

Karakterisering van met PAK verontreinigde baggerspecie voor biologische reiniging



**Karakterisering van met PAK
verontreinigde baggerspecie voor
biologische reiniging**

98 32

Arthur van Schendelstraat 816
Postbus 8090, 3503 RB Utrecht
Telefoon 030 232 11 99
Fax 030 232 17 66

Publicaties en het publicatie-
overzicht van de STOWA kunt u
uitsluitend bestellen bij:

Hageman Verpakkers BV
Postbus 281

2700 AC Zoetermeer
tel. 079 - 361 11 88
fax 079 - 361 39 27

o.v.v. ISBN- of bestelnummer en
een duidelijk afleveradres.

ISBN 90.5773.041.3

INHOUDSOPGAVE

Samenvatting

Ten geleide

Inhoudsopgave

1 Uitgebreide samenvatting

1.1	Achtergrond	1
1.2	Doel en aanpak	1
1.3	Resultaten	2
1.4	Conclusies	6

2 Stand van zaken

2.1	Inleiding	7
2.2	Biodegradatie van PAK	7
2.3	Biologische reinigingstechnieken voor baggerspecie in de praktijk	9
2.4	Biologische karakteriseringsmethoden	11
2.5	Karakteriseringsmethoden voor de biologische reiniging van land- en waterbodems in Nederland	12
2.6	Analytisch-chemische karakteriseringsmethoden	12
2.7	Fysisch-chemische verschijningsvormen van PAK	19
2.8	Vóórkomensvormen van PAK en biobeschikbaarheid	20
2.9	Fysisch-chemische karakteriseringsmethoden	21
2.9.1	Principes voor deeltjesfractionering	22
2.9.2	Scheiding van baggerdeeltjes op laboratoriumschaal	22
2.9.3	Inventarisatie van fractiescheiding op praktijkschaal	23
2.9.4	Relatie scheidingsmethoden en PAK vóórkomensvormen	25

3 Materialen, methoden en eigenschappen van de onderzochte baggerspecies

3.1	Baggerspecies, eigenschappen en bemonstering	27
3.1.1	Gedetailleerde karakterisering van fracties van de species Overschie, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop	28
3.1.2	Karakteristieken van fracties van de species uit Overschie, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop: diverse analyses	29
3.1.3	PAK extractie conform NEN 5771	32
3.1.4	Geschiktheid van NEN 5771	33
3.1.5	Ringonderzoek	33
3.2	Analytisch-chemische karakterisering	35
3.2.1	Berekening van het extractierendement met niet- of slecht wateroplosbare oplosmiddelen	35
3.2.2	Extractierendement van PAK in wateroplosbare oplosmiddelen	36
3.2.3	Berekening van het extractierendement van PAK na extractie in wateroplosbare oplosmiddelen	37
3.2.4	Extractie van minerale olie	38
3.3	Biologische karakterisering	38
3.3.1	Biologische PAK afbraak	38
3.3.2	Respiratiemetingen	39

3.4	Statistische methoden	40
3.5	Fysisch-chemische karakterisering	40
3.5.1	Fractionering door zeven	40
3.5.2	Extractie van PAK uit baggerspecie met een 1/1 aceton/water mengsel	41
3.5.3	Flotatie van fracties van baggerspecie	42
3.5.4	Opstromen van fracties van baggerspecie	43
3.5.5	Microscopie	44
3.5.6	Dichtheidsscheiding met zware vloeistof	44
4	Ontwikkeling van methoden	
4.1	Analytisch-chemische karakterisering	46
4.1.1	Extractie van PAK met niet of slecht in water oplosbare oplosmiddelen	46
4.1.2	Extractie van PAK met in water oplosbare oplosmiddelen	46
4.1.3	Selectie van de meest geschikte extractietechniek	49
4.1.4	PAK extractie met azijnzuur	50
4.2	Biologische karakterisering	53
4.2.1	Biologische PAK afbraak	53
4.2.2	O ₂ -consumptie	55
4.2.3	Systeemafhankelijkheid van de toets met het aangepaste DECHEMA protocol	55
4.2.4	Statistische opzet van de experimenten	55
4.2.5	Respiratiemetingen	56
4.3	Fysisch-chemische karakterisering	57
4.3.1	Solventextractie van PAK uit baggerspecie	59
4.3.2	Hydrolyse	59
4.3.3	Fotoakoestische spectroscopie (FAS)	61
4.4	Voorlopige conclusies ten aanzien van bruikbare karakteriseringmethoden	63
5	Validatie van de ontwikkelde methoden	
5.1	Werkwijze	65
5.2	Karakterisering van negentien verse species	65
5.3	Statistisch verband tussen de meetgegevens voor PAK verwijdering met 70% azijnzuur en de biologische PAK afbraak	65
5.4	Analytisch-chemische en biologische verwijdering van PAK naar molecuulgewicht	70
5.5	Statistisch verband tussen de meetgegevens voor PAK verwijdering met 50/50 (v/v) aceton/water en de biologische afbraak	71
5.6	Karakterisering van negen reeds gereinigde species	72
5.7	Vergelijking van karakteriseringsmethoden met (praktijk)resultaten voor vijf species	73
6	Weergave voor praktijkgebruik: klasseindeling voor de 19 onderzochte verse baggerspecies	
6.1	Weergave van de reinigbaarheid	75
6.2	Voorspelling van de reinigbaarheid van baggerspecie op korte en lange termijn	78
7	Fractiescheiding en biologische reinigbaarheid van fracties van baggerspecie	
7.1	Achtergrond en opzet	79
7.2	Biologische reinigbaarheid van deeltjesgroottefracties	80
7.3	Fysisch-chemische scheiding op laboratoriumschaal voor de karakterisering	81
7.3.1	Karakterisering van fracties van baggerspecie uit Overschie Rotterdam	81

7.3.2	Karakterisering van fracties van baggerspecie uit Petroleumhaven	84
7.3.3	Karakterisering van fracties van baggerspecie uit Voorwetering Nieuwkoop	87
7.4	Toepassing van fysisch-chemische scheiding bij karakterisering	88
7.5	Biologische PAK afbraak in een zandfractie	89
7.6	Conclusies over fractiescheiding, PAK en biobeschikbaarheid	90
8	Conclusies	91
9	De karakteriseringsprotocollen	
9.1	Plaats van protocollen in de besluitvorming	93
9.2	Plaats van de protocollen bij de beoordeling van baggerspecie	95
10	Referenties	97
11	Afkortingen	103
Bijlagen		
I :	Protocol: Partiële extractie van PAK uit baggerspecie met azijnzuur als indicatie voor de biologische afbraak.	105
II :	Protocol: Biologische bepaling van het reinigbare deel van PAK in baggerspecie.	116
III:	Resultaten ringonderzoeken TNO MEP, SC-DLO en LUW MT.	123
IV:	Correlatie tussen PAK extractie in azijnzuur en biologische afbreekbaarheid in de onderzochte species.	126

SAMENVATTING

In dit rapport wordt onderzoek beschreven gericht op het ontwikkelen en valideren van een eenvoudige betrouwbare en snelle methode om de biologische reinigbaarheid van met PAK vervuilde baggerspecie of fracties van baggerspecie te kunnen voorspellen.

Analytisch-chemische extractie van baggerspecie met 70% azijnzuur geeft een benadering van de hoeveelheid PAK die bij reiniging binnen één tot twee jaar biologisch verwijderd kan worden. Deze relatief simpele extractiemethode geeft daarmee snel aan of een biologische toetsing op reinigbaarheid zinvol is. De biologische beschikbaarheid van de PAK kan vervolgens getest worden met de in dit onderzoek ontwikkelde biologische methode.

Voor de extractie met azijnzuur is een protocol opgesteld. Op grond van een bestaand protocol gericht op het bepalen van de biologische reinigbaarheid van landbodems van de DECHEMA is een protocol ontwikkeld voor de bepaling van de biologische reinigbaarheid van baggerspecie. Dit protocol geeft een indicatie van de reinigbaarheid van baggerspecie voor diverse technieken, bijvoorbeeld geroerde systemen (bioreactor) of intensieve landfarming: dat wil zeggen, welk deel van de PAK bij reiniging binnen één à twee jaar verwijderd kan worden.

Door een statistische benadering van de proefopzet en verwerking van de meetgegevens is de betrouwbaarheid vastgesteld. De kwantitatieve relatie tussen de te verwachten biologische verwijdering van PAK en de met behulp van 70% azijnzuur verwijderde PAK (10VROM) is als volgt: biologische verwijdering = $4 + 1,09 \times \text{azijnzuurgeëxtraheerde PAK}$ +/- 18 %. Voor de praktijk kunnen de resultaten zo worden weergegeven dat de biologische reinigbaarheid snel kan worden beoordeeld.

Met behulp van een fysisch-chemische karakterisering op basis van vloeistofzeving, opstromen en floteren kan inzicht worden verkregen in de verdeling van PAK over de verschillende deeltjesfracties. Op basis van deze karakterisering kan worden aangegeven welke fracties baggerspecie vooraf moeten worden afgescheiden om tot een succesvolle biologische reiniging te komen. Het fysisch-chemisch karakteriseringsonderzoek naar de wijze waarop PAK in baggerspecie of fracties van baggerspecie aanwezig zijn, heeft in het kader van dit onderzoek niet tot resultaten geleid die op korte termijn in de praktijk kunnen worden toegepast.

Het rapport geeft tenslotte in de vorm van een beslisboom een handleiding voor het omgaan met de ontwikkelde protocollen, waarmee op systematische wijze informatie verkregen kan worden over de reinigbaarheid van partijen baggerspecie.

De kosten voor de bepaling van de biologische reinigbaarheid via de analytisch-chemische extractie van PAK met azijnzuur zijn per monster (in viervoud) ongeveer 1.500 gulden en voor de biologische toets ongeveer 3.000 gulden.

TEN GELEIDE

De biologische reinigbaarheid van de verschillende typen baggerspecie voor PAK verschilt sterk. Dit geldt ook vaak voor species die zowel dezelfde typen verontreinigingen bevatten als eenzelfde concentratie aan verontreinigingen vertonen. Vaak is ook de reinigingsgraad die binnen een bepaalde tijdsspanne wordt bereikt niet voldoende voor een acceptabele verschuiving in verontreinigingsklasse.

Er werd dan ook een dringende behoefte gevoeld aan een methodiek waarmee snel, eenvoudig en tegen acceptabele kosten vastgesteld zou kunnen worden of en in hoeverre baggerspecies biologisch reinigbaar zijn, eventueel in combinatie met een fysische scheiding van fracties binnen die species.

De onderhavige rapportage gaat in op de ontwikkeling van karakteriseringsprotocollen, bestaande uit analytisch-chemische, fysisch-chemische en biologische methoden, waarmee aangegeven kan worden in welke mate een baggerspecie biologisch reinigbaar is.

Dit onderzoek is uitgevoerd voor de STOWA in de periode juli 1996 tot juli 1998. Na een aanloopperiode waarin de opdrachtgever in samenwerking met de uitvoerders en begeleidingscommissie een aantal baggerspecies heeft geselecteerd is het experimentele onderzoek gestart in januari 1997. De aansturing van het onderzoek vanuit de STOWA is gedaan door Dr. S.P. Klapwijk† en Ir. P.C. Stamperius. De uitvoerders waren: TNO Milieu, Energie en Procesinnovatie (TNO), DLO-Staring Centrum (SC-DLO) en de Landbouwniversiteit Wageningen (LUW) Milieutechnologie met Dr. H.J. Doddema als coördinator. De volgende onderzoekers hebben deelgenomen aan de uitvoering van het onderzoek: Ir. M.P. Cuypers (LUW), Dr. G.B. Derksen (TNO-TPD), Dr. ir. J.T.C. Grotenhuis (LUW), Ing. M.P. Harkes (TNO-MEP), Drs. J. Harmsen (SC-DLO), Prof. dr. ir. W.H. Rulkens (LUW) en Ing. A.J. Zweers (SC-DLO). De begeleidingscommissie bestond uit: Mw. Ir. K.P. Raap (Hoogheemraadschap van Rijnland, voorzitters), Drs. P.H. Nelissen (Hoogheemraadschap van Delfland), Mw. dr. M.A. Ferdinandy (RIZA), Ing. R. Kampf (Hoogheemraadschap van de Uitwaterende Sluizen in Hollands Noorderkwartier), Dr. J.G. van Andel (RIVM), Drs. A. Krijgsman (Gemeentelijk Havenbedrijf Rotterdam), Ir. H. Rogaar (PGBO), Drs. P.N. Duijn (De Vries en van de Wiel). Een deel van het onderzoek is medegefinancierd uit de stimuleringsregeling TNO terwijl ook bijdragen zijn ontvangen van derden. De Vries en van de Wiel, het Hoogheemraadschap Rijnland en het Gemeentelijk Havenbedrijf Rotterdam hebben aan het onderzoek bijgedragen door enige grotere partijen baggerspecie te baggeren; de species van Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop zijn bewaard en gemengd gehouden op kosten van De Vries en van de Wiel.

Utrecht, oktober 1998

De directeur van de STOWA

drs. J.F. Noorthoorn van der Kruijff

1 UITGEBREIDE SAMENVATTING

1.1 Achtergrond

Het openhouden van vaargeulen, watergangen alsmede het voorkomen van ongewenste verspreiding van milieuverontreiniging zal de komende decennia leiden tot grote hoeveelheden vervuilde baggerspecie. Onderzoek naar de verwerking van deze verontreinigde baggerspecie heeft geleid tot een aantal operationele saneringstechnieken. De belangrijkste daarbij zijn scheidingstechnieken zoals hydrocyclonage, flotatie en zeven. Deze technieken, vaak toegepast in combinatie met elkaar, zijn in het algemeen geschikt om de baggerspecie te scheiden in een schone of relatief schone fractie, meestal de zandachtige fractie, en een sterk vervuilde fractie, waarin de verontreinigingen zijn geconcentreerd.

Reinigingsmethoden waarbij de verontreiniging wordt afgebroken via biologische of thermische weg zijn nog maar in beperkte mate operationeel. Vanwege het hoge vochtgehalte van baggerspecie en het feit dat biologische reiniging ecologisch veel minder ingrijpend is dan de thermische behandeling, wordt aan deze eerste methode de voorkeur gegeven. Te meer ook omdat een biologische reiniging, indien extensief uitgevoerd, mogelijk een goedkoper alternatief kan zijn dan de thermische reiniging. Een combinatie van biologische reiniging met scheidingstechnologie kan mogelijk nog kosteneffectiever zijn doordat de schone fracties direct herbruikbaar zijn en alleen de verontreinigde fracties biologisch gereinigd behoeven te worden. Voor de biologische reiniging van baggerspecie komen drie technieken in aanmerking: landfarming, behandeling in bioreactoren of toepassen van beluchtingsbassins. Van deze methoden is landfarming het verst ontwikkeld en ook het meest toegepast.

De praktijkervaring met biologische methoden is beperkt. Bij de biologische reiniging worden twee knelpunten geconstateerd. De biologische reinigbaarheid van de verschillende typen baggerspecies varieert sterk. Dat geldt ook vaak voor baggerspecies die zowel dezelfde typen verontreinigingen bevatten als eenzelfde concentratie aan verontreinigingen vertonen. Daarnaast is ook de reinigingsgraad, die binnen een bepaalde tijdsperiode uiteindelijk wordt bereikt, vaak onvoldoende. In het kader van deze twee knelpunten wordt dan ook een behoefte geconstateerd aan een karakteriseringsmethodiek waarmee snel, op eenvoudige wijze en goedkoop kan worden vastgesteld of een bepaalde baggerspecie biologisch reinigbaar is, eventueel in combinatie met een fysische scheiding.

1.2 Doel en aanpak

Dit onderzoek had tot doel het ontwikkelen van een karakteriseringsprotocol waarmee kan worden aangegeven of een baggerspecie biologisch reinigbaar is, al dan niet in combinatie met een fysische scheidingsmethode. Dit karakteriseringsprotocol bestaat daarbij uit een combinatie van analytisch-chemische, fysisch-chemische en biologische methoden.

De analytisch-chemische methode is er op gericht om snel en eenvoudig inzicht te krijgen in aard en concentratie van de verontreinigingen. De fysisch-chemische methode, in combinatie met een analytische ondersteuning, beoogt meer inzicht te geven in het fysische voorkomen van de verontreinigingen in de baggerspecie als ook in verschillende fracties van de baggerspecie.

Daarbij kan gedacht worden aan geadsorbeerde of geabsorbeerde verontreiniging, aan het voorkomen van verontreiniging in de poriën van deeltjes en het voorkomen van verontreiniging als pure deeltjes. Hierbij wordt ervan uitgegaan dat de wijze van voorkomen sterk bepalend is voor de biologische rei-

nigbaarheid. Er wordt verder van uitgegaan dat de analytisch-chemische en fysisch-chemische karakteriseringsmethoden relatief eenvoudig kunnen zijn en snel tot resultaat kunnen leiden en de biologische karakteriseringsmethode als laatste check dient. De biologische karakteriseringsstap, die als uiteindelijke screeningsstap dient voor de biologische reinigbaarheid en toegepast wordt op niet gescheiden baggerspecie of op fracties baggerspecies, is in het algemeen complex van aard en duurt veel langer.

1.3 Resultaten

Het onderzoek naar de ontwikkeling van het bovengenoemde karakteriseringsprotocol is uitgewerkt met baggerspecie vervuild met PAK, een van de meest voorkomende typen verontreinigingen. Met de ontwikkelde methode zijn achtentwintig baggerspecies gekarakteriseerd en is nagegaan welke relatie er bestaat tussen de drie afzonderlijke karakteriseringsmethoden. De relatie tussen de analytisch-chemische en de biologische karakteriseringsmethoden is gevalideerd met behulp van negentien species van bovengenoemde achtentwintig species. Gebleken is dat er een relatie bestaat tussen de extraheerbaarheid van PAK met behulp van 70% azijnzuur en de biologische reinigbaarheid van baggerspecie.

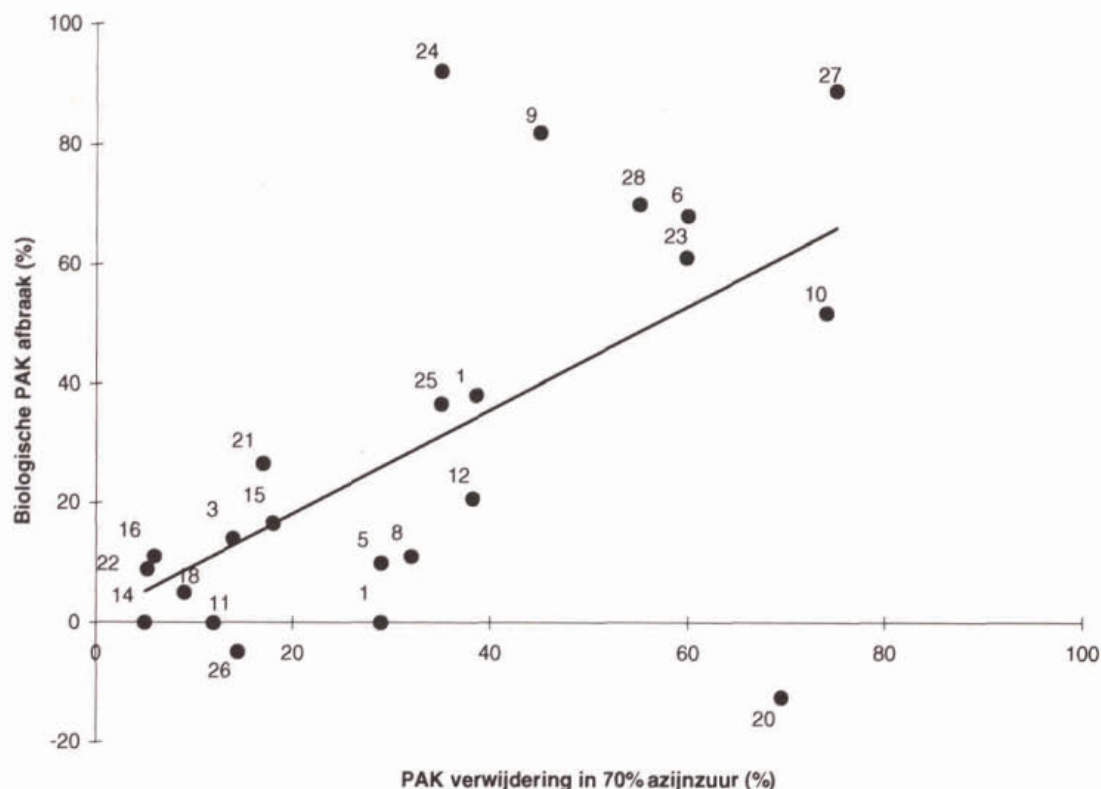
Analytisch-chemische karakterisering

Voor de bepaling van het PAK gehalte in natte baggerspecie wordt gebruik gemaakt van een organisch oplosmiddel. Een dergelijk oplosmiddel moet in voldoende mate kunnen penetreren in de baggerspeciedeeltjes en het water tussen de speciedeeltjes kunnen verdringen. De mate waarin PAK kunnen worden geëxtraheerd uit natte baggerspecie hangt vooral af van het type oplosmiddel en de duur van het extractieproces. Wat het type oplosmiddel betreft kan nog onderscheid worden gemaakt tussen oplosmiddelen die wateroplosbaar zijn en oplosmiddelen die dat niet zijn. Verwacht mag worden dat het percentage PAK, dat uit baggerspecie wordt geëxtraheerd, afneemt naarmate de verhouding van de hoeveelheid oplosmiddel en water afneemt (althans bij watermengbare extractiemiddelen) en de extractietijd afneemt. Hierbij wordt er van uit gegaan dat het oplosmiddel geen interactie met de matrix vertoont. Op basis van deze verwachting en aanname zou het in principe mogelijk moeten zijn om de biologisch beschikbare PAK te bepalen door gebruik te maken van een extractiemethode die alleen de fysisch goed bereikbare PAK extraheert.

Hoewel ook andere analytisch-chemische bepalingsmethoden mogelijk zijn (Soxhletextractie, superkritische koolzuur, magnetron) is in dit onderzoek voor de bepaling van het PAK gehalte gekozen voor de schudextractie met aceton en petroleumether (NEN 5771). Deze methode geeft voor de onderzochte species een goede extractie (>85%) en is voldoende vergelijkbaar gebleken bij uitvoering in de drie aan dit onderzoek deelnemende laboratoria.

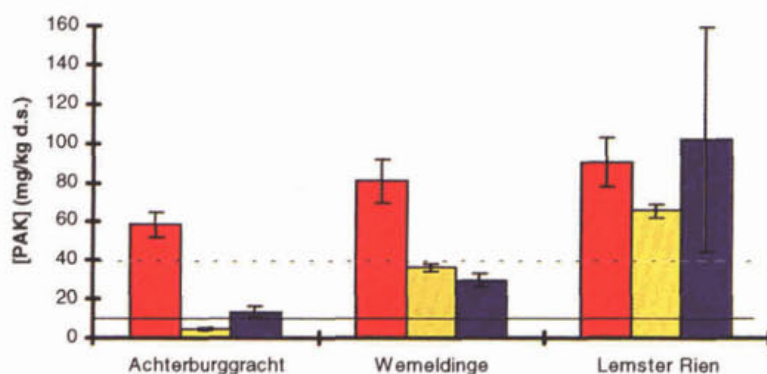
Uit het onderzoek naar de extractie van PAK uit baggerspecie met de oplosmiddelen petroleumether, toluen, hexanol of aceton/water 50/50% blijkt dat de verkregen extractierendementen niet of slechts in beperkte mate gecorreleerd kunnen worden aan een biologisch beschikbare fractie die met behulp van een biologische behandeling kan worden bepaald. Dat lijkt voor een groot aantal - maar niet alle - species wel het geval te zijn voor de extractie van PAK met behulp van azijnzuur/water als oplosmiddel. Het extractierendement dat verkregen wordt met 70% azijnzuur, komt in grote lijnen overeen met het verwijderingsrendement dat wordt verkregen via een biologische karakteriseringsmethode of biologische behandeling (zie figuur 1).

De extractiemethode met 70% azijnzuur is eenvoudig en kan daarom snel schattingen geven van het mogelijke verwijderingsrendement bij biologische behandeling.



Figuur 1 Relatie tussen de extractie van PAK (10VROM) in 70% azijnzuur en de biologische afbreekbaarheid in 27 species. Voor de nummering van de species, zie tabel 20..

Voor het gebruik in de praktijk is bovenstaande weergave niet direct te lezen in termen van klasseverbetering van specie omdat de weergave in percentages verwijdering wordt gegeven en niet in concentraties. Voor de praktijk kan de weergave in staafdiagrammen, waarin klassegrenzen zijn aangegeven zoals in figuur 2, een bruikbaar instrument zijn om snel de klasseverbetering na biologische reiniging te schatten.



Figuur 2 Reiniging van baggerspecie, na analytisch-chemische extractie of biologische behandeling. PAK-concentratie in klasse IV-baggerspecie voor en na biologische afbraak en extractie met 70% azijnzuur. ■ verse specie; ■ specie na biologische behandeling; ■ specie na extractie met 70% azijnzuur. --- grenswaarde tussen klasse IV en III; — grenswaarde tussen klasse III en II.

Fysisch-chemische karakterisering

De fysisch-chemische karakterisering is er op gericht inzicht te verkrijgen in de verdeling van PAK over de verschillende baggerspeciefracties en in de wijze van fysisch vóórkomen van PAK. Met het oog op de keuze van een reinigingstechniek moet rekening worden gehouden met de mogelijkheid dat de concentratie PAK en de biologische beschikbaarheid van PAK niet gelijk zijn voor alle fracties. Kennis over de verdeling van PAK over de verschillende deeltjesfracties biedt dan de mogelijkheid om schone en vuile fracties van elkaar te scheiden en/of om biologisch goed reinigbare en minder goed reinigbare fracties van elkaar te onderscheiden. De fysische verschijningsvorm van de PAK geeft mogelijk inzicht in de biologische beschikbaarheid van de PAK. Als belangrijkste verschijningsvormen van PAK kunnen worden genoemd: opgelost in het poriënwater van bodemdeeltjes, geadsorbeerd aan het oppervlak van baggerdeeltjes, geabsorbeerd in deeltjes organische stof, aanwezig als vloeibare of vaste fase in de poriën van baggerdeeltjes, en PAK deeltjes.

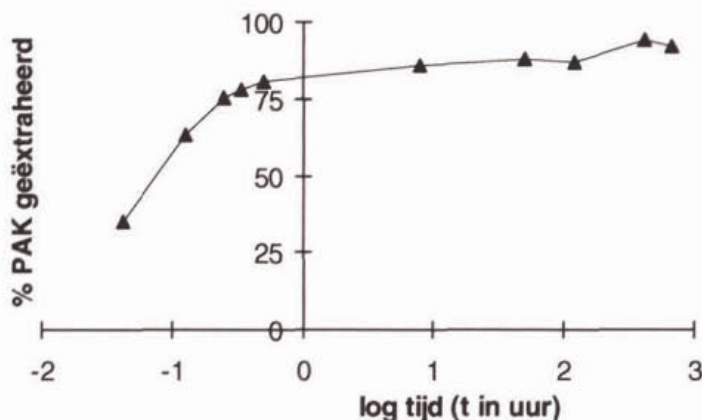
Fysische fractiescheiding op laboratoriumschaal kan goed worden uitgevoerd met behulp van trilzeven. Daarbij wordt de baggerspecie gescheiden in de volgende fracties: <32 μm , 32-45 μm , 45-63 μm , 63-90 μm , 90-125 μm , 125-200 μm , 200-500 μm , 500-1.000 μm , 1.000-2.000 μm en >2.000 μm . Deze fractiescheiding vormt de basis voor het bepalen van de zeeffkromme. Bepaling van het PAK gehalte van de verschillende fracties geeft inzicht in de verdeling van de concentratie PAK over de verschillende deeltjesgroottes. Uit de bepaling van het organischestofgehalte van de verschillende fracties kan een mogelijk verband worden vastgesteld tussen dit gehalte en de PAK concentraties. Bij metingen aan een aantal baggerspecies blijkt dat er in het algemeen geen evenredig verband bestaat tussen de gemiddelde PAK concentratie van een zeeffractie en het organischestofgehalte van de zeeffractie.

In de praktijk is scheiding op deeltjesgrootte met behulp van een vloeistofzeef niet goed mogelijk voor deeltjes kleiner dan circa 500 μm . Voor deze deeltjes is een scheiding wel mogelijk met opstroomkolommen, spiraalscheiders en hydrocyclonen. Als de deeltjes eenzelfde vorm en eenzelfde dichtheid hebben is de scheiding met deze technieken vergelijkbaar met die van vloeistofzeven. Naarmate vorm en dichtheid van de deeltjes onderling sterker verschillen, zal ook de scheiding met genoemde technieken verder afwijken van de scheiding met vloeistofzeven. Naast bovengenoemde scheidingstechnieken kan ook flotatie als scheidingstechniek worden toegepast.

Uit onderzoek van de verkregen zeeffracties blijkt dat het goed mogelijk is met een laboratorium-opstroomkolom baggerspeciedeeltjes met een hoog gehalte aan organische stof en PAK en baggerspeciedeeltjes met een laag gehalte aan dergelijke componenten te scheiden. Met de laboratorium-flotatieopstelling wordt een vergelijkbaar resultaat behaald, zij het dat de scheiding nu primair is gebaseerd op het verschil in oppervlakte-eigenschappen van de deeltjes.

Voor het vaststellen van de mate waarin en de snelheid waarmee de PAK beschikbaar komen voor micro-organismen, is een solventextractietest ontwikkeld om inzicht in de kinetiek van de PAK extractie te krijgen. Hierbij wordt een zeeffractie gedispergeerd in een solvent bestaande uit een mengsel van water en aceton. De concentratietoename van PAK in dit solvent wordt continu gemeten als functie van de tijd. De samenstelling van dit solvent is zo gekozen dat de PAK niet al te snel, maar ook niet al te langzaam oplossen (50% aceton, 50% water).

In figuur 3 wordt een typisch voorbeeld van een oploscurve gegeven. Karakteristiek is de steile toename van de PAK concentratie in het begin en de langzame toename die daarna plaatsvindt. Van verschillende fracties baggerspecie is zowel de solventextractiecurve gemeten als de hoeveelheid PAK die langs biologische weg wordt omgezet. Bij statistische verwerking van de resultaten van negentien baggerspecies blijkt acetoneextractie van PAK een geringer onderscheidend vermogen te hebben voor de biologische beschikbaarheid van PAK dan de analytisch-chemische extractie met 70% azijnzuur.



Figuur 3 Verloop van de PAK extractie uit Petroleumhavenspecie gedurende vier weken extractie met een 50/50 (volume/volume, v/v) aceton/water-mengsel bij een vast/vloeistof-verhoudingen van 1/75 g/ml.

Naast bovengenoemde technieken is in het fysisch-chemische onderzoek aandacht besteed aan de technieken: microscopisch onderzoek, dichtheidsscheiding met behulp van zware vloeistoffen, hydrolyse en fotoakoestische spectroscopie. Met deze technieken zijn echter nog geen resultaten behaald die in het kader van dit onderzoek verdere toepassing of ontwikkeling van deze technieken voor karakterisering rechtvaardigden.

