elkaar uitgezet. Er blijkt een duidelijk verband te zijn tussen TDN en het percentage DON. De hogere percentages organisch N komen vooral voor in effluënten met weinig opgelost N. In het effluent met de laagste N-concentratie, Leiden ZW na vastbedfiltratie, was percentage organisch N het hoogst: 65%. Deze relatie kan verklaard worden uit het feit dat hoogrendement-RWZI's vooral de anorganische N-fracties verwijderen, waardoor de relatief resistente DON-fractie overblijft in het effluent.

Een volledig overzicht van resultaten van de N-analyses en de daaruit berekende N-fracties is te vinden in Bijlage 2.

FIGUUR 10 RELATIE TUSSEN TOTAAL OPGELOST N (TDN) EN HET PERCENTAGE OPGELOST ORGANISCH N (DON) IN DE GETESTE EFFLUËNTEN. DE TREND IS AANGEDUID MET EEN LOGARITMISCHE CURVE MET 95% SCHATTINGSINTERVALLEN

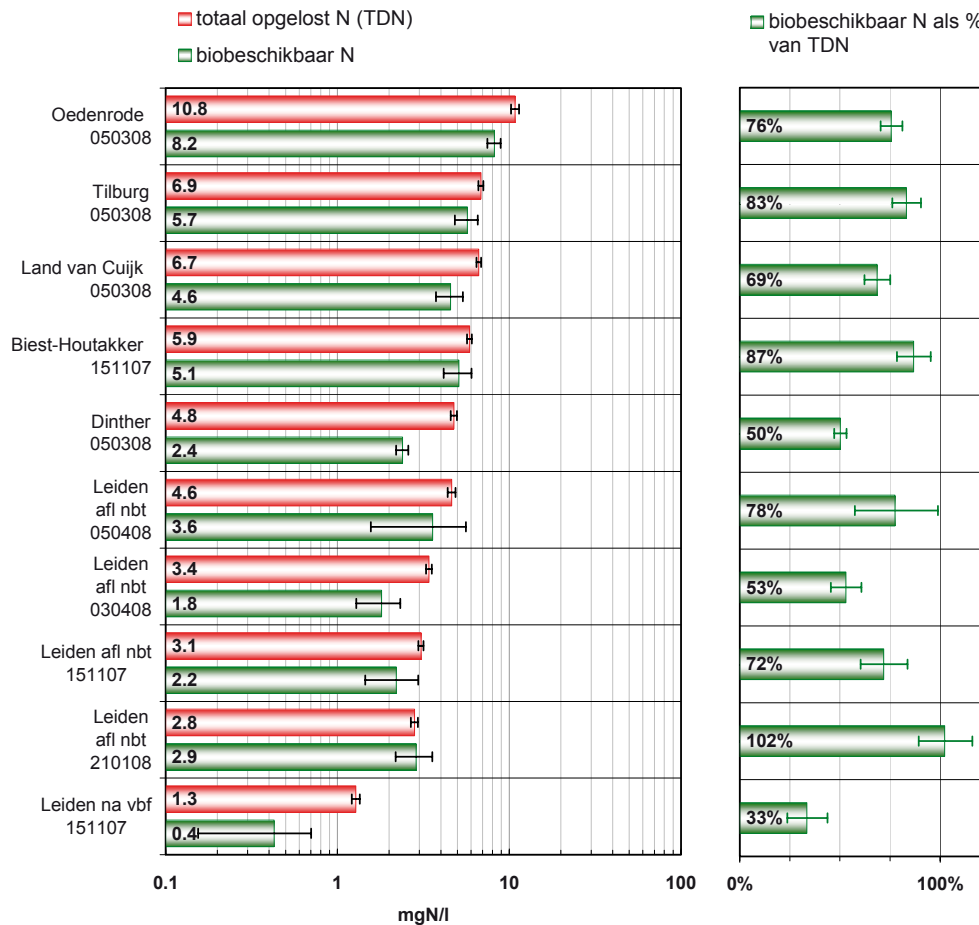


### 3.2.3 BIOBESCHIKBAARHEID VAN OPGELOST N

In figuur 11 is links voor de tien geteste effluënten de chemisch bepaalde concentratie opgelost N (□) en de met de testalg gemeten concentratie biobeschikbaar N (□) onder elkaar gezet. De figuur laat zien dat biobeschikbaar N in bijna alle effluënten lager uitkomt dan opgelost N. Uit de rechter figuur blijkt dat de biobeschikbaarheid van opgelost N in 9 van de tien effluënten significant lager was dan 100%.

De gemiddelde biobeschikbaarheid van opgelost N in de geteste effluënten was  $70 \pm 14\%$ .

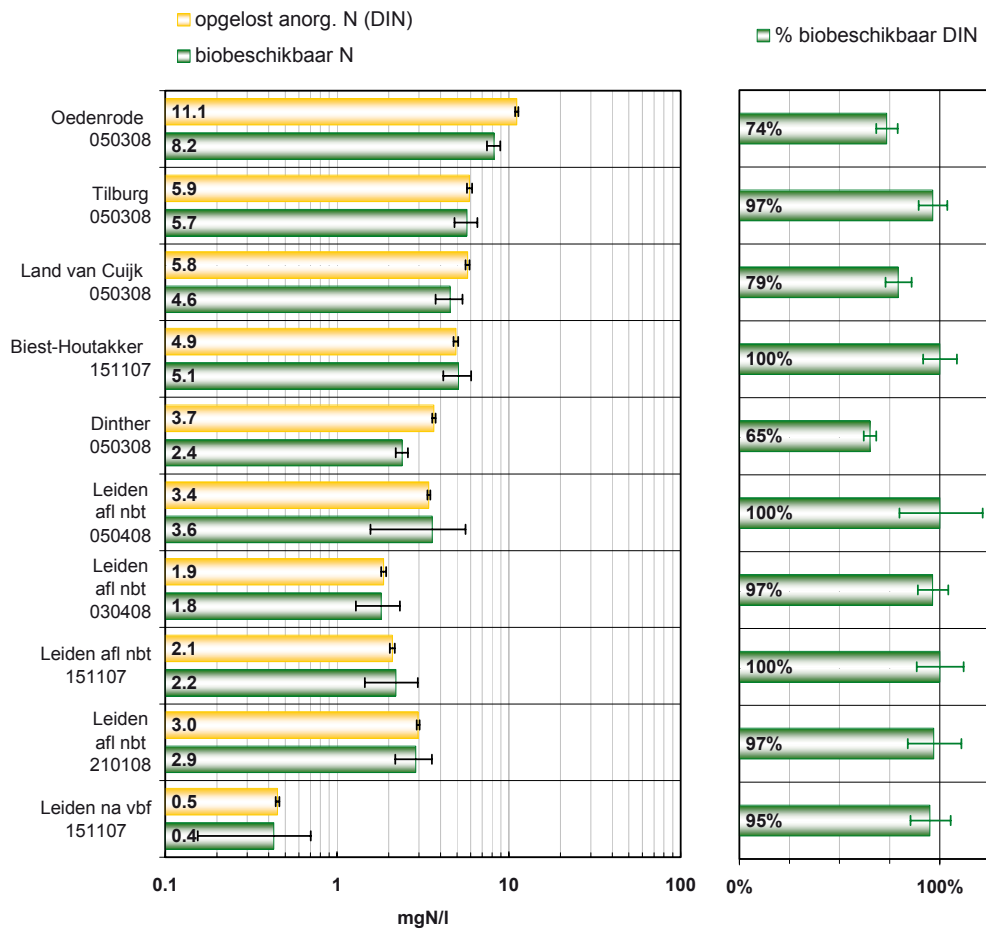
FIGUUR 11 LINKS: TOTAAL OPGELOST N (TDN) EN BIOBESCHIKBAAR N VAN DE GETESTE EFFLUENTEN. RECHTS: BIOBESCHIKBAAR N ALS % VAN TDN. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL



### 3.2.4 BIOBESCHIKBAARHEID VAN ANORGANISCH N

De verwachting dat niet-biobeschikbare nutriënten vooral in de organische fractie zouden zitten komt voor N beter uit dan voor P. In figuur 12 worden opgelost anorganisch N (DIN) en biobeschikbaar N met elkaar vergeleken. De figuur laat zien dat in de meeste effluënten de anorganische N-fractie grotendeels biobeschikbaar is. In de effluënten van Dinther, Land van Cuijk en Oedenrode lijkt echter ook een deel van de anorganische N-fractie niet-biobeschikbaar. De gemiddelde biobeschikbaarheid van opgelost anorganisch N in de geteste effluënten is  $90 \pm 9\%$ .

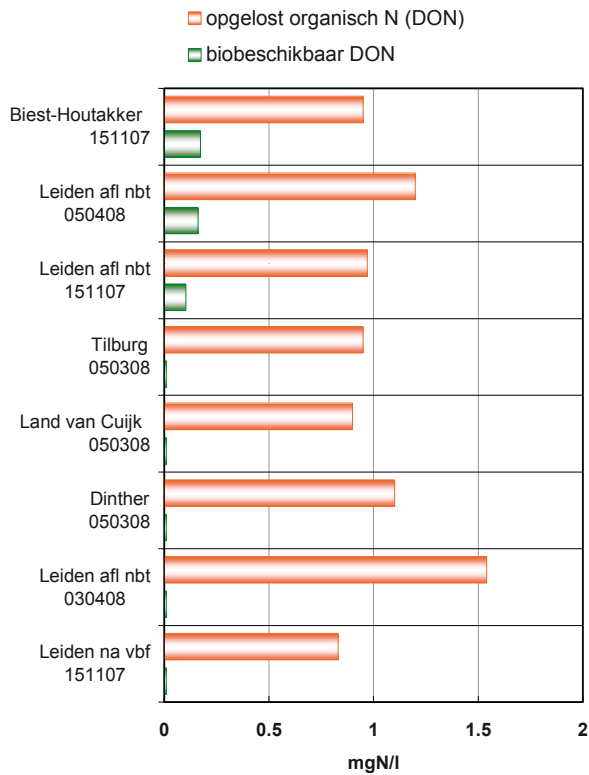
FIGUUR 12 LINKS: OPGELOST ANORGANISCH N (DIN) EN BIOBESCHIKBAAR N VAN DE GETESTE EFFLUENTEN. RECHTS: % BIOBESCHIKBAAR N IN DE DIN-FRACTIE. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL



### 3.2.5 BIOBESCHIKBAARHEID VAN ORGANISCH N

In figuur 13 wordt de fractie biobeschikbaar organisch N vergeleken met de fractie opgelost organisch N. De manier waarop biobeschikbaar organisch N wordt berekend is toegelicht in § 3.1.5. De figuur laat zien dat organisch N grotendeels niet biobeschikbaar was. Slechts in drie van de acht effluenten leek een klein deel van het organische N biobeschikbaar te zijn.

FIGUUR 13 OPGELOST ORGANISCH N (DON) EN BIOBESCHIKBAAR DON VAN DE ACHT EFFLUENTEN MET EEN SIGNIFICANTE ORGANISCHE N-FRACTIE



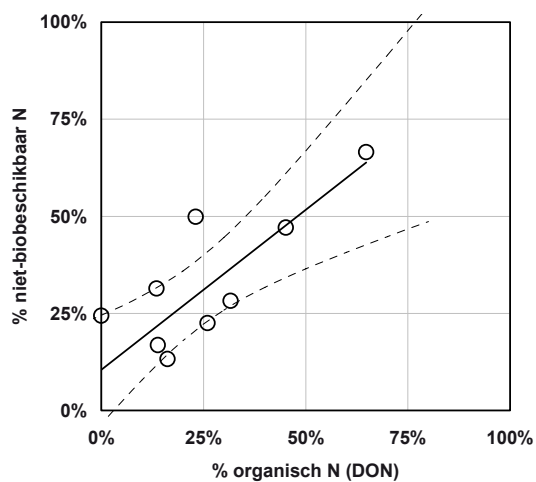
### 3.2.6 RELATIE TUSSEN NIET-BIOBESCHIKBAAR N EN ORGANISCH N

Als niet-biobeschikbaar N vooral in de organische N-fractie zit, is te verwachten dat het voorkomen van niet-biobeschikbaar N vooral door de grootte van de organische N-fractie wordt bepaald.

In figuur 14 is het percentage niet-biobeschikbaar N in de geteste effluënten uitgezet tegen het percentage organisch N. Er is een significante correlatie: bij een toenemende organische N-fractie in het effluent neemt het ook het percentage niet-biobeschikbaar N toe. De niet-biobeschikbare fractie lijkt vooral uit organisch N te bestaan.

Er is een asafsnode: bij 0% DON kan nog zo'n 10% niet-biobeschikbaar N aanwezig zijn. Uit de schattingsintervallen blijkt echter dat de aanwezigheid van niet-biobeschikbaar N bij 0% DON niet significant is.

FIGUUR 14 RELATIE TUSSEN NIET-BIOBESCHIKBAAR N EN ORGANISCH N (DON) IN DE GETESTE EFFLUENTEN. BEIDE N-FRACTIES ZIJN WEERGEGEVEN ALS % VAN TOTAAL OPGELOST N (TDN). LIJNEN GEVEN LINEAIRE REGRESSIE MET 95% SCHATTINGSINTERVAL





## 4

# DATASET ORGANISCH N EN P IN RWZI-EFFLUENTEN

## 4.1 DATASET

Er zijn data verzameld van effluenten van in totaal 22 zuiveringsinstallaties waarin organisch N en/of P was gemeten. Deze gegevens zijn gebruikt om een globale indruk te krijgen van de aanwezigheid van organisch N en P in RWZI-effluenten. Gemiddelden en spreiding per zuiveringsinstallatie zijn bijeengebracht in Bijlage 3.

Opgemerkt moet worden dat het hier voor een deel om nog ruwe data gaat. Met betrekking tot de wijze van filtreren en de analysemethode zijn verschillende methoden in omloop (STOWA 2008), waardoor resultaten van verschillende zuiveringsinstallaties mogelijk niet geheel vergelijkbaar zijn.

Bij een laag aandeel van de organische fractie zijn negatieve waarden van de verschilfracties DON en DOP te verwachten. Negatieve DON en DOP komen in de dataset zelden voor. Mogelijk zijn negatieve uitkomsten door de waarde 0 vervangen. Door zo'n correctie kan het gemiddelde van DOP en DON enigszins overschat zijn.

## 4.2 ORGANISCH P IN RWZI-EFFLUENTEN

In Tabel 4 zijn de verzamelde P-data van de 22 zuiveringsinstallaties samengevat. Gemiddeld bevatten de effluenten  $0,14 \pm 0,05$  mg/l opgelost organisch P, dat was  $24 \pm 8\%$  van totaal opgelost P.

TABEL 4 GEMIDDELDEN, EXTREMEN EN SCHATTINGSINTERVALLEN VAN OPGELOST P IN EFFLUENT VAN 22 ZUIVERINGSINSTALLATIES

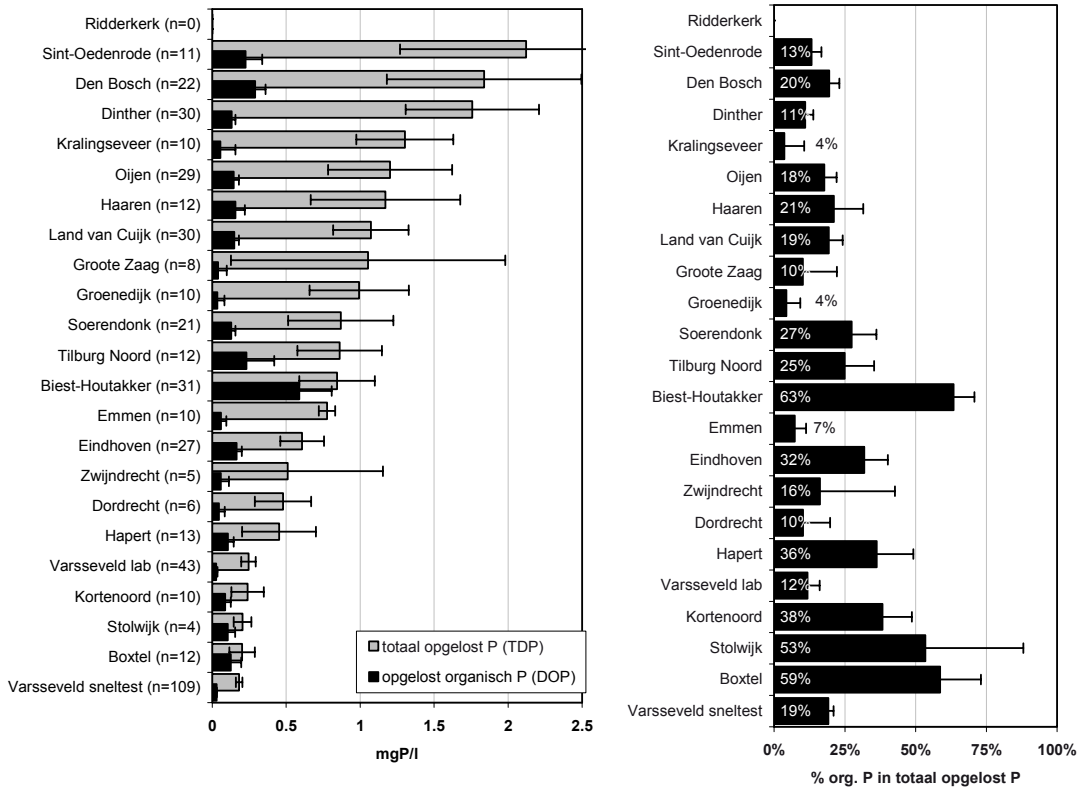
|                         | gemiddeld | min  | max  | 95% bi |       |
|-------------------------|-----------|------|------|--------|-------|
| TDP - totaal opgelost P | 0,85      | 0,18 | 2,12 | 0,24   | mgP/l |
| DOP - opgelost org. P   | 0,14      | 0,03 | 0,59 | 0,05   | mgP/l |
| DOP als % van TDP       | 24%       | 4%   | 63%  | 8%     |       |

Voor 21 installaties in de dataset zijn organisch-P data bekend. In figuur 15 zijn links de gemiddelde hoeveelheid opgelost P en opgelost organisch P weergegeven. Ook het aantal metingen per zuiveringsinstallatie is vermeld. De zuiveringen staan in volgorde van afnemende gemiddelde P-concentratie in het effluent. Rechts staat het aandeel van organisch P in de opgelost-P fractie. Bij alle zuiveringen kwam organisch P voor in het effluent met percentages tussen 4% en 63%. Gemiddeld bestond 24% van het opgeloste effluent-P uit organisch P.

FIGUUR 15 LINKS: TOTAAL OPGELOST P EN OPGELOST ORGANISCH P IN MGP/L

RECHTS: OPGELOST ORGANISCH P ALS % VAN TOTAAL OPGELOST P.

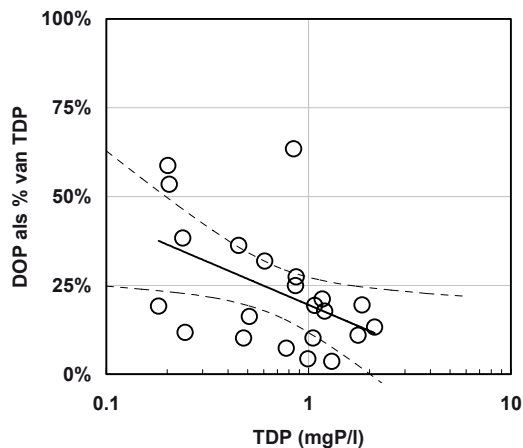
BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL VAN DE RWZI-GEMIDDELDEN



Bij de biobeschikbaarheidstests bleek dat het percentage organisch P het hoogst was in effluenten met lage concentraties opgelost P. Deze trend is ook in de huidige dataset waarneembaar.

In figuur 16 zijn de per zuiveringsinstallatie gemiddelde concentraties opgelost P (TDP) en organische fracties daarin (DOP) tegen elkaar uitgezet. Ook hier is te zien dat de hogere percentages organisch P vooral voorkomen bij zuiveringen met relatief lage concentraties opgelost P in hun effluent. Dat wijst op een relatief resistente aard van de organische P-fractie. Ook in ander onderzoek (bv STOWA 2008) is gevonden dat de organische P-fractie moeilijker te verwijderen is dan de anorganische P-fractie.

FIGUUR 16 RELATIE TUSSEN TOTAAL OPGELOST P (TDP) EN HET PERCENTAGE OPGELOST ORGANISCH P (DOP) IN DE GETESTE EFFLUENTEN. DE TREND IS AANGEGUID MET EEN LOGARITMISCHE CURVE MET 95% SCHATTINGSINTERVALLEN



### 4.3 ORGANISCH N IN RWZI EFFLUENTEN

In Tabel 5 zijn de verzamelde N-data van de 22 zuiveringsinstallaties samengevat. Gemiddeld bevatten de effluenten 1,3 ± 0,7 mg/l opgelost organisch N, dat was 30 ± 9% van totaal opgelost N.