Biologische karakterisering

De biologische afbraak van PAK kent een aantal fasen: een initiële fase, een snelle afbraakfase en een langzame afbraakfase. In de initiële fase past de populatie micro-organismen zich aan aan het milieu waarin de omzetting plaatsvindt. In de snelle afbraak worden de verontreinigingen afgebroken die fysisch goed beschikbaar zijn, dat wil zeggen waarvoor géén of slechts een geringe transportlimitatie geldt. In de langzame afbraakfase worden de PAK afgebroken die een sterke transportlimitatie ondergaan. Dit kan worden veroorzaakt door een lange transportweg vanuit het baggerdeeltje naar de micro-organismen, een lage diffusiecoëfficiënt of een sterke binding met de baggerspeciematrix. Het is met name deze langzaam afnemende restconcentratie die toepassing van microbiologische reiniging in de praktijk vaak verhindert.

Op laboratoriumschaal kan de biologische afbraak van PAK worden vastgesteld. In het algemeen is dit een bewerkelijke procedure met een relatief lange doorlooptijd. Bovendien is het aantal in te stellen variabelen relatief groot.

In het onderzoek is getracht een geschikte biologische afbraaktoets te ontwikkelen en de resultaten daarvan te vergelijken met de resultaten van de analytisch-chemische en de fysisch-chemische karakteriseringstoetsen. Bij de ontwikkeling van deze biologische karakteriseringstoets is uitgegaan van een door de DECHEMA ontwikkelde biologische afbreekbaarheidstoets. Met deze DECHEMA-toets is in eerste instantie een aantal experimenten uitgevoerd. De resultaten die met deze test werden verkregen, waren echter onbevredigend en discutabel en niet altijd reproduceerbaar. Er werd geconstateerd dat de pH niet constant was gedurende het experiment. Oorzaak was waarschijnlijk de aanwezigheid van sulfiden in de baggerspecie die bij de aërobe afbraak omgezet worden in zwavelzuur. Ook worden hoge concentraties aan nitraat en nitriet gevormd uit NH_4Cl dat aan het incubatiemedium is toegevoegd. De DECHEMA-toets is vervolgens aangepast. Deze aanpassing betrof een verhoging van de buffercapaciteit van het medium met een factor 60 en een verlaging van de concentratie van NH_4Cl met een factor drie. Met deze aangepaste toets zijn negentien baggerspecies en baggerspeciefracties

getest op biologische afbreekbaarheid. De resultaten van deze biologische afbreekbaarheidstoets zijn verder statistisch bewerkt. De fractie PAK die biologisch goed afbreekbaar is, is vergeleken met de fractie PAK die vrijkomt bij extractie van de specie met azijnzuur en de fractie PAK zoals die vrijkomt in de eerste fase van het solventextractieproces. Er blijkt een goede overeenstemming te worden gevonden tussen de extraheerbaarheid van PAK in 70% azijnzuur en de biologische afbreekbaarheid. De foutenmarge kan worden verkleind door een passend aantal monsters te kiezen aan de hand van statistische methoden.

1.4 Conclusies

Ten behoeve van de biologische reiniging of de gecombineerde fysisch-biologische reiniging van met PAK vervuilde baggerspecie is een karakteriseringsmethodiek ontwikkeld waarmee vastgesteld kan worden of een dergelijke reiniging mogelijk is, en zo ja, onder welke voorwaarden. Deze karakteriseringsmethodiek bestaat uit de volgende deelttoetsen:

- een analytische bepaling van het totaal PAK gehalte via NEN 5771,
- een bepaling van de goed beschikbare PAK door middel van azijnzuurextractie met 70% azijnzuur,
- eventueel een fractionering van de baggerspecie door natte zeping,
- eventueel een fractionering van baggerspeciefracties met behulp van opstroomkolommen en flotatieopstelling,
- een biologische karakterisering van de volledige baggerspecie en/of fracties van de baggerspecie.

Van deze karakteriseringsmethoden heeft de laatste een relatief lange doorlooptijd en is arbeidsintensief. De biologische karakteriseringsmethode wordt dan ook gezien als een eindtoets om definitieve conclusies te kunnen trekken voor de uitvoering van biologische reiniging van de baggerspecie op praktijkschaal.

De karakteriseringsmethoden kunnen verwerkt worden in protocollen. Deze standaardiseren de uitvoering van de testen en de interpretatie van de testen. In het onderzoek zijn deze protocollen nader uitgewerkt.

Ten opzichte van reeds eerder uitgevoerd onderzoek heeft het onderhavige onderzoek geleid tot een verbeterde karakterisering van PAK in baggerspecie. Deze verbetering heeft betrekking op de volgende aspecten:

- Een verdergaande integratie tussen analytisch-chemische, fysisch-chemische en biologische karakterisering.
- De inbreng van nieuwe elementen in de toetsmethodiek. Deze betreffen de extractie met azijnzuur en een verbeterde biologische karakteriseringstoets. Ook is een statistische interpretatie van meetresultaten ontwikkeld.
- Tenslotte heeft het onderzoek geleid tot een gedetailleerde karakterisering van een groot aantal baggerspecies.

2 STAND VAN ZAKEN

In dit hoofdstuk wordt de stand van zaken van diverse aspecten van baggerspeciereiniging besproken, voorzover relevant voor de onderhavige studie. Hierbij wordt ingegaan op de scheidingstechnieken, de biologische reinigingstechnieken en reinigingsresultaten, de vóórkomensvormen van PAK, de beschikbaarheid van PAK in diverse oplosmiddelen en de mogelijkheden voor extractie van de verschillende vormen van PAK. Deze achtergrondkennis is van belang voor de ontwikkeling van toetsen om de biologische reinigbaarheid te kunnen voorspellen. De karakteriseringstoetsen die in de literatuur beschreven zijn of die in de praktijk gebruikt worden, zijn beschreven voor de disciplines analytische chemie, biologie en fysische chemie.

2.1 Inleiding

In Nederland is de afgelopen tien jaar door diverse onderzoeksinstituten, bedrijven en universiteiten onderzoek uitgevoerd naar de reiniging van vervuilde baggerspecie in het kader van het Programma Ontwikkeling Saneringsprocessen Waterbodems (POSW). Een belangrijk onderdeel in dit programma is de reiniging van vervuilde baggerspecie door middel van biologische processen. Onderzoek is verricht aan onder andere: reinigen op de kant, landfarming, toepassing van een bioreactor of een beluchtingsbassin en *in situ* reiniging.

Andere voor biologische baggerspeciereiniging relevante onderzoekprogramma's waarbinnen de afgelopen jaren onderzoek is uitgevoerd, zijn: het Nederlands Onderzoekprogramma Biotechnologische *In situ* Sanering (NOBIS), IOP Milieutechnologie (onderdeel Milieubiotechnologie), SPBO (Speerpuntprogramma Bodemonderzoek) en Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek (PGBO). Ook STOWA, Novem, waterschappen en baggerbedrijven laten onderzoek uitvoeren naar de biologische reiniging van baggerspecie.

In het onderzoek aan baggerspecie is veel aandacht besteed aan technologieontwikkeling, de ontwikkeling van toetsen voor de bepaling van de biologische reinigbaarheid en validatie van de ontwikkelde technieken. In diverse onderzoeksprojecten is echter gebleken dat het met de gebruikte toetsmethoden niet goed mogelijk is om de biologische reinigbaarheid van baggerspecie te voorspellen bij de full-scale reiniging. Een gestandaardiseerde en/of gevalideerde toets om de biologische reinigbaarheid van baggerspecie te bepalen is in Nederland en in het buitenland nog niet gepubliceerd.

In de volgende paragrafen wordt een overzicht gegeven van de beschikbare kennis op het gebied van biologische reiniging en karakterisering met het oog op biologische reiniging. Er wordt daarbij aandacht besteed aan biologische, analytisch-chemische en fysisch-chemische karakteriseringsmethoden.

2.2 Biodegradatie van PAK

Biodegradatie wordt gedefinieerd als de biologische afbraak van verontreinigingen door (micro)-organismen, zoals bacteriën en schimmels. Bij deze afbraak kunnen de verontreinigingen, zoals PAK, tot tussenproducten afgebroken worden of volledig tot CO₂ en H₂O worden omgezet (mineralisatie).

Afbraak van PAK vindt plaats door moleculaire zuurstof enzymatisch te laten binden aan één van de aromatische ringen van het PAK molecuul. Dit proces, initiële oxidatie genoemd, wordt afhankelijk

van het micro-organisme gekatalyseerd door één van de volgende enzymen: dioxygenases, lignineperoxidases en cytochroom P-450 mono-oxygenases [Stefess en Van Andel, 1996; Cerniglia, 1992].

De initiële oxidatie leidt tot een geoxideerde PAK, die vergeleken met de niet-geoxideerde PAK beter oplosbaar in water is, sneller desorbeert en daardoor beter beschikbaar is voor verdere afbraak.

Factoren die een cruciale rol spelen bij de biodegradatie zijn de beschikbaarheid van:

1. de juiste micro-organismen,
2. zuurstof,
3. nutriënten,
4. de verontreiniging.

Micro-organismen

De afbraak van PAK kan door diverse micro-organismen uitgevoerd worden, waaronder bacteriën, schimmels en algen [Bumpus, 1989; Elias en Neufeld, 1989; Cerniglia, 1984; MacGillifray, 1993; Warshawsky, 1990], maar ook door hogere organismen, bijvoorbeeld (in de lever van) zoogdieren.

Over het algemeen zijn in baggerspecie van nature micro-organismen aanwezig die in staat zijn de PAK af te breken. Wanneer de PAK afbraak in baggerspecie niet op gang komt, is dit meestal te wijten aan een geringe biobeschikbaarheid van de PAK, de aanwezigheid van toxische verbindingen of afwezigheid van zuurstof. Experimenten van Stefess en Van Andel (1996) toonden aan dat het toevoegen van geadapteerd slib leidde tot een versnelde start van de PAK afbraak. Het toevoegen van een ent is over het algemeen echter niet nodig bij langer durende incubaties.

Beschikbaarheid van zuurstof

De beschikbaarheid van zuurstof in baggerspecie is vaak een beperkende factor voor micro-organismen om PAK af te breken [Graves, 1991].

Wanneer de structuur van baggerspecie wordt verbeterd, bijvoorbeeld door middel van ontwatering waardoor de specie beter doorlatend wordt voor zuurstof, zal de biologische afbraak van PAK in de meeste gevallen bevorderd worden [Harmsen et al., 1997a].

Anoxische afbraak van PAK is tot op heden slechts beperkt en onder laboratoriumomstandigheden aangetoond [Bauer en Capone, 1985; Mihelcic en Luthy, 1988^a, 1988^b]. Door Mihelcic en Luthy (1988^a; 1988^b) wordt onder denitrificerende omstandigheden wel afbraak van PAK gevonden, maar uitsluitend voor laagmoleculaire PAK. Coates et al. (1997) hebben onder sulfaatreducerende omstandigheden PAK afbraak gevonden van toegevoegd ¹⁴C-gelabelde PAK. Biologische afbraak onder aneroobe omstandigheden is gevonden voor laagmoleculaire PAK (2&3-ring PAK). Afbraak van hoogmoleculaire PAK werd niet aangetoond. De afbraaksnelheden bij lage redoxpotentiaal liggen erg laag. Voor saneringsdoeleinden is het daarom van belang zorg te dragen voor een goede zuurstofvoorziening door het verkrijgen van losse gronddeeltjes (na het verbreken van aggregaten), drainage en/of door beluchting.

Beschikbaarheid van nutriënten

Naast een koolstofbron hebben micro-organismen ook K, N, en P nodig en enige sporenelementen. Bij een tekort aan deze elementen treedt limitering van de groei op. Het toevoegen van nutriënten heeft soms een positief effect op de biologische afbraak [Stefess en Van Andel, 1996]. Voor toetsen op reinigbaarheid is het raadzaam altijd nutriënten en sporenelementen toe te voegen, hiermee worden limitaties voorkomen. Voor de biologische afbraak bij praktijkreiniging is het raadzaam de beschikbaar-

re K, N en P te meten voor aanvang van de reiniging. Indien nutriënten in voldoende hoeveelheid beschikbaar zijn, hoeven zij niet te worden toegevoegd.

Beschikbaarheid van de verontreiniging

Bij de PAK afbraak in baggerspecie speelt de fysische beschikbaarheid van deze verbindingen een belangrijke rol. Door de sterke ad/absorptie van deze verontreiniging aan of in bodemdeeltjes, in combinatie met de lage oplosbaarheid, is de biologische beschikbaarheid vaak laag. De slechte beschikbaarheid van PAK is vaak de oorzaak van een hoge restconcentraties en lage afbraaksnelheid van PAK in de baggerspecie.

Tijdens laboratoriumproeven is vast komen te staan dat de toevoeging van PAK en de afbraak van recent toegevoegd PAK niet automatisch inhoudt dat de PAK afbraak in baggerspecie uit de praktijk ook op zal treden. Veroudering van sediment leidt tot absorptie of irreversibele binding van PAK [Schwall, 1979] en daarmee tot langzame of geen afbraak. Het toevoegen van surfactanten kan de beschikbaarheid van PAK voor micro-organismen verhogen [Volkering et al., 1995].

Overige factoren

Andere factoren die een rol spelen bij de biodegradatie van PAK zijn pH en temperatuur en in de praktijk ook UV-licht. Een optimale pH ligt voor de meeste micro-organismen tussen de 6 en 7,5 [Stefess en Van Andel, 1996]. De meeste micro-organismen die in de Nederlandse bodem en oppervlaktewateren voorkomen hebben een temperatuuroptimum tussen 20 en 30 °C [Annokkée, 1990], hetgeen ook zal gelden voor PAK afbrekende micro-organismen.

2.3 Biologische reinigingstechnieken voor baggerspecie in de praktijk

Biologische technieken die ontwikkeld zijn voor gebruik in de praktijk, zijn over het algemeen *ex situ* technieken. Naar *in situ* technieken, die direct in het sediment worden toegepast, is onderzoek uitgevoerd maar de resultaten zijn niet bemoedigend. Enkele technieken worden hieronder besproken.

Bioreactoren

De toepassing van bioreactoren wordt beschreven in rapporten van o.a. BIRD [Kleijntjens et al., 1995], RIVM [Stefess en Van Andel, 1996], TNO [Feenstra, 1991^{a,b}, 1992] en VITO [Carpels, 1994].

Over het algemeen zijn goede reinigingsresultaten te behalen wat betreft de afbraak van PAK. Het "Slurry Decontamination Process" van BIRD waarbij de DITS-reactor [Dual Injected Turbulent Separation, Kleijntjens et al., 1995] wordt gebruikt is het verst ontwikkeld. De kosten van deze energie-intensieve reiniging zijn echter prohibitief hoog en de reactor wordt daarom op dit moment in de praktijk niet verder onderzocht.

Het VITO (Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek) heeft vastestof- bioreactoren ontwikkeld voor procestechnologisch onderzoek bij microbiële bodemsanering. Het betrof hier de reiniging van met olie vervuilde grond. Tevens is onderzoek uitgevoerd met baggerspecie; hierbij is gevonden dat de bioreactorexperimenten nog moeten worden aangepast voor onderzoek aan baggerspecie.

In het kader van POSW-II heeft Heidemij Realisatie volgens het FORTEC principe 3000 ton baggerspecie afkomstig uit de Petroleumhaven behandeld [Stolker, 1997]. Een onderdeel van dit proces is de behandeling van de fijne fractie uit baggerspecie na zandscheiding in zes in serie geschakelde bioslurry-reactoren. Deze reactoren zijn duidelijk minder energie-intensief dan de DITS-reactor. De doel-

stellingen van het project zijn gehaald. Echter, de kwaliteit van het gereinigde product bleek niet voldoende voor hergebruik vanwege de te hoge restconcentratie aan PAK.

In een rapport van het RIVM [Stefess en Van Andel, 1996] wordt een aantal aanbevelingen gedaan voor de toepassing van bioreactoren. De belangrijkste conclusie is: "in verband met de hoge kosten van energie-intensieve bioreactoren is een korte behandelingsduur vereist, waardoor de vereiste eindconcentraties voor multifunctioneel gebruik of hergebruik vaak niet bereikt worden. In kunstmatig met PAK vervuild slib is de afbraaksnelheid evenredig aan de beginconcentratie PAK. Als de PAK afbraak altijd direct concentratiegerelateerd is, zullen hoge omzettingssnelheden vooral voorkomen in zwaar verontreinigd slib. Snelle behandeling van zwaar verontreinigd slib tot een licht(er) verontreinigd product, heeft als voordeel dat meer en goedkopere mogelijkheden voor opslag van slib in aanmerking komen".

Feenstra (1991) beschrijft biodegradatie-experimenten van met PAK vervuilde baggerspecie die zijn uitgevoerd in 6 liter reactorvaatjes met 2,5 kg slurrie. De vaatjes zijn op een rollenbank bij 20 °C geïncubeerd. Nutriënten zijn toegevoegd (N, P en K) en dagelijks is de gasfase ververst met zuurstof. Tevens is een ent toegevoegd aan de vaatjes afkomstig uit eerdere experimenten of afkomstig uit een waterzuivering. Uit de reactorvaatjes zijn op bepaalde tijdstippen monsters genomen. De biodegradatie van PAK vertoont in de meeste baggerspecies een grillig verloop. Soms loopt de PAK concentratie op. Dit kan geweten worden aan de methode van monsternamen: met name het nemen van meerdere deelmonsters uit één reactiemengsel gedurende de looptijd van een experiment blijkt ongewenst.

Beluchtingsbassin

Het toepassen van een beluchtingsbassin wordt gerekend tot de energie-extensieve uitvoeringswijzen. De beluchting wordt verzorgd door beluchtingselementen die tevens voor de menging van de slurrie zorgen. Het concept van het beluchtingsbassin voorziet in een variabele beluchtingsintensiteit en de mogelijkheid van een behandeling in meerdere trappen. Bijvoorbeeld, na een korte intensieve behandeling van de baggerspecie kan een tweede langer durende extensieve nabehandeling in bijvoorbeeld een landfarm volgen [Feenstra, 1993].

Met beluchtingsbassins is een aantal experimenten uitgevoerd [Annokkée, 1990; Feenstra, 1991; Feenstra, 1993; Joziassé, 1995]. Uit een evaluatie van alle door deze auteurs uitgevoerde biodegradatieonderzoeken blijkt dat de afbraaksnelheid van olie en PAK in baggerspecies in belangrijke mate afhangt van de beginconcentratie van de verontreinigingen. Naarmate de beginconcentratie hoger is, is de afbraaksnelheid hoger. Fractionering van de baggerspecie in een grove en een fijne fractie heeft als voordeel dat de hogere afbraaksnelheid in de fijne fractie gebruikt kan worden voor een snellere reiniging dan mogelijk hoger is met niet-gefractioneerde baggerspecie.

Landfarming

Een betrekkelijk eenvoudige en goedkope wijze om baggerspecie te reinigen is landfarming. Deze techniek is geschikt voor zandrijke species of voor de grove fractie van baggerspecie (>63 µm), terwijl extensieve landfarming ook geschikt is voor andere typen species zoals species met zwaardere gronden. In deel 2 van de POSW rapportage fase II [De Groot en Van Lierop, 1995] is laboratorium- en praktijkonderzoek beschreven. Tevens zijn onderzoeken naar extensieve technieken als landfarming en het op de kant zetten van baggerspecie uitgevoerd door DLO Staring Centrum [Harmsen et al., 1997 a, 1997 b, en Van den Toorn et al., 1996]. Bij landfarming is het bereiken van een aëroob milieu een noodzakelijke stap, voordat het biologisch beschikbare deel van de PAK kan worden afgebroken. Belangrijk resultaat is dat bij een zeer extensieve behandeling op lange termijn PAK verder wordt afgebroken, zowel in een landfarm als bij het op de kant zetten van bagger langs een watergang. Afbraak is bij deze onderzoeken vastgesteld via een intensief monitoringprogramma. In een recente

NOBIS studie is voor baggerspecie de bruikbaarheid van extensieve technieken nader uitgewerkt [Harmsen et al., 1997c].

In situ sanering

Deel 1 van het verslag van het POSW fase II [Haskoning, 1994] beschrijft *in situ* biologische reiniging van waterbodems. Het doel van het onderzoek was het testen van de werking van producten die volgens de leveranciers de *in situ* biologische reiniging van waterbodems stimuleren. De producten (veelal een mengsel van chemicaliën en micro-organismen) worden uitgestrooid over het wateroppervlak of gemengd met de waterbodem. De onderzochte producten hebben geen effect op de biologische *in situ* reiniging. Gezien de resultaten en conclusies van het onderzoek van Haskoning lijkt *in situ* biologische reiniging van waterbodems een techniek die met de huidige preparaten niet effectief is.

2.4 Biologische karakteriseringsmethoden

Over gevalideerde karakteriseringsmethoden om de biodegradatie van PAK te bepalen in sediment of baggerspecie is geen informatie in de literatuur. Een overzicht van in Nederland in ontwikkeling of in gebruik zijnde toetsen wordt in deze paragraaf kort besproken, voor de volledige rapportage zie Dodema et al. (1998). De karakteriseringsmethoden die in de literatuur beschreven zijn hebben betrekking op de behandeling van terrestrische bodem. Een DECHEMA protocol (1992) beschrijft een werkwijze om te bepalen of een grond biologisch te reinigen is. Arcadis (voorheen Heidemij Realisatie) [Ten Brummeler, 1995] heeft het zogenaamde "drie-fasen-model" voor biotechnologische grondreiniging ontwikkeld. Met dit model kan goed worden voorspeld, wat het verloop van reiniging kan zijn van olie in grond. Met de biodegradatietestmethode "BOV/BAT" (biologisch-olieverbruik/biologisch-activiteitstest) kan binnen enige weken een voorspelling gedaan worden van de eindconcentratie van olie in de grond die behaald kan worden. Tevens kan de microbiologische respiratieactiviteit in de grond gemeten worden.

Een aantal toetsen voor slecht in water oplosbare verbindingen wordt beschreven met het theoretische BZV (biologisch zuurstofverbruik), het CZV (chemisch zuurstof verbruik) en het koolstofgehalte van de te testen verbinding als parameters [Morsier et al., 1987]. De testen zijn gebaseerd op de STURM test en de MITI test [OECD, 1992]. Deze testen zijn gericht op de afbraak van enkelvoudige verbindingen zonder bodemmatrix. Daardoor is het gemakkelijker om conclusies te trekken over de mogelijke afbraak van een verbinding. Voor een vaste matrix als baggerspecie met een complex mengsel van verontreinigingen zijn deze toetsen niet direct geschikt. Dit wordt onder andere veroorzaakt doordat het leeuwendeel van het zuurstofverbruik veroorzaakt wordt door chemische reacties en/of biologische oxidatie van andere componenten dan PAK.

Bij de ontwikkeling van een biologische karakteriseringsmethode voor reiniging van bagger vanuit het bovengenoemde DECHEMA protocol (1992) moet rekening worden gehouden met een aantal aspecten, zoals beschreven door Stefess en Van Andel (1996):

- optimale pH tussen de 6 en 7 [zie ook Van der Ent, 1995],
- slurriedichtheid lager dan 8%, bij hogere slurriedichtheden kan zuurstoflimitatie een grotere rol spelen,
- temperatuur van ongeveer 30 °C,
- goede menging,
- het uitvoeren van opofferingsexperimenten in plaats van het nemen van deelmonsters verlaagt de foutenmarge in de PAK concentratie,

- het toevoegen van geadapteerd slib versnelt enigszins het op gang brengen van de PAK afbraak.

2.5 Karakteriseringsmethoden voor de biologische reiniging van land- en waterbodems in Nederland.

In opdracht van het Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek is een inventarisatie gemaakt van in Nederland gebruikte en in ontwikkeling zijnde protocollen voor de beoordeling van de biologische reinigbaarheid van land- en waterbodems. Bij de inventarisatie is een aantal Nederlandse (water)-bodembreinigers en onderzoekinstellingen betrokken. De gegevens zijn verzameld via interviews met betrokkenen en een workshop. De inventarisatie is uitgevoerd in 1996 en begin 1997.

Het blijkt dat door grondreinigers voor landbodembreiniging protocollen worden gebruikt om te beoordelen of bepaalde partijen grond in aanmerking komen voor reiniging met behulp van de door de reiniger toegepaste technieken. Volgens de gebruikers voldoen deze protocollen in de praktijk goed, maar gezien het bedrijfsbelang worden deze niet openbaar gemaakt. De protocollen zijn gebaseerd op een beoordeling van de totaal reinigbare fractie in een eenvoudige test, gevolgd door ingewikkelder toetsen om te beoordelen welke techniek tot reiniging zal leiden en hoe snel. De protocollen zijn formeel niet gevalideerd. Arcadis (voorheen Heidemij Realisatie) is voornemens een toets te publiceren.

Uit de toetsen voor landbodembreiniging worden toetsen ontwikkeld voor waterbodembreiniging. Deze zijn nog in ontwikkeling en nog nauwelijks toegepast of gevalideerd. Ook deze toetsen worden voornog niet openbaar gemaakt. De belangrijkste gegevens zijn samengevat in tabel 1.

In de praktijk worden deze karakteriseringsmethoden door de bedrijven gebruikt om de biologische reinigbaarheid te bepalen van partijen grond die worden aangeboden op de markt en zijn direct gelieerd aan de door het desbetreffende bedrijf gebruikte technologie, met andere woorden de toetsen zijn waarschijnlijk niet generiek.

De respondenten en de deelnemers aan de workshop verwachten een draagvlak voor de verdere ontwikkeling en toepassing van karakteriseringsmethoden voor het bepalen van de reinigbaarheid als deze zullen leiden tot een kostenreductie voor de gebruikers, als zij een doelvoorschrift vormen in plaats van een middelvoorschrift en er sprake is van algemene acceptatie door overheden, laboratoria, ingenieursbureaus, onderzoekinstellingen en eindgebruikers. R&D met betrekking tot toetsontwikkeling wordt onder deze randvoorwaarden van belang geacht.

De wensen ten aanzien van onderzoek en kennisontwikkeling op het gebied van waterbodemsanering inclusief de ontwikkeling en uitwisseling van karakteriseringsmethoden zijn samengevat in tabel 2.

2.6 Analytisch-chemische karakteriseringsmethoden

In een willekeurig monster bodem of baggerspecie kan de PAK concentratie op drie manieren beschouwd worden: een totale hoeveelheid, een analytisch beschikbare hoeveelheid en een biologisch beschikbare hoeveelheid PAK. De totale hoeveelheid in een monster is onbekend. In tegenstelling tot bij voorbeeld zware metalen, waarbij het monster gedestruëerd wordt en alle aanwezige contaminanten vrijkomen, zijn er geen technieken voorhanden om de totale concentratie organische microverontreinigingen te bepalen. Organische microverontreinigingen kunnen verwijderd worden door een hittebehandeling, maar worden daarbij (deels) gedestruëerd. Het gebruik van organische oplosmiddelen is voor de bepaling van organische microverontreinigingen het enige alternatief.

Tabel 1: Overzicht van in ontwikkeling zijnde toetsen en protocollen voor baggerspeciereiniging

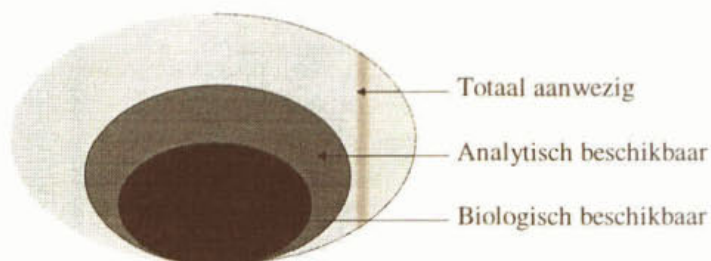
Bedrijf	Toetsbeschrijving	Kosten (f) ¹⁾	Status
Bioclear	Maximale afbraaksnelheid wordt bepaald aan de hand van koolstof-massabalans voor extensieve reiniging; naast snelheid ook schatting van tijdsduur en kosten van sanering voor waterbodems in kolomproeven.	1.750 tot 10.000	In gebruik, geen validatie, vertrouwelijk.
DHV	Geen standaardtests voor waterbodems, flexibele SOPs (Standard Operating Procedures, Standaardprocedures) voor landbodems.		
Arcadis Heidemij Realisatie	Tests voor scheidingstechnologie, tests voor ontwateren en tests voor biologische sanering (BOV/BAT); rekenkundig model aan de hand van karakterisering t.b.v. technologiekeuze.	6.000	In gebruik, geen validatie, vertrouwelijk.
IWACO	Zie Bioclear; voor metalen een uitloogtest.	400	Zie Bioclear.
Mosmans Mineraal-techniek	Toets gericht op keuze scheidingstechnologie en gewenste fractionering.	5.000	In gebruik, geen validatie, vertrouwelijk.
Mourik Groot Ammers	Geen formele protocollen; alleen karakterisering van o.s., d.s. en deeltjesgrootteverdeling.		Vertrouwelijk.
MTI	Eenvoudige test: afbraaksnelheden olie en PAK door respiratiemetingen. Gemiddelde test: toxiciteit. Uitgebreide test: beschikbaarheid, tijdsduur en eindconcentratie sanering (landbodems).	1.000 tot 3.000	In gebruik, geen SOP, vertrouwelijk.
RIVM	Geen standaardprocedures voor waterbodems.		In ontwikkeling (landbodem).
RIZA	Chemische samenstelling aan derden uitbesteed; uitloging zie IWACO; PAK-afbraak in waterbodems in ontwikkeling.		In ontwikkeling, gepubliceerd.
STOWA	In ontwikkeling door TNO, SC-DLO en LU Wageningen, dit rapport.	1.000 tot 4.000	Dit rapport
Tauw Milieu	Gericht op beschikbaarheid van de verontreiniging door gefractioneerde extractie, het gedrag van de restconcentratie en afbraaksnelheden.	1.500 tot 4.000	In gebruik, vertrouwelijk.
Witteveen+Bos	Geen tests voor sanering waterbodems.		

1) exclusief BTW, exclusief analytisch-chemische kosten

Toegankelijkheid van de bodem voor het oplosmiddel voor PAK is voor de bepaling de beperkende factor. PAK kan op voor het oplosmiddel niet toegankelijke plaatsen geadsorbeerd of in een slecht oplosbare vorm (bijvoorbeeld teerdeeltjes) aanwezig zijn. De analytisch beschikbare hoeveelheid is daarom lager dan de totaal aanwezige hoeveelheid omdat een deel van de PAK als gevolg van veroudering irreversibel gebonden is aan niet voor het oplosmiddel beschikbare plaatsen in de matrix.

Tabel 2: Wensen ten aanzien van onderzoek en kennis op het gebied van waterbodemsanering

Thema	Onderwerpen
Toetsing reinigbaarheid.	- Ontwikkeling en validatie van toetsen voor het voorspellen van de reinigbaarheid van baggerspecie met veel verschillende species. - Toetsen die reinigbaarheid met extensieve technieken voorspellen. - Toetsen die keuze tussen storten, saneren en hergebruik mogelijk maken. - Toetsen die gedrag bij ontwateren en rijpen voorspellen.
Toxicologische toetsen.	- Robuuste (ecotoxicologische) toetsen voor bepaling van restrisico en actueel risico van verontreinigde waterbodems.
Praktijk en laboratorium.	- Bepalen van de afbraaksnelheden van verontreinigingen in het veld; - Monitoring met bio-assays van saneringsprocessen in het veld. - Verhogen van de biobeschikbaarheid in het veld. - Terugkoppeling van veld- en praktijkgegevens van saneringen naar resultaten uit de voorspellende toetsen. - Analyse van bestaande data-sets uit de praktijk.
Technologie.	- Ontwikkeling van saneringstechnologie voor reiniging in kleinschalige depots met extensieve technieken. - Ontwikkeling van gecombineerde fysisch-chemische en biotechnologische technieken voor het scheiden, ontwateren, rijpen en reinigen van baggerspecie.
Kennisoverdracht en coördinatie.	Platform institutionaliseren voor: - stimuleren en afstemmen van onderzoek; - financieren van onderzoek, ook kortdurend onderzoek; - koppeling onderzoek aan infrastructurele werken; - regelmatig organiseren van op baggerspecie gerichte workshops.



Figuur 4 Schematisch overzicht van de beschikbare hoeveelheid PAK

De analytische beschikbaarheid wordt bepaald door de verdelingscoëfficiënt over de vaste fase en het oplosmiddel en veel minder door de transportsnelheden.

De biologische beschikbaarheid wordt echter mede bepaald door de transportsnelheden die erg laag liggen wegens de slechte oplosbaarheid van PAK in water, de lage transportsnelheden, de sterke ad- of absorptie aan of in de matrix en de irreversibele binding. De biologisch beschikbare fractie is daarom kleiner dan de analytisch beschikbare fractie (figuur 4).

Bij de biologische beschikbaarheid van PAK speelt de factor tijd een belangrijke rol. Naarmate er langer wordt gereinigd of geëxtraheerd, zal er meer PAK worden onttrokken aan de specie. Uiteindelijk zal het totaal, dat analytisch beschikbaar is, worden benaderd. Uit onderzoek in POSW verband [Harmsen et al., 1997a, b] blijkt dat bij biologische behandeling in de praktijk bij langdurige behandelingsduur (jaren tot decennia), meer dan 95% van de PAK kan worden verwijderd.

Bij de analyse van PAK in bodem en sediment wordt er normaal gesproken naar gestreefd het totaal uit figuur 4 te benaderen. Hiervoor zijn verschillende methoden beschikbaar.

Analytisch beschikbare fractie

Extractierendementbepalingen zijn in alle in de literatuur beschreven gevallen uitgevoerd door vers gecontamineerde monsters te extraheren. Uit de gegevens hiervan is niet af te leiden wat de beste methode is voor praktijkmonsters. In het algemeen geldt dat technieken waarbij veel energie wordt gebruikt een hoger rendement hebben dan technieken waarbij minder energie wordt gebruikt. Het nadeel is echter wel dat deze technieken weinig specifiek zijn voor PAK en dat er naast de te meten PAK meer storende componenten (organische stof) worden geëxtraheerd.

Een veel toegepaste techniek voor de bepaling van de analytisch beschikbare PAK is de Soxhlet-extractie, waarbij een monster gedurende enkele uren wordt doorgeleid met een organisch oplosmiddel. Verder wordt veel gebruik gemaakt van schudextracties, waarbij een monster met verschillende oplosmiddelen gedurende korte tijd wordt geschud. De laatste jaren wordt steeds meer gebruik gemaakt van technieken als superkritische vloeistofextractie en magnetronextractie. Met magnetronextractie kunnen hogere PAK concentraties worden gemeten [Noordkamp et al., 1997]. Deze nieuwe technieken zijn nog in ontwikkeling en vergen hoge investeringskosten.

De ISO standaard voor de bepaling van PAK in grond (ISO 13877) maakt bij meting onderscheid in het voorkomen van PAK. In sterk verontreinigde gronden wordt ervan uitgegaan dat het oplossen van PAK het belangrijkste analytische proces is, omdat PAK vaak aanwezig is in as en teerdeeltjes. In de analytische procedure wordt dan gebruik gemaakt van een apolair oplosmiddel waarin PAK goed oplosbaar zijn, en een langdurige Soxhlet-extractie. Benzene zou het meest geschikte oplosmiddel zijn, maar het minder toxische toluene is voorgeschreven. Voor minder sterk verontreinigde gronden is het belangrijk dat bodemaggregaten uiteenvallen en het oplosmiddel overal snel in de aggregaten kan komen. Dit vereist een meer polair oplosmiddel, in combinatie met schudden, eventueel gevolgd door het gebruik van een apolair oplosmiddel. De ISO standaard schrijft daarom ook een tweede methode voor, waarbij eerst wordt geschud met aceton.

Baggerspecie kunnen zeer veel water bevatten. Dit geeft beperkingen aan de extractieprocedure. Direct toepassen van een Soxhlet-extractie is bijvoorbeeld niet mogelijk.

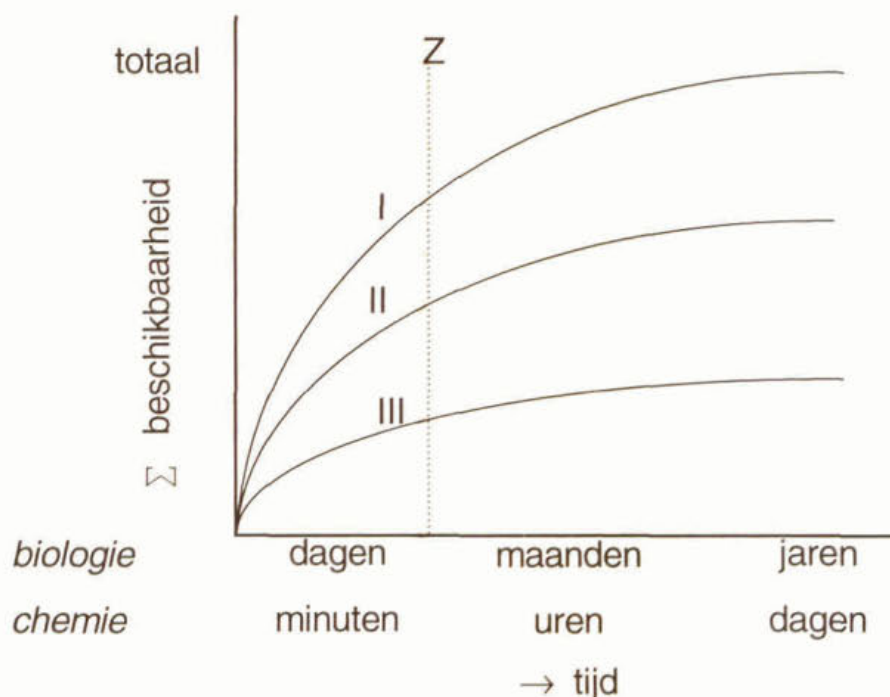
De voor Nederland genormeerde methode voor de isolatie van PAK uit bodem en baggerspecie is beschreven in NEN 5771. Er wordt gebruik gemaakt van twee oplosmiddelen die zorgen voor een goede toegankelijkheid. Aceton zorgt voor de verwijdering van het water en het uiteenvallen van de bodemmatrix. Belangrijk is dat voldoende aceton wordt toegevoegd om een acetonpercentage van meer dan 90% te hebben [Wieggers en Perebolte, 1992]. Petroleumether wordt vervolgens toegevoegd als goed oplosmiddel voor PAK. Als bij deze methodiek een al geëxtraheerd monster nogmaals wordt behandeld blijkt dat meer dan 80% is geëxtraheerd in de eerste behandeling. Dit wordt gezien als een goede benadering van de totale hoeveelheid PAK.

Benadering van de biologisch beschikbare fractie

Zoals al is aangegeven speelt de factor tijd een belangrijke rol bij het bepalen van de grootte van de biologisch beschikbare fractie. In figuur 5 is dit schematisch weergegeven voor een aantal species. In de species waarin PAK goed beschikbaar zijn (I), wordt bij een optimale biologische techniek in dagen tot maanden alle PAK verwijderd. In het andere uiterste, de specie waarin PAK slecht beschikbaar zijn (III), zullen in dezelfde periode nauwelijks PAK zijn verdwenen. Op de lange termijn komt een deel wel beschikbaar uitgezonderd de niet toegankelijke of irreversibel gebonden PAK.

Met de verticale stippellijn Z in figuur 5 is aangegeven hoelang een karakteriseringsmethodiek heeft geduurd. Een dergelijke karakteriseringsmethodiek zal maximaal enkele weken tot maanden mogen duren. Het snijpunt van de verticale lijn Z met de extractie- of afbraakkrommen in figuur 5 geeft kwalitatief weer hoeveel PAK in de tijd beschikbaar zijn voor drie typen baggerspecie met minder of sterker gebonden PAK.

Met solventextractie wordt bereikt dat de makkelijk beschikbare PAK in een korte periode beschikbaar komen en een maat voor de biologische beschikbaarheid betekenen. Bij een totalextractie zal het totaal binnen minuten (schudextractie) tot uren (Soxhlet-extractie) worden benaderd. Bij een schudextractie, ontwikkeld om het totaal PAK gehalte te bepalen, zal de hoeveelheid die biologisch beschikbaar is al binnen seconden zijn benaderd. Dat is een praktisch probleem voor de monsternamen.



Figuur 5 Beschikbare fractie PAK in een monster uitgezet tegen de tijd van een biologische toets en een chemische toets voor een specie met goed beschikbare PAK (I), matig beschikbare PAK (II) en slecht beschikbare PAK (III). Y-as: Σ = cumulatieve PAK extractie; x-as tijd. Aangenomen is dat er geen interactie optreedt tussen de micro-organismen en/of het oplosmiddel en de bodemmatrix.

Een chemische karakteriseringsmethode om de biologisch beschikbare PAK aan te tonen zal bij voorkeur snel resultaat moeten leveren. In dit onderzoek is ervan uitgegaan dat het resultaat van een chemische toets binnen een dag beschikbaar moet kunnen zijn. Praktisch gezien betekent dit een extractieprocedure, waarbij in een tiental minuten de biologisch beschikbare fractie wordt verwijderd.

Voor de bepaling van het biologisch beschikbare deel van de PAK door middel van analytisch-chemische technieken zal gebruik gemaakt moeten worden van een mildere extractietechniek dan voor de bepaling van de totaal beschikbare fractie. Het extractierendement moet minder hoog zijn dan voor de bepaling van het totale gehalte PAK: alleen het biologisch beschikbare PAK moet worden geëxtraheerd. Dit kan worden bereikt door gebruik te maken van een oplosmiddel met een geschikte polariteit, die bereikt kan worden door verschillende verhoudingen oplosmiddel/water.

Een andere mogelijkheid is gebruik te maken van een oplosmiddel dat minder goed of niet mengbaar is met water waardoor het oplosmiddel moeilijker in de matrix kan dringen. Met een dergelijk oplosmiddel vindt voornamelijk extractie plaats vanaf het oppervlak van de bodemmatrix en nauwelijks vanuit het binnenste van de matrix. De waterfase in de matrix vertraagt massatransport naar de bulkfase. Indien gebruik gemaakt wordt van meer polaire oplosmiddelen zal er tevens extractie plaatsvinden in het binnenste van de matrix, omdat het oplosmiddel in de met water gevulde poriën kan dringen.

Naast de snelle chemische extractieprocedure waarnaar binnen dit onderzoek is gezocht, zijn er ook procedures die meer tijd in beslag nemen. Hierbij is de extractiesnelheid minder hoog dan bij organische oplosmiddelen, waardoor de benodigde tijd toeneemt. Een voorbeeld hiervan is de Tenaxmethode, zoals ontwikkeld bij het RIZA [Cornelissen et al., 1997a en b]. Bij deze procedure worden PAK die oplossen in het water geadsorbeerd aan Tenax (polymeer), waarna de Tenax periodiek wordt bemonsterd en geanalyseerd op PAK. De procedure neemt 1 tot 2 weken in beslag. De informatie verkregen met deze methode is vanzelfsprekend uitgebreider dan bij een "eenvoudige" snelle extractieprocedure. De Tenaxmethode levert gegevens over de extractiekinetiek.

Spreiding in analytische resultaten

Voor de spreiding in het PAK gehalte is de schaal waarop wordt bemonsterd van groot belang. Voor het begrip 'schaal' kan het volgende worden onderscheiden:

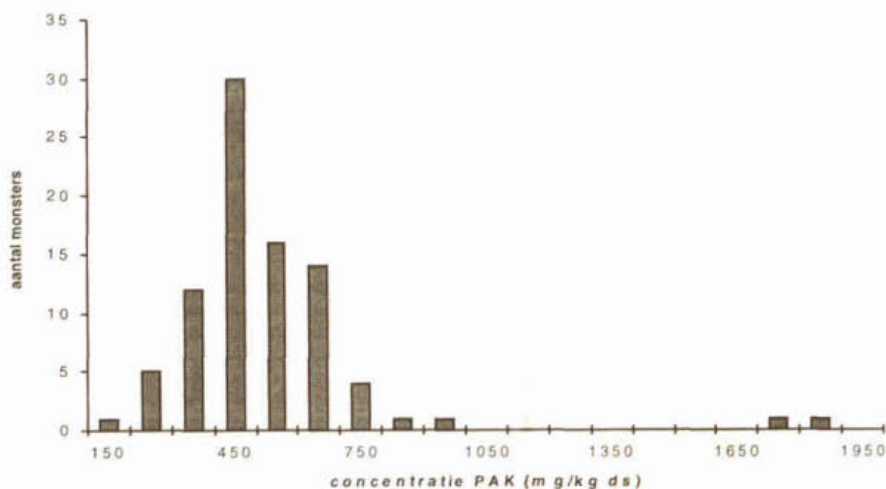
- oorspronkelijke waterloop,
- partij bagger van enkele tientallen kubieke meter,
- monster van 1 kg.

In de praktijk blijkt dat de kwaliteit van een partij baggerspecie na baggeren veelal afwijkt van de gemonitorde kwaliteit van de te baggeren waterbodem. Ook binnen dit onderzoek zijn er verschillen met andere onderzoeken. De partij bagger uit de Petroleumhaven die voor dit project gebruikt is (gebaggerd in 1995) bevatte bijvoorbeeld tweemaal de hoeveelheid PAK die aanwezig was bij een andere bemonsterde partij uit 1995 ten behoeve van het POSW onderzoek [Ferdinandy, 1997].

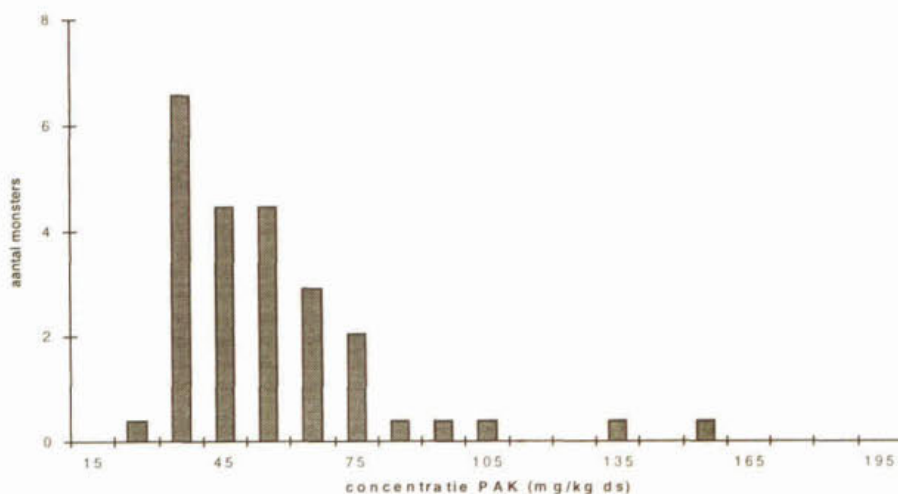
Voor de spreiding binnen een partij zijn gegevens van de POSW experimenten op Kreekraksluizen illustratief [Harmsen et al., 1997a]. In de periode voordat afbraak mogelijk was, is hier zeer intensief bemonsterd. De grote aantallen monsters maken het mogelijk frequentiediagrammen te maken. Per concentratieklasse is hierin het aantal geanalyseerde monsters weergegeven voor specie afkomstig uit de Petroleumhaven en uit de haven van Wemeldinge (figuur 6 en 7) [Harmsen et al., 1997a]. De spreiding is groot en uit de figuren blijkt dat het nemen van veel monsters noodzakelijk is voor het betrouwbaar vaststellen van de concentratie PAK.

Binnen een monster van ongeveer 1 kg is ook geen sprake van homogeniteit. Hierover zijn geen cijfers bekend van verse specie, maar wel van in landfarm behandelde specie. In een monster afkomstig van een landfarm op Kreekraksluizen (Zierikzeespecie) was de variatiecoëfficiënt 23% [Beurskens, 1994]. Dit is van dezelfde orde van grootte als haalbaar is voor de bemonstering in het kader van het Bouwstoffenbesluit [Lamé et al., 1996]. In de validatie van NEN 5730 (monstervoorbehandeling voor

de bepaling van organische parameters in grond) werden binnen monsters variatiecoëfficiënten vastgesteld vanaf ongeveer 25% met uitschieters tot zelfs 80% [Lamé et al., 1997]. Voor dit onderzoek is het daarom aannemelijk dat bij een vastgesteld gehalte een variatiecoëfficiënt van ongeveer 25% hoort. Door Van den Toorn et al. (1997) is vastgesteld dat bij een dergelijke standaardafwijking ongeveer vijf monsters nodig zijn om een verschil van ongeveer 20% te kunnen vaststellen.



Figuur 6 Frequentieverdeling van PAK concentratie (mg/kg d.s.) in Petroleumhavenspecie (9PAK van Staring¹, n = 86) [Harmsen et al., 1997a].



Figuur 7 Frequentieverdeling van PAK concentratie (mg/kg d.s.) in Wemeldingenspecie (10VROM, n = 56) [Harmsen et al., 1997a].

Vergroten van de betrouwbaarheid

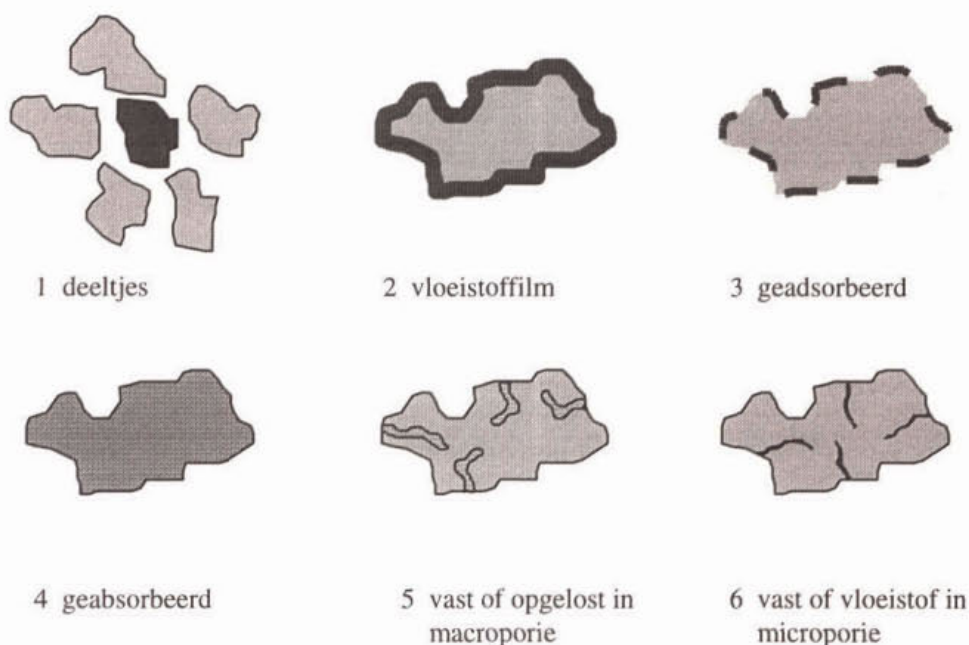
De betrouwbaarheid van de PAK bepaling kan worden vergroot door meer monsters te analyseren. Deze benadering is nodig als binnen één in behandeling genomen partij de (in)homogeniteit moet worden vastgesteld. De variatie binnen één partij kan worden uitgeschakeld als alle metingen binnen

¹ Bij de frequentieverdeling van de PAK concentratie in Petroleumhavenspecie (figuur 6) is gebruik gemaakt van 9PAK van Staring. Deze negen componenten zijn speciaal voor het betreffende onderzoek geselecteerd. De lijst bestaat uit fluoreen, fenantreen, antraceen, fluoranteen, benzo[a]pyreen, chryseen, benzo[b]fluoranteen, benzo[k]fluoranteen en benzo[a]pyreen.

één analysemonster worden uitgevoerd. Dat wil zeggen bij de PAK bepaling wordt een massabalans opgesteld voor PAK. Niet alleen de geëxtraheerde hoeveelheid PAK wordt gemeten maar ook de PAK die in de matrix achterblijven. Door deze benadering wordt de fout in de monstername (als gevolg van de inhomogeniteit van partijen specie) geëlimineerd. Als voor experimenten monsters worden verdeeld en de vaste fase moet worden bemonsterd, wordt de fout kleiner als vervolgens het gehele deelmonster wordt geanalyseerd. Dit betekent dat een experiment in meervoud moet worden opgezet en dat op de gewenste tijdstippen het gehele monster moet worden geofferd.

2.7 Fysisch-chemische verschijningsvormen van PAK

In het algemeen kunnen verontreinigingen op zes verschillende manieren vóórkomen in bodems en sedimenten (figuur 8). De vormen zijn: vaste deeltjes (1); vloeistoffilm aan oppervlak van bodemdeeltje (2); geadsorbeerd aan bodemdeeltje (3); geabsorbeerd in bodemdeeltje (4); in macroporiën van bodemdeeltje (5); in microporiën van bodemdeeltje (6).



Figuur 8. Voórkomen van verontreinigingen in grond en baggerspecie [Rulkens, 1992].

De eerste verontreinigingsvorm, vaste deeltjes, is voornamelijk van toepassing op metalen. Ook PAK kan echter op deze wijze vóórkomen. In een karakteriseringsonderzoek van 10 partijen verontreinigde grond [Van der Weij, 1994] blijkt dat in enkele bodems de PAK concentratie in de zeeffractie >1 mm hoger is dan de gemiddelde PAK concentratie, hetgeen wijst op het vóórkomen van PAK in specifieke deeltjes.

Verontreinigingen kunnen verder voorkomen als een separate, niet in water oplosbare, vloeistoffase tussen en rondom de gronddeeltjes (2), ook wel een Non-Aqueous Phase Liquid (NAPL) genoemd. Deze vorm speelt vooral een rol in geval van minerale olie en organische oplosmiddelen. PAK zal niet als een zuivere NAPL voorkomen, omdat PAK bij kamertemperatuur vast is.

PAK kan ook geadsorbeerd zijn aan het oppervlak van minerale delen (3), een vóórkomensvorm die van belang is voor de meeste soorten verontreinigingen. Wanneer er echter veel organische stof aanwezig is,

zal PAK eerder geabsorbeerd zijn in organisch materiaal (4) dan geadsorbeerd aan het oppervlak van minerale delen. PAK die is geabsorbeerd in het organisch materiaal van de bodem of baggerspecie is aanwezig in een vorm die naar verwachting zeer moeilijk beschikbaar is voor biologische afbraak. In een onderzoek dat is uitgevoerd door het RIVM, is gevonden dat de afbraaksnelheid voor PAK in baggerspecie parallel verloopt aan de afbraak van organische stof [Van Andel, persoonlijke mededeling, 1997]. Dit zou kunnen wijzen op een zeer sterke absorptie van PAK in het organisch materiaal van de baggerspecie. In de literatuur wordt er meestal van uitgegaan dat sorptie aan organische stof het belangrijkste proces is voor de vastlegging van organische verontreinigingen [Cerniglia, 1992; Schlautman M.A. en J.J. Morgan; 1993; Weissenfels et al., 1992 en 1993].

In principe kunnen verontreinigingen echter ook nog in vaste of opgeloste vorm voorkomen in de macroporiën ($> 5 \mu\text{m}$) van gronddeeltjes (5). Deze verontreinigingen zullen makkelijker beschikbaar zijn dan verontreinigingen die als vaste stof in de microporiën ($< 2 \mu\text{m}$) van gronddeeltjes aanwezig zijn (6).

Uit de hierboven geschetste situaties van de verschijningsvorm van PAK kan worden afgeleid dat PAK niet in opgeloste vorm (2) voor zal komen, terwijl de vormen vijf en zes niet principieel verschillen. Het verschil in beschikbaarheid van PAK in deze laatste twee vormen zal alléén afhangen van de grootte van de poriën. Het aantal basisvormen waarin PAK kan vóórkomen is daarom gereduceerd tot vier (A,B,C,D). Op grond van de te verwachten transportweerstand van de PAK vanuit de baggerspeciedeeltjes of vanaf het oppervlak van die deeltjes mag verwacht worden dat de biobeschikbaarheid afneemt in de volgorde:

- A. geadsorbeerd aan het oppervlak van deeltjes (3),
- B. in de vorm van vaste **deeltjes** (zuivere verontreiniging) (1),
- C. als vaste fase in de **poriën** van deeltjes (5 en 6),
- D. geabsorbeerd in deeltjes (4).

2.8 Vóórkomensvorm van PAK en biobeschikbaarheid

Uit de vorige paragraaf blijkt dat de biobeschikbaarheid van PAK gerelateerd is aan de manier waarop PAK voorkomt in de bodem of het sediment. In het algemeen wordt bij biologische afbraak van PAK in het laboratorium en in de praktijk een snelle initiële afbraak van PAK gevonden, waarna de resterende PAK veel langzamer wordt afgebroken. Tot op heden is niet aangetoond welke processen op moleculair niveau verantwoordelijk zijn voor de waargenomen kinetiek. Op grond van macroscopische waarnemingen kan wel een globale theorie worden opgesteld waarmee de kinetiek kwalitatief kan worden omschreven aan de hand van de vóórkomensvorm van PAK. Deze theorie richt zich op de processen die plaatsvinden op het niveau van de bodemdeeltjes (i.e. individuele deeltjes en aggregaten die stabiel zijn in water) en is beschreven in overzichtsartikelen van Pignatello en Xing (1996) en Luthy et al. (1997).

In deze theorie wordt voorbij gegaan aan transport gerelateerde niet-evenwichtssituaties die op grotere schaal op kunnen treden als gevolg van de langzame uitwisseling van PAK tussen mobiel water en immobiel water dat zich bevindt in zones met een slechte waterdoorlatendheid. Bij de desorptie van PAK speelt de inhomogeniteit van het organische materiaal een belangrijke rol. De organische stof (in sediment) bestaat grofweg uit twee soorten materiaal: 1- materiaal dat flexibel is en sterk overeenkomt met rubberachtige polymeren en 2- materialen met een starre structuur overeenkomend met glasachtige polymeren. Deze twee materialen gedragen zich verschillend in sorptieprocessen. Bij rubberachtige polymeren vindt sorptie plaats door partitie: de sorptieïsothermen zijn dan lineair. Bij glasachtige polymeren vindt sorptie plaats in holtes in het materiaal: de sorptieïsothermen zijn dan niet lineair [Leboeuf en Weber, 1997; Weber et al., 1992; Xing en Pignatello, 1997]. De relatieve hoeveelheden

van het rubberachtige materiaal en het glasachtige materiaal in de totale hoeveelheid organische stof hangt sterk af van de mate waarin de diagenese van het organische materiaal is gevorderd [Young en Weber, 1995].

Verondersteld wordt dat de 2-fasen kinetiek bij PAK afbraak als volgt kan worden verklaard: de snelle initiële afbraak wordt mogelijk gemaakt door de snelle desorptie van PAK uit de rubberachtige organische stof en de door de snelle desorptie van PAK geadsorbeerd aan minerale oppervlakken of de PAK die aanwezig is in meso- of macroporiën van minerale bodemdeeltjes. De langzame tweede afbraakfase wordt veroorzaakt door de trage diffusie van PAK uit microporiën en uit de glasachtige fractie van organische stof. De beschikbaarheid van PAK in kool- en teerdeeltjes hangt sterk af van het karakter van deze deeltjes. Kooldeeltjes kunnen worden gezien als glasachtig organisch materiaal en binden PAK sterk [Püschel, 1996]. De beschikbaarheid van PAK in teerdeeltjes is sterk afhankelijk van de samenstelling van deze deeltjes [Ramaswami en Luthy, 1997]. Belangrijk is dat organische stof niet mag worden voorgesteld als een homogeen materiaal, zoals dat in het verleden vaak is gedaan bij de beschrijving van sorptieprocessen [Karickhoff et al., 1979].

De beschikbaarheid van PAK wordt grotendeels bepaald door de kinetiek van het vrijkomen vanuit de verschillende verschijningsvormen. Daarnaast speelt echter ook de grootte van de bodemdeeltjes een rol [Rulkens, 1992]. Macroscopisch gezien resulteert het samenspel van oplosprocessen van de verschillende vormen van PAK uit deeltjes van verschillende grootte in een tweefasen desorptie en daarmee een tweefasen afbraakproces. De oplos snelheid kan modematig beschreven worden met twee eerste-orde constanten, k_{langzaam} en k_{snel} [Cornelissen et al., 1997a]. Voor de snelle desorptie ligt de constante k_{snel} meestal in de orde grootte van $0,1-1 \text{ u}^{-1}$ (10-100% desorptie per uur), terwijl de constante voor de langzame desorptie k_{langzaam} een waarde heeft van $0,0001-0,001 \text{ u}^{-1}$ (0,01-0,1% desorptie per uur).

2.9 Fysisch-chemische karakteriseringsmethoden

Fysisch-chemische karakteriseringsmethoden beogen op basis van fysisch-chemische principes vast te stellen hoe de PAK verdeeld is over de verschillende deeltjesgroottefracties en welk deel van de PAK biologisch beschikbaar is.

Momenteel bestaat er geen snelle en betrouwbare fysisch-chemische toets voor het bepalen van de biologische beschikbaarheid van PAK in vervuilde baggerspecie. Het onderzoek in deze richting heeft zich vooral gericht op de extractie van (bio)beschikbare PAK met veelal organische oplosmiddelen [Kelsey et al., 1997; Püschel en Calmaro, 1995; Wahle en Kördel, 1997]. Dit onderzoek heeft echter nog niet geleid tot een concrete toets. Wel is door het RIZA een methode ontwikkeld waarmee de kinetiek van het oplossen van PAK vanuit waterbodemdeeltjes naar water kan worden bepaald door middel van adsorptie van PAK aan Tenax [Cornelissen et al., 1997a, b]. Uit deze oploskinetiek kan de beschikbaarheid van PAK voor micro-organismen worden afgeleid. Deze methode is door de trage desorptie van PAK in water niet principieel sneller dan een biologische karakterisering.