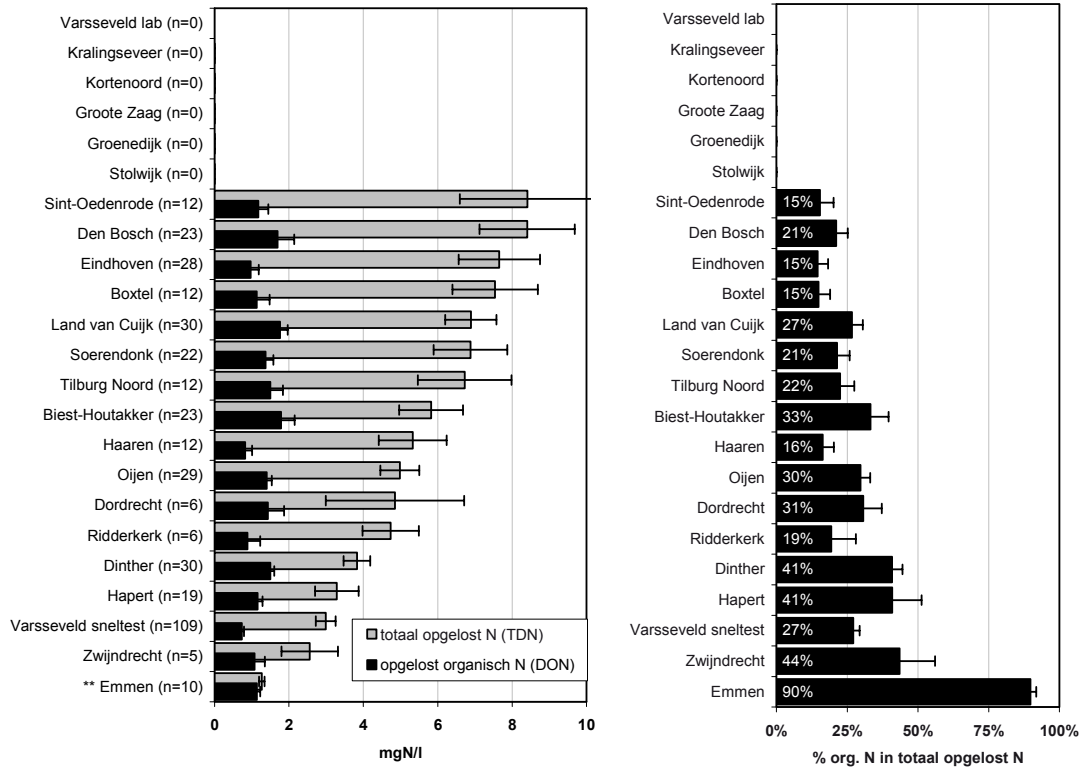
TABEL 5 GEMIDDELDEN, EXTREMEN EN SCHATTINGSINTERVALLEN VAN OPGELOST N IN EFFLUENT VAN 22 ZUIVERINGSINSTALLATIES

|                         | gemiddeld | min | max | 95% bi |       |
|-------------------------|-----------|-----|-----|--------|-------|
| TDN - totaal opgelost N | 5,4       | 1,3 | 8,4 | 1,1    | mgN/l |
| DON - opgelost org. N   | 1,3       | 0,7 | 1,8 | 0,2    | mgN/l |
| DON als % van TDN       | 30%       | 15% | 90% | 9%     |       |

Voor 17 installaties in de dataset zijn organisch-N data bekend. In figuur 17 zijn links de gemiddelde hoeveelheid opgelost N en opgelost organisch N weergegeven. Ook het aantal metingen per zuiveringsinstallatie is vermeld. De zuiveringen staan in volgorde van afnemende gemiddelde N-concentratie in het effluent.

Rechts staat het aandeel van organisch N in de opgelost-N fractie. Bij alle zuiveringen kwam organisch N voor in het effluent, met percentages tussen 15% en 90%. Gemiddeld bestond 30% van het opgeloste effluent-N uit organisch N.

FIGUUR 17 OPGELOST ORGANISCH N IN MGN/L (LINKS) EN ALS % VAN TOTAAL OPGELOST N. BEIDE FIGUREN MET EEN INDICATIE VAN HET 95% SCHATTINGSINTERVAL VAN DE RWZI-GEMIDDELDEN

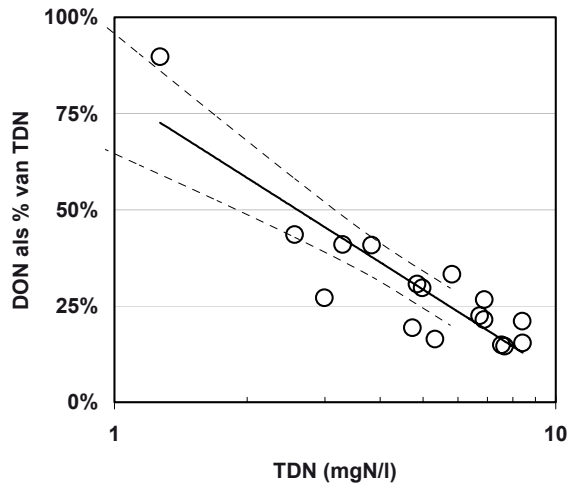


\*\* voor RWZI Emmen ontbreken NO<sub>3</sub> en NO<sub>2</sub> data

Bij de biobeschikbaarheidstests bleek dat het percentage organisch N het hoogst was in effluenten met lage concentraties opgelost N. Deze trend is ook in de huidige dataset waarneembaar.

In figuur 18 zijn de per zuiveringsinstallatie gemiddelde concentraties opgelost N (TDN) en organische fracties daarin (DON) tegen elkaar uitgezet. Ook hier is te zien dat de hogere percentages organisch N vooral voorkomen bij zuiveringen met relatief lage concentraties opgelost N in hun effluent. Dat wijst op een relatief resistente aard van de organische N-fractie.

FIGUUR 18 RELATIE TUSSEN TOTAAL OPGELOST P (TDP) EN HET PERCENTAGE OPGELOST ORGANISCH P (DOP) IN DE GETESTE EFFLUENTEN. DE TREND IS AANGEDUID MET EEN LOGARITMISCHE CURVE MET 95% SCHATTINGSINTERVALLEN



# 5

## CONCLUSIES

### 5.1 ORGANISCH EN BIOBESCHIKBAAR N EN P IN GETESTE EFFLUENTEN

In tien effluenten, afkomstig van zes verschillende RWZI's, is met een testalg de biobeschikbaarheid van opgelost N en P gemeten. Tevens werd met chemische analyses het aandeel van de organische fractie in effluent-N en P bepaald.

In acht van de tien effluenten bevatte opgelost N een organische fractie, met percentages variërend van 14-65%, en in zes van de tien effluenten bevatte opgelost P een organische fractie, met percentages variërend van 20-100%. Gemiddeld over de geteste effluenten was 23% van opgelost N en 28% van opgelost P organisch.

Vooraf in effluenten met relatief lage N of P-concentraties was het aandeel van de organische fractie hoog. Dat wijst erop dat organisch N en P uit resistente, moeilijk te verwijderen verbindingen bestaat, bijvoorbeeld humuszuren of allerlei industriële verontreinigingen. Wanneer bij toenemend zuiveringsrendement steeds meer anorganisch N en P wordt verwijderd, zal de organische fractie een steeds belangrijker aandeel gaan vormen van het effluent-N en -P.

N en P zijn belangrijke nutriënten voor algengroei, maar het is niet duidelijk of de moeilijk uit het effluent te verwijderen organische N- en P-verbindingen wel voor algen opneembaar zijn. Met een testalg is daarom de biobeschikbaarheid van N en P in de tien effluenten gemeten.

In zeven van de tien effluenten was een significant deel (23-97%) van het opgeloste P niet biobeschikbaar, en in acht van de tien effluenten was een significant deel van het opgeloste N (13-67%) niet biobeschikbaar. Gemiddeld over de geteste effluenten bedroeg de niet-biobeschikbare fractie 30% van opgelost N en 39% van opgelost P.

De organische N- en P-fractie bleek gewoonlijk niet of nauwelijks biobeschikbaar. Er werd dan ook voor zowel N als P een lineaire correlatie tussen niet-biobeschikbare en organische fractie.

Van P bleek ook de anorganische fractie vaak niet geheel biobeschikbaar. Dat is vermoedelijk een gevolg van de standaard voor deze meting gebruikte molybdaat-methode, waarvan bekend is dat meer dan alleen anorganisch P wordt gemeten.

### 5.2 DATASET ORGANISCH N EN P IN RWZI-EFFLUENTEN

Van 21 zuiveringsinstallaties zijn data van organisch P in de effluenten bekend. Opgelost effluent-P bestond, afhankelijk van de installatie, gemiddeld voor 4% - 63% uit organisch P.

Van 17 zuiveringsinstallaties zijn data van organisch N in de effluenten bekend. Opgelost effluent-N bestond, afhankelijk van de installatie, gemiddeld voor 15% - 90% uit organisch N. Net als voor de geteste effluenten was er een trend waarneembaar waarbij de organische fractie het hoogst is in effluenten met relatief weinig opgelost N of P. Dat bevestigt de eerdere conclusie dat bij toenemend zuiveringsrendement vooral anorganische N- en P-fracties worden verwijderd, terwijl organische fracties moeilijker te verwijderen zijn.

# 6

## DISCUSSIE

### 6.1 INTERPRETATIE VAN DE TESTRESULTATEN

Een biobeschikbaarheids-test duurt 2 à 3 weken, daarna is er geen toename van de testalg meer te zien, en is de beschikbare fractie van het nutriënt dus geheel opgenomen. N of P dat dan nog niet is opgenomen komt kennelijk op een tijdschaal van enkele weken niet beschikbaar voor de testalg, en wordt in dit rapport “niet-biobeschikbaar” genoemd.

De test meet dus strikt genomen de biobeschikbaarheid op een termijn van weken. Het feit dat het voor een deel om verbindingen gaat die ook nageschakelde of geïntegreerde zuiveringstechnieken overleven doet vermoeden dat de biobeschikbaarheid ook op langere termijn niet groot zal zijn. Ook de bevinding dat manipulaties als invriezen of autoclaveren van het effluent de niet-biobeschikbare fractie niet doen stijgen wijst erop dat deze fractie uit stabiele verbindingen bestaat.

De biobeschikbaarheids-tests zijn uitgevoerd in aanwezigheid van bacteriën. Het effluent is over 0.45µm gefiltreerd, kleinere bacteriën kunnen zo'n filter passeren. Ook de kweek van de testalg bevat bacteriën. Het is echter mogelijk dat bepaalde gespecialiseerde bacteriën die resistente organische N- en P-verbindingen kunnen afbreken in de test ontbreken. Dat zou tot een onderschatting van de biobeschikbaarheid zou kunnen leiden.