Recentelijk is veel aandacht besteed aan de ontwikkeling van karakteriseringsmethoden gericht op het verkrijgen van schone fracties baggerspecie met behulp van fysische scheidingsmethoden [Cuperus en Van Veen, 1997; Feenstra et al., 1995a; Pruijn et al., 1997]. Dit heeft geleid tot laboratoriumtesten waarbij gebruik wordt gemaakt van opstroomkolommen [Cuperus en Van Veen, 1997], hydrocyclonage, of zeven in combinatie met zwarevloeistofscheiding [Prujn et al., 1997].

In deze paragraaf wordt eerst ingegaan op de verschillende fysische scheidingstechnieken die zijn gericht op het afscheiden een verontreiniging uit de bulk van een baggerspecie. Vervolgens wordt

aangegeven hoe deze fysische scheidingstechnieken kunnen worden gebruikt om meer inzicht te krijgen in de verschijningsvorm van (PAK) verontreinigingen in waterbodems. Dit inzicht in de verschijningsvorm van PAK leidt tot een beter inzicht in de beschikbaarheid van PAK voor micro-organismen.

2.9.1 Principes voor deeltjesfractionering

In tabel 3 is een overzicht gegeven van enkele principes om deeltjes te scheiden en van de fractiescheidingstechnieken op praktijk- en laboratoriumschaal die op deze technieken gebaseerd zijn. Naast deze technieken zijn er scheidingstechnieken in ontwikkeling die gebruik maken van botsing van deeltjes, elektrostatische krachten en magnetische krachten.

Tabel 3 Overzicht van de belangrijkste deeltjesscheidingsprincipes

Scheidingsprincipes	Fractiescheidingssystemen b=bezinker; c=centrifuges; f=flotatie; h=hydrocyclonen; o=opstroomkolommen; s=spiraalscheiders; z=zeven.							
		b	c	f	h	o	s	z
1.	scheiding in zwaartekrachtveld							
2.	scheiding in centrifugaalveld							
3.	scheiding d.m.v. poreuze scheidingswand							
4.	scheiding berustend op verschil in traagheid							
5.	scheiding op basis van oppervlakte eigenschappen							

2.9.2 Scheiding van baggerdeeltjes op laboratoriumschaal

Trilzeven

Op laboratoriumschaal kan een scheiding van baggerspecie in fracties worden uitgevoerd met een natte zeving, zoals ook gebruikt wordt in de bodemkunde. Hiervoor zijn zeven beschikbaar met een minimale maaswijdte van 20 µm oplopend tot 2 mm. Met deze zeven kunnen zeefkrommen gemaakt worden, die in combinatie met concentraties aan verontreinigingen een eerste karakterisering geven voor de verdeling van verontreinigingen in grond en baggerspecie. De zeeftechniek in combinatie met een analyse van de PAK- en zwaremetaalconcentratie is onder andere toegepast op tien verschillende partijen grond uit de gemeente Amsterdam. Op basis van deze gegevens is op labschaal vastgesteld welke fractie van de verontreinigde grond relatief schoon was [Van der Weij, 1994]. Momenteel is er geen gevalideerde standaardmethode beschikbaar voor het fractioneren van baggerspecie met behulp van trilzeven.

Opstromen

Een andere scheidingsmethode die op labschaal uitgevoerd kan worden is opstromen. Hierbij wordt water in opwaartse richting door een verticaal geplaatste kolom gepompt, waarin sedimentmateriaal aanwezig is. Lichte deeltjes (lage dichtheid, kleine diameter) worden met het water mee uit de kolom gevoerd terwijl zware deeltjes bezinken. Scheiding in opstroomkolommen wordt gebruikt voor karakterisering van baggerspecie [Cuperus en Van Veen, 1997].

Door fractionering met een aantal in serie geschakelde opstroomkolommen met verschillende diameters, boven elkaar geplaatst en met verschillende vloeistofdebieten, kan een vertaalslag gemaakt worden naar fracties die met hydrocyclonage verkregen kunnen worden.

Scheiding tussen minerale en organische deeltjes kan door een combinatie van zeven en opstromen worden verkregen. De opwaartse snelheid moet dan zodanig worden gekozen dat minerale deeltjes (in theorie) zullen bezinken en dat organische deeltjes met het water uit de kolom worden meegevoerd.

Flotatie

Met flotatie wordt beoogd speciedeeltjes die aan het oppervlak zijn verontreinigd selectief af te scheiden van de bulk. Hiertoe worden deeltjes met flotatiehulpmiddelen gehecht aan luchtbelletjes die in een schuimlaag worden afgescheiden. Afhankelijk van de selectiviteit van de flotatiehulpmiddelen zal ook organisch stof gefloateerd worden. Verschillende uitvoeringsvormen, zoals de Hallimondbuis, zijn geschikt voor de uitvoering van flotatie op laboratoriumschaal.

Dichtheidsscheiding

Met dichtheidsscheiding wordt beoogd mineraal materiaal van organisch materiaal en PAK deeltjes te scheiden. Hiertoe worden speciedeeltjes in een vloeistof met hoge dichtheid gebracht. Minerale deeltjes bezinken, terwijl lichtere deeltjes blijven drijven. Deze scheidingstechniek is goed uitvoerbaar op laboratoriumschaal.

2.9.3 Inventarisatie van fractiescheiding op praktijkschaal

Classificatie wordt in de praktijk reeds toegepast bij fractioneren van verontreinigde grond en baggerspecie en bij polishing van gedeeltelijk gereinigde grond en sediment. Hierbij wordt meestal alleen een scheiding aangebracht tussen een fijne en een grove fractie. Vaak wordt ervan uitgegaan dat de fijne fractie verontreinigd is en de grove fractie schoon is. Onderzoek voor de Grondbank Amsterdam [Van der Weij, 1994] laat zien dat deze benadering te eenvoudig is en dat ook in de grove fractie vaak hoge concentraties PAK kunnen voorkomen.

Bezinkers

De eenvoudigste uitvoering van een continu doorstroomde bezinker voor fractionering is een rechthoekige bak die in de lengterichting doorstroomd wordt. Bij bezinking zullen zwaardere deeltjes (grote dichtheid) en deeltjes met een grote diameter het eerst bezinken, daarna de lichtere en kleinere deeltjes. Op deze wijze vindt een scheiding plaats tussen deeltjes met verschillende bezinksnelheid. Bij bezinking of sedimentatie van deeltjes is niet alleen de zwaartekracht van belang, maar ook de concentratie deeltjes die bezinkt. Zo zal bij een hoge concentratie van deeltjes gehinderde bezinking optreden, hetgeen leidt tot een lagere bezinksnelheid. De werking van een bezinker is optimaal bij een laminaire doorstroming.

Flotatie

Het flotatieproces wordt veel toegepast bij de winning van mineralen, maar ook voor de afscheiding van kooldeeltjes [Perry et al., 1984] en deeltjes die PAK bevatten [Bruning, 1995] en voor nabehandeling van baggerspecie die door hydrocyclonage zijn voorbehandeld. Voor processing van mineralen zijn capaciteiten van 2000 tot 4000 ton/uur haalbaar. In dit soort systemen is een groot aantal flotatiecellen parallel geschakeld. Flotatie wordt in de praktijk onder andere gebruikt voor polishing van verontreinigde grond [Pruijn et al., 1993] en is ook voor karakterisering gebruikt [Feenstra et al., 1995a,b].

Hydrocyclonen

Hydrocyclonen worden vooral gebruikt voor het classificeren van vaste deeltjes of het scheiden van een vaste fase van een vloeibare fase op basis van verschillen in dichtheid en diameter. In een hydro-

cycloon wordt een vloeistof met de te scheiden deeltjes tangential of axiaal onder een bepaalde druk ingebracht. Er ontstaat een snelle circulatie van het fluïdum rond een symmetrieas, waardoor een centrifugaalveld ontstaat met een kracht die 50 tot 1000 keer zo groot is als de normale zwaartekracht. Deeltjes ondervinden een naar buiten gerichte centrifugaalkracht en een naar binnen gerichte wrijvingskracht. Zware deeltjes worden door de centrifugaalkracht tegen de wand van de cycloon geslingerd, waar de stromingssnelheid van het fluïdum sterk is afgeremd door de wand. De zwaartekracht krijgt dan vat op de zware deeltjes, waardoor ze circulerend naar beneden bewegen langs de wand van de cycloon. Ze worden aan de onderzijde van de cycloon afgevoerd door de zogenaamde apexopening. Lichte deeltjes en kleine deeltjes gaan grotendeels met de stroming in het hart van de cycloon mee naar boven en verlaten deze met het grootste deel van het fluïdum aan de bovenzijde van de cycloon via de vortexzoeker.

Een karakteristieke grootte voor het weergeven van de efficiëntie van een hydrocycloon is de scheidingsdiameter d_{50} (μm). De deeltjes, met eenzelfde dichtheid en diameter, bevinden zich voor 50% in de bovenloop en voor 50% in de onderloop. In de praktijk wordt vaak gebruik gemaakt van cyclonen met specifieke afmetingen, waarvan redelijk bekend is hoe goed de scheiding verloopt bij een bepaalde deeltjesgrootte, debiet, druk en dichtheden. Een voldoende nauwkeurige beschrijving van de processen die optreden in cyclonen is (nog) niet mogelijk. Het ontwerpen van cyclonen en het voorspellen van de efficiëntie gebeurt dan ook nog steeds op empirische wijze.

Het werkelijke scheidingsrendement van een cycloon wordt momenteel meestal proefondervindelijk na het ontwerpen en construeren vastgesteld. Bij classificatie wordt de diameter waarop gescheiden moet worden gelijk gesteld aan d_{50} . De scheiding is dus het meest efficiënt indien alle deeltjes met een diameter groter dan d_{50} in de onderloop terecht komen en deeltjes met een kleinere diameter in de bovenloop. In de praktijk is zo'n ideale scheiding op d_{50} niet mogelijk. De deeltjesfractie die in de verkeerde deelstroom terecht komt bepaalt hierbij de efficiëntie van de cycloon. Bij hydrocyclonen ligt de ondergrens van de grootte van de af te scheiden deeltjes bij circa 5 μm .

Hydrocyclonage is in karakteriseringsonderzoek gebruikt om vast te stellen welke fracties als relatief schoon te beschouwen zijn [Pruijn et al., 1993, Feenstra et al., 1995a en b]. Op basis van dergelijk karakteriseringsonderzoek kan vervolgens een scheiding op praktijkschaal worden uitgevoerd als dit leidt tot een redelijke hoeveelheid van de schone fractie.

Opstroomkolommen

Bij classificatie kunnen opstroomkolommen worden ingezet voor de selectieve afscheiding van deeltjesfracties met een lage dichtheid en kleine diameter. De maximale diameter van de deeltjes die uit het systeem spoelen is afhankelijk van de opwaartse stroomsnelheid van het water en kan berekend worden afhankelijk van een bepaalde deeltjesdichtheid en deeltjesvorm. In hetzelfde apparaat kunnen andere deeltjesfracties worden opgestroomd door de opstroomsnelheid van het water te verhogen.

Spiraalscheiders

In spiraalscheiders wordt de zwaartekracht gebruikt om een centrifugaalveld op te wekken waarin de grove zanddeeltjes gescheiden worden van kleine minerale delen. Bij spiraalscheiding spelen naast de centrifugaalkracht en zwaartekracht ook wrijving met de wand van de spiraal en meesleuring door het proceswater een rol. In de spiraalscheider ontstaat een scheiding in drie deeltjesfracties, namelijk een fijne-, een grove- en een middenfractie. Door kleppen in de spiraal kunnen de verschillende fracties van elkaar gescheiden worden. De middenfractie wordt vaak nogmaals door de spiraal gehaald om een verdere scheiding te realiseren. Spiraalscheiders kunnen gebruikt worden voor afscheiding van fracties met verschillende dichtheid en diameter. De bekendste spiraalscheider is de Humphreyspiraal [Perry et al., 1984]. De Humphreyspiraal bestaat uit vijf complete bochten met een hoogteverschil van

enkele tientallen cm per bocht. De fractie met het grootste soortelijk gewicht wordt geconcentreerd aan de binnenzijde; dit is voor verontreinigde grond de zandfractie. De fractie met het laagste soortelijk gewicht wordt geconcentreerd aan de buitenzijde van de spiraal. In 1943 werd deze techniek voor het eerst commercieel toegepast voor scheiding van chroom uit zand. Bij sanering van afgegraven grond wordt veelvuldig gebruik gemaakt van spiraalscheiders.

Zeven

In alle saneringsinstallaties voor afgegraven grond en baggerspecie wordt gebruik gemaakt van zeef-technieken. In de meeste processen worden zeven gebruikt om grove delen groter dan 80 mm af te scheiden, om beschadiging van procesinstallaties te voorkomen. Vervolgens worden scheidingen uitgevoerd bij 40 en 20 mm, meestal in een nat proces met trilzeven. Zeefdekken met een maaswijdte van 0,5 en 1 mm worden ook nog op praktijkschaal toegepast. Het karakteristieke aspect van zeef-technieken voor karakterisering is dat er alleen een scheiding gemaakt wordt op deeltjesgrootte.

2.9.4 Relatie scheidingsmethode en PAK vóórkomensvormen

De vier verschillende vóórkomensvormen van PAK verontreinigingen zoals die aan het begin van deze paragraaf zijn aangegeven, kunnen met verschillende meetmethoden op laboratoriumschaal in principe worden aangetoond. In deze paragraaf wordt kort ingegaan op het gebruik van de scheidingsmethoden op laboratoriumschaal, zoals opstroom, flotatie en dichtheidscheiding. Deze technieken kunnen mogelijk gebruikt worden voor het aantonen van verschillende verschijningsvormen van PAK.

Bij opstroom binnen een bepaalde deeltjesfractie kunnen de deeltjes met lage dichtheid worden afgescheiden, dit zijn meestal deeltjes beladen met PAK die voor een belangrijk deel uit organisch materiaal bestaan. Hierbij kunnen PAK als deeltje of geabsorbeerd in organische stof worden afgescheiden. Met flotatie kunnen de geabsorbeerde PAK en PAK als deeltjes worden onderscheiden van de twee overige vormen, omdat deze techniek een specifieke scheiding aanbrengt voor deeltjes met verschillende oppervlakte-eigenschappen. Door gebruik te maken van zware vloeistoffen zullen de PAK in deeltjes en PAK geabsorbeerd in organische stof een drijfslag vormen.

Methoden die niet gebaseerd zijn op scheiding van deeltjes zijn respectievelijk solventextractie, hydrolyse, fotoakoestische detectie en UV-microscopie. Met solventextractie kunnen de vier vormen in principe worden aangetoond door het bepalen van de extractiesnelheid van PAK in een oplosmiddel waarin PAK goed oplost.

Met hydrolyse wordt onderzocht in welke fractie van de organische stof de PAK geabsorbeerd is. Fotoakoestische detectie is in principe geschikt om PAK verontreinigingen aan de oppervlakte van een deeltje waar te nemen. Bekend is dat PAK in UV-licht specifiek aantoonbaar zijn. Hiermee zou in grond de geabsorbeerde PAK met microscopische technieken zichtbaar gemaakt moeten kunnen worden.

Als een baggerspecie deeltjes bevat met sterk verschillende diameter zullen de methoden, waarbij de diameter van de deeltjes een belangrijke invloed heeft op de karakterisering van de PAK, veel minder goed de verschillende wijzen van voorkomen van de PAK aan kunnen tonen. Baggerspecie bevat in de praktijk een grote variatie in deeltjesgrootte. Voor het kunnen toepassen van de karakteriseringsmethoden zal de bagger dan ook vooraf moeten worden gescheiden in fracties met een smalle marge in deeltjesgroottes. Dit kan o.a. gerealiseerd worden door scheiding vooraf van fracties baggerspecie met zeven.

Met behulp van de hierboven besproken karakteriseringsmethoden is het waarschijnlijk mogelijk de verschillende wijzen van voorkomen van PAK kwalitatief vast te stellen als er sprake is van één bepaalde deeltjesdiameter. Indien de verschillende verschijningsvormen aantoonbaar zijn, kan tevens worden onderzocht welke invloed een bepaalde verschijningsvorm heeft op de biobeschikbaarheid van de verontreiniging in de speciefraction. Hiermee kan vervolgens een uitspraak gedaan worden over de biologische reinigbaarheid van de baggerspecie.

3 MATERIALEN, METHODEN EN EIGENSCHAPPEN VAN DE ONDERZOCHE BAGGERSPECIES

In dit hoofdstuk worden de standaardmaterialen en -methoden beschreven die in het onderzoek zijn gebruikt. Aan het begin van dit hoofdstuk worden de 28 baggerspecies beschreven die in het onderzoek zijn gebruikt, aangevuld met nadere gegevens over fracties van een beperkt aantal (drie) van de species (uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop). Verder wordt beschreven waarom standaard PAK bepalingen geschikt zijn gebleken voor dit onderzoek. Dit heeft het noodzakelijk gemaakt in dit hoofdstuk al enige resultaten te vermelden.

Sommige in de literatuur beschreven methoden zijn voor toepassing op baggerspecie gewijzigd. Deze methoden worden in hoofdstuk 4 beschreven, evenals een aantal nieuw ontwikkelde methoden.

3.1 Baggerspecies, eigenschappen en bemonstering

De keuze van de baggerspecies is gemaakt aan de hand van een aantal criteria:

- 'doorsnee'-specie wordt verkozen boven "hot-spot"-specie,
- aanwezigheid van meervoudige verontreinigingen is gewenst, met name van olie,
- ten minste één specie in het onderzoek moet een hoog organischstofgehalte hebben,
- ten minste één specie moet een hoge verhouding afbreekbare/ niet afbreekbare PAK hebben en één specie een lage verhouding afbreekbare/ niet afbreekbare PAK,
- de verontreiniging moet snel afbreekbaar zijn om de experimenten niet te lang te laten duren,
- voorkeur gaat uit naar regionale baggerspecie,
- bekendheid met eerdere analysegegevens is niet van groot belang,
- herkomst van de PAK is niet van belang.

In totaal zijn achtentwintig species onderzocht, waarvan negentien vers gebaggerde species en negen reeds in landfarm biologisch gereinigde species. De species voldoen gedeeltelijk aan bovengestelde criteria.

Van drie baggerspecies, Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop, is in het voorjaar van 1996 ongeveer 2 m³ gebaggerd en opgeslagen in afgesloten tanks. Op de baggerspecie is een laag water gebracht, om de anaërobe condities zoveel mogelijk te waarborgen. De tanks zijn maandelijks geroerd om de inhoud zo homogeen mogelijk te houden. Ten behoeve van de experimenten zijn van de baggerspecies, na een intensieve menging gedurende tenminste vier uur, monsters genomen in emmers van vijf tot tien liter. Deze emmers zijn vervolgens over de drie aan dit onderzoek deelnemende onderzoeksgroepen (TNO MEP, SC-DLO en LU Wageningen MT) verdeeld en opgeslagen bij 4 °C. Voordat de experimenten werden ingezet, werd de baggerspecie in elke emmer nogmaals zo goed mogelijk gemengd.

De andere species zijn in het najaar van 1997 in hoeveelheden van ± 25 liter gebaggerd en tot verwerking opgeslagen bij 4 °C. Van de biologisch reeds gereinigde species werden hoeveelheden van enige kilogrammen in het laboratorium bewaard voor verder analytisch- en fysisch-chemisch onderzoek.

3.1.1 Gedetailleerde karakterisering van fracties van de species Overschie, Petroleumhaven en Voorwetering.

De beginconcentratie PAK van deze drie baggerspecies is vastgesteld conform NEN 5771. De resultaten staan in tabel 5.

Tabel 4 Eigenschappen van de 28 onderzochte baggerspecies

Baggerspecielocatie	[PAK] ¹ (mg/kg d.s.)	droge stof ³ (%)	organische stof ³ (% van d.s.)
Achterburggracht	21	44	4
Anna Paulowna	4	35	10
Assendeift	86	27	15
Barsingerhorn	10	37	8
Bergambacht	19	16	30
Berkenwoude	93	15	31
Goeree Overflakkee	6	54	5
Lemster Rien	56	35	11
Overschie Rotterdam	116(56) ²	47	23
Maartensbrug	7	15	19
Petroleumhaven	767(855) ²	44	10
Petroleumhaven 2	408	33	12
Sassenheim	28	18	23
Schrinkkraagpolder	9	41	7
Stolwijker Sluis	8	14	24
Voorburggracht	10	22	17
Voorwetering Nieuwkoop	91(31) ²	11	43
Wassenaar	124	9	36
Wemeldinge	35	51	7
In de praktijk biologisch gereinigde specie			
Geulhaven landfarm	2	86	3
Goeree Overflakkee landfarm	2	80	9
Goeree Overflakkee stort	4	79	6
Petroleumhaven 2 landfarm	26	75	7
Wemeldinge landfarm	17	79	9
Zevenhuizen depot	28	50	21
Zierikzee landfarm	14	79	6
Zoetermeer depot	3	72	4
Zuidbroek depot	24	33	36

1: Waarden door TNO in viervoud gemeten. PAK te weten fluoreen, antraceen, fluoranteen, benzo[a]antraceen, chryseen, benzo[k]fluoranteen, benzo[g,h,i]peryleen en indeno[1,2,3-c,d]pyreen, geen correctie t.o.v. 10% organische stof.

2: De tussen haakjes gegeven waarden zijn gebaseerd op het gemiddelde van alle metingen van de PAK concentratie van de verse specie die door de drie onderzoeksgroepen zijn uitgevoerd gedurende het onderzoek.

3: Drogestofgehalte en organische stof zijn bepaald volgens NEN 6620.

Voor Petroleumhaven is de somparameter 16EPA (zie tabel 5) ook weergegeven zonder acenafteen. Uit voorgaand onderzoek door SC DLO is gebleken dat deze specie een storende component met

dezelfde retentietijd bevat als acenafteen. De somparameter 8TSL¹ is vastgesteld na een ringonderzoek onder de drie laboratoria.

Tabel 5 Resultaten van de analyse van PAK (mg/kg ds), minerale olie (mg/kg ds), droge- en organischestof (%) voor de drie verse species, gemeten door SC-DLO.

Component of groep	Overschie Rotterdam	Petroleum -haven	Voorwetering Nieuwkoop
naftaleen	0.3	307	0.4
acenaftyleen	n.g. ¹	n.g. ¹	n.g. ¹
acenafteen	16.2	2514	5.2
fluoreen	1.6	162	0.9
fenantreen	10.4	484	6.0
antraceen	4.7	213	2.2
fluoranteen	27.8	323	26.4
pyreen	17.7	190	14.3
benz[a]antraceen	11.7	85.4	7.7
chryseen	16.1	86.1	8.6
benzo[b]antraceen	10.3	46.5	9.0
benzo[k]fluoranteen	5.2	22.7	4.4
benzo[a]pyreen	8.9	52.2	7.8
dibenz[a,h]antraceen	1.6	7.0	1.3
benzo[g,h,i]peryleen	7.2	29.9	6.4
indeno[1,2,3-d]pyreen	9.1	31.4	7.1
6BORNEFF	69	506	61
8TSL	83	953	64
10VROM	102	1583	77
16EPA	149	4502	108
16 EPA minus ACE	n.v.t.	1988	n.v.t.
minerale olie	1060	19765	1395
droge stof	46.7	44.0	11.0
organische stof	22.6	9.9	42.9

¹: niet gemeten in verband met aanwezigheid storende component

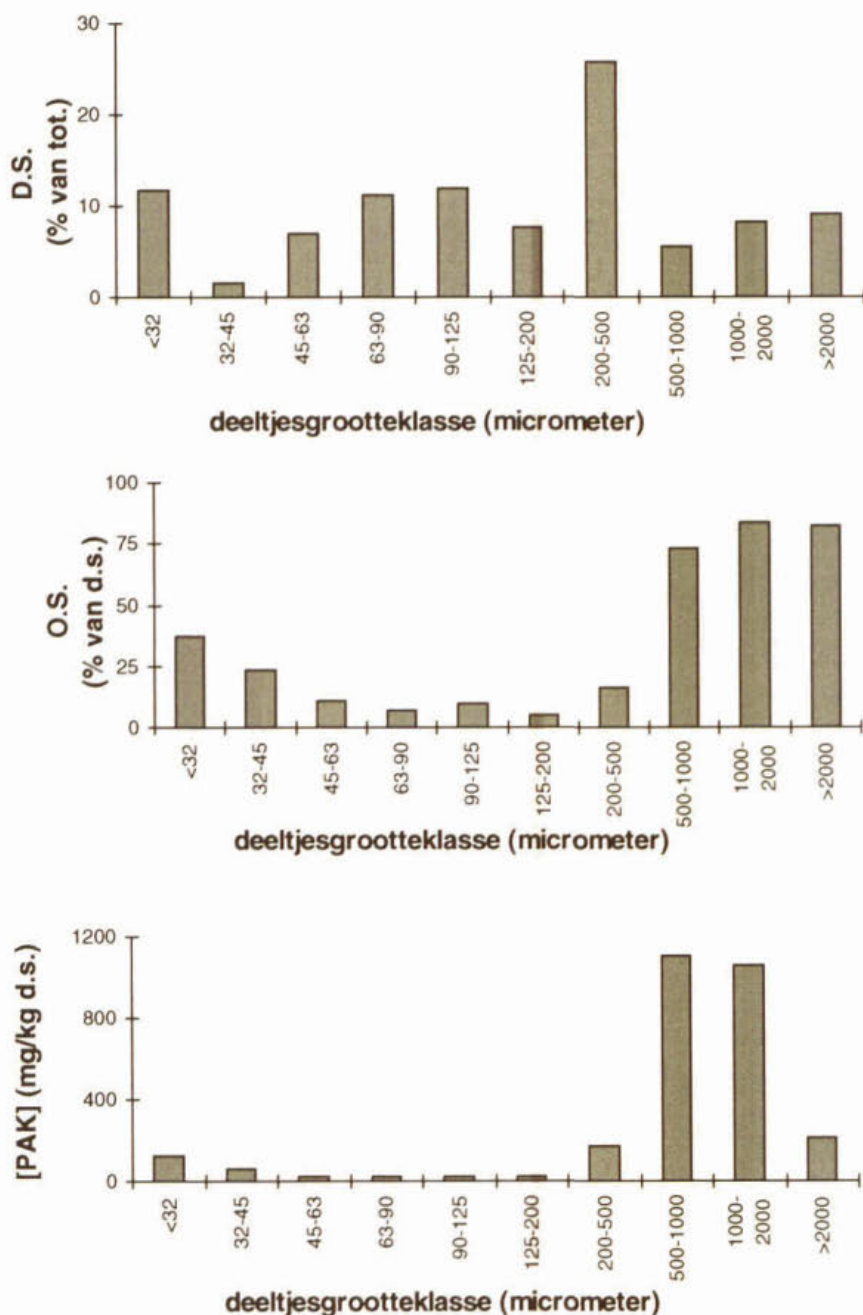
3.1.2 Karakteristieken van fracties van de species uit Overschie, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop.

De verdeling van droge stof, organische stof en PAK over de verschillende fracties van de drie nader gekarakteriseerde baggerspecies is weergegeven in de figuren 9, 10 en 11. De fractionering wordt in § 3.5.1 beschreven.

De verdeling van droge stof, organische stof en PAK over de deeltjesgrootteklassen van Overschie-specie is gegeven in figuur 9. Deze figuur toont dat de genoemde parameters niet homogeen zijn verdeeld over de fracties.

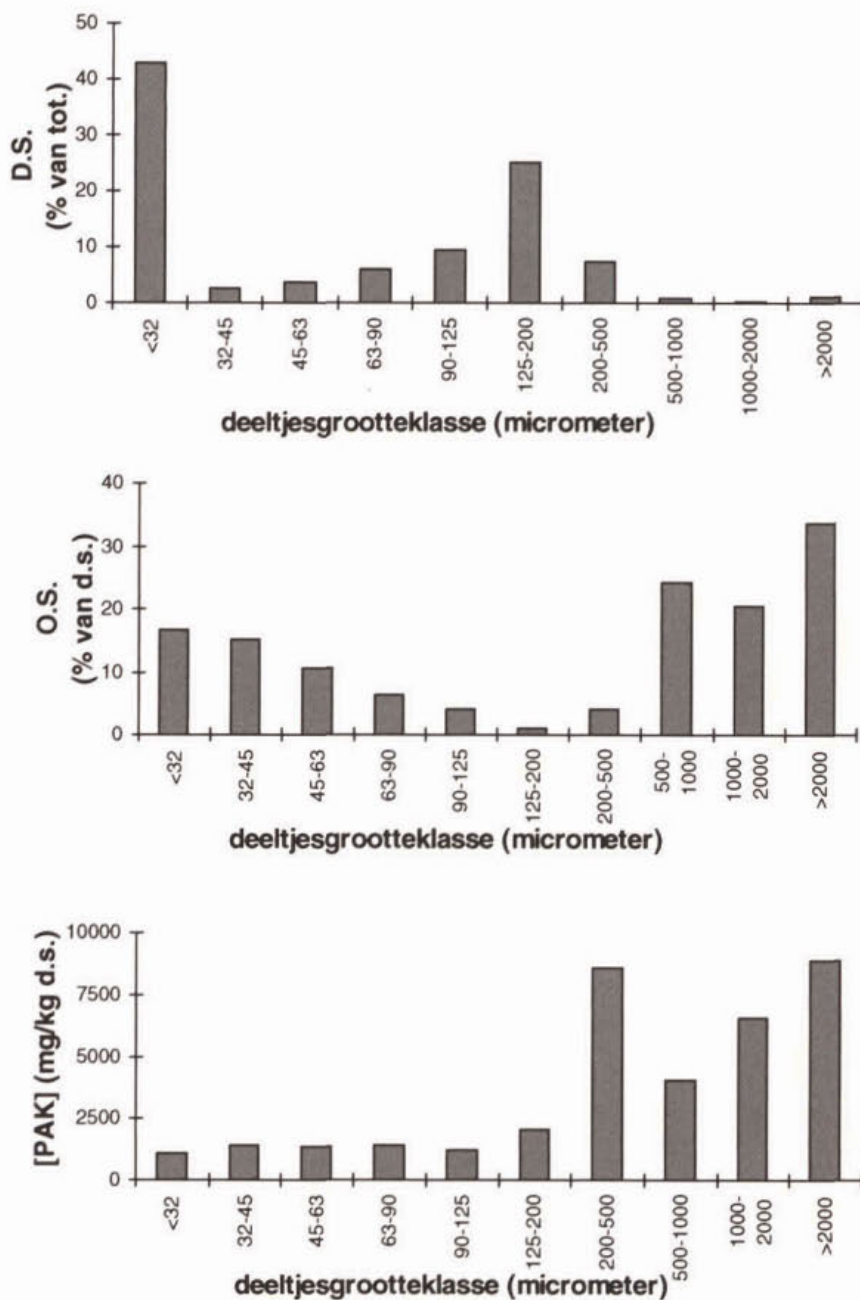
Opvallend is een zeer hoge PAK concentratie (± 1100 mg/kg) in de fracties 500-1.000 μm en 1.000-2.000 μm . Zo is 90% van de PAK aanwezig in de fractie >200 μm , die in het totaal 55% van de droge stof omvat.