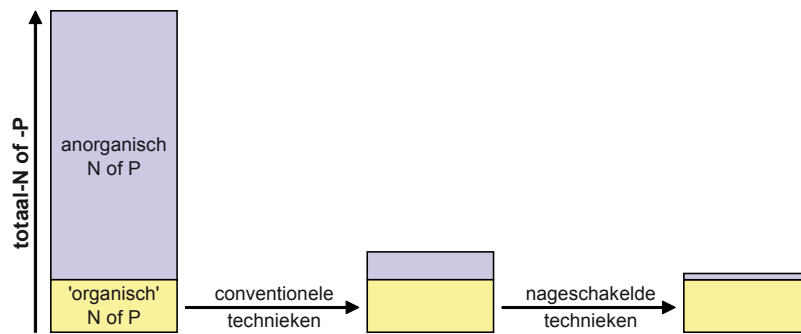
### 6.2 EXTRAPOLATIE

In de tot nu toe uitgevoerde tests was gemiddeld zo'n 30% van opgelost N en 40% van opgelost P niet-biobeschikbaar. Extrapolatie van deze getallen naar een algemene schatting van biobeschikbaar N en P in RWZI-effluenten lijkt nog prematuur. Zes geteste installaties zijn te weinig om, gezien de grote onderlinge verschillen, als representatief te worden beschouwd. Om een duidelijk beeld van het voorkomen van niet-biobeschikbaar N en P in RWZI-effluenten te krijgen, zijn meer tests nodig, en een goede analyse van de relatie tussen biobeschikbaarheid en de toegepaste zuiveringstechniek.

### 6.3 HET EFFECT EN DE NOODZAAK VAN AANVULLENDE ZUIVERINGSTECHNIEKEN

Zowel in de chemische analyses van de geteste effluenten als in de ruwe data van 22 zuiveringsinstallaties werd gevonden dat gemiddeld ongeveer een kwart van het opgeloste effluent-N en -P in organische vorm aanwezig is. In beide gevallen werd ook vastgesteld dat bij zuiveringen met een hoog rendement en dus met lage N en P concentraties, het percentage organisch N en P in het effluent vaak hoog is. Dat wijst erop dat er stabiele N- en P-verbindingen in het spel zijn, die de diverse zuiveringstechnieken overleven. Ook uit ander onderzoek blijkt dat de organische N en P-fracties moeilijk te verwijderen zijn (bv STOWA 2008). Er lijkt sprake van een ondergrens die met de bestaande zuiveringstechnieken moeilijk te doorbreken is, zoals schematisch weergegeven in figuur 19.

FIGUUR 19 SCHEMATISCHE VOORSTELLING VAN HET EFFECT VAN CONVENTIONELE EN NAGESCHAKELDE ZUIVERINGSTECHNIEKEN OP N- EN P-FRACTIES IN HET EFFLUENT



De uitgevoerde biobeschikbaarheidstests lieten echter zien dat de organische N- en P-fractie van de geteste effluënten grotendeels niet beschikbaar zijn voor groei van algen. Die bevinding zou, ondanks de bovengenoemde onzekerheden betreffende het nog geringe aantal geteste effluënten en de effecten op langere termijn, meegenomen kunnen worden in discussies over de noodzaak voor aanvullende zuiveringstechnieken en bij het stellen van werknormen voor het behalen van ecologische doelen

#### 6.4 NIET-BIOBESCHIKBAAR N EN P IN OPPERVLAKTEWATER

De normstelling voor nutriënten in oppervlaktewater is gericht op de somparameters totaal-N en totaal-P. Ook oppervlaktewater bevat echter nutriënten in organische vorm, waarbij RWZI-effluent een van de belangrijke bronnen is. De bevindingen met betrekking tot de biobeschikbaarheid van organisch N en P in RWZI-effluënten kunnen aanleiding zijn voor nader onderzoek naar het voorkomen van organische nutriënt-fractionen in oppervlaktewater, en naar de biobeschikbaarheid daarvan.

## 7

# LITERATUURSCAN BIOBESCHIKBAAR N EN P IN RWZI EFFLUENTEN

In internet databases en in literatuurlijsten van recente artikelen en rapporten is gezocht naar publicaties over de vormen waarin organisch N en P in RWZI-effluenten kan voorkomen en de beschikbaarheid van deze verbindingen voor algengroei. Dit literatuuronderzoek was niet uitputtend, maar had een verkennend karakter. In hoofdstuk 9 zijn de gevonden publicaties bijeengebracht.

Pehlivanoglu en Sedlak (2006) geven een recent overzicht van de huidige kennis van de chemische vormen waarin opgelost organisch N (DON) in RWZI-effluenten kan voorkomen. Een vergelijkbare publicatie over P is niet gevonden.

In effluent van RWZI's zonder speciale nageschakelde zuiveringstechnieken kan tot 80% van de opgeloste N in organische vorm aanwezig zijn. Urgan-Demirtas et al (2007) vonden dat 18-61% hiervan biobeschikbaar was. Een beperkt aantal van de organische N-verbindingen in RWZI-effluent is chemisch te identificeren. Het gaat dan om

- ureum
- vrije aminozuren
- gecombineerde aminozuren( peptiden, polypeptiden, eiwitten)
- amines zoals dimethylamine (DMA)
- N-bevattende chelatoren zoals EDTA en NTA

Ureum en, onder bepaalde condities, aminozuren zijn voor algen opneembaar (Reynolds 2006). De daarvoor benodigde enzymen zouden pas aangemaakt worden bij een tekort aan anorganisch N (Turpin 1988). De biobeschikbaarheid van andere DON-fracties hangt tendele af van hun afbreekbaarheid door bacteriën, maar volgens sommigen wordt het vermogen van algen om organisch N als N-bron te gebruiken onderschat (Berman en Bronk 2003).

De identificeerbare DON-fractie is gewoonlijk maar een klein deel (minder dan 10%) van de totale hoeveelheid DON. Van de niet-identificeerbare DON-fractie zijn wel eigenschappen als adsorptie, ionenuitwisseling of chemische neerslagreacties bepaald, maar daaruit is weinig af te leiden over hun identiteit of opneembaarheid.

De niet-identificeerbare DON-fractie bestaat waarschijnlijk merendeels uit 'polymerized biological compounds'. Ook humusachtige stoffen worden door Pehlivanoglu en Sedlak als niet-identificeerbaar N beschouwd. Op basis van gebruikelijke concentraties van deze stoffen in RWZI-effluenten, en hun N-gehalte ( $\pm 3\%$ ) lijkt humus-N slechts een gering aandeel in de niet-identificeerbare fractie te hebben.

Daarnaast kunnen diverse huishoudelijke of industriële N-en P-bevattende organische verbindingen in het afvalwater terecht komen. Bij N gaat het dan bijvoorbeeld om het bij industriële productieprocessen toegepaste benzothiazole en N-bevattende pharmaceutica.

Moeilijk afbreekbare P-bevattende stoffen in deze categorie zijn oa fosfororganische herbiciden, insecticiden en fungiciden, brandbeveiligingsmiddelen, weekmakers en bestanddelen van lakken en lijm.



## 8

## LITERATUUR

- Anita, N.J., Harrison, P.J., and Oliviera, I., 1991. The role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology and ecology. *Phycologia* 30 (1), 1-89.
- AquaSense 2004. Biologische beschikbaarheid van fosfaat in effluent. Pilot MBR- installatie RWZI Hilversum. In opdracht van: Witteveen en Bos. Rapportnummer: 2350.
- Barker, D.J., and Stuckey, D.C. 1999. A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems. *Water Res.* 33 (14), 3063-3082.
- Berman T & Chava S 1999 Algal growth on organic compounds as N-sources. *Journal of Plankton Research* 21:1423-1437.
- Berman, T. & Bronk, D.A. 2003. Dissolved organic nitrogen: a dynamic participant in aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology* 31, 279-305.
- Boström, B., Persson, G. & Broberg, B. 1988. Bioavailability of different phosphorus forms in freshwater systems. *Hydrobiologia* 170 (1), 133-155.
- Broberg, O. & G. Persson. 1988. Particulate and dissolved phosphorus forms in freshwater: composition and analysis. *Hydrobiologia* 170: 61-90.
- Bronk, D.A., See J.H., Bradley, P. and Killberg, L. 2007. DON as a source of bioavailable nitrogen for phytoplankton. *Biogeosciences* 4, 283-296.
- Carlsson, P., and Graneli, F. 1993. Availability of humic bound nitrogen for coastal phytoplankton. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 36 (5), 433-447.
- Carlsson, P., Segatto, A.Z., and Graneli, E. 1993. Nitrogen bound to humic matter of terrestrial origin – A nitrogen pool for coastal phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 97 (2), 105-116.
- Cowen, W.F. & G.F. Lee. 1976. Phosphorus availability in particulate materials transported by urban runoff. *J. Wat. Pollut. Cont. Fed.* 48: 580-591.
- Grohmann, K., Gilbert, E., and Eberle, S.H. 1998. Identification of nitrogen-containing compounds of low molecular weight in effluents of biologically treated municipal wastewater. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 26 (1), 20-30.
- Hanson, A.M., and Lee, G.E. 1971. Forms of organic nitrogen in domestic wastewater. *J. Water Pollut. Control Fed.* 43 (11), 2271.
- Hwang, Y., Matsuo, T., Hanaki, K., and Suzuki, N. 1995. Identification and quantification of sulfur and nitrogen-containing odorous compounds in waste-water. *Water Res.* 29 (2), 711-718.
- Kahn, L., and Wayman, C. 1964. Amino acids in raw sewage and sewage effluents. *J. Water Pollut. Control Fed.* 36 (11), 1368-1371.
- Kari, F.G., and Giger, W. 1996. Speciation and fate of ethylenediaminetetraacetate (EDTA) in municipal wastewater treatment. *Water Res.* 30 (1), 122-134.

- Keller, J.V., Leckie, J.O., and McCarty, P.L. 1978. Investigation of soluble organic nitrogen compounds in municipal secondary effluent. *J. Water Pollut. Control Fed.* 50 (11), 2522-2529.
- Lee, G.F., R.A. Jones & W. Rast. 1980. Availability of phosphorus to phytoplankton and its implications for phosphorus management strategies. In: R.C. Loehr, C.S. Martin & W. Rast (eds), *Phosphorus management strategies for lakes*, Ann Arbor Sci. Ann Arbor: 259-308.
- Ma, H.Z., Allen, H.E., and Yin, Y.J. 2001. Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Water Res.* 35 (4), 985-996.
- McCarthy, M, Pratum, T., Hedges, J. and Benner, R. 1997. Chemical composition of dissolved organic nitrogen in the ocean. *Nature* 390, 150-154.
- Parkin, G.F. and McCarty, P.L. 1975. Characteristics and removal of soluble organic nitrogen in treated effluents. *Prog. Water Technol.* 7, 435-445.
- Parkin, G.F. and McCarty, P.L. 1981. A comparison of the characteristics of soluble organic nitrogen in untreated and activated-sludge treated wastewaters. *Water Res.* 15, 139-149.
- Parkin, G.F. and McCarty, P.L. 1981. Production of soluble organic nitrogen during activated-sludge treatment. *J. Water Pollut. Control Fed.* 53, 99-112.
- Parkin, G.F. and McCarty, P.L. 1981. Sources of soluble organic nitrogen in activated-sludge effluents. *J. Water Pollut. Control Fed.* 53, 89-98.
- Pehlivanoglu, E. & Sedlak, D.L. (2006) Wastewater-derived Dissolved Organic Nitrogen: Analytical Methods, Characterization, and Effects - A Review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 36, 261-285.
- Pehlivanoglu, E. & Sedlak, D.L. 2004. Bioavailability of wastewater-derived organic nitrogen to the alga *Selenastrum capricornutum*. *Water Res.* 2004, 3189-96.
- Pehlivanoglu-Mantas, E., and Sedlak, D.L. (in preparation). Measurement of dissolved organic nitrogen forms in the wastewater effluents: Concentrations, size distribution and NDMA formation potential.
- Randtke, S.J., and McCarty, P.L. 1997. Variations in nitrogen and organics in wastewaters. *J. Environ. Eng. Div. ASCE* 103 (4), 539-550.
- Reynolds, C.S. 2006. *The Ecology of Phytoplankton*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Rigler, F.H. 1966. Radiobiological analysis of inorganic phosphorus in lakewater. *Verh. Int. Ver. Limnol* 16: 465-470.
- Sacher, F., Lenz, S., and Brauch, H.J. 1997. Analysis of primary and secondary aliphatic amines in waste water and surface water by gas chromatography mass spectrometry after derivatization with 2,4-dinitrofluorobenzene or benzenesulfonyl chloride. *J. Chromatog. A* 764 (1), 85-93.
- Scully, F.E., Howell, G.D., Penn, H.H., Mazina, K., and Johnson, J.D. 1988. Small molecular-weight organic amino nitrogen compounds in treated municipal waste-water. *Environ. Sci. Technol* 22 (10), 1186-1190.
- Sedlak, D.L. and Pehlivanoglu, E. 2004. The speciation and reactivity of wastewater-derived organic nitrogen University of California Water Resources Center. Technical Completion Reports.
- Seitzinger, S.P., Sanders, R.W., and Styles, R. 2002. Bioavailability of DON from natural and anthropogenic sources to estuarine plankton. *Limnol. Oceanog.* 47 (2), 353-366.
- STOWA 2003. Ecotoxicologische aspecten bij de nabehandeling van rwzi-effluenten met behulp van biomassa kweek. STOWA rapport 2003-12.
- STOWA 2005. Verkenningen zuiveringstechnieken en KRW. STOWA-rapport 2005-28

STOWA 2006. Filtratietechnieken RWZI's. Stand van zaken en ervaringen met zandfiltratie. STOWA-rapport 2006-21.

STOWA 2007a. Het actief slib proces. De mogelijkheden en grenzen. STOWA-rapport-2007-24

STOWA 2007b. Adsorptie van fosfaat als nabehandelingstechniek STOWA-rapport 2007-26

STOWA 2008. Demonstratieonderzoek aanvullende zuiveringstechnieken op de RWZI Leiden Zuidwest STOWA-rapport 2008-W02.

Urgun-Demirtas, M., Sattayatewa, C. & Pagilla, K.R. 2007 Bioavailability of dissolved organic nitrogen in treated effluents. Nutrient removal conference Baltimore March 2007.

Young, T.C. & J.V. DePinto. 1982. Algal-availability of particulate phosphorus from diffuse and point sources in the lower Great Lakes basin. *Hydrobiologia* 91: 111-119.

## BIJLAGE 1

# AAN HET EFFLUENT TOEGEVOEGDE NUTRIËNTEN IN DE N- EN DE P-TEST

|  | g/L toegevoegd |            |
|--|----------------|------------|
|  | N-test         | P-test     |
| NH <sub>4</sub> Cl                                   | 0              | 0,015      |
| MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                 | 0,012          | 0,012      |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                 | 0,018          | 0,018      |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                 | 0,015          | 0,015      |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                      | 0,0016         | 0          |
| FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O                 | 0,00008        | 0,00008    |
| Na <sub>2</sub> .EDTA.2H <sub>2</sub> O              | 0,0001         | 0,0001     |
| H <sub>3</sub> B <sub>3</sub> O <sub>3</sub>         | 0,000185       | 0,000185   |
| MnCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                 | 0,00034        | 0,00034    |
| ZnCl <sub>2</sub>                                    | 0,000003       | 0,000003   |
| CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O                 | 0,0000015      | 0,0000015  |
| CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                 | 0,00000001     | 0,00000001 |
| Na <sub>2</sub> .MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | 0,000007       | 0,000007   |
| NaHCO <sub>3</sub>                                   | 0,05           | 0,05       |

## BIJLAGE 2

# P- EN N-FRACTIES VAN DE GETESTE EFFLUENTEN

| bb-test | RWZI                                | bb-P         | TP    | SP    | SMP   | SOP   | TDP   | DIP   | DOP   |
|---------|-------------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 03-A    | Leiden ZW afloop nbt 15 nov 07      | <b>0,12</b>  | 0,36  | 0,20  | -0,09 | 0,29  | 0,16  | 0,09  | 0,07  |
| 03-B    | Leiden ZW na vastbedfilter 15nov 07 | <b>0,00</b>  | 0,21  | 0,14  | 0,00  | 0,14  | 0,07  | 0,00  | 0,07  |
| 03-C    | Biest-Houtakker 15 nov 07           | <b>0,15</b>  | 0,49  | 0,04  | -0,14 | 0,18  | 0,45  | 0,14  | 0,31  |
| 04-1tm4 | Leiden afl nbt 21 jan 08 (gem v 4)  | <b>0,40</b>  | 0,55  | 0,12  | -0,02 | 0,14  | 0,43  | 0,45  | -0,03 |
| 05-1    | Dinther 5 maart 2008                | <b>1,23</b>  | 1,70  | 0,10  | 1,60  | -1,50 | 1,60  | 1,80  | -0,20 |
| 05-2    | Land van Cuijk 5 maart 2008         | <b>0,11</b>  | 0,36  | 0,12  | -0,01 | 0,13  | 0,24  | 0,14  | 0,10  |
| 05-3    | Oedenrode 5 maart 2008              | <b>3,48</b>  | 4,20  | 0,40  | 0,40  | 0,00  | 3,80  | 4,10  | -0,30 |
| 05-4    | Tilburg Noord 5 maart 2008          | <b>0,44</b>  | 0,61  | 0,10  | 0,02  | 0,08  | 0,51  | 0,51  | 0,00  |
| 06-4    | Leiden ZW 3 april 2008              | <b>0,11</b>  | 0,33  | 0,06  | -     | -     | 0,27  | 0,18  | 0,09  |
| 06-5    | Leiden ZW 5 april 2009              | <b>0,47</b>  | 2,10  | 1,35  | -     | -     | 0,75  | 0,60  | 0,15  |
|         |                                     | <b>mgP/l</b> | mgP/l | mgP/l | mgP/l | mgP/l | mgP/l | mgP/l | mgP/l |

| bb-test | RWZI                                | bb-N         | TN    | SON   | TDN   | DON   | DIN   | NH <sub>4</sub> -N | NO <sub>3</sub> -N | NO <sub>2</sub> -N | Kj-N<br>ruw | Kj-N<br><0,45µm |
|---------|-------------------------------------|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------------|--------------------|--------------------|-------------|-----------------|
| 03-A    | Leiden ZW afloop nbt 15 nov 07      | <b>2,20</b>  | 2,87  | -0,20 | 3,07  | 0,97  | 2,10  | 0,23               | 1,80               | 0,07               | 1,00        | 1,20            |
| 03-B    | Leiden ZW na vastbedfilter 15nov 07 | <b>0,43</b>  | 1,38  | 0,10  | 1,28  | 0,83  | 0,45  | 0,17               | 0,26               | 0,02               | 1,10        | 1,00            |
| 03-C    | Biest-Houtakker 15 nov 07           | <b>5,09</b>  | 6,27  | 0,40  | 5,87  | 0,95  | 4,92  | 0,75               | 4,00               | 0,17               | 2,10        | 1,70            |
| 04-1tm4 | Leiden afl nbt 21 jan 08 (gem v 4)  | <b>2,87</b>  | 3,39  | 0,58  | 2,81  | -0,15 | 2,96  | 2,10               | 0,64               | 0,23               | 2,53        | 1,95            |
| 05-1    | Dinther 5 maart 2008                | <b>2,39</b>  | 4,27  | -0,50 | 4,77  | 1,10  | 3,67  | 1,60               | 2,00               | 0,07               | 2,20        | 2,70            |
| 05-2    | Land van Cuijk 5 maart 2008         | <b>4,56</b>  | 7,15  | 0,50  | 6,65  | 0,90  | 5,75  | 1,20               | 4,00               | 0,55               | 2,60        | 2,10            |
| 05-3    | Oedenrode 5 maart 2008              | <b>8,18</b>  | 11,23 | 0,40  | 10,83 | -0,30 | 11,13 | 8,70               | 2,30               | 0,13               | 8,80        | 8,40            |
| 05-4    | Tilburg Noord 5 maart 2008          | <b>5,70</b>  | 6,85  | 0,00  | 6,85  | 0,95  | 5,90  | 0,55               | 5,30               | 0,05               | 1,50        | 1,50            |
| 06-4    | Leiden ZW 3 april 2008              | <b>1,80</b>  | 3,31  | -0,10 | 3,41  | 1,54  | 1,87  | 0,16               | 1,60               | 0,11               | 1,60        | 1,70            |
| 06-5    | Leiden ZW 5 april 2009              | <b>3,58</b>  | 8,02  | 3,40  | 4,62  | 1,20  | 3,42  | 2,30               | 0,87               | 0,25               | 6,90        | 3,50            |
|         |                                     | <b>mgN/l</b> | mgN/l | mgN/l | mgN/l | mgN/l | mgN/l | mgN/l              | mgN/l              | mgN/l              | mgN/l       | mgN/l           |