¹ 8TSL verwijst naar de acht PAK die onderling vergelijkbaar door de drie laboratoria kunnen worden gemeten. Een nadere uitleg volgt later in dit hoofdstuk.



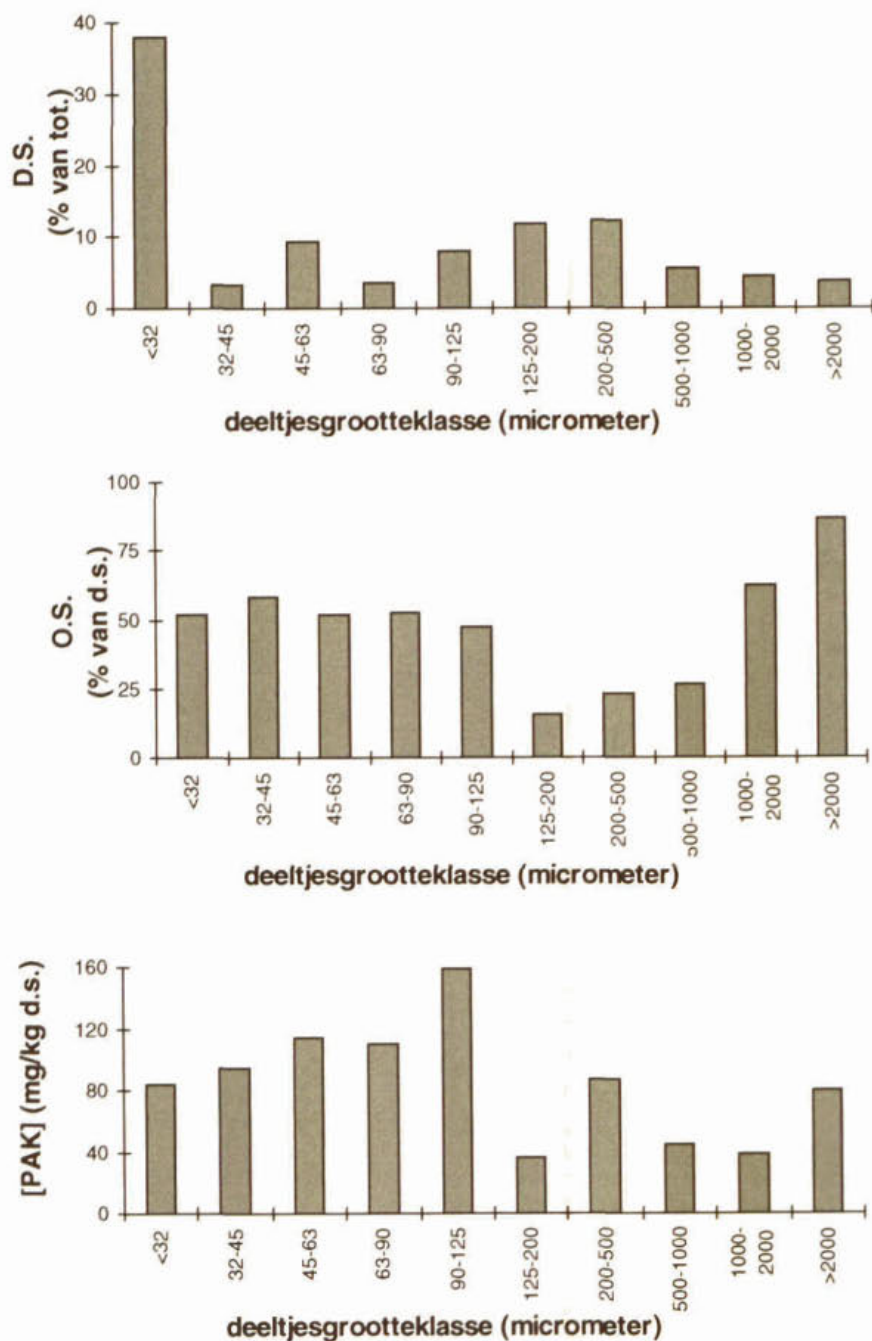
Figuur 9 Verdeling van droge stof, organische stof en PAK over fracties van Overschie Rotterdamspecie.

Figuur 10 toont dat droge stof, organische stof en PAK niet homogeen zijn verdeeld over de deeltjesgrootteklassen van Petroleumhavenspecie. Opvallend is de grote bijdrage van de fractie $<32 \mu\text{m}$ aan het totale drooggewicht van de specie. Deze fractie bevat 43% van de droge stof. De PAK concentratie is hoog in de fractie $<200 \mu\text{m}$ (1.000-2.000 mg/kg) en extreem hoog in de fractie $>200 \mu\text{m}$ (4.000-9.000 mg/kg). Het grootste deel van de PAK bevindt zich in de fracties $<32 \mu\text{m}$ en $125-500 \mu\text{m}$. Deze bevatten samen 75% van het droge materiaal en 75% van de PAK.



Figuur 10 Verdeling van droge stof, organische stof en PAK over fracties van Petroleumhavenspecie.

Uit figuur 11 blijkt dat droge stof, organische stof en PAK ook in Voorweteringspecie heterogeen zijn verdeeld over de deeltjesgrootteklassen. Een groot deel van de droge stof ($\pm 38\%$) is aanwezig in de fractie $<32 \mu\text{m}$. Deze fractie bevat $\pm 38\%$ van de PAK. De PAK concentratie ligt in alle fracties tussen de 40 en 160 mg/kg. Er zijn dus geen fracties met extreem hoge PAK concentraties.



Figuur 11 Verdeling van droge stof, organische stof en PAK over fracties van Voorwetering Nieuwkoopsepe.

3.1.3 PAK extractie conform NEN 5771

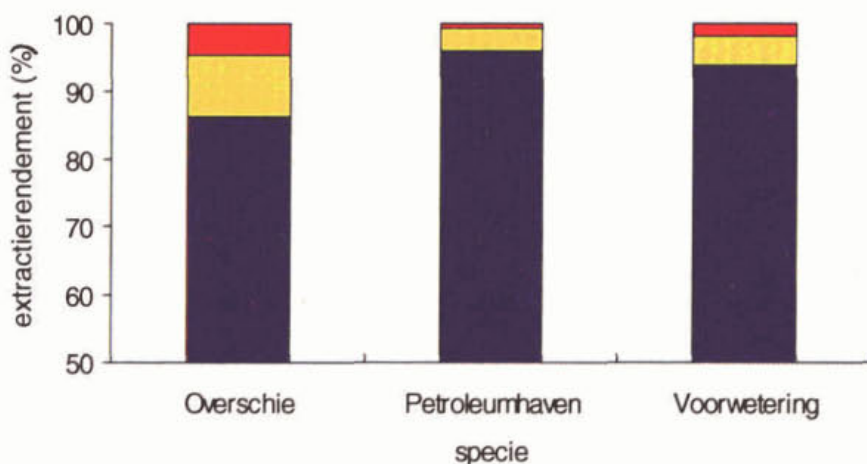
Voor de bepaling van de hoeveelheid PAK in monsters van baggerspecie is de methode conform NEN 5771 toegepast. Hierbij wordt 20 gram monster eerst geschud met aceton en vervolgens met petroleumether. Het extract wordt gewassen met kraanwater, gedroogd met watervrij natriumsulfaat en eventueel geconcentreerd. Vervolgens worden de PAK overgebracht in acetonitril door de petroleum-

ether af te dampen. Na toevoeging van een interne standaard (6-methylchryseen, 15 µl/l in acetonitril) volgt analyse van het extract met behulp van vloeistofchromatografie. Deze methode wordt toegepast voor de vergelijking van de prestaties van de verschillende laboratoria en voor het vaststellen van de totaalconcentratie (analytisch beschikbare fractie).

3.1.4 Geschiktheid van NEN 5771

Het extractierendement van de NEN 5771 methode voor drie modelspecies (Overschie, Petroleumhaven en Voorwetering) is aan het begin van het project onderzocht. Hiervoor is een uitputtende extractie uitgevoerd waarbij een monster na schudden met aceton en petroleumether en centrifugeren opnieuw werd geëxtraheerd met beide oplosmiddelen. De tweede stap werd hierna nogmaals herhaald. De drie extracten verkregen van één monster werden apart opgewerkt en op PAK geanalyseerd met behulp van vloeistofchromatografie. De drie concentraties werden bij elkaar opgeteld en als maximaal analytisch beschikbaar beschouwd. Figuur 12 laat zien dat na de eerste extractie ruim 85 % is geëxtraheerd uit de drie species. Het extractierendement van de methode voor de species van Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop ligt zelfs ruim boven 90%. In de twee daaropvolgende stappen werd een beperkt deel alsnog geëxtraheerd.

Bij een extractierendement van meer dan 80% wordt een PAK bepalingmethode als toepasbaar beschouwd [Harmsen, NNI commissielid, persoonlijke mededeling]. Op basis van de behaalde resultaten wordt geconcludeerd dat de NEN 5771 methode voor dit onderzoek geschikt is voor de bepaling van de totaalconcentratie.



Figuur 12 Extractierendement (%) van de drie extracties ten opzichte van de totaal extraheerbare hoeveelheid voor de drie modelspecies. Blauw = eerste extractie, geel = tweede extractie, rood = derde extractie.

3.1.5 Ringonderzoek

De voor Nederland genormeerde methode voor de extractie en analyse van PAK uit (water)bodems is beschreven in NEN 5771. Deze methode en de bijbehorende analyse zijn gebruikt voor twee ringonderzoeken in het voorjaar van 1996 tussen de drie laboratoria (LUW MT, SC-DLO en TNO MEP). Het ringonderzoek moest aantonen dat de resultaten van de gebruikte analysemethode onderling vergelijkbaar zijn. Het ringonderzoek is driemaal uitgevoerd. De eerste maal is een aantal extracten door SC-DLO verdeeld onder de laboratoria van de twee andere partners. De extracten zijn geanalyseerd op de op het laboratorium gangbare wijze. Resultaten van de analyses waren zeer

moeilijk met elkaar te vergelijken. Integratiemethode, detectorkeuze en gradiënt zijn hierna zodanig op elkaar afgestemd dat bij een tweede ringonderzoek de drie laboratoria de Overschie Rotterdam- en Voorwetering Nieuwkoop-specie na extractie op vergelijkbare wijze hebben geanalyseerd. De drie laboratoria hebben voor dit ringonderzoek voor de analyse op de HPLC (vloeistofchromatograaf) gewerkt met dezelfde analysekolom (Vydac 201 TP54 reverse phase C18), een programmeerbare fluorescentiedetector, een water-acetonitril-gradiënt en met SRM standaarden (LUW MT is door technische problemen later tijdens het project overgestapt op een UV-diode-array-detector). Als resultaat van dit ringonderzoek is een lijst van PAK componenten samengesteld die door de drie laboratoria met voldoende nauwkeurigheid kunnen worden gemeten. Voor deze lijst met componenten is gekozen om te voorkomen dat individuele PAK uit de lijst van VROM² of EPA, die niet nauwkeurig gemeten kunnen worden, te veel invloed op de resultaten zouden hebben. Vergelijking van resultaten is met de gekozen lijst beter mogelijk dan bij gebruik van 10VROM of 16EPA. In andere onderzoeken [Harmsen et al., 1997a, Fermont et al., 1998] is eveneens gekozen voor het alleen weergeven van de in het betreffende onderzoek betrouwbaar te meten PAK in plaats van de 10 van VROM. De componenten die voor dit onderzoek geselecteerd zijn, voldoen aan de criteria dat de onderlinge spreiding in analyseresultaten tussen de laboratoria kleiner is dan 30% en dat PAK met de twee- en drie-, de vier-, en de vijf- en zesringen vertegenwoordigd zijn. De 8 componenten die aan de criteria voldoen zijn aangeduid met 8TSL (TNO MEP, SC-DLO, LUW MT). Deze componenten zijn gedurende het project gebruikt. Tabel 6 laat zien welke PAK componenten van de 16EPA geselecteerd zijn als 8TSL en welke zijn opgenomen als 10VROM.

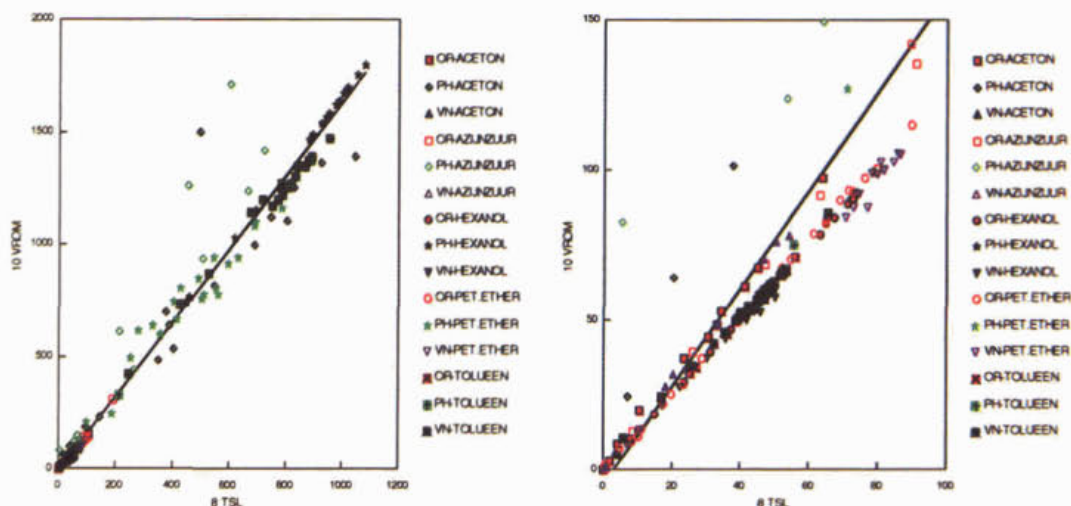
Tabel 6 PAK: 16EPA, 8TSL en 10VROM.

ringen	Afkorting	16 EPA	8TSL	10VROM
2	Nap	naftaleen		x
2	Any	acenaftyleen		
2	Ana	acenaftteen		
2	Flu	fluoreen	x	
3	Phe	fenantreen		x
3	Ant	antraceen	x	x
3	Flt	fluoranteen	x	x
4	Pyr	pyreen		
4	Baa	benz[a]antraceen	x	x
4	Chr	chryseen	x	x
4	Bbf	benzo[b]antraceen		
4	Bkf	benzo[k]fluoranteen	x	x
5	Bap	benzo[a]pyreen		x
5	Dbf	dibenz[a,h]antraceen		
6	Bpe	benzo[ghi]peryleen	x	x
5	Ipy	indeno[1,2,3-cd]pyreen	x	x

Uit tabel 6 blijkt dat 7 van de 8 geselecteerde componenten ook in de lijst van 10 van VROM voorkomen. Omdat de 10VROM een nationaal geaccepteerde lijst van componenten is, is aan de hand van een groot aantal experimenten nagegaan wat de kwantitatieve relatie is tussen 8TSL en 10VROM. Van 246 geanalyseerde monsters zijn de waarden van de 8TSL uitgezet tegen de 10VROM (zie figuur 13). De relatie tussen 8TSL en 10VROM wordt weergegeven door een rechte lijn. Enkele meetpunten met een hoge waarde wijken af van de lijn. Dit geldt met name voor monsters van Petroleumhaven. De afwijkingen worden waarschijnlijk veroorzaakt door naftaleen, waarbij een grote fout in de analyse

² 10 PAK-componenten, uit de lijst van 16 van EPA, gedefinieerd door het ministerie van Volkshuisvesting, Ruimtelijke Ordening en Milieu

gemaakt kan worden; om die reden is naftaleen niet opgenomen in 8TSL. Uit deze resultaten blijkt dat de 10VROM uit de 8TSL kunnen worden verkregen door te vermenigvuldigen met een factor 1,4. In figuur 13 wordt ook het lage concentratiegebied weergegeven; ook hier liggen de meetwaarden verkregen met Petroleumhavenspecie vaak als uitschieters boven de correlatielijn. Om bij de lagere concentraties 10VROM uit 8TSL te berekenen moet op grond van de correlatielijn een factor 1,2 gebruikt worden, hetgeen in deze rapportage is gedaan.



Figuur 13 Relatie tussen 8 TSL en 10 VROM voor 246 geanalyseerde monsters van baggerspecie uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop met verschillende extractiemiddelen. Links: alle gemeten monsters; Rechts: monsters met een 8TSL PAK concentratie kleiner dan 100 mg/kg ds.

Een derde ringonderzoek is halverwege de onderzoeksperiode uitgevoerd om te controleren of de resultaten van de analyses van de drie laboratoria nog steeds onderling vergelijkbaar waren. Hiervoor is een extract met een onbekende concentratie PAK door de drie laboratoria geanalyseerd. De resultaten staan vermeld in bijlage III. Dit onderzoek laat zien dat de onderlinge verschillen, uitgedrukt in relatieve standaardafwijking, van vergelijkbare of kleinere omvang zijn dan aan het begin van het project. Benzo[g,h,i]peryleen geeft evenals bij de meeste monsters in de voorgaande ringonderzoeken, meetwaarden boven de grens van 30%. Deze component is desondanks in de lijst opgenomen om meer dan één vertegenwoordiger van de 5- en 6-ringen te hebben.

3.2 Analytisch-chemische karakterisering

3.2.1 Berekening van het extractierendement met niet- of slecht wateroplosbare oplosmiddelen

Een speciemonster wordt gedurende langere tijd (in dit onderzoek 127) uur geschud met één van de oplosmiddelen, hexanol, toluen of petroleumether. Uit de oplossing wordt op geregelde tijden een vloeistofmonster genomen dat, na eventuele opwerking, geanalyseerd wordt. De in het reactievat achtergebleven baggerspecie wordt na centrifugeren geëxtraheerd volgens NEN 5771 om de in de vaste matrix achtergebleven hoeveelheid PAK, die dus niet beschikbaar was voor de oplosmiddelen, vast te stellen. Het extractierendement wordt berekend met de formule:

$$R_{t=n} = (C_{st=n} / (C_{st=127} + C_{rt=127})) * 100$$

met $R_{t=n}$	extractierendement op een bepaald tijdstip
$C_{st=n}$	concentratie PAK in het oplosmiddel op dat tijdstip (uur)
$C_{rt=n}$	restconcentratie PAK op dat tijdstip

3.2.2 Extractierendement van PAK in wateroplosbare oplosmiddelen

De hiervoor gebruikte oplosmiddelen zijn aceton (gebruikt bij NEN 5771) en azijnzuur. Azijnzuur wordt gebruikt bij een Soxhletextractie als toevoeging om de bodemmatrix uit elkaar te laten vallen [Japenga et al., 1987].

Monsters van de drie species zijn geschud met oplossingen met verschillende mengverhoudingen aceton/water of azijnzuur/water. Na schudden is de slurrie gecentrifugeerd en is zowel het supernatant als het residu behandeld conform NEN 5771. In deze paragraaf is deze procedure uitgebreid beschreven voor de extractie met azijnzuur. Verschillende mengverhoudingen azijnzuur/water en aceton/water zijn op vergelijkbare wijze uitgevoerd.

Extractie met azijnzuur

De extractie van de "biologische beschikbare hoeveelheid" PAK (partiële extractie) is uitgevoerd volgens een door SC DLO ontwikkelde methode en bestaat uit enkele onderdelen. Allereerst wordt een drogestofbepaling (NEN 5747) uitgevoerd voor de bepaling van de hoeveelheid water in het monster ten behoeve van de bereiding van de azijnzuuroplossing. Hierna wordt een monster eerst geëxtraheerd met een bepaalde concentratie azijnzuur voor het vaststellen van de extraheerbare fractie en vervolgens met aceton en petroleumether voor het vast stellen van de in de baggerspecie achtergebleven PAK. De tweede extractie is gebaseerd op de methode zoals beschreven in NEN 5771, maar is op enkele punten aangepast. Van elk monster worden zodoende twee extracten verkregen die na opwerken van het extract en overbrengen in acetonitril, worden geanalyseerd met behulp van vloeistofchromatografie. Voor de berekening van de PAK concentraties is het noodzakelijk glaswerk en de in behandeling genomen hoeveelheden voor en na een handeling te wegen (zie bijlage I).

Azijnzuurextractie

In een glazen centrifugebuis van 100 ml met slijpstuk is 5 gram gehomogeniseerd monster ingewogen. Aan het monster is 50 ml azijnzuuroplossing toegevoegd met een azijnzuurpercentage zodanig dat na toevoeging van de oplossing de slurrie 30% water bevat (in praktijk betekent dit dat de oplossing ongeveer 76 volume% van een bepaalde concentratie azijnzuur moet bevatten). De centrifugebuis is afgesloten en gedurende 10 minuten geschud op een schudapparaat met een horizontale beweging en 175 slagen per minuut (Gerhardt Schüttelmaschine RO 20). De centrifugebuis is vervolgens (zonder stop) gedurende 30 minuten gecentrifugeerd bij 2.000 r.p.m. (Heraeus varifuge 3.0). Van het supernatant is 25 ml in een maatkolf van 25 ml gepipetteerd. Het restant supernatant is afgegoten.

Opwerking van de in azijnzuur extraheerbare PAK

De inhoud van de maatkolf met het extract is via een vouwfilter (Schleicher & Schuell, type 597½) overgeschonken in een scheitrechter van 250 ml. De maatkolf is tweemaal gespoeld met 10 ml petroleumether. Aan het filtraat is 100 ml kraanwater toegevoegd. Na schudden (uitwassen) is de waterfase afgetapt en het uitwassen nog éénmaal herhaald. Na aftappen van de waterfase is de petroleumetherfase overgebracht in een 100 ml erlenmeyer. Hieraan is zoveel watervrij natriumsulfaat toegevoegd dat het op de bodem van de erlenmeyer niet meer klonterde. Via een vouwfilter (Schleicher & Schuell, type 597½) is de inhoud van de erlenmeyer overgebracht in een maatkolf van 100 ml. De

scheitrechter is tweemaal gespoeld met 25 ml petroleumether dat na elke spoelbeurt eerst in de erlenmeyer en daarna in de maatkolf is overgebracht.

Opwerking van de PAK in het residu

Aan de centrifugebuis met residu is 50 ml aceton toegevoegd. De buis is gedurende 10 minuten geschud op een schudtafel, waarna 25 ml petroleumether aan de slurrie is toegevoegd. De buis is opnieuw 10 minuten geschud op een schudtafel. De inhoud van de buis is via een vouwfilter (Schleicher & Schuell, type 597½) in een scheitrechter van 250 ml overgebracht. De centrifugebuis is tweemaal gespoeld met 10 ml petroleumether. Het filtraat is op eenzelfde wijze verder verwerkt als het filtraat van het azijnzuurextract.

Verdere opwerking van het verkregen petroleumetherextract

Afhankelijk van de te verwachten PAK concentratie is het petroleumetherextract gedeeltelijk of in zijn totaliteit verder behandeld. Wanneer het verwachte PAK gehalte in de geëxtraheerde fractie overeenkwam met een gehalte kleiner dan 40 mg/kg d.s., is de inhoud van de maatkolf met het petroleumetherextract overgebracht in de puntbuis met kookbol van een Kuderna-Danish opstelling, waarna de maatkolf tweemaal werd gespoeld met 10 ml petroleumether. De puntbuis met kookbol en inhoud is vervolgens geplaatst in de Kuderna-Danish opstelling. Het extract is ingedampt boven een waterbad van ongeveer 80 tot 90 °C tot ongeveer 5 tot 10 ml. Na afkoelen van het petroleumetherextract in de puntbuis is 5 ml acetonitril toegevoegd. De petroleumether is afgedampt door een zwakke stikstofstroom (maximaal 40 ml/min) over het vloeistofoppervlak te leiden. Een monsterpotje is gevuld met het extract waarna 25 µl interne standaard (6-methylchryseen, 15 µl/l in acetonitril) is toegevoegd. Na het afsluiten van het monsterpotje is het extract geanalyseerd met behulp van vloeistofchromatografie.

Bij verwachte PAK gehalten groter dan 40 mg/kg d.s. is de indampprocedure met behulp van Kuderna-Danish overgeslagen en is direct 10 ml van het petroleumetherextract overgebracht in de puntbuis.

Analyse van het acetonitrilextract met behulp van vloeistofchromatografie

Analyse van de extracten is uitgevoerd met behulp van een vloeistofchromatograaf. Deze bestond uit een monsterwisselaar (Marathon, Spark Holland), twee hogedruk vloeistofpompen (model 300 en 480, Gynkotek), een on-line clean-up unit (Prospekt en SDU, Spark Holland), een programmeerbare fluorescentiedetector (FP 920, Jasco), een kolomoven (Spark Holland) en een dataverwerkingssysteem (Multichrom, Fisons). Het ingestelde vloeistofdebiet van de acetonitril-water-gradiënt door de kolom (Vydac 201 TP54, reverse phase C18) was 1,5 ml/min. De instellingen van de verschillende apparaten waren conform NEN 5771. Het gebruikte referentiemateriaal is een SRM standaard die bestond uit een mengsel van PAK met de 16 van EPA³ (Standard Reference Material 1647c, National Institute of Standards & Technology).

3.2.3 Berekening van het extractierendement van PAK na extractie in wateroplosbare oplosmiddelen

Voor de extracties is gekozen voor een procedure waarbij van een monster zowel het gehalte PAK in het extract als het gehalte PAK dat achterblijft in het monster wordt bepaald. Hierdoor is de spreiding in de waarden als gevolg van de heterogeniteit van de partij gecorrigeerd en is het verwijderingspercentage als gevolg van de extractie berekend aan de hand van de totaal in behandeling genomen hoeveelheid monster. Daarnaast is elke extractie in duplo uitgevoerd. Het extractierendement is weergegeven als:

³ 16 PAK-componenten gedefinieerd door Environmental Protection Agency in de Verenigde Staten

$$R = (C_s / (C_s + C_r)) * 100$$

waarin R	extractierendement
C _s	concentratie PAK in mg/kg d.s. in het azijnzuurextract
C _r	concentratie PAK in mg/kg d.s. in het residu

3.2.4 Extractie van minerale olie.

Bij een aantal experimenten is naast de analyse van PAK ook een analyse van minerale olie uitgevoerd na zowel de extractie met azijnzuur als met aceton-petroleumether. Deze bepaling, gebaseerd op NEN 5733, is uitgevoerd in hetzelfde extract als waarin de PAK zijn gemeten. Voor het overbrengen van de PAK in acetonitril, is het petroleumetherextract gescheiden in een fractie die verder opgewerkt is voor de analyse van PAK en een fractie voor de analyse van minerale olie. Na zuivering van de minerale-olie-fractie met florisil en eventueel indampen volgens Kuderna-Danish is de minerale olie geanalyseerd met behulp van gaschromatografie. De gebruikte gaschromatograaf (Chrompack CP 9.000) is uitgerust met een on-column-injector (Chrompack 912), een SimDist-kolom en een vlamionisatiedetector. Het gebruikte referentiemateriaal is afkomstig van het RIVM (minerale oliestandaard bruikbaar voor NEN 5733).

3.3 Biologische karakterisering

3.3.1 Biologische PAK afbraak

Uitvoering

De biologische afbraakexperimenten zijn uitgevoerd in 1 liter Duranflessen. Baggerspecie is gemengd met een voedingsmedium [DECHEMA, 1992] tot een drogestofpercentage van 5% w/v, waarbij het totale vloeistofvolume in de fles 200 ml bedroeg. De Duranflessen zijn op een roterende horizontale schudder bij 25 °C geïncubeerd bij een toerental van 175 r.p.m. De flessen zijn met een wattenprop afgesloten. De experimenten zijn opgezet als opofferingsexperimenten, dat wil zeggen per meetpunt wordt de gehele inhoud van een incubatiefles geëxtraheerd. De opofferingen hebben plaatsgevonden op verschillende tijdstippen tussen t= 0 en 8 weken. Na opoffering zijn de Duran-flessen zonder verdere bewerking bij 4 °C opgeslagen tot aan de extractie. Per meetpunt worden twee monsters opgeofferd behalve op t= 0 weken waarvan vier speciemonsters worden genomen.

Chemische analyses bij biologische afbraaktoets

PAK extracties zijn uitgevoerd conform NEN 5771 waarbij gebruikt gemaakt is van petroleumether/aceton-mengsel om de aanwezige PAK te extraheren (paragraaf 3.2). De extracten werden bij -20°C in het donker bewaard tot aan de analyse. De analyse van de extracten op PAK is uitgevoerd met behulp van HPLC (Waters, Etten-Leur, Nederland) uitgerust met een fluorescentie-detector (GBC, Dandenong, Victoria, Australië). De golflengtes van de fluorescentiedetector zijn ingesteld zoals beschreven in het protocol: Biologische bepaling van het reinigbare deel van PAK in baggerspecie (zie bijlage II). De HPLC is uitgevoerd met een reverse phase C₁₈ kolom (Vydac type 201TP 5 µm, 4,6*250 mm, Bester, Amstelveen, Nederland). Verwerking van de analyseresultaten vond plaats met behulp van het dataverwerkingssysteem Maestro (Chrompack, Bergen op Zoom, Nederland). Identificatie en kwantificering van PAK vindt plaats door vergelijking van de retentietijden en de piekhoogten van de monsters met die van een 16EPA PAK standaardmengsel (NIST-SRM 1647c). De extracten verkregen bij de PAK extractie zijn ook gebruikt om de concentratie aan minerale olie te bepalen.

De bepaling van de hoeveelheid nitriet, nitraat en sulfaat in het medium is uitgevoerd met een ionchromatograaf uitgerust met een IonPac anionenkolom (Dionex, Sunnyvale, California, USA). Verwerking van de de analyseresultaten vindt plaats met behulp van het dataverwerkingssysteem Maestro (Chrompack, Bergen op Zoom, Nederland). Identificatie en kwantificering van nitriet, nitraat en sulfaat vinden plaats door vergelijking van de retentietijden en de respons (piekoppervlak) van de monsters ten opzichte van een standaardmengsel.

3.3.2 Respiratiemetingen

Parallel aan de PAK afbraakexperimenten zijn respiratiemetingen uitgevoerd waarbij de zuurstofconsumptie en de kooldioxideproductie met behulp van de Micro-oxymax (Columbus Instruments, Ohio, USA) continu zijn gevolgd. Met deze metingen kan worden bepaald of een actieve biomassa in de baggerspecie aanwezig is.

De O_2 -concentratie in de gasfase in de incubatiefles is continu tussen 19% en 21% luchtverzadiging gehouden. Het O_2 -verbruik (elektrochemische sensor) en de CO_2 -productie (infrarood sensor) zijn door de Micro-oxymax geregistreerd en weergegeven als snelheid in mg per uur en cumulatief als mg totaal [Micro-oxymax Software Handleiding, 1996, Micro-oxymax Hardware Handleiding, 1996].

De baggerspecies zijn bij deze respiratiemetingen in Duran-flessen geïncubeerd gedurende 6 weken volgens dezelfde werkwijze als boven beschreven voor de schudexperimenten met het doel de PAK afbraak te volgen.