## BIJLAGE 3

# ORGANISCH N EN P IN RWZI-INSTALLATIES

| RWZI                | type                                | n   | TDN - totaal opgelost N |       |        |       | DON - opgelost org. N |       |        |       | DON als % van TDN |     |        |     |
|---------------------|-------------------------------------|-----|-------------------------|-------|--------|-------|-----------------------|-------|--------|-------|-------------------|-----|--------|-----|
|                     |                                     |     | min                     | max   | 95% bi |       | min                   | max   | 95% bi |       | min               | max | 95% bi |     |
| Oijen               | Oxidatiesloot                       | 29  | <b>4,98</b>             | 2,37  | 8,40   | 0,52  | <b>1,40</b>           | 0,63  | 2,00   | 0,13  | <b>30%</b>        | 15% | 46%    | 3%  |
| Den Bosch           | Propstroom actief slib              | 23  | <b>8,40</b>             | 4,30  | 14,70  | 1,28  | <b>1,70</b>           | 0,90  | 6,00   | 0,45  | <b>21%</b>        | 8%  | 51%    | 4%  |
| Dinther             | Oxidatiesloot                       | 30  | <b>3,83</b>             | 1,87  | 5,77   | 0,36  | <b>1,50</b>           | 0,90  | 2,10   | 0,11  | <b>41%</b>        | 21% | 62%    | 4%  |
| Land van Cuijk      | Ronde tank - actief slib            | 30  | <b>6,89</b>             | 3,90  | 10,50  | 0,69  | <b>1,76</b>           | 0,00  | 2,80   | 0,20  | <b>27%</b>        | 0%  | 44%    | 4%  |
| Dordrecht           | -                                   | 6   | <b>4,85</b>             | 2,80  | 7,50   | 1,86  | <b>1,43</b>           | 1,10  | 2,10   | 0,43  | <b>31%</b>        | 26% | 43%    | 7%  |
| Ridderkerk          | -                                   | 6   | <b>4,73</b>             | 3,80  | 5,70   | 0,76  | <b>0,88</b>           | 0,50  | 1,40   | 0,34  | <b>19%</b>        | 9%  | 31%    | 9%  |
| Zwijndrecht         | -                                   | 5   | <b>2,56</b>             | 1,70  | 3,40   | 0,76  | <b>1,08</b>           | 0,80  | 1,30   | 0,27  | <b>44%</b>        | 29% | 54%    | 13% |
| Varsseveld lab      | MBR                                 | -   | -                       | -     | -      | -     | -                     | -     | -      | -     | -                 | -   | -      | -   |
| Varsseveld sneltest | MBR                                 | 109 | <b>2,99</b>             | 1,18  | 7,55   | 0,27  | <b>0,73</b>           | 0,05  | 1,70   | 0,06  | <b>27%</b>        | 1%  | 60%    | 2%  |
| Emmen               | Oxidatiesloot                       | 10  | <b>1,27</b>             | 1,20  | 1,50   | 0,08  | <b>1,14</b>           | 1,00  | 1,40   | 0,09  | <b>90%</b>        | 83% | 93%    | 2%  |
| Biest-Houtakker     | oxidatiesloot (chemische P)         | 23  | <b>5,82</b>             | 2,66  | 9,90   | 0,86  | <b>1,79</b>           | 0,00  | 3,70   | 0,37  | <b>33%</b>        | 0%  | 52%    | 6%  |
| Boxtel              | Actief slib met voordennitrificatie | 12  | <b>7,54</b>             | 3,60  | 9,60   | 1,15  | <b>1,13</b>           | 0,30  | 2,21   | 0,35  | <b>15%</b>        | 6%  | 27%    | 4%  |
| Eindhoven           | Actief slib systeem bio-P (m-UCT)   | 28  | <b>7,66</b>             | 3,99  | 13,30  | 1,09  | <b>0,97</b>           | -0,10 | 1,82   | 0,22  | <b>15%</b>        | -2% | 32%    | 4%  |
| Haaren              | oxidatiesloot (Pho-redox bio P)     | 12  | <b>5,33</b>             | 2,65  | 7,68   | 0,91  | <b>0,82</b>           | 0,20  | 1,25   | 0,19  | <b>16%</b>        | 3%  | 25%    | 4%  |
| Hapert              | oxidatiesloot (Pho-redox bio P)     | 19  | <b>3,29</b>             | 1,31  | 5,50   | 0,59  | <b>1,16</b>           | 0,75  | 2,06   | 0,13  | <b>41%</b>        | 20% | 89%    | 10% |
| Sint-Oedenrode      | -                                   | 12  | <b>8,41</b>             | 4,20  | 13,80  | 1,82  | <b>1,18</b>           | 0,30  | 2,00   | 0,27  | <b>15%</b>        | 4%  | 32%    | 5%  |
| Soerendonk          | -                                   | 22  | <b>6,88</b>             | 2,05  | 11,30  | 0,99  | <b>1,37</b>           | 0,20  | 2,60   | 0,21  | <b>21%</b>        | 4%  | 54%    | 4%  |
| Tilburg Noord       | -                                   | 12  | <b>6,73</b>             | 5,00  | 11,70  | 1,26  | <b>1,50</b>           | 0,40  | 2,11   | 0,33  | <b>22%</b>        | 8%  | 36%    | 5%  |
| Kralingseveer       | -                                   | -   | -                       | -     | -      | -     | -                     | -     | -      | -     | -                 | -   | -      | -   |
| Kortenoord          | -                                   | -   | -                       | -     | -      | -     | -                     | -     | -      | -     | -                 | -   | -      | -   |
| Groote Zaag         | -                                   | -   | -                       | -     | -      | -     | -                     | -     | -      | -     | -                 | -   | -      | -   |
| Groenedijk          | -                                   | -   | -                       | -     | -      | -     | -                     | -     | -      | -     | -                 | -   | -      | -   |
| Stolwijk            | -                                   | -   | -                       | -     | -      | -     | -                     | -     | -      | -     | -                 | -   | -      | -   |
|                     |                                     |     | <b>mgN/l</b>            | mgN/l | mgN/l  | mgN/l | <b>mgN/l</b>          | mgN/l | mgN/l  | mgN/l |                   |     |        |     |

| RWZI                | type                                | n   | TDP - totaal opgelost P |       |        |       | DOP - opgelost org. P |        |       |       | DOP als % van TDP |       |      |      |
|---------------------|-------------------------------------|-----|-------------------------|-------|--------|-------|-----------------------|--------|-------|-------|-------------------|-------|------|------|
|                     |                                     |     | min                     | max   | 95% bi | min   | max                   | 95% bi | min   | max   | 95% bi            |       |      |      |
| Oijen               | Oxidatiesloot                       | 29  | <b>1,20</b>             | 0,28  | 5,40   | 0,42  | <b>0,15</b>           | 0,00   | 0,40  | 0,03  | <b>18%</b>        | 0%    | 43%  | 4%   |
| Den Bosch           | Propstroom actief slib              | 22  | <b>1,84</b>             | 0,48  | 7,20   | 0,66  | <b>0,29</b>           | 0,08   | 0,80  | 0,07  | <b>20%</b>        | 3%    | 38%  | 4%   |
| Dinther             | Oxidatiesloot                       | 30  | <b>1,76</b>             | 0,31  | 5,20   | 0,45  | <b>0,13</b>           | -0,10  | 0,23  | 0,03  | <b>11%</b>        | -4%   | 30%  | 3%   |
| Land van Cuijk      | Ronde tank - actief slib            | 30  | <b>1,07</b>             | 0,22  | 2,90   | 0,26  | <b>0,15</b>           | 0,07   | 0,52  | 0,03  | <b>19%</b>        | 4%    | 55%  | 5%   |
| Dordrecht           | -                                   | 6   | <b>0,48</b>             | 0,26  | 0,77   | 0,19  | <b>0,05</b>           | 0,01   | 0,10  | 0,04  | <b>10%</b>        | 2%    | 23%  | 10%  |
| Ridderkerk          | -                                   | 6   | <b>0,64</b>             | 0,14  | 1,29   | 0,46  | -                     | -      | -     | -     | -                 | -     | -    | -    |
| Zwijndrecht         | -                                   | 5   | <b>0,51</b>             | 0,17  | 1,40   | 0,64  | <b>0,06</b>           | 0,02   | 0,10  | 0,06  | <b>16%</b>        | 7%    | 41%  | 27%  |
| Varsseveld lab      | MBR                                 | 43  | <b>0,25</b>             | 0,06  | 0,76   | 0,05  | <b>0,03</b>           | 0,00   | 0,11  | 0,01  | <b>12%</b>        | 0,00  | 0,55 | 0,04 |
| Varsseveld sneltest | MBR                                 | 109 | <b>0,18</b>             | 0,03  | 0,76   | 0,02  | <b>0,03</b>           | 0,00   | 0,09  | 0,00  | <b>19%</b>        | 0%    | 56%  | 2%   |
| Emmen               | Oxidatiesloot                       | 10  | <b>0,78</b>             | 0,65  | 0,90   | 0,06  | <b>0,06</b>           | 0,02   | 0,19  | 0,04  | <b>7%</b>         | 3%    | 21%  | 4%   |
| Biest-Houtakker     | oxidatiesloot (chemische P)         | 31  | <b>0,84</b>             | 0,16  | 2,70   | 0,25  | <b>0,59</b>           | 0,04   | 2,22  | 0,22  | <b>63%</b>        | 15%   | 90%  | 7%   |
| Boxtel              | Actief slib met voordennitrificatie | 12  | <b>0,20</b>             | 0,07  | 0,44   | 0,09  | <b>0,13</b>           | 0,03   | 0,38  | 0,07  | <b>59%</b>        | 30%   | 97%  | 14%  |
| Eindhoven           | Actief slib systeem bio-P (m-UCT)   | 27  | <b>0,61</b>             | 0,10  | 1,40   | 0,15  | <b>0,16</b>           | 0,04   | 0,43  | 0,04  | <b>32%</b>        | 5%    | 90%  | 8%   |
| Haaren              | oxidatiesloot (Pho-redox bio P)     | 12  | <b>1,17</b>             | 0,22  | 2,70   | 0,50  | <b>0,16</b>           | 0,05   | 0,40  | 0,06  | <b>21%</b>        | 4%    | 59%  | 10%  |
| Hapert              | oxidatiesloot (Pho-redox bio P)     | 13  | <b>0,45</b>             | 0,09  | 1,20   | 0,25  | <b>0,11</b>           | 0,03   | 0,28  | 0,04  | <b>36%</b>        | 13%   | 82%  | 13%  |
| Sint-Oedenrode      | -                                   | 11  | <b>2,12</b>             | 0,63  | 4,60   | 0,85  | <b>0,23</b>           | 0,10   | 0,60  | 0,11  | <b>13%</b>        | 6%    | 19%  | 3%   |
| Soerendonk          | -                                   | 21  | <b>0,87</b>             | 0,08  | 2,60   | 0,36  | <b>0,13</b>           | 0,04   | 0,30  | 0,03  | <b>27%</b>        | 4%    | 63%  | 9%   |
| Tilburg Noord       | -                                   | 12  | <b>0,86</b>             | 0,30  | 1,60   | 0,29  | <b>0,23</b>           | 0,07   | 1,15  | 0,19  | <b>25%</b>        | 7%    | 72%  | 10%  |
| Kralingseveer       | -                                   | 10  | <b>1,30</b>             | 0,51  | 1,90   | 0,33  | <b>0,06</b>           | -0,10  | 0,30  | 0,10  | <b>4%</b>         | -0,10 | 0,23 | 0,07 |
| Kortenoord          | -                                   | 10  | <b>0,24</b>             | 0,13  | 0,64   | 0,11  | <b>0,09</b>           | 0,04   | 0,17  | 0,04  | <b>38%</b>        | 0,17  | 0,67 | 0,10 |
| Groote Zaag         | -                                   | 8   | <b>1,05</b>             | 0,25  | 3,50   | 0,93  | <b>0,04</b>           | -0,10  | 0,11  | 0,06  | <b>10%</b>        | -0,08 | 0,30 | 0,12 |
| Groenedijk          | -                                   | 10  | <b>0,99</b>             | 0,47  | 1,80   | 0,34  | <b>0,04</b>           | -0,10  | 0,11  | 0,05  | <b>4%</b>         | -0,06 | 0,13 | 0,05 |
| Stolwijk            | -                                   | 4   | <b>0,21</b>             | 0,17  | 0,25   | 0,06  | <b>0,11</b>           | 0,08   | 0,15  | 0,05  | <b>53%</b>        | 0,32  | 0,83 | 0,35 |
|                     |                                     |     | <b>mgP/l</b>            | mgP/l | mgP/l  | mgP/l | <b>mgP/l</b>          | mgP/l  | mgP/l | mgP/l |                   |       |      |      |

## BIJLAGE 4

# VARIATIE VAN DE TESTRESULTATEN

Effluent van RWZI Leiden ZW, bemonsterd op 21 jan 2008, is gebruikt om een indruk te krijgen van de betrouwbaarheid en reproduceerbaarheid van de testresultaten. Van hetzelfde, gepoolde monster is in vier replica's geheel onafhankelijk van elkaar een biobeschikbaarheids-test ingezet. Hieronder wordt de spreiding van de chemische analyses en de testresultaten vergeleken.

## VARIATIE CHEMISCHE ANALYSE EN BIOBESCHIKBAARHEID VAN P

Tabel 6 geeft de spreiding binnen en tussen de replica's van de totale hoeveelheid opgelost P bepaald met een chemische analyse en met de biobeschikbaarheids-test.

De chemische analyse heeft volgens opgave van het uitvoerende laboratorium een 95% betrouwbaarheidsinterval van 10%. Uit de gemiddelden van de vier replica's kan een betrouwbaarheidsinterval van 9% worden berekend. De spreiding tussen de replica's en binnen de replica's zijn dus vergelijkbaar, er zijn geen aanwijzingen voor extra variatie door manipulaties tijdens het inzetten van de test.

Het 95% betrouwbaarheidsinterval van een biobeschikbaar P test, berekend uit de spreiding van de yield van de testalg, varieert van 14 tot 27%, met een gemiddelde waarde van 21%. Uit de gemiddelden van de vier replica's kan een betrouwbaarheidsinterval van 27% worden berekend. De spreiding tussen de replica's was dus wat groter dan spreiding binnen de replica's. De nauwkeurigheid van de biobeschikbaar P test wordt blijikbaar vooral bepaald door variatie in de gemeten yields van de testalg, maar manipulaties bij het inzetten van de test voegen daar enige extra spreiding aan toe.

TABEL 6 SPREIDING VAN DE CHEMISCHE ANALYSE- EN TESTRESULTATEN VAN TOTAAL OPGELOST P (TDP) IN EFFLUENT VAN RWZI LEIDEN ZW

| chemische                                | analyse                 | mgP/l | 95%bi | abs  | rel        |
|--|-------------------------|-------|-------|------|------------|
| replica a                                | TDP                     | 0,43  | ±     | 0,04 | 10%        |
| replica b                                | TDP                     | 0,41  | ±     | 0,04 | 10%        |
| replica c                                | TDP                     | 0,41  | ±     | 0,04 | 10%        |
| replica d                                | TDP                     | 0,46  | ±     | 0,05 | 10%        |
| gemiddelde spreiding binnen de replica's |                         |       |       |      | <b>10%</b> |
| gemiddelde spreiding tussen de replica's |                         |       |       |      | <b>9%</b>  |
|  | test biobeschikbaarheid | mgP/l | 95%bi | abs  | rel        |
| replica a                                | bb-TDP                  | 0,33  | ±     | 0,05 | 14%        |
| replica b                                | bb-TDP                  | 0,35  | ±     | 0,06 | 18%        |
| replica c                                | bb-TDP                  | 0,44  | ±     | 0,12 | 27%        |
| replica d                                | bb-TDP                  | 0,47  | ±     | 0,11 | 23%        |
| gemiddelde spreiding binnen de replica's |                         |       |       |      | <b>21%</b> |
| gemiddelde spreiding tussen de replica's |                         |       |       |      | <b>27%</b> |



### VARIATIE CHEMISCHE ANALYSE EN BIOBESCHIKBAARHEID VAN N

Tabel 7 geeft de spreiding binnen en tussen de replica's van de totale hoeveelheid opgelost N bepaald met een chemische analyse en met de biobeschikbaarheids-test.

Totaal opgelost N is de som van Kjeldahl-N, nitraat en nitriet. Deze analyses hebben volgens opgave van het uitvoerende laboratorium een 95% betrouwbaarheidsinterval van resp. 6,8, 3,8 en 1,4%. Het betrouwbaarheidsinterval van TDN hangt af van het aandeel van de verschillende N-fracties, en bedraagt voor het onderzochte effluent 4,8%. Uit de gemiddelden van de vier replica's kan een betrouwbaarheidsinterval van 4,3% worden berekend. De spreiding tussen de replica's en binnen de replica's zijn dus vergelijkbaar, er zijn geen aanwijzingen voor extra variatie door manipulaties tijdens het inzetten van de test.

Het 95% betrouwbaarheidsinterval van een biobeschikbaar N test, berekend uit de spreiding van de yield van de testalg, varieert van 12 tot 31%, met een gemiddelde waarde van 24%. Uit de gemiddelden van de vier replica's kan een betrouwbaarheidsinterval van 4% worden berekend. De spreiding tussen de replica's was dus veel kleiner dan spreiding binnen de replica's. De nauwkeurigheid van de biobeschikbaar N test wordt blijkbaar vooral bepaald door variatie in de gemeten yields van de testalg, manipulaties bij inzetten test voegen daar geen aantoonbare extra spreiding aan toe.

TABEL 7

SPREIDING VAN DE CHEMISCHE ANALYSE- EN TESTRESULTATEN VAN TOTAAL OPGELOST N (TDN) IN EFFLUENT VAN RWZI LEIDEN ZW

|  | chemische analyse       | mgN/l | 95%bi | abs  | rel  |
|--|-------------------------|-------|-------|------|------|
| replica a                                | TDN                     | 2,73  | ±     | 0,13 | 4,8% |
| replica b                                | TDN                     | 2,85  | ±     | 0,14 | 4,8% |
| replica c                                | TDN                     | 2,77  | ±     | 0,13 | 4,7% |
| replica d                                | TDN                     | 2,90  | ±     | 0,14 | 4,8% |
| gemiddelde spreiding binnen de replica's |                         |       |       |      | 4,8% |
| gemiddelde spreiding tussen de replica's |                         |       |       |      | 4,3% |
|  | test biobeschikbaarheid | mgN/l | 95%bi | abs  | rel  |
| replica a                                | bb-TDN                  | 2,87  | ±     | 0,80 | 28%  |
| replica b                                | bb-TDN                  | 2,79  | ±     | 0,35 | 12%  |
| replica c                                | bb-TDN                  | 2,95  | ±     | 0,93 | 31%  |
| replica d                                | bb-TDN                  | 2,89  | ±     | 0,71 | 24%  |
| gemiddelde spreiding binnen de replica's |                         |       |       |      | 24%  |
| gemiddelde spreiding tussen de replica's |                         |       |       |      | 4%   |

### CONCLUSIE VARIATIE TESTRESULTATEN

De spreiding van de chemische analyses komt goed overeen met de door het uitvoerende laboratorium opgegeven waarden.

De spreiding van de in triplo uitgevoerde biobeschikbaarheidstests ligt in de grootte-orde van 20%, een niet ongebruikelijke waarde voor biologische analyses.

De spreiding van de testresultaten ontstaat niet zozeer tijdens de monster-voorbehandeling en het inzetten van de test, maar vooral tijdens de test zelf. Dat is ook wel enigszins te verklaren. Om lichtlimitatie te voorkomen moet de test uitgevoerd worden met lage algendichtheden. Daardoor is de achtergrondfluorescentie relatief hoog. Het toepassen van speciale fluorescentie-arme meetcuvetten kon maar gedeeltelijk aan dat probleem tegemoetkomen. Bij een laag signaal en een hoge achtergrond is een relatief grote spreiding te verwachten.

## BIJLAGE 5

# EFFECTEN VAN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEN

Een biobeschikbaarheids-test duurt 2 à 3 weken. P of N dat na die periode nog niet door de testalg is opgenomen wordt als niet-biobeschikbaar beschouwd. Afhankelijk van de stabiliteit van de verbindingen waaruit deze fractie bestaat, is het denkbaar dat deze nutriënten op langere termijn wel vrijkomen. Om een indruk te krijgen van de stabiliteit van de niet-biobeschikbare fractie is bij drie effluënten nagegaan of door bepaalde behandelingen van het effluent de biobeschikbaarheid van N en P toeneemt. Het gaat om effluent van de RWZI's Dinther, Land van Cuijk en Tilburg N, bemonsterd op 5 maart 2008.

Er is gekeken naar het effect van invriezen (-20°C), en naar het effect van invriezen, gevolgd door autoclaveren. De hoeveelheid biobeschikbaar P en N na deze behandelingen is vergeleken met de al eerder gemeten hoeveelheid biobeschikbaar P en N. Deze staan in Tabel 8. De hoeveelheid niet-biobeschikbaar P in het Tilburg-effluent was niet significant.

TABEL 8 NIET-BIOBESCHIKBAAR P EN N IN DE GETESTE, ONBEHANDELDE EFFLUENTEN

|                         | NIET biobeschikbaar P |        |     | NIET biobeschikbaar N |        |     |
|-------------------------|-----------------------|--------|-----|-----------------------|--------|-----|
|                         |                       | mgP/l  |     |                       | mgN/l  |     |
| Dinther 05-03-08        | 0,37                  | ± 0,17 | 23% | 2,38                  | ± 0,28 | 50% |
| Land van Cuijk 05-03-08 | 0,13                  | ± 0,03 | 53% | 2,09                  | ± 0,83 | 31% |
| Tilburg 05-03-08        | 0,07                  | ± 0,15 | 14% | 1,15                  | ± 0,90 | 17% |

Het effect van invriezen is ook om praktische redenen van belang. Tot nu toe wordt van elk effluent een aantal verdunningen getest. Slechts één verdunning wordt voor berekening van de biobeschikbaarheid gebruikt, de anderen zijn ongeschikt wegens te hoge of te lage biomassa van de testalg. Als na invriezen vergelijkbare resultaten worden gevonden, kan met het inzetten van de test worden gewacht totdat de chemische analyse bekend zijn, waardoor vooraf de vereiste verdunningsfactor kan worden berekend.

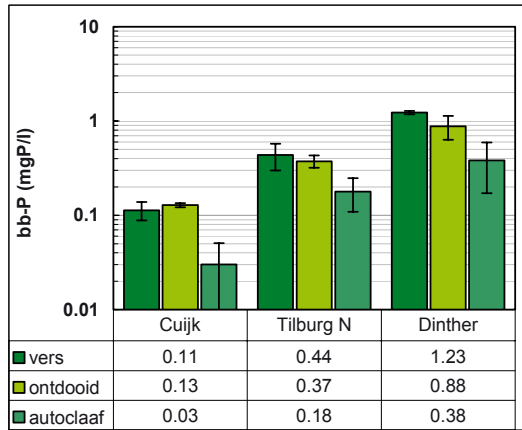
Bij het autoclaveren deed zich het probleem voor dat een aanzienlijke hoeveelheid neerslag ontstond na afkoelen van de geautoclaveerde effluënten. Een biobeschikbaarheidsmeting in monsters met veel neerslag is niet goed mogelijk vanwege verstoring van de chlorofyl-fluorescentie meting. Daarom is besloten het neerslag te verwijderen door filtratie over 45 µm. Om beide behandelingen vergelijkbaar te houden zijn ook de ontdooide, niet geautoclaveerde monsters gefiltreerd, hoewel hier het neerslagprobleem niet speelde. Door chemische analyses zijn de effecten van deze handelingen op hoeveelheid en speciatie van P en N gevolgd.