3.4 Statistische methoden

De gegevens van de PAK analyses zijn volgens ISO 2854 (tabel C') statistisch geanalyseerd. Er is eenzijdig getoetst met een onbetrouwbaarheid van 5% of de hoeveelheid PAK na 4 weken significant lager is dan voor het experiment. Dit is conform ISO 2854 getest met behulp van de t-toets, die aangeeft of een verschil tussen twee meetwaarden significant is.

Van toepassing zijnde normen:

- ISO 2854: Statistical interpretation of data - Techniques of estimation and tests relating to means and variances.
- ISO 3494: Statistical interpretation of data - Power of tests relating to means and variances.
- ISO 3534-1 Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: Probability and general statistical terms.

De statistische toets is de eenzijdige t-toets zoals beschreven in ISO 2854 met als nulhypothese dat de hoeveelheid PAK op $t=0$ niet hoger is dan na 4 weken biologisch behandeling. Bij het bepalen van het aantal incubatieflessen is:

- a) aangenomen dat een verschil van ten minste 20% ten opzichte van de gemiddelde PAK concentratie op het begintijdstip relevant is;
- b) op basis van beschikbare gegevens is een restspreiding uitgerekend met behulp van een éénweg variantie-analyse;
- c) besloten is om niet af te wijken van de gebruikelijke praktijk om de fout van de eerste soort α (onbetrouwbaarheid) op 5% te stellen;
- d) besloten om niet af te wijken van de gebruikelijke praktijk om de fout van de tweede soort β gelijk te stellen aan 20%. De grootte $100-\beta=80\%$ wordt ook wel het onderscheidingsvermogen of power van een toets genoemd.

Het onderzoek is erop gericht aan te tonen dat PAK-afbraak heeft plaatsgevonden. In principe wordt er verondersteld dat er geen afbraak is; deze veronderstelling wordt de nulhypothese genoemd. Er is een alternatieve hypothese die hier luidt: er heeft wel afbraak plaatsgevonden. Deze hypothese in dit onderzoek is concreter gemaakt door te zeggen: afbraak is een afname van de PAK concentratie met minimaal 20%. De nulhypothese wordt verworpen indien de **waarnemingen** aangeven dat de nulhypothese (geen afbraak) niet waar is. Het verwerpen geschiedt met behulp van een zekere onbetrouwbaarheid (= significantieniveau of fout van de eerste soort, α (onbetrouwbaarheid) = 5%) omdat het altijd zo kan zijn dat de uitkomsten door meeton nauwkeurigheden ten onrechte wijzen op een afbraak.

Omgekeerd kan het ook zijn dat als er afbraak van 20% of meer heeft plaatsgevonden, de waarnemingen wijzen op geen afbraak en dat ten onrechte wordt besloten dat er geen afbraak heeft plaatsgevonden. Deze fout (β) wordt de fout van de tweede soort genoemd.

De grootte $100 - \beta$ (%) is de kans dat men terecht de nulhypothese verworpt en staat bekend onder de naam power of onderscheidingsvermogen. Dit is dus een maat voor het vermogen van een statistische test om onderscheid te maken tussen de nulhypothese en de alternatieve hypothese.

De definitie van power (onderscheidingsvermogen) is als volgt: de kans op het verwerpen van de nulhypothese, terwijl de alternatieve hypothese juist is. De op een specie uitgevoerde toets heeft zo een kans van 80% op een significante (betrouwbaarheid = 95%) uitspraak ten aanzien van PAK afbraak, indien de werkelijke afbraak gelijk is aan 20% van de oorspronkelijke concentratie.

Er is voor de validatie (zie hoofdstuk 6) gekozen voor 19 species waarbij de aanname is gedaan dat er een proportionele relatie bestaat tussen de PAK verwijdering met 70% azijnzuur en de biologische verwijdering. Bij een toenemend aantal baggerspecies zal de spreiding van de resultaten afnemen. Volgens ISO 2854 (tabel E) neemt de spreiding⁴ (bij 95% betrouwbaarheid) af van 1,9 (10 species), 1,6 (16 species), 1,5 (20 species) tot 1,3 (30 species). Bij een aantal van 19 species is verdere verkleining van de spreiding alleen te verkrijgen door een groot aantal additionele specietypen.

3.5 Fysisch-chemische karakterisering

3.5.1 Fractionering door middel van zeven

De verdeling van droge stof, organische stof en PAK over tien deeltjesgrootteklassen is bepaald voor Overschiespecie, Petroleumhavenspecie en Voorweteringspecie.

Fractiescheiding op labschaal is uitgevoerd met behulp van trilzeven (Retsch, Haan, Duitsland). De species zijn door middel van nat zeven gescheiden in de deeltjesgrootteklassen: <32 μm , 32-45 μm , 45-63 μm , 63-90 μm , 90-125 μm , 125-200 μm , 200-500 μm , 500-1.000 μm , 1.000-2.000 μm en >2.000 μm . Per fractionering is 300-400 gram droog materiaal in behandeling genomen, hetgeen voldoende is om na fractionering alle chemische analyses uit te kunnen voeren. Er is daarbij van uitgegaan dat fracties die minder dan 1% bijdragen aan het totale drooggewicht niet relevant zijn voor

⁴ Als maat voor de spreiding is hier bedoeld de vermenigvuldigingsfactor voor de bovengrens van het 95% betrouwbaarheidsinterval van de spreiding, zie ISO 2854.

verdere analyse. Bovendien is aangenomen dat 3-4 gram droog materiaal voldoende is voor het uitvoeren van de gewenste chemische analyses (droge stof, organische stof en PAK).

Na fractionering is van het materiaal van elke deeltjesgroottefractie de massa, het drogestofgehalte, het organischstofgehalte en de PAK concentratie bepaald. Aan de hand hiervan is de verdeling van droge stof, organische stof en PAK over de fracties berekend.

In het onderzoek is gekozen voor nadere karakterisering van vier fracties van de drie bovengenoemde species, hierbij is uitgegaan van de volgende criteria:

1. Tussen de geselecteerde deeltjesgrootteklassen moet minimaal één andere deeltjesgrootteklasse liggen. Hiermee wordt overlap in eigenschappen tussen de fracties zo veel mogelijk voorkomen, waarmee de kans op een duidelijk verschil van de eigenschappen van de gekozen fracties zo groot mogelijk wordt.
2. De geselecteerde fracties moeten een redelijk deel (bij voorkeur meer dan 10%) van de droge stof van de species vertegenwoordigen. De fracties zijn daarmee ook voor de praktijk relevant.
3. Het organischstofgehalte van de geselecteerde fracties moet bij voorkeur verschillen. Mogelijk kan hierna worden nagegaan of er een relatie bestaat tussen het organischstofgehalte in de fracties en de reinigbaarheid.
4. De PAK concentratie moet voldoende hoog zijn om PAK analyse uit te kunnen voeren.

Aan de hand van de bovenstaande criteria is een keuze gemaakt voor de fracties <32 µm, 45-90 µm en 125-200 µm omdat deze fracties voldoen aan alle gestelde criteria. Naast de genoemde fracties is ook de fractie 200-500 µm geselecteerd. Deze fractie voldoet weliswaar niet aan alle criteria, maar kan mogelijk interessante extra informatie opleveren.

De PAK concentratie in deze fracties is bepaald volgens een methode beschreven door Noordkamp et al. (1997) en niet met de standaard gebruikte NEN methode, omdat er slechts weinig materiaal beschikbaar is van de fracties. Omdat een afwijkende analysemethode is gebruikt zijn de resultaten niet vergeleken met die van de standaardanalysemethode, tenzij dat uitdrukkelijk staat vermeld. De PAK zijn met behulp van N-methylpirrolidinon (NMP) geëxtraheerd uit het sedimentmateriaal. Ongeveer 4 gram nat materiaal is bij 130 °C 1 uur in een magnetron (CEM, MDS-2100) geëxtraheerd met 20 ml NMP. Het extract is gecentrifugeerd (3min., 10.000 r.p.m.) en geanalyseerd op PAK. De analyse van de extracten is uitgevoerd met behulp van een HPLC, uitgerust met een reverse phase C₁₈ kolom (Vydac, type 201 TP 54, 4.6*250 mm) en een fotodiodearraydetector (Waters 1991). Identificatie van PAK vond plaats door vergelijking van spectra en retentietijden van de monsters met de spectra en retentietijden van een standaardmengsel (Supelco Inc., Bellefonte, USA). PAK concentraties zijn gekwantificeerd door vergelijking van het piekoppervlak van de monsters en de standaard.

3.5.2 Extractie van PAK uit baggerspecie met een 1/1 aceton/water mengsel

Vóór extractie zijn de species 10 minuten gecentrifugeerd bij 2.500 r.p.m. ter verlaging van het watergehalte, waarna het drogestofgehalte is gemeten en de PAK concentratie is bepaald na NMP extractie volgens Noordkamp et al. (1997). Op basis van de PAK concentratie is de toe te passen vast/vloeistof-verhouding bepaald. De toe te voegen hoeveelheid water en aceton is berekend aan de hand van het drogestofgehalte. De totale hoeveelheid vloeistof in het systeem bij extractie bedroeg altijd 141 ml (70,5 ml water en 70,5 ml aceton). Er is bij de berekening van de vast/vloeistof-verhouding geen rekening gehouden met de afname van het vloeistofvolume bij menging van aceton en water.

De specie is ingewogen in 250 ml Duran-flessen en bij 4°C in het donker bewaard tot aan de extractie. Een kwartier voor de extractie zijn de flessen uit de koeling gehaald om op kamertemperatuur te komen en is de benodigde hoeveelheid water toegevoegd.

Baggerspecies zijn bij 20°C 10 minuten end-over-end geëxtraheerd met een 50/50 (v/v) aceton/water-mengsel. De extracties zijn uitgevoerd in triplo. De vast/vloeistof-verhouding waarbij extractie is uitgevoerd, is gekozen op basis van de PAK concentratie in de baggerspecie. De vast/vloeistof-verhouding was 1/5 g/ml voor species met een PAK concentratie lager dan 85 mg/kg en 1/7,5 g/ml voor species met een PAK concentratie tussen 85 en 130 mg/kg. Voor species met een hogere PAK concentratie is de vast/vloeistof-verhouding berekend met de volgende empirische formule: vast/vloeistof-verhouding (g/ml) = 17/concentratie (8TSL in mg/kg)⁵. Indien het watergehalte van de species zo hoog was dat de nagestreefde vast/vloeistof-verhouding niet gehaald kon worden, is gekozen voor een lagere vast/vloeistof-verhouding. Een overzicht van de toegepaste vast/vloeistof-verhoudingen is gegeven in tabel 7.

Op t=0 is aceton toegevoegd en is de extractie gestart. Op t=9 minuten is een monster genomen van de slurrie. Dit monster is (vanaf t=10 minuten) 3 minuten gecentrifugeerd bij 10.000 r.p.m, waarna de PAK concentratie in het supernatant is gemeten. Na de monstername is de extractie voortgezet tot t=24 uur. Op dat tijdstip is de extractie gestopt en is de slurrie gecentrifugeerd (3 minuten bij 10.000 r.p.m.). Na het centrifugeren zijn de PAK concentraties in het supernatant en in het residu bepaald. Aan de hand van de PAK concentraties op t=24 uur is de totale hoeveelheid PAK, die aanwezig was in de specie, berekend. Daarbij is rekening gehouden met de afname van het vloeistofvolume bij menging van aceton en water.

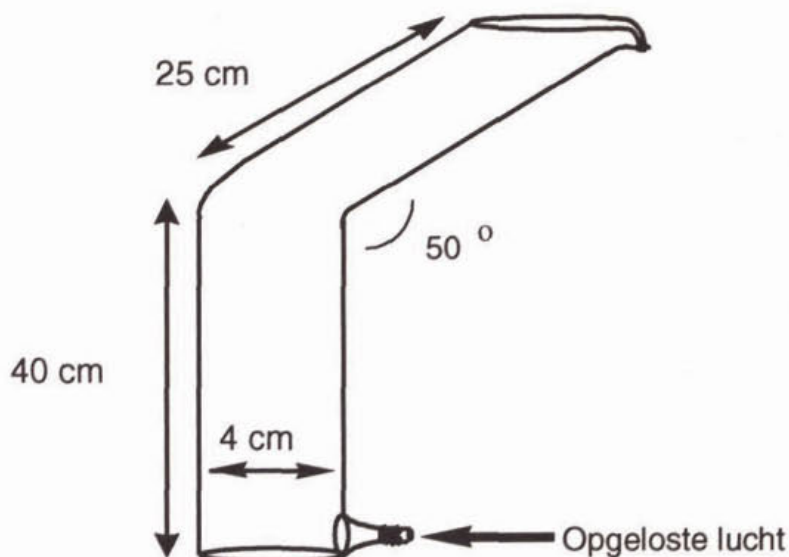
Tabel 7 Vast/vloeistof-verhoudingen bij extractie van verse baggerspecies met een aceton/water- mengsel

Baggerspecie locatie	vast/vloeistof verhouding (g/ml)
Overschie Rotterdam	1/7,5
Petroleumhaven	1/75
Voorwetering Nieuwkoop	1/15
Achterburggracht	1/5
Assendelft	1/5
Barsingerhorn	1/5
Bergambacht	1/7,5
Berkenwoude	1/7,5
Lemster Rien	1/5
Maartensbrug	1/7,5
Petroleumhaven 2	1/35
Sassenheim	1/5
Schrinkkraagpolder	1/5
Voorburggracht	1/5
Wemeldinge	1/5

3.5.3 Flotatie van fracties van baggerspecie

Deeltjes uit de fracties 45-90 µm, 125-200 µm en 200-500 µm van Overschie- en Petroleumhavenspecie zijn geflooteerd in een gemodificeerde Hallimondbuis, die is weergegeven in figuur 14. Flotatie-experimenten zijn uitgevoerd in duplo.

⁵ zie voor onderbouwing hoofdstuk 4.



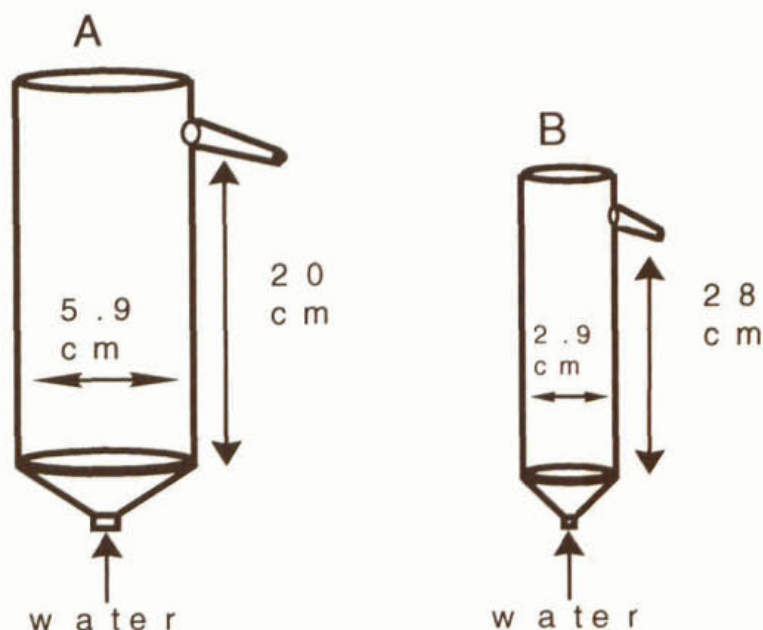
Figuur 14 Flotatiebuis

In elk experiment is ongeveer 25 gram nat materiaal in behandeling genomen. Dit sedimentmateriaal is op de bodem van de buis gebracht, waarna 50 ml leidingwater is toegevoegd. Aan de slurrie in de kolom is vervolgens 3 ml geëmulgeerde dieselolie toegevoegd, waarna 3 minuten intensief is geroerd met behulp van een magneetroerder. De dieselolie was afkomstig van een tankstation en bestemd voor het gebruik in auto's. Hierna is 3 ml Montanolemulsie toegevoegd en is weer 3 minuten intensief geroerd. Tenslotte is 3 ml Flotanoloplossing toegevoegd en is 1 minuut intensief geroerd. De diesel- en Montanolemulsies zijn verkregen door intensieve menging van 1 ml diesel of 1 ml Montanol 350 (Hoechst, Duitsland) met 200 ml water en een kleine hoeveelheid Eumulgin ET 10 (Henkel, Duitsland). De Flotanol-oplossing is een mengsel van 1 ml Flotanol C7 (Hoechst, Duitsland) en 200 ml water.

Voor de start van de flotatie is een kleine hoeveelheid schuimer (natriumlaurylsulfaat) toegevoegd via de buiswand. Nadat de schuimer via de wand van de buis het vloeistofoppervlak had bereikt, is de flotatie gestart door water, dat bij een druk van 7 bar was verzadigd met lucht, in de kolom te pompen. Het debiet van deze zogenaamde "opgeloste lucht" was tijdens de eerste anderhalve minuut 150 ml/min. Hierna is het debiet gereduceerd tot 80 ml/min. Nadat het schuim de opening van de buis had bereikt (na ± 6 minuten), is de "opgeloste lucht"-toevoer gestopt en het schuim afgescheiden. Van de schuimfractie en het residu zijn de massa, het drogestofgehalte en de PAK concentratie gemeten. Aan de hand hiervan is de verdeling van droge stof en PAK over de schuimfractie en het residu berekend.

3.5.4 Opstromen van fracties van baggerspecie

De fracties 45-90 μm , 125-200 μm en 200-500 μm van Overschie-, Petroleumhaven- en Voorwateringspecie zijn opgestroomd in kolommen die zijn weergegeven in figuur 15. De fracties 45-90 μm en 125-200 μm zijn opgestroomd in kolom A, de fractie 200-500 μm is opgestroomd in kolom B, een smallere kolom waarin hogere opstroomsnelheden konden worden gerealiseerd. Alle experimenten zijn uitgevoerd in duplo.



Figuur 15 Opstroomkolommen

In elk experiment is 40-80 gram nat materiaal in behandeling genomen. Dit sedimentmateriaal is op de bodem van de kolom gebracht, waarna de kolom van onder af is volgepompt met leidingwater. Op het moment dat de kolom vol was, is de pomp gestopt om de specie (gedeeltelijk) te laten bezinken. Na 2 minuten is het opstromen gestart door de pomp weer aan te zetten. Het waterdebiet is ingesteld op 2,7 ml/s, 15,2 ml/s en 11,2 ml/s voor de fracties 45-90 μm , 125-200 μm en 200-500 μm , respectievelijk. Deze debieten komen overeen met opwaartse vloeistofsnelheden van 0,1 cm/s, 0,6 cm/s en 1,9 cm/s. De vaste stof die met het water uit de kolom stroomt is opgevangen op een 32 μm zeef. Het opstromen van de fracties 125-200 μm en 200-500 μm is gestopt na 25 minuten. Bij experimenten met de fracties 45-90 μm is de pomp na 45 minuten gestopt.

Het materiaal in de bovenloop en in het residu is geanalyseerd op droge stof, organische stof en PAK. Aan de hand hiervan is de verdeling van droge stof, organische stof en PAK over het materiaal in de bovenloop en het residu bepaald.

3.5.5 Microscopie

De fracties <32 μm , 45-90 μm , 125-200 μm en 200-500 μm van Overschie-, Petroleumhaven- en Voorwateringspecie zijn bekeken onder een stereomicroscop (maximale vergroting 40x) en onder een UV-fluorescentiemicroscop (vergroting 25x of 100x). Alle monsters zijn hiertoe gedroogd bij 40°C en vervolgens fijngemalen met behulp van een vijzel en mortier.

3.5.6 Dichtheidsscheiding met zware vloeistof

Dichtheidsscheiding van sedimentmateriaal is uitgevoerd op de fracties 45-90 μm , 125-200 μm en 200-500 μm van Overschie- en Petroleumhavenspecie. De dichtheidsscheiding is uitgevoerd in 100 ml bekgelazen gevuld met een natriumpolywolframaatoplossing met een dichtheid van 2,3 kg/l (het scheidingsmedium). Alle experimenten zijn uitgevoerd in duplo.

Het speciemateriaal is gedroogd bij 40 °C, om verdunning van de natriumpolywolframaatoplossing te voorkomen, en fijngemalen met behulp van een vijzel en mortier. In elk experiment is 15-20 gram droog materiaal in behandeling genomen. Dit materiaal is gemengd met de natriumpolywolframaatoplossing door intensief te roeren met een metalen lepel. Vervolgens is het bekeerglas met inhoud 5 minuten ultrasoon getrild waarna de inhoud nogmaals is doorgeroerd. Na nogmaals 5 minuten ultrasoon trillen, is de specie 15 minuten weggezet om een goede scheiding van drijf laag en residu te bewerkstelligen. De drijf laag en het residu zijn vervolgens afgescheiden, nagespoeld met circa 500 ml leidingwater en circa 100 ml demiwater ter verwijdering van polywolframaat en geanalyseerd op droge stof, organische stof en PAK.

4 ONTWIKKELING VAN METHODEN

In dit hoofdstuk wordt beschreven hoe de relevante methoden zijn ontwikkeld en aangepast voor het karakteriseren van baggerspecie: de extractie van baggerspecie met wateroplosbare oplosmiddelen (analytisch-chemische karakterisering) en de biologische afbraak van PAK (biologische karakterisering). De ontwikkeling van deze twee methoden heeft plaatsgevonden met de species van Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop. Aangegeven wordt hoe keuzes zijn gemaakt in de methodenontwikkeling. Voor het opzetten en analyseren van experimenten zijn statistische methoden gebruikt, waarna een proefopzet is gekozen, gebruikmakend van de gekozen statistische methoden.

Door de gekozen opzet van dit hoofdstuk bevatten de volgende paragrafen zowel experimentele resultaten als methodenomschrijvingen. Twee van de hier beschreven methoden worden als concept-protocol zeer gedetailleerd beschreven in bijlage I (protocol voor PAK extractie in azijnzuur) en II (protocol voor biologische PAK-afbraak).

In het ontwikkelingstraject zijn ook methoden beschreven, zoals extractie met niet-wateroplosbare oplosmiddelen, respirometrie, en fotoakoestische methoden.

4.1 Analytisch-chemische karakterisering

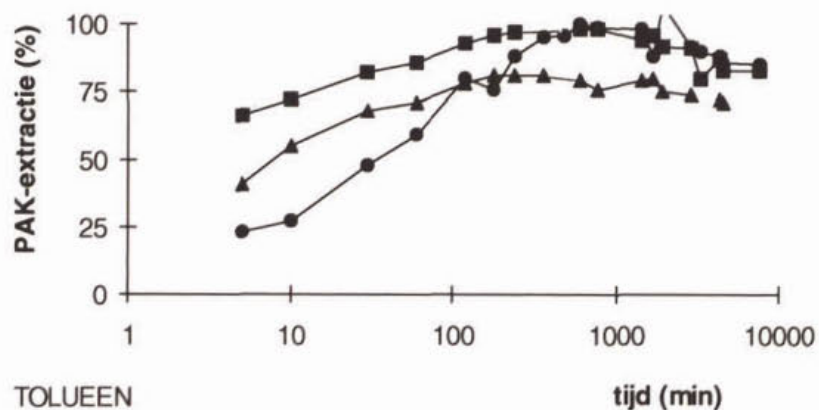
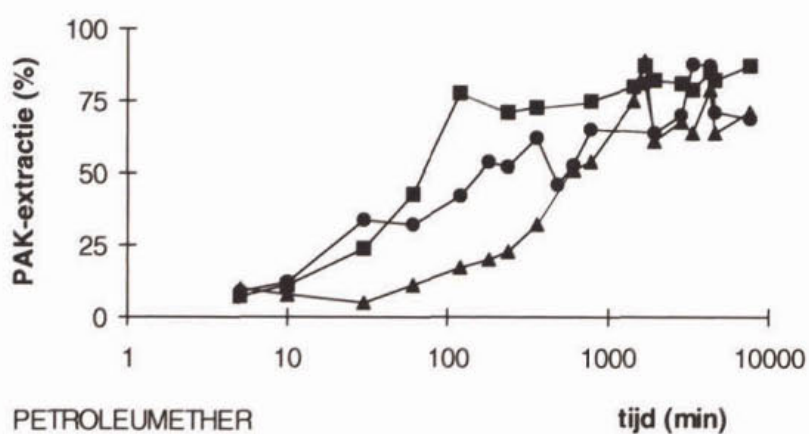
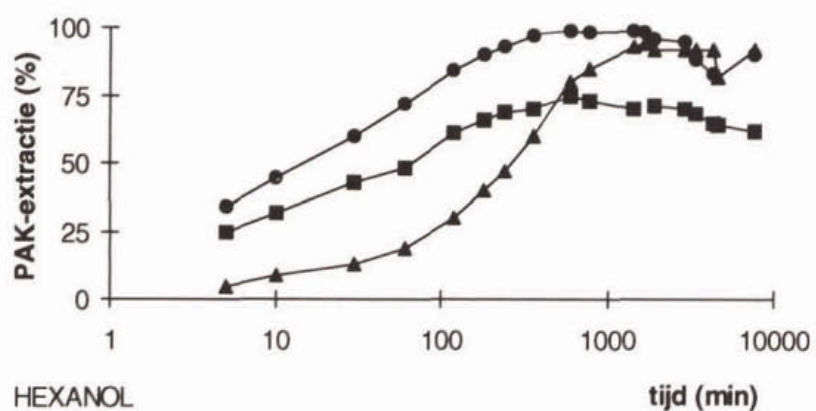
4.1.1 Extractie van PAK met niet of slecht in water oplosbare oplosmiddelen

Species zijn behandeld met niet of slecht in water oplosbare oplosmiddelen die niet in staat zijn in de poriën van een deeltje te dringen.

De resultaten van extractieexperimenten (figuur 16) laten zien dat er verschillen zijn tussen de extractiesnelheden van de verschillende oplosmiddelen hexanol, tolueen en petroleumether en tussen de verschillende species. Aan de hand van deze resultaten wordt geconcludeerd dat petroleumether het oplosmiddel is waarin PAK het traagst geëxtraheerd worden, terwijl de extractie in tolueen het snelst verloopt gedurende de eerste 10 minuten. Hexanol geeft het hoogste extractierendement, terwijl petroleumether gedurende de looptijd van de experimenten altijd het laagste extractierendement heeft. Het extractierendement van de PAK uit de Petroleumhavenspecie is het hoogst en uit de Overschie Rotterdam specie het laagst. Over het algemeen worden PAK uit de specie uit Overschie Rotterdam het traagst geëxtraheerd. In tabel 8 zijn de PAK concentraties in het extract en in het residu weergegeven, de hieruit berekende totale concentratie, het extractierendement en de berekende tijd waarbij 50% van de totaalconcentratie is geëxtraheerd (1/2-extractietijd).

4.1.2 Extractie van PAK met in water oplosbare oplosmiddelen

In figuur 17 is het extractierendement van de verschillende aceton-water-oplossingen voor drie species (Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop) weergegeven. Hierbij valt op dat er vanaf 40volume% aceton een sterke en snelle toename van het extractierendement is en dat na onge-

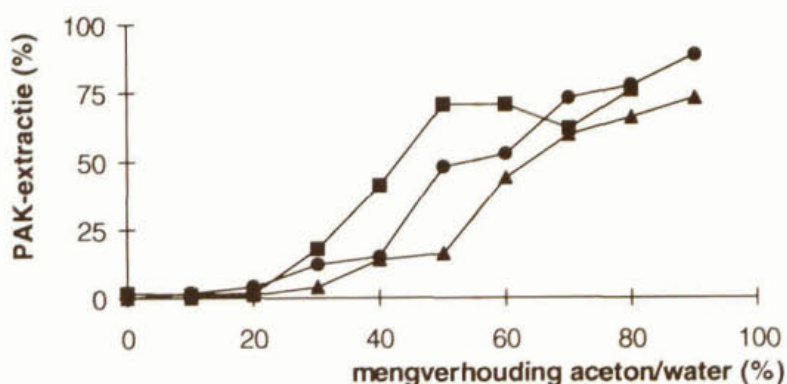


Figuur 16 Extractierendementen van PAK in hexanol, petroleumether en toluene uitgezet tegen de contacttijd. Baggerspecies: ● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop

Tabel 8 PAK concentratie (mg/kg d.s.) in hexanol-, tolueen- en petroleumetherextracten en de residuen van drie species (Overschie, Petroleumhaven, Voorwetering), het maximale extractierendement en de hieruit berekende ½ extractietijd

	Concentratie oplosmiddel (mg/kg ds)	Concentratie residu (mg/kg ds)	totale concentratie (mg/kg ds)	maximaal extractierendement (%)	½ extractietijd (min)
Overschie Rotterdam			83		
petroleumether	74	30	104	71	42
tolueen	50	19	69	72	14
hexanol	71	9	80	89	40
Petroleumhaven			953		
petroleumether	770	183	953	81	29
tolueen	1141	71	1212	94	13
hexanol	1120	25	1145	98	23
Voorwetering Nieuwkoop			64		
petroleumether	82	18	100	82	46
tolueen	46	9	55	84	9
hexanol	45	7	52	87	20

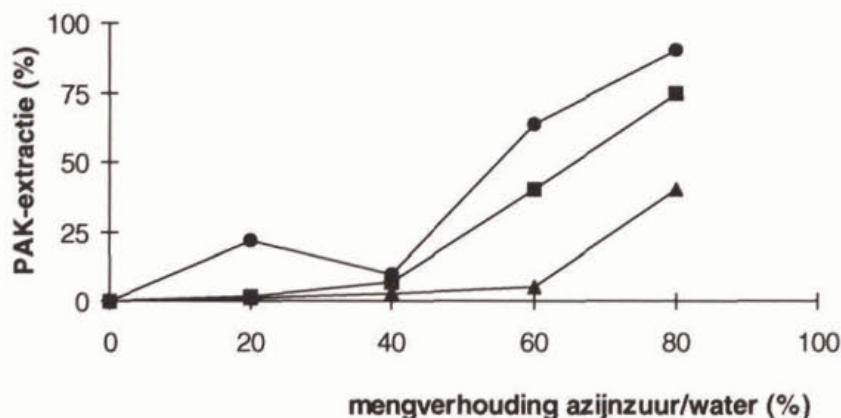
veer 70% er geen toename meer is. Het maximale extractierendement is ongeveer 80% en wordt met alle species behaald. Aceton extraheert bij lagere mengverhoudingen aceton-water meer PAK uit de Voorwetering Nieuwkoop specie. PAK in Overschie Rotterdam specie laat zich het moeilijkst extraheren. Opvallend is dat PAK uit Petroleumhaven moeilijker extraheerbaar is dan uit Voorwetering Nieuwkoop. Bij de gekozen volumeverhoudingen is een hoog percentage aceton nodig om de minerale olie te extraheren. Met 60% aceton wordt slechts 10% minerale olie geëxtraheerd. Dit loopt op tot 40% extractie van de minerale olie bij 80% aceton. Het percentage aceton moet groter zijn dan 90% om een extractierendement van de olie groter dan 80% te verkrijgen.