## EFFECT VAN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEN OP DE BIOBESCHIKBAARHEID VAN P.

figuur 20 laat de resultaten zien van de metingen van biobeschikbaar P na de diverse behandelingen van het effluent. In Cuijk- en Tilburg-effluent is de hoeveelheid biobeschikbaar P na ontdooien niet significant verschillend van de hoeveelheid ervoor. In Dinther-effluent wordt wel significant minder biobeschikbaar P aangetroffen na ontdooien. Dat kan veroorzaakt zijn doordat dit effluent is gefiltreerd.

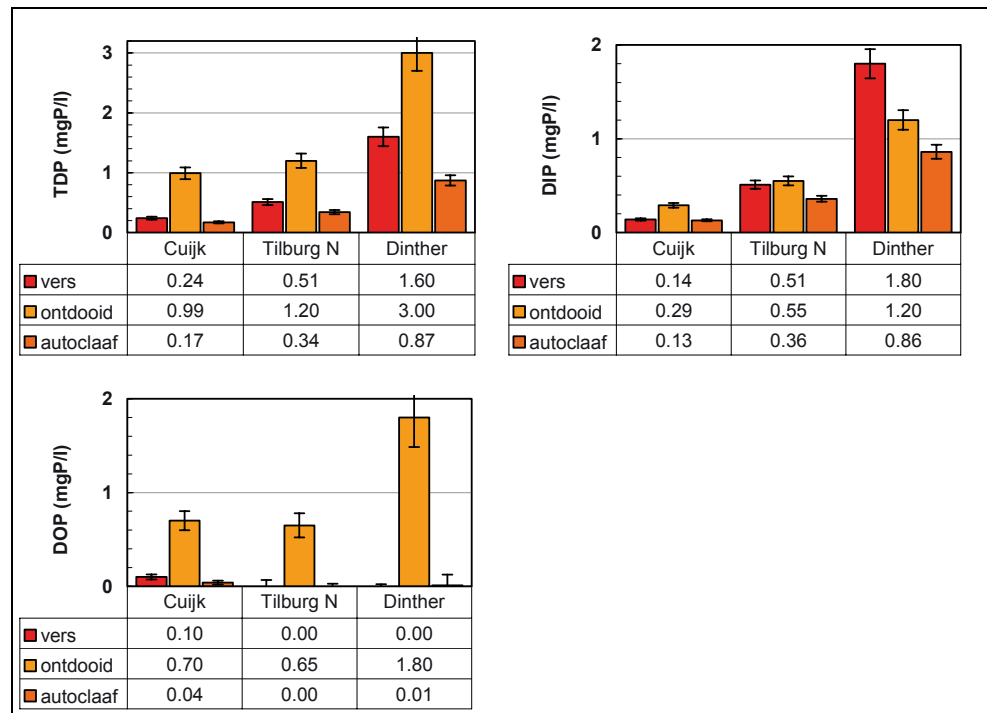
Na autoclaveren wordt in alle drie de effluënten significant minder biobeschikbaar P gemeten.

FIGUUR 20 BIOBESCHIKBAAR P (BB-P) IN VERS, ONTDOOID, EN ONTDOOID+GEAUTOCLAVEERD EFFLUENT VAN DRIE ZUIVERINGSINSTALLATIES



Het is evenwel lastig om uit deze resultaten enige conclusie te verbinden mbt de effecten van invriezen en autoclaveren, omdat ook andere processen de P-fracties beïnvloedden, zoals blijkt uit figuur 21.

FIGUUR 21 DE EFFECTEN VAN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEN OP TOTAAL-, ANORGANISCH EN ORGANISCH OPGELOST P IN DE TESTMONSTERS



In alle drie de effluentmonsters is de hoeveelheid opgelost P flink toegenomen na invriezen en ontdooien. Het blijkt vooral om toename van organisch P (DOP) te gaan. De effluënten zijn ingevroren in grondig schoongemaakte witplastic potten. Mogelijk kunnen uit dit materiaal toch P-bevattende stoffen vrijkomen. Zo blijken in plastic toegepaste weekmakers P te bevatten. Het gaat kennelijk om niet-biobeschikbaar P, want de hoeveelheid biobeschikbaar P is gelijk of wat lager in de ingevroren effluënten.

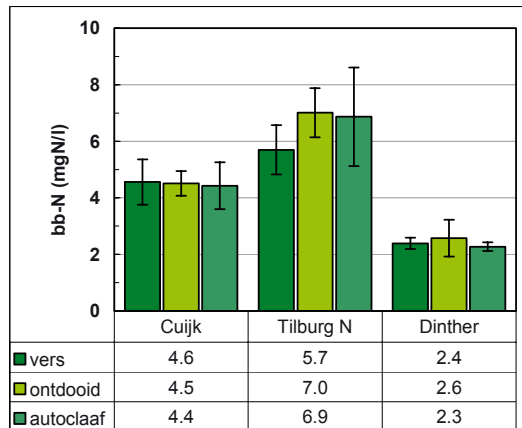
In de geautoclaveerde monsters is de hoeveelheid P weer sterk gedaald tov de monsters die alleen ingevroren waren. Dit zijn de effluënten waarin neerslag ontstond, dat vervolgens is afgefilterd en dat kennelijk P-bevattend was.

**EFFECT VAN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEN OP DE BIOBESCHIKBAARHEID VAN N.**

Figuur 22 laat de resultaten zien van de metingen van biobeschikbaar N na invriezen, en na invriezen en autoclavieren van het effluent. In Tilburg-effluent wordt een hogere hoeveelheid biobeschikbaar N gemeten na invriezen en autoclavieren, maar de verschillen met vers effluent zijn niet significant. Voor de andere twee effluënten levert de test in behandeld en vers effluent nagenoeg gelijke hoeveelheden biobeschikbaar N op.

FIGUUR 22

BIOBESCHIKBAAR N (BB-N) IN VERS, ONTDOOID, EN ONTDOOID+GEAUTOCLAVEERD EFFLUENT VAN DRIE ZUIVERINGSINSTALLATIES



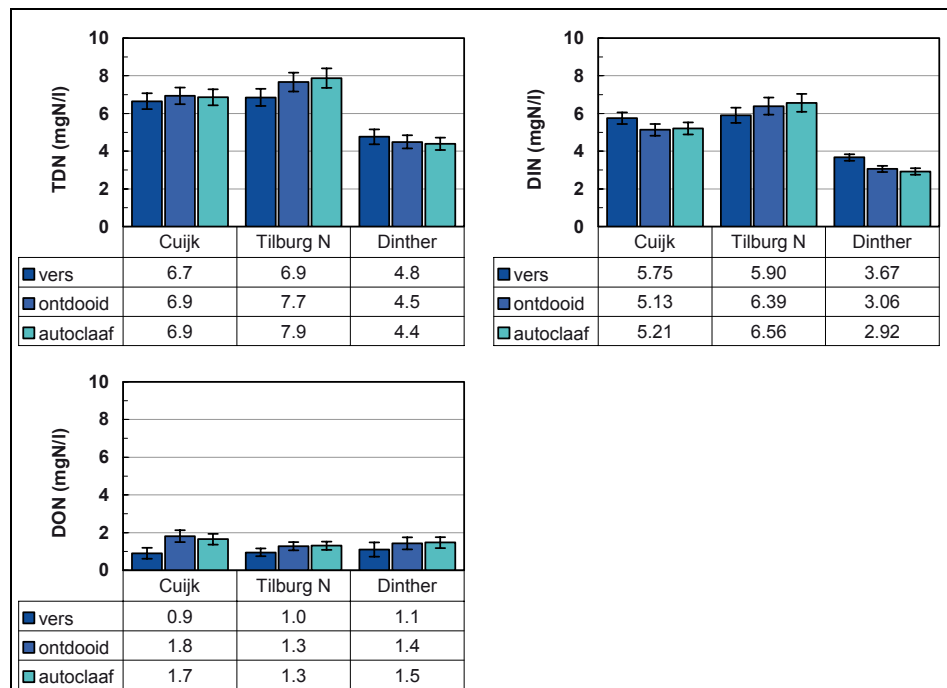
Figuur 23 geeft de resultaten van de chemische analyses van vers en behandeld effluent.

De totale hoeveelheid opgelost N is in het geautoclaveerde effluent nergens lager dan in het verse effluent. Het afgefilterde neerslag was kennelijk niet N-bevattend.

In de Cuijk- en Dinther-effluënten blijft de totale hoeveelheid opgelost N ongewijzigd. We lijkt er een geringe verschuiving op te treden van anorganisch naar organisch N. Behandeld Tilburg-effluent heeft wel licht verhoogde N-fracties. Voor de anorganische en organische fractie afzonderlijk is die toename niet significant, totaal opgelost N is in het geautoclaveerde effluent wel net significant hoger dan in het verse effluent.

FIGUUR 23

DE EFFECTEN VAN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEN OP TOTAAL-, ANORGANISCH EN ORGANISCH OPGELOST N IN DE TESTMONSTERS



## CONCLUSIE EFFECTEN INVRIEZEN EN AUTOCLAVEREN

### 1. Stabiliteit niet-biobeschikbaar P en N.

De hoeveelheid biobeschikbaar P of N werd niet groter door invriezen of autoclaveren. Er zijn dus geen aanwijzingen gevonden dat niet-biobeschikbaar P of N door deze behandelingen voor de testalg beschikbaar kwamen.

In het geval van P was er echter storing door vrijkomen van P uit de opslagvaten en verlies van P door neerslag. Dit kan detectie van vrijkomend niet-biobeschikbaar P hebben verhinderd.

### 2. Biobeschikbaarheid meten in ontdooid effluent.

Invriezen en ontdooien had geen significant effect op de biobeschikbaarheid van N. In één van de effluenten werd echter wel een significant lagere hoeveelheid biobeschikbaar P gevonden. Dat kan veroorzaakt zijn doordat in dit effluent ontstaan neerslag is afgefilterd, maar een invries-effect kan ook niet worden uitgesloten.

Vanwege de sterk overeenkomende biobeschikbaarheid in verse en ontdooide monsters lijkt meting in ingevroren monsters verantwoord. Van belang daarbij is wel dat P-vrije invriespoten worden gebruikt, en dat de ontdooide monsters niet worden gefiltreerd.