Figuur 17 Extractierendement (%) van aceton voor PAK uitgezet tegen de mengverhouding aceton-water voor drie species: ● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop

In figuur 18 is het extractierendement bij verschillende azijnzuur-water-mengverhoudingen voor drie species (Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop) weergegeven. Ook hierbij is een sterke toename van het extractierendement waarneembaar vanaf 40% azijnzuur. Een maximaal extractierendement en een plateauwaarde vallen niet uit deze gegevens te halen omdat

daarvoor te weinig meetpunten zijn. Er is boven een concentratie van 60% azijnzuur een duidelijke verschil in extractierendement voor de verschillende species. PAK in Petroleumhavenspecie laten zich verregaand extraheren, terwijl de extractie van PAK uit de Overschie Rotterdamspecie beperkt is.



Figuur 18 Extractierendement (%) van PAK uitgezet tegen de mengverhouding azijnzuur-water voor drie species; ● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop

4.1.3 Selectie van de meest geschikte extractietechniek

Als de effectiviteit van de PAK extractie van de verschillende oplosmiddelen en verschillende mengverhoudingen daarvan, kwalitatief vergeleken wordt met de resultaten van de biologische experimenten (die in de volgende paragrafen kwantitatief worden beschreven) blijkt dat de volgorde naar toenemende biobeschikbaarheid overeen komt met de volgorde van toenemende extraheerbaarheid in azijnzuur en hexanol (zie tabel 9).

Tabel 9 Rangorde in analytische en biologische beschikbaarheid van PAK in drie species (OR = Overschie Rotterdam, PH = Petroleumhaven, VN = Voorwetering Nieuwkoop)

Extraheerbaarheid ¹⁾	aceton 40%	azijnzuur 60%	$\frac{1}{2}$ extractie snelheid	Hexanol ²⁾	Tolueen ²⁾	petroleum-ether ²⁾	biolog. afbraak	Biol. ³⁾ afbreekbaarheid
laag %	VN	PH	kort	PH	VN	VN	groot	PH
	PH	VN		VN	PH	PH		VN
hoog %	OR	OR	lang	OR	OR	OR	klein	OR

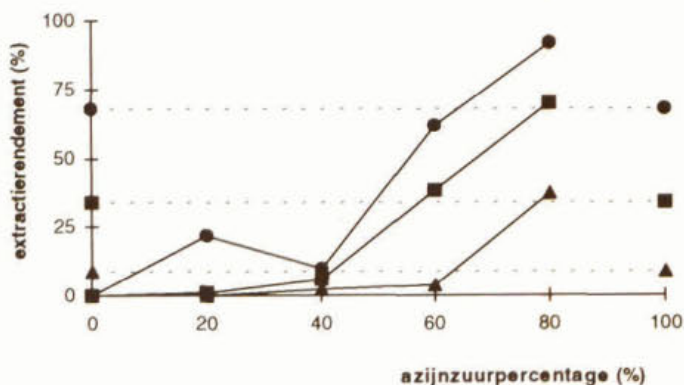
¹⁾ laag % = extraheerbaarheid bij lage concentratie oplosmiddel in water

²⁾ extraheerbaarheid in watervrije oplosmiddelen

³⁾ volgorde van de drie species, PAK afbraak gemeten over een periode van 8 weken.

Extractie met hexanol is praktisch moeilijk uitvoerbaar vanwege de hoge viscositeit van dat oplosmiddel. Aceton zou een bruikbaar oplosmiddel kunnen zijn bij andere vast-vloeistof-verhoudingen. Als de azijnzuurextractie en de acetoneextractie met elkaar worden vergeleken, neemt het extractierendement in azijnzuur bij een stijgend oplosmiddelpercentage minder snel toe dan in aceton: azijnzuur heeft groter onderscheidend vermogen. Hierdoor zal het resultaat van een azijnzuur-water-extractie minder gevoelig zijn voor kleine verschillen in de mengverhouding. Aan de hand van de later te presenteren resultaten van de biologische PAK afbraak (figuur 19) is afgeleid dat de extractie van PAK met 60-70% azijnzuur mogelijk een voorspeling geeft van de biologisch

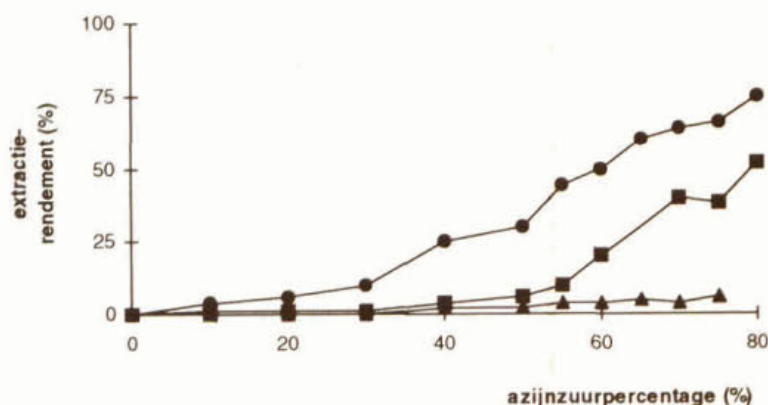
beschikbare PAK. Azijnzuurextractie lijkt een onderscheid te maken tussen de species mogelijk overeenkomend met de biologische reinigbaarheid. Van de onderzochte oplosmiddelen is azijnzuur het geschiktst gebleken voor de chemische karakterisering. In de navolgende paragrafen wordt beschreven hoe de extractieprocedure met azijnzuur verder is uitgewerkt.



Figuur 19 Extractierendement (%) van PAK uitgezet tegen de mengverhouding azijnzuur-water voor drie species. De horizontale onderbroken lijnen zijn het niveau van biologische afbraak (● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop).

4.1.4 PAK extractie met azijnzuur

Op grond van de in de vorige paragrafen beschreven resultaten is de PAK extractie met azijnzuur nader onderzocht om tot een standaardmethode te komen. Voor deze experimenten is gebruik gemaakt van kleinere tussenstappen in azijnzuurpercentage, zodat een beter inzicht in het verloop van het extractierendement tegen de azijnzuurconcentratie verkregen kon worden. De resultaten zijn weergegeven in figuur 20.



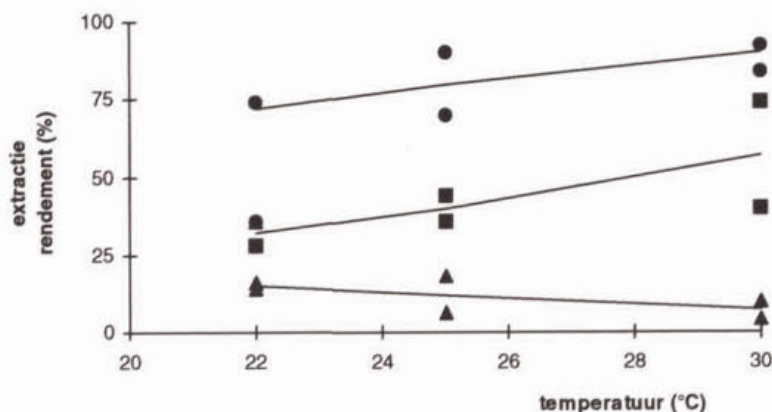
Figuur 20 Extractierendement (%) van PAK uitgezet tegen de mengverhouding azijnzuur-water voor drie species (● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop).

Gezien de overeenstemming tussen het percentage van de (later te beschrijven) gemeten biologisch afgebroken PAK in de species uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop, en het percentage PAK dat wordt geëxtraheerd met 70% azijnzuur, is gekozen voor een azijnzuurpercentage van 70%.

De extractie van PAK in 70% azijnzuur is getest op gevoeligheid voor de parameters: - temperatuur waarbij de extractie wordt uitgevoerd, - contacttijd van het oplosmiddel met het monster en - verhouding baggerspecie/oplosmiddel.

Temperatuur

Figuur 21 laat het extractierendement zien bij verschillende werktemperaturen. Extractie bij lagere temperatuur (15 °C) is deels onpraktisch indien geen gethermostatiseerde laboratoriumruimte aanwezig is met die temperatuur, en geeft een lage opbrengst bij de gekozen extractietijd. De invloed van de temperatuur op het extractierendement in het traject 22 tot 30 °C is groot. De extractie dient met het oog op reproduceerbaarheid uitgevoerd te worden bij een vaste temperatuur tussen 20 en 25 °C.



Figuur 21 Invloed van temperatuur op het extractierendement van 70% azijnzuur voor PAK (▲ Overschie Rotterdam, ● Petroleumhaven, ■ Voorwetering Nieuwkoop).

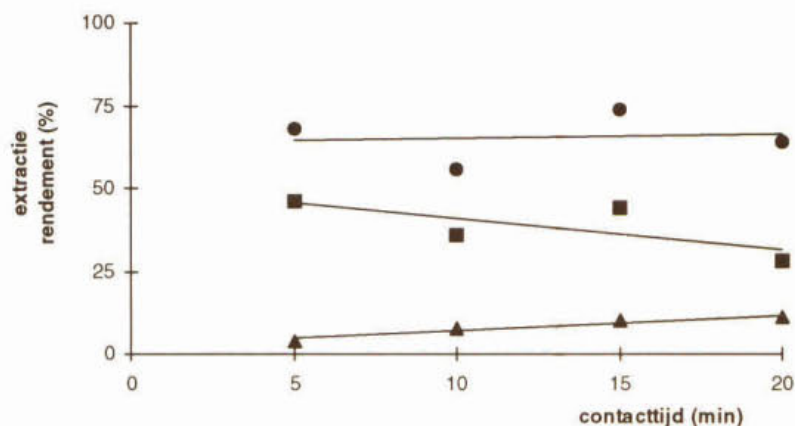
Contacttijd

Aangezien lange contacttijden in de praktijk niet wenselijk zijn, is gezocht naar een contacttijd in de orde grootte van tientallen minuten. In figuur 22 is het resultaat van de experimenten weergegeven waaruit blijkt dat het extractierendement gelijk blijft bij een contacttijd tussen 5 en 20 minuten. Besloten is een contacttijd te gebruiken van 10 minuten, een tijd die ook wordt gehanteerd in NEN 5771.

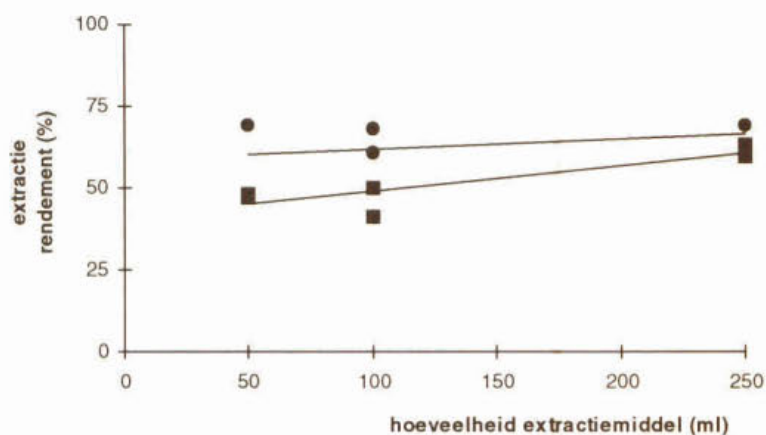
Bij een veel langere contacttijd (meer dan 16 uur) is het extractierendement aanzienlijk hoger. Voor Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop neemt het extractierendement toe tot respectievelijk 80 en 60%. Zulke extractietijden zijn niet wenselijk als een snelle test gewenst wordt om de biologische reinigbaarheid te toetsen.

Hoeveelheid extractiemiddel

De hoeveelheid extractiemiddel kan beperkend zijn voor de hoeveelheid op te lossen PAK. Om na te gaan of niet te weinig oplosmiddel is gebruikt, is het extractierendement onderzocht voor een monster met 50 ml (zoals bij voorgaande experimenten het geval was), 100 en 250 ml. In figuur 23 is het extractierendement uitgezet tegen de hoeveelheid oplosmiddel.



Figuur 22 Invloed van contacttijd op het extractierendement van 70% azijnzuur voor PAK (● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop).



Figuur 23 Invloed van de hoeveelheid oplosmiddel op het extractierendement (%) van 70% azijnzuur voor PAK (● Petroleumhaven, ■ Voorwetering Nieuwkoop)

In de figuur 23 is een lichte stijging zichtbaar bij toenemende hoeveelheid oplosmiddel. Dit is te verwachten omdat bij een grotere vloeistof/vastestof-verhouding de omstandigheden voor extractie beter worden. De extractietijd moet dan kleiner worden om hetzelfde extractierendement te verkrijgen. Het ontbreken van een sterke stijging bij grotere volumina dan 50 ml heeft geleid tot de conclusie dat bij de gebruikte hoeveelheid van 50 ml het volume niet beperkend is voor de oplosbaarheid van PAK.

Op grond van de resultaten in paragraaf 4.1 wordt geconcludeerd dat voor de analytisch-chemische extractie van de biologische beschikbare PAK uit baggerspecie de volgende extractieomstandigheden optimaal zijn: extractie in 70% azijnzuur gedurende 10 minuten bij een temperatuur van 22 °C en een vastestof/vloeistof-verhouding van 1 op 10.

4.2 Biologische karakterisering

4.1.2 Biologische PAK afbraak

Om de biologische PAK afbraak in baggerspecie te bepalen zijn biologische afbraakexperimenten uitgevoerd waarbij aanvankelijk werd uitgegaan van een ongewijzigd DECHEMA protocol voor het meten van de biologische reinigbaarheid van landbodems [DECHEMA, 1992].

Om de bruikbaarheid van het DECHEMA protocol te testen zijn experimenten uitgevoerd met drie baggerspecies afkomstig uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop. Gedurende de experimenten werd om de dag de pH gemeten. Aangezien de pH in het incubatiemedium tijdens de biologische behandeling daalde, werd na zes weken de waterfase geanalyseerd op anionen (tabel 10).

Tabel 10 Analysegegevens van de waterfase na biologische PAK afbraakexperimenten conform het DECHEMA-protocol

Baggerspecie	tijd (weken)	pH	nitriet (mg/l)	nitraat (mg/l)	sulfaat (mg/l)
Overschie Rotterdam	0	7,9	n.g.	n.g.	n.g.
Overschie Rotterdam	6	5,3	430	500	232
Petroleumhaven	0	7,1	0	5	116
Petroleumhaven	6	6,8	65	300	1010
Voorwetering Nieuwkoop	0	7,1	n.g.	n.g.	n.g.
Voorwetering Nieuwkoop	6	4,0	172	230	464

n.g.: niet gemeten, aangezien de sedimenten anaëroob waren en anaëroob zijn opgeslagen mag worden verondersteld dat de concentraties laag zijn geweest.

De resultaten van de analyses van de zuurgraad laten zien dat na 6 weken incubatie de pH in het incubatiemedium met Voorweteringspecie tot pH 4 was gezakt. Na één week was de pH al <6. Voor een optimale PAK afbraak is een pH tussen de 6 en 7 noodzakelijk [Stefess en Van Andel, 1996]. Ook bij de Overschiespecie wordt een pH verlaging waargenomen: na anderhalve week is de pH <6 en na zes weken 5,3. De pH bij het experiment met de Petroleumhavenspecie blijft nagenoeg constant.

De waterfase blijkt na enige tijd sulfaat, nitriet en nitraat te bevatten, die tijdens de incubatie zijn gevormd uit sulfide en ammonium. Deze oxidatieprocessen leiden ook tot vorming van H^+ . Afhankelijk van de buffercapaciteit van een baggerspecie zal deze H^+ -vorming een meer of minder sterke pH daling in het medium veroorzaken.

De gevonden concentraties nitriet (>100 mg/l) kunnen toxisch zijn voor micro-organismen waardoor de PAK afbraak ook geremd wordt [Eikelboom, 1996; Hunik, 1993].

Geconcludeerd wordt dat het DECHEMA-protocol voor landbodems niet voldoet voor het testen van de PAK afbraak in baggerspecie, hetgeen bevestigd is bij onderzoek aan het VITO [Diels, persoonlijke mededeling, november 1996].

Om de nitrietvorming te beperken en de pH daling te voorkomen zijn de NH_4^+ -concentratie verlaagd en de bufferconcentratie verhoogd (zie tabel 11).

Uit tabel 11 blijkt dat een mediumsamenstelling met een 60 maal verhoogde buffercapaciteit en een 3 maal verlaagde NH_4^+ -concentratie ten opzichte van het DECHEMA protocol bij alle geteste baggerspecies voldoet. Deze concentraties zijn verder gebruikt bij de karakteriseringsexperimenten zoals beschreven in hoofdstuk vijf en zeven.

De veranderingen van de PAK concentratie in drie species die getest zijn op de biologische reinigbaarheid met behulp van het ongewijzigde en het aangepaste medium, zijn weergegeven in tabel 12.

Tabel 11 Invloed van de mediumsamenstelling op de pH en de nitrietvorming tijdens de biologische PAK afbraak. -: voldoet niet; +: voldoet, d.w.z. pH >6, nitrietconcentratie < 100 mg/l.

Baggerspecie locatie	Fosfaat buffer	NH_4Cl^a	pH	nitriet
Overschie	1	1	-	-
	1	2	-	-
	60	2	+	-
	60	5	+	-
	60	1/3	+	+
Petroleumhaven	1	1	+	+
	1	2	+	+
	60	2	+	+
	60	5	+	+
	60	1/3	+	+
Voorwetering	1	1	-	+
	1	2	-	+
	60	2	+	+
	60	5	+	-
	60	1/3	+	+

^a: concentratiefactor t.o.v. DECHEMA protocol

Tabel 12 Vergelijking van de PAK afbraak (8TSL) na biologische behandeling volgens het DECHEMA protocol en volgens het protocol met aangepast medium

Baggerspecie locatie	Protocol	[PAK]begin (mg/kg d.s.)	[PAK]eind (mg/kg d.s.)	PAK-afbraak (%)	t-toets ¹⁾
Overschie Rotterdam	DECHEMA	130	144	0	niet significant
Overschie Rotterdam	aangepast	116	106	9	niet significant
Petroleumhaven	DECHEMA	986	227	77	significant
Petroleumhaven	aangepast	767	247	68	significant
Voorwetering Nieuwkoop	DECHEMA	77	67	13	significant
Voorwetering Nieuwkoop	aangepast	91	60	34	significant

¹⁾ Met de t-toets wordt bepaald of het verschil tussen de PAK concentratie aan het begin en aan het eind van de proef significant is.

4.2.2 O₂-consumptie

Om na te gaan of in de werkwijze conform het DECHEMA protocol met het aangepaste medium de zuurstofaanvoer al dan niet beperkend is, is de PAK afbraak in drie baggerspecies getest in een geroerde bioreactor (een energie-intensief systeem), waarbij de zuurstofspanning in de slurrie boven de 50% verzadiging (onder lucht) is gehouden.

Op grond van de in tabel 13 weergegeven resultaten wordt geconcludeerd dat in de uitvoeringsvorm conform het aangepaste DECHEMA protocol de PAK afbraak niet gelimiteerd wordt door een tekort aan zuurstof omdat de afbraak niet gestimuleerd of geremd wordt ten opzichte van die in de minder intensief geroerde Duran-flessen. Het aangepaste DECHEMA protocol voldoet daarmee aan de zuurstofaanvoer voor de biologische toets.

Tabel 13 *Overzicht van de PAK afbraak (8TSL) na biologische behandeling volgens het aangepaste protocol in Duranflessen en na biologische behandeling in een bioreactor*

Baggerspecie Locatie		[PAK]begin (mg/kg d.s.)	[PAK]eind (mg/kg d.s.)	PAK afbraak (%)	t-toets ¹⁾
Overschie Rotterdam	Duran flessen	116	106	9	niet significant
Overschie Rotterdam	bioreactor	124	108	14	significant
Petroleumhaven	Duran flessen	767	247	68	significant
Petroleumhaven	bioreactor	822	244	70	significant
Voorwetering Nieuwkoop	Duran flessen	91	60	34	significant
Voorwetering Nieuwkoop	bioreactor	101	67	33	significant

¹⁾ De t-toets geeft aan of het verschil tussen de gemeten PAK concentratie aan het begin en aan het eind van de proef significant is.

4.2.3 Systeemafhankelijkheid van de toets met het aangepaste DECHEMA protocol

De vergelijking van de PAK afbraak in bioreactoren (fermentoren) en Duran flessen, zoals in de vorige paragraaf beschreven, doet vermoeden dat de toets volgens het aangepaste DECHEMA protocol systeem onafhankelijk is, met andere woorden dat het de biologische reinigbaarheid meet onafhankelijk van de saneringstechnologie (bioreactor, landfarm). Om dit nader te toetsen zijn de reinigingsresultaten vergeleken met die gevonden in elders gepubliceerd onderzoek.

De PAK afbraak zoals gegeven in tabel 13 komt overeen met de resultaten die andere onderzoeksgroepen hebben gevonden in reinigingsexperimenten met Petroleumhavenspecie [POSW, 1997; Kleijntjens et al., 1995; Joziase, 1995; Harmsen, 1997]. Bovenstaande referenties beschrijven vier verschillende systemen, geroerde tank, intensief geroerde bioreactor, beluchtingsbassin en landfarm. Dit is een verdere indicatie dat de ontwikkelde toets volgens het aangepaste DECHEMA protocol systeemonafhankelijk is.

De gevonden reinigingsresultaten met de specie afkomstig uit Voorwetering Nieuwkoop komen overeen met de resultaten van de biologische PAK afbraak uitgevoerd in 6 liter vaatjes met specie op rollenbanken [Feenstra, 1991; Anonymus, 1994].

Gezien de goede overeenkomsten met de in de praktijk behaalde resultaten wordt geconcludeerd dat het aangepaste DECHEMA protocol een betrouwbare systeemafhankelijke uitspraak kan doen over de PAK afbraak in waterbodems.

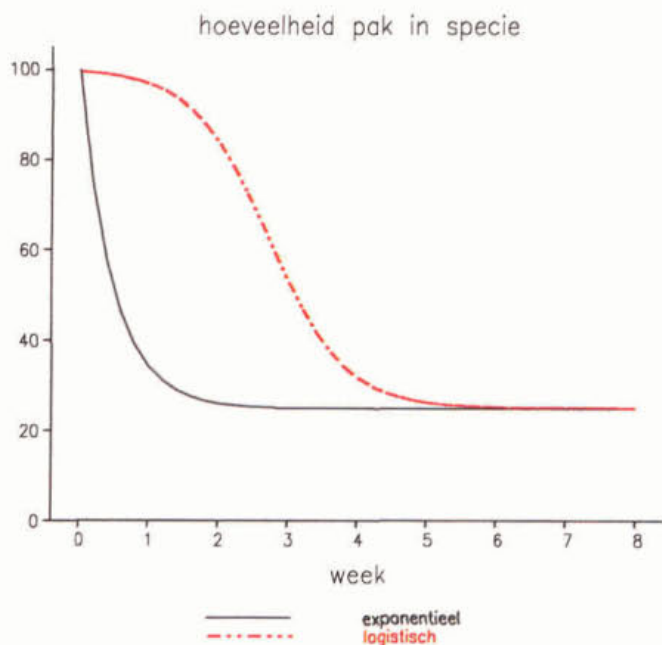
4.2.4 Statistische opzet van de experimenten

Om de betrouwbaarheid van de resultaten te bepalen is met behulp van statistische methoden vastgesteld welke proefopzet (aantallen monsters, gewenste nauwkeurigheid en gewenste betrouwbaarheid) gekozen kan worden en hoe de experimentele resultaten statistisch getoetst kunnen worden om significantie en betrouwbaarheid vast te stellen.

Op grond van de literatuur mag verondersteld worden dat de snelheid van de afbraak en het moment waarop deze plaatsvindt afhankelijk is van het aantal ringen in het PAK molecuul. Bij PAK met 2-3 ringen kan op een vroeg tijdstip snel afbraak plaatsvinden, terwijl bij meer dan 4 ringen dit op een later tijdstip en minder snel zal geschieden. Wiskundige modellen die dit beschrijven zijn de exponentiële kromme voor de snelle afbraak en de logistische kromme voor de latere afbraak; in figuur 24 is een voorbeeld van elk type kromme opgenomen.

Voor de baggerspecies Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop en voor PAK met verschillende aantallen ringen zijn de gegevens met behulp van deze exponentiële en logistische functies gemodelleerd. De veronderstellingen (vorige alinea) zijn globaal bevestigd. Het blijkt niet altijd mogelijk de parameters voor het logistische of exponentiële model betrouwbaar te schatten, omdat de afbraak in een zeer kort tijdsbestek plaatsvindt. Zoals aangegeven in tabel 14 blijkt dat afbraak vóór week 4 plaatsvindt.

Besloten is om de statistische analyses over PAK concentraties aan het begin en aan het eind van een periode van vier weken te doen en niet over de snelheid van de afbraak gedurende deze vier weken.



Figuur 24 Voorbeelden van een logistische - en een exponentiële kromme

Tabel 14 Resultaten van de éénweg variantieanalyses, gemiddelden van de hoeveelheden PAK en de spreiding s.

Baggerspecie locatie	[PAK]begin week 0	[PAK] week 4	[PAK]eind week 8	s	s/week 0
	(mg/kg d.s.)	(mg/kg d.s.)	(mg/kg d.s.)		
Overschie	116.2	124.0	105.6	23.6	20%
Petroleumhaven	767	281 ^{***}	247 ^{***}	60	8%
Voorwetering	91.2	64.2 ^{***}	59.5 ^{***}	4.8	5%

***) [PAK] significant ($\alpha=5\%$) lager dan op tijdstip 0.

Geconcludeerd kan worden dat er geen systematiek is in de spreiding tussen de PAK analyseresultaten van de species uit vier flessen geofferd op één tijdstip en dat de restspreiding in de PAK analyse ongeveer 10% is.

Gebruik makend van ISO 3494 kan het aantal incubaties per specie en per meetpunt worden vastgesteld: bij een spreiding in de PAK analyses van 10% zoals in dit onderzoek, een gewenste betrouwbaarheid van 95%, een op minimaal 20% vastgesteld aantoonbaar afbraakpercentage, is het gewenste aantal incubaties vier (tabel 15). Indien de vast te stellen afbraak kleiner of groter is dan de in dit onderzoek gekozen 20%, of indien de gevonden spreiding in de PAK analyses groter of kleiner is dan de in dit onderzoek gevonden 10%, kan het aantal incubaties anders gekozen worden (tabel 15). Gezien de problemen die wel eens ontstaan bij de analyses of in het lab (breuk) verdient het de voorkeur om meer flessen in te zetten.

Tabel 15 Bepaling van het aantal incubaties per meetpunt bij een betrouwbaarheid van 95% en een power van 80%

Vast te stellen afbraak	In één laboratorium gevonden spreiding			
	7%	10%	15%	20%
10%	8	14	26	51
20%	3	4	9	14
30%	2	3	4	7

De op een specie uitgevoerde toets kan bij vier monsters per meetpunt met een betrouwbaarheid van 95% aantonen dat er PAK afbraak heeft plaatsgevonden, dat wil zeggen dat de kans 5% is dat er ten onrechte wordt besloten dat afbraak heeft plaatsgevonden. Het onderscheidend vermogen (de power) is 80%, dat wil zeggen de kans 80% is dat terecht is besloten dat er afbraak heeft plaatsgevonden. In dit onderzoek is wel de voorwaarde dat de afbraak groter of gelijk is dan 20% van de oorspronkelijke concentratie PAK.

4.2.5 Respiratiemetingen

Naast de PAK afbraakexperimenten zijn ook respiratiemetingen uitgevoerd waarbij de zuurstofconsumptie en de kooldioxideproductie werden gevolgd met behulp van de Micro-oxymax, om te bepalen of de O₂-consumptie en de CO₂-productie een indicatie geven of actieve biomassa in de baggerspecie aanwezig is. Daarnaast is gekeken of de O₂-consumptie en CO₂-productie gerelateerd kunnen worden aan biologische PAK- en olieafbraak. De respiratiegegevens gemeten met de Micro-oxymax staan weergegeven in tabel 16.

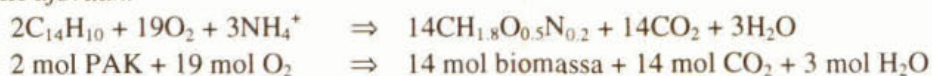
Tabel 16 Gemeten cumulatieve O₂-consumptie en CO₂-productie bij biologische behandeling van baggersoecie gedurende 6 weken incubatie.

Baggerspecie locatie	O ₂ -consumptie gemeten (mg/l)	CO ₂ -productie gemeten (mg/l)
Overschie Rotterdam	2100	325
Petroleumhaven	5540	1290
Voorwetering Nieuwkoop	2000	200

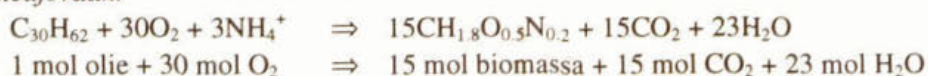
De gemeten zuurstofconsumptie en kooldioxideproductie geven aan dat de drie geselecteerde baggerspecies een actieve populatie micro-organismen bevatten en geen ent behoeft te worden toegevoegd.

Uit de twee onderstaande reactievergelijkingen kan berekend worden hoeveel zuurstof en kooldioxide geconsumeerd dan wel gevormd kunnen worden uit de biologische omzetting van PAK en minerale olie.

PAK afbraak:



Olieafbraak:



De hieruit berekende waarden voor O₂-consumptie en CO₂-productie zijn in tabel 17 weergegeven.

Tabel 17 *Berekende O₂-consumptie en CO₂-productie bij volledige oxidatie van PAK en olie in een 5% baggerspecie*

Baggerspecie locatie	O ₂ -consumptie berekend (mg/l)	CO ₂ -productie berekend (mg/l)
Overschie Rotterdam	100	65
Petroleumhaven	1570	1090
Voorwetering Nieuwkoop	120	90

De berekende waarden komen niet overeen met de gemeten waarden. De gemeten O₂-consumptie is bij de drie baggerspecie vele malen groter dan de berekende. Ook de CO₂-productie is hoger dan de berekende waarde. De oorzaak van de hoge O₂-consumptie is dat naast biologische afbraak van PAK en minerale olie ook andere organische verbindingen worden geoxideerd evenals anorganische verbindingen, zoals sulfide en ammonium. De bijdrage van deze omzettingen aan de zuurstofconsumptie is vele malen hoger dan die van de biologische afbraak van PAK en minerale olie. Een kwantitatieve relatie tussen PAK- en olieafbraak en zuurstofverbruik en kooldioxideproductie valt niet te leggen. Pas als de afbraak van de organischestof bepalend wordt voor de afbraak van PAK kan de CO₂ productie in relatie gebracht worden met de PAK afbraak. Dat is in dit onderzoek niet nagegaan. Gezien bovenstaande resultaten lijkt verder onderzoek naar de kwalitatieve of kwantitatieve relatie tussen respiratiesnelheden en PAK afbraak ook niet relevant. Respiratiemetingen geven aan dat de baggerspecies een actieve biologische populatie bevatten en dat geen ent nodig is om de PAK afbraak te activeren, maar geven geen kwantitatieve informatie over de PAK afbraak. Het DECHEMA protocol geeft voldoende informatie en behoeft niet te worden uitgebreid met respiratiemetingen.

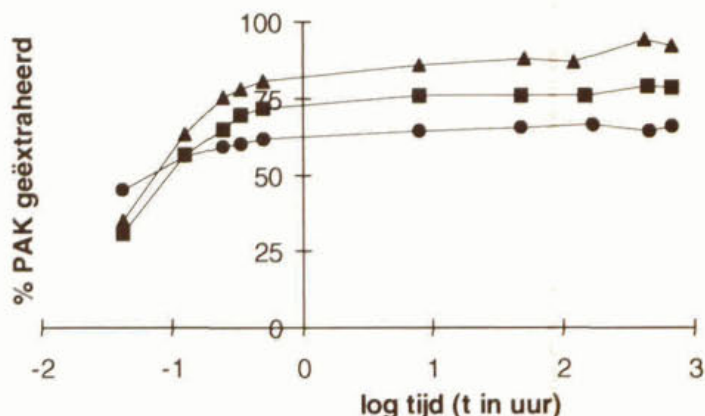
4.3 Fysisch-chemische karakterisering

4.3.1 Solventextractie van PAK uit baggerspecie

Er is getracht een solventextractieprocedure te ontwikkelen voor het bepalen van de verschijningsvorm van PAK in fracties van baggerspecie. Bij de ontwikkeling is uitgegaan van een 50/50 (v/v) aceton/water-mengsel als solvent. Alle extractieexperimenten zijn uitgevoerd bij 20°C.

In een eerste oriënterend experiment is de bruikbaarheid van een eenvoudige experimentele opzet getoetst. De fracties <32 µm, 45-90 µm, 125-200 µm en 200-500 µm van Petroleumhavenspecie zijn 2 uur geëxtraheerd met een 1/1 aceton/watermengsel, bij een vast/vloeistof-verhouding van 1/7,5 g/ml. Hierbij is het verloop van de PAK concentratie in de tijd gemeten. Bij het oriënterende experiment traden twee problemen op: (1) de maximale oplosbaarheid van PAK in het solvent werd mogelijk benaderd als gevolg van de hoge PAK concentratie in de sedimentfracties, hetgeen het verder oplossen van de PAK beperkte, (2) de duur van het extractieproces is mogelijk te kort geweest om alle PAK te kunnen extraheren. Hierdoor kon geen verband gelegd worden tussen de extractiekinetiek en de fysische verschijningsvorm van PAK. Daarom heeft verder onderzoek zich geconcentreerd op het optimaliseren van de parameters vast/vloeistof-verhouding en extractietijd.

Om te onderzoeken of in het oriënterende experiment het volledig oplossen van PAK is gehinderd door een te hoge vast/vloeistof-verhouding is Petroleumhavenspecie ook geëxtraheerd bij twee lagere vast/vloeistof-verhoudingen. Petroleumhavenspecie is vier weken end-over-end geëxtraheerd. Het resultaat van deze extracties is weergegeven in figuur 25.



Figuur 25 Verloop van de PAK extractie uit Petroleumhavenspecie gedurende vier weken extractie met een 1/1 (v/v) aceton/water-mengsel bij vast/vloeistof-verhoudingen van 1/7,5, 1/37,5 en 1/75 g/ml (● 1/7,5 ml, ■ 1/37,5 ml, ▲ 1/75 ml)

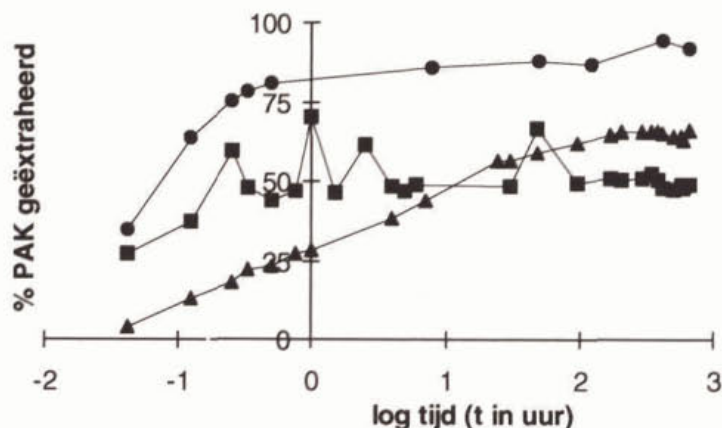
Figuur 25 toont de invloed van de vast/vloeistof-verhouding op de extractiekinetiek. Bij een hoge vast/vloeistof verhouding limiteert de hoge PAK concentratie in oplossing inderdaad het verder oplossen van andere PAK. Voor de interpretatie van de extractiekinetiek is het noodzakelijk dat de PAK concentratie in de vloeistof laag blijft.

Er is daarom besloten om bij solventextractie te werken met lage vast/vloeistof-verhoudingen, zodat gedurende het gehele extractieexperiment een drijvende kracht aanwezig is voor het oplossen van PAK. Een praktische voorwaarde is dat de PAK concentratie in oplossing meetbaar blijft. Er is voor vervolgentoelagen afgeleid dat de vast/vloeistofverhouding (g/l) moet voldoen aan de volgende formule:

$$\text{vast / vloeistof verhouding} \leq \frac{17}{\text{PAK concentratie}}$$

Dit komt overeen met een vast/vloeistof-verhouding van 1/75 g/ml voor Petroleumhavenspecie. De PAK concentratie wordt uitgedrukt in mg PAK per kg d.s. Bij het strikt toepassen van de gegeven formule worden bij lage PAK concentraties dermate hoge vast/vloeistof-verhoudingen gebruikt dat de slurry niet meer goed mengbaar is. Daarom is in verdere experimenten maximaal een vast/vloeistof-verhouding van 1/5 g/ml toegepast.

Voor meer inzicht in de minimale extractietijd bij solventextractie zijn naast Petroleumhavenspecie ook Overschie Rotterdamspecie en Voorwetering Nieuwkoop-specie vier weken end-over-end geëxtraheerd (25 r.p.m.) met een 50/50 (v/v) aceton-watarmengsel. Extractie vond plaats bij vast/vloeistof-verhoudingen van 1/7,5 g/ml voor Overschiespecie en 1/15 g/ml voor Voorweteringspecie. Bij deze vast/vloeistof-verhoudingen trad geen oplosbaarheidslimitatie op. Het verloop van de PAK concentratie in de vloeistoffase in de tijd is gevolgd. Het resultaat van de extracties is weergegeven in figuur 26, waarin ook de resultaten van extractie van Petroleumhavenspecie bij een vast/vloeistof-verhouding van 1/75 zijn opgenomen.



Figuur 26 Verloop van de PAK extractie uit Overschie Rotterdam-, Petroleumhaven- en Voorwetering Nieuwoopspecie gedurende 4 weken extractie met een 1/1 (v/v) aceton/water-mengsel (● Petroleumhaven, ▲ Overschie Rotterdam, ■ Voorwetering Nieuwkoop).

Figuur 26 toont een groot verschil in extractiekinetiek voor de drie species. De figuur laat zien dat de geëxtraheerde hoeveelheid PAK bij Petroleumhaven- en Voorwetering Nieuwoopspecie zich snel stabiliseert, terwijl de geëxtraheerde hoeveelheid PAK bij de extractie van Overschie Rotterdamspecie zelfs na 200 uur extraheren nog toeneemt. De optimale extractietijd is derhalve sterk specieafhankelijk.

Uit figuur 26 blijkt ook dat zelfs na 4 weken extraheren niet alle PAK verwijderd zijn uit Overschie- en Voorweteringspecie. Dit kan twee redenen hebben: (1) de resterende hoeveelheid PAK is zeer sterk gebonden aan de bodemmatrix en niet beschikbaar voor het oplosmiddel, (2) de hoeveelheid organische stof in Overschie- en Voorweteringspecie is groter dan die in Petroleumhavenspecie zodat na het instellen van het PAK verdelingsevenwicht meer PAK in de vaste fase van de eerste twee species aanwezig zijn.

Bij vergelijking van de resultaten in figuur 26 met resultaten van biologische afbraakexperimenten blijkt dat de hoeveelheid PAK, die is geëxtraheerd na 10 minuten, overeenkomt met de hoeveelheid PAK die is afgebroken in de biologische experimenten (tabel 18). Een tien minuten durende extractie van baggerspecie met een 50/50 (v/v) aceton/water-mengsel kan dus mogelijk een indicatie geven van de hoeveelheid PAK die beschikbaar is voor biologische afbraak.

De resultaten van de analytische beschikbaarheid in 70% azijnzuur, de biologische afbraak en de fysisch-chemische verwijdering door solvent-extractie van de drie geselecteerde baggerspecies zijn samengevat in tabel 18.

Tabel 18 Overzicht van de PAK-verwijdering (8TSL) bij de drie baggerspecies in de analytisch-chemische en biologische karakteriseringsproeven

Baggerspecie locatie	Analytisch-chemische ¹ PAK-extractie (%)	Biologische PAK-afbraak (%)	Solventextractie ² PAK verwijdering (%)
Overschie Rotterdam	4	9	14
Petroleumhaven	64	69	68
Voorwetering Nieuwkoop	40	38	36

1: Extractie van PAK met 70% azijnzuur

2: Extractie van PAK met 1/1 aceton/water mengsel gedurende 10 minuten

Bij de analytisch-chemische, de biologische en de fysisch-chemische karakterisering voor de drie geteste baggerspecie worden overeenkomstige PAK verwijderingspercentages gevonden. Deze relatie wordt voor negentien species nader beschreven en statistisch geanalyseerd in het hoofdstuk 5.

4.3.2 Hydrolyse

Overschie Rotterdam-, Petroleumhaven- en Voorwetering Nieuwkoop-specie zijn gezeefd over een 2 mm zeef en vervolgens gehydrolyseerd volgens een methode die is gebaseerd op een protocol van de International Humic Substances Society (IHHS). Van elke specie is een dusdanige hoeveelheid materiaal in behandeling genomen dat altijd ± 160 gram organische stof aanwezig was. De experimenten zijn uitgevoerd bij 20 °C.

Monsters van een baggerspecie zijn met 1M HCl aangezuurd tot pH 1 à 2, waarna het mengsel met 0,1 M HCl is aangevuld tot een vast/vloeistof-verhouding van 1/10 g/ml en 1 uur krachtig is geroerd. Hierna is het mengsel gecentrifugeerd (10 min., 2.500 g) en is het supernatant met daarin opgelost de fulvozuren afgeschonken. Het residu is met 1 M NaOH geneutraliseerd tot pH 7, waarna het onder N₂ met 0,1 M NaOH is aangevuld tot een vast/vloeistof-verhouding van 1/10 g/ml en minimaal 4 uur krachtig is geroerd. Hierna is het mengsel gecentrifugeerd (10 min., 2.500 g). Het residu is nog twee maal met loog behandeld.

Het supernatant met daarin opgelost de humuszuren is onder krachtig roeren aangezuurd met 6 M HCl tot pH 1. Na twaalf uur zijn de neergeslagen humuszuren afgescheiden door centrifugeren (10 min., 2.500 g). De neergeslagen humuszuren zijn vervolgens opnieuw opgelost door het toevoegen van een minimale hoeveelheid 0,1 M KOH (onder N₂). Hierna is KCl is toegevoegd tot een concentratie van 0,3 M en is gecentrifugeerd (15 min, 2.500 g) ter verwijdering van gesuspenderde vaste stof. Het supernatant is met 6 M HCl aangezuurd en gecentrifugeerd (10 min, 2.500 g). De neergeslagen humuszuren zijn vervolgens nog twee maal 20 uur geschud met een oplossing van 0,1 M HCl en 0,3 M HF ter verwijdering van aanwezige silicaten. De verkregen fracties zijn geanalyseerd op droge stof, organische stof en PAK.

Tabel 19 Verdeling van PAK en organischestof over de fracties humine, humuszuren, fulvozuren van de species uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop.

		Organische stof (% van totaal)	PAK (% van totaal)
Overschie Rotterdam	humine	31	29
	humuszuren	7	1
	fulvozuren	niet meetbaar	niet bekend**
Petroleumhaven Amsterdam	humine	73	28
	humuszuren	7	0
	fulvozuren	niet meetbaar	niet bekend**
Voorwetering Nieuwkoop	humine	51	77
	humuszuren	3	1
	fulvozuren	niet meetbaar*	niet bekend**

* TOC metingen waren niet reproduceerbaar

** De PAK concentratie in de fulvozuurfractie was meetbaar, de hoeveelheid fulvozuren in de fractie niet. De procentuele bijdrage van de fulvozuurfractie aan de totale hoeveelheid PAK is daarom niet te berekenen. Wanneer de hoeveelheid organische stof in fulvozuren wordt berekend door de hoeveelheid in humine en humuszuren af te trekken van de totale hoeveelheid organische stof en aan te nemen dat de organische stof uitsluitend uit humine,

humuszuren en fulvozuren bestaat, kan de bijdrage van fulvozuren aan de PAK balans worden berekend. Deze bijdrage is echter te laag om de PAK balans sluitend te krijgen.

De belangrijkste resultaten zijn gegeven in tabel 19. Uit de tabel blijkt dat het niet mogelijk was de massabalansen van organische stof en PAK sluitend te krijgen. De hydrolyse zoals hierboven beschreven is in de praktijk daarom niet te gebruiken voor de karakterisering van baggerspecie, te meer omdat de methode ook zeer bewerkelijk is. Verder onderzoek aan dit aspect van de karakterisering is daarom gestopt.

4.3.3 Fotoakoestische spectroscopie (FAS)

Fotoakoestische analyse is uitgevoerd aan modelsystemen bestaande uit glasparsels en de PAK naftaleen en fenantreen. Eerst zijn de fotoakoestische signalen gemeten voor glasparsels, puur naftaleen en puur fenantreen. Vervolgens zijn mengsels gemaakt van (1) glasparsels en naftaleen (2) glasparsels en fenantreen (hoeveelheden PAK: 5, 10, 20, 50 en 75 massaprocent) (3) glasparsels, naftaleen en fenantreen (hoeveelheid PAK: 50 massaprocent; verhouding naftaleen/fenantreen: 5/1, 3/3 en 1/5 m/m). Op deze mengsels is FAS analyse uitgevoerd.

Om het effect van deeltjesgrootte van PAK op het FAS signaal te bepalen zijn metingen verricht aan monsters waarvan de grootte van de PAK deeltjes was verkleind door middel van fijnstampen met behulp van een mortier en vijzel.

Puur naftaleen en puur fenantreen geven beide een fotoakoestisch signaal. De fotoakoestische signalen van deze PAK vallen respectievelijk in het golflengtegebied 250-325 nm en in het gebied 250-400 nm. Glasparsels geven een vlak en laag fotoakoestisch signaal bij deze golflengten. Er treedt dus geen verstoring van de metingen op door de glasparsels.

Uit de experimenten met de mengsels van naftaleen en glasparsels en fenantreen en glasparsels blijkt dat het fotoakoestische signaal hoger is naarmate de mengverhouding PAK in het monster groter is. Er is daarom bij een aantal golflengten een regressieanalyse uitgevoerd waarin de hoogte van het signaal is gekoppeld aan de PAK concentratie.

Het fotoakoestisch signaal van fenantreen is bij 340 en 375 nm gecorreleerd aan de fenantreen-concentratie, met een kwadraat van de regressieconstante (R^2) van 0,83 en 0,84, respectievelijk. Voor naftaleen wordt bij 305 nm de beste correlatie gevonden (kwadraat van de regressieconstante = 0,93). De detectielimiet van naftaleen en fenantreen in het onderzochte systeem was ± 5 g/kg. Dit is hoog ten opzichte van de interventiewaarde voor PAK in landbodem (40 mg/kg). De detectielimiet kan echter verlaagd worden door de oppervlakte/volume-verhouding van de PAK deeltjes te verhogen. Dit blijkt uit experimenten met fijngemalen naftaleen en fenantreen. De deeltjesgrootte van de PAK is van invloed op de hoogte van het signaal. Hoe kleiner de deeltjes, hoe hoger het signaal. Voor kwantificering van het FAS signaal is kennis van de afmetingen van de deeltjes dus essentieel.

Bij de metingen aan mengsels van fenantreen, naftaleen en glasparsels blijkt interferentie op te treden van de signalen van naftaleen en fenantreen, zodat uitdoving van het overall signaal wordt waargenomen. Het is daarom niet mogelijk de concentratie PAK in deze mengsels kwantitatief te meten.

Samenvattend wordt geconcludeerd dat FAS op dit moment nog niet kan worden toegepast voor de karakterisering van PAK in de bodem. De drie belangrijkste redenen hiervoor zijn: (1) de hoge

detectielimiet bij grove PAK deeltjes, (2) interferentie van de fotoakoestische signalen van verschillende PAK, (3) het effect van deeltjesgrootte op het signaal. Verder onderzoek aan FAS in het kader van dit onderzoek is gestopt.

4.4 Voorlopige conclusies ten aanzien van bruikbare karakteriseringsmethoden

Extractie van baggerspecie met 70% azijnzuur gedurende tien minuten bij 22 °C en een vast/vloeistof-verhouding van 1 op 10, lijkt een robuuste methode om dat deel van de PAK te extraheren dat biologisch beschikbaar is. Extractie met niet-wateroplosbare oplosmiddelen blijkt niet geschikt als karakteriseringsmethode voor biologisch beschikbare PAK, vanwege het geringe onderscheidende vermogen of de hoge viscositeit van het oplosmiddel. Extractie van PAK met 50 volume% aceton is geschikt om de extractiekinetiek te bepalen, maar nog niet geschikt om de relatie tussen extractiekinetiek en fysische voorkomsvorm van de PAK vast te stellen. Als extra resultaat van dit kinetisch gerichte onderzoek lijkt het mogelijk dat extractie met 50% aceton gedurende tien minuten ook geschikt is om de biologisch beschikbare PAK te bepalen. Door een aanpassing van het medium is een DECHEMA protocol voor de bepaling van de biologische reinigbaarheid van landbodems geschikt gemaakt voor de bepaling van de biologische reinigbaarheid van baggerspecie.

Een statistische benadering van de proefopzet en resultatenanalyse geeft de mogelijkheid vooraf te bepalen hoe de proefopzet dient te zijn bij vooraf gestelde wensen aan betrouwbaarheid en aantoonbare afbraak bij bekende spreiding in de PAK analyses. De experimentele resultaten kunnen op hun betrouwbaarheid worden getoetst met behulp van de statistiek.

Respirometrische bepaling van zuurstofgebruik en kooldioxideproductie blijken aan te geven dat baggerspecies actieve micro-organismen bevatten en dat enten van baggerspecie om reiniging te activeren niet nodig is. Voor een kwantificering van de PAK-afbraak is respirometrie niet bruikbaar.

Fysisch-chemische karakterisering door middel van hydrolyse van organischestof of door fotoakoestische methoden blijkt niet geschikt om de biologische reinigbaarheid van met PAK vervuilde baggerspecie te bepalen.

5 VALIDATIE VAN DE ONTWIKKELDE METHODEN

5.1 Werkwijze

Om de in hoofdstuk 4 gevonden verbanden tussen de biologische afbraak en de extractie van PAK met 70% azijnzuur of de solventextractie met 50/50 (v/v) aceton/watermengsel in de baggerspecies te valideren, zijn negentien verse baggerspecies behandeld volgens de ontwikkelde protocollen (zie bijlage I, II). Daarnaast zijn in paragraaf 5.5 de karakteriseringsmethoden voor extractie met azijnzuur en voor biologische behandeling toegepast op negen reeds gereinigde species om aan de hand van statistische analyse na te gaan of met behulp van de analytisch chemische karakterisering een uitspraak gedaan kan worden over de biologische beschikbaarheid van PAK. Tenslotte zijn in paragraaf 5.6 de resultaten van de karakteriseringsmethoden vergeleken met de praktijkresultaten voor vijf species.

5.2 Karakterisering van negentien verse species

De PAK concentratie, het drogestofgehalte en het organischestofgehalte van de negentien verse species staan weergegeven in tabel 4 (zie hoofdstuk 3). Uit de gegevens blijkt dat de gekozen baggerspecies, sterk uiteenlopende eigenschappen bezitten. Baggerspecies uit klasse IV, III en II en species met een hoog organischestofgehalte en een laag organischestofgehalte zijn onderzocht. Deze verscheidenheid is voor de ontwikkeling van een generiek toetsysteem van belang.

De resultaten van de analytisch-chemische, fysisch-chemische en de biologische karakteriserings-experimenten staan weergegeven in tabel 20.

5.3 Statistisch verband tussen de meetgegevens voor PAK verwijdering met 70% azijnzuur en de biologische PAK afbraak.

De correlatie tussen de biologische afbraak van PAK in verse baggerspecie en de extractie van PAK in 70% azijnzuur is bepaald met behulp van regressieanalyse op de meetgegevens. De gegevens staan verzameld in één figuur in bijlage IV. De relatie is grafisch weergegeven in figuur 27. Aangezien voor de species Maartsenbrug en Schrinkkraagpolder geen gegevens van de azijnzuurextractie bekend zijn, konden slechts 17 van de negentien species in de figuur worden opgenomen.

Uit figuur 27 kan worden afgeleid dat indien een PAK extractie met 70% azijnzuur een bepaalde waarde x heeft, met een betrouwbaarheid van 95% kan worden voorspeld dat de biologische afbreekbaarheid van PAK in dezelfde baggerspecie een waarde y heeft die ligt in het gebied begrensd door S_{beneden} en S_{boven} (de spreiding).

Er is een grote spreiding in de resultaten waar te nemen. Deze grote spreiding rond de waarde van y wordt grotendeels veroorzaakt doordat in de species Lemster Rien (15) en Wassenaar (9) wel PAK kunnen worden geëxtraheerd, maar niet afgebroken. Dit zou verklaard kunnen worden door de aanwezigheid van remmende omstandigheden die wel de biologie maar niet de analytische karakterisering beïnvloeden, bijvoorbeeld de aanwezigheid van pesticiden of toxische zware metalen.

Tabel 20 Karakterisering van 19 verse baggerspecies. De PAK concentraties in onderstaande tabel zijn weergegeven in 10VROM en omgerekend naar 10% organische stof.

Baggerspecie locatie	Klasse	[PAK] ¹ (mg/kg d.s.)	70% azijnzuur PAK verwijderd (%)	1/1 aceton/ water PAK verwijderd (%)	Biologische afbraak PAK verwijderd (%)
1. Geulhaven landfarm	I	2	29	n.g. ²	0
2. Goeree Overflakkee landfarm	I	2	n.g. ²	n.g. ²	0
3. Zoetermeer depot	I	3	14	n.g. ²	14
4. Goeree Overflakkee stort	I	4	o.d. ³	n.g. ²	o.d. ³
5. Stolwijker Sluis	II	5	29	n.g. ²	10
6. Voorburggracht	II	6	60	n.g. ²	68
7. Maartensbrug	II	6	n.g. ²	42	0
8. Bergambacht	II	8	32	25	11
9. Anna Paulowna	II	8	45	n.g. ²	82
10. Goeree Overflakkee	III	13	74	n.g. ²	52
11. Zierikzee landfarm	III	14	12	n.g. ²	0
12. Sassenheim	III	14	38	29	21
13. Schrinkkraagpolder	III	16	n.g. ²	o.d. ³	99
14. Wemeldinge landfarm	III	17	5	n.g. ²	0
15. Barsingerhorn	III	22	18	37	17
16. Zuidbroek depot	III	24	6	n.g. ²	11
17. Petroleumhaven2 landfarm		26	n.g. ²	n.g. ²	19
18. Zevenhuizen depot	III	28	9	n.g. ²	5
19. Voorwetering Nieuwkoop	III	31	39	36	38
20. Wassenaar	IV	44	70	n.g. ²	-12
21. Berkenwoude	IV	46	17	32	27
22. Overschie Rotterdam	IV	54	5	14	9
23. Assendelft	IV	55	60	38	61
24. Achterburggracht	IV	58	35	21	92
25. Wemeldinge	IV	81	35	32	37
26. Lemster Rien	IV	91	15	24	-5
27. Petroleumhaven 2	IV	588	75	50	89
28. Petroleumhaven	IV	855	55	68	70

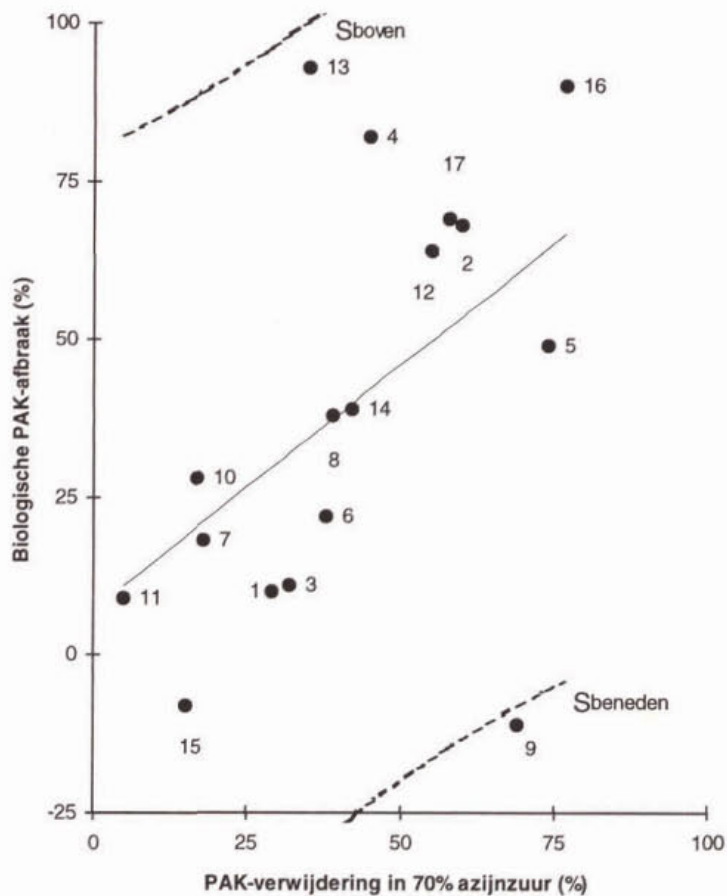
¹: Gemiddelde waarden van de drie onderzoeksgroepen.

²: niet gemeten.

³: onder detectiegrens.

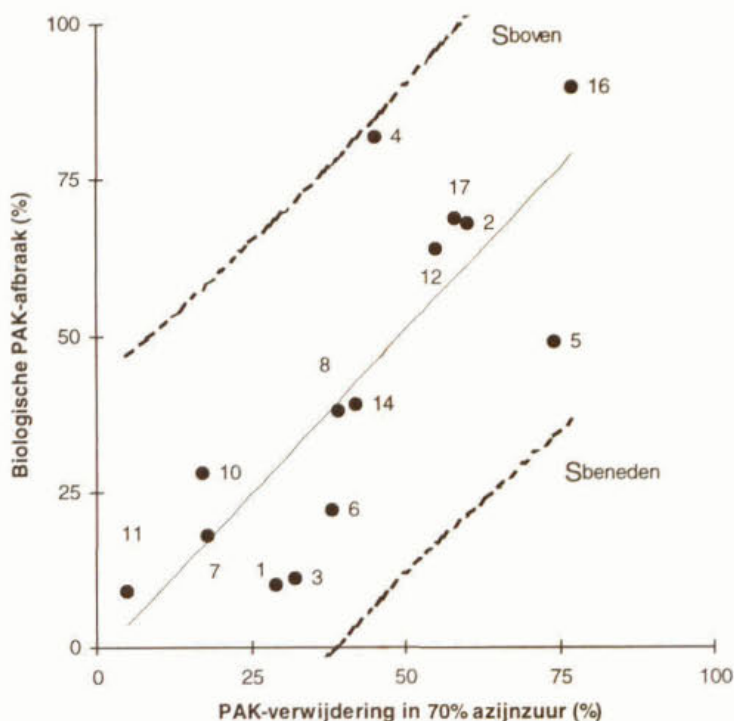
⁴: 10VROM is berekend door de gevonden 8TSL concentraties te vermenigvuldigen met een factor 1,2 (zie hoofdstuk 3).

Daarom zijn meetgegevens van een aantal species niet in de volgende figuur (figuur 28) opgenomen, met name van de twee bovengenoemde species waarin de biologische afbraak niet kan worden aangetoond (Lemster Rien en Wassenaar, 15 en 9) en van de specie Achterburggracht (13) omdat de azijnzuurextractie daar erg laag is in vergelijking met de biologische PAK afbraak, waardoor de regressieanalyse sterk wordt vertekend. Dit monster is voordat de azijnzuurextractie kon worden uitgevoerd langdurig bij kamertemperatuur bewaard. Aangezien de biologische afbreekbaarheid van de PAK in deze specie groot is, is de kans groot dat een deel van de PAK al was afgebroken vóór de azijnzuurextractie. De correlatie tussen azijnzuurextractie en biologische afbraak wordt voor de resterende 14 species grafisch weergegeven in figuur 28.



Figuur 27 Correlatie tussen extractie van PAK in 70% azijnzuur(10VROM) uit verse baggerspecie en de biologische afbreekbaarheid. In deze figuur zijn alle gemeten waarden van zeventien species opgenomen.(1 Stolwijker Sluis, 2 Voorburggracht, 3 Bergambacht, 4 Anna Paulowna, 5 Goeree Overflakkee, 6 Sassenheim, 7 Barsingerhorn, 8 Voorwetering Nieuwkoop, 9 Wassenaar, 10 Berkenwoude, 11 Overschie Rotterdam, 12 Assendelft, 13 Achterburggracht, 14 Wemeldinge, 15 Lemster Rien, 16 Petroleumhaven 2, 17 Petroleumhaven).

De correlatie tussen de waarden (figuur 28) voor PAK verwijdering door 70% azijnzuurextractie (x-as) en de biologische PAK afbraak (y-as) heeft nu bij een betrouwbaarheid van 95% een kleinere spreiding (S_{beneden} en S_{boven}). Of met deze spreiding betrouwbare en bruikbare uitspraken over reinigbaarheid voor de praktijk mogelijk zijn, kan niet direct uit deze figuur worden afgelezen, omdat het verwijderingspercentage wordt weergegeven en niet de PAK concentratie. Hierop wordt ingegaan in hoofdstuk 6.



Figuur 28 Correlatie tussen extractie van PAK in 70% azijnzuur(10VROM) uit verse baggerspecie en de biologische afbreekbaarheid. In deze figuur zijn de gemeten waarden van 14 species opgenomen (1 Stolwijker Sluis, 2 Voorburggracht, 3 Bergambacht, 4 Anna Paulowna, 5 Goeree Overflakkee, 6 Sassenheim, 7 Barsingerhorn, 8 Voorwetering Nieuwkoop, 10 Berkenwoude, 11 Overschie Rotterdam, 12 Assendelft, 14 Wemeldinge, 16 Petroleumhaven 2, 17 Petroleumhaven).

Omdat de analytische nauwkeurigheid bij lage PAK concentratie (klasse I en II) klein is, is de correlatie tussen PAK extractie in 70% azijnzuur en de biologische afbreekbaarheid ook uitgezet voor alleen de species uit klasse III en IV (figuur 29). Omdat de afbraak in de species uit Wassenaar en Lemster Rien geremd is door onbekende oorzaak zijn deze twee species niet gebruikt in de statistische analyse. Ook de resultaten met de species uit Achterburggracht zijn wederom niet gebruikt. Voor de statistische analyse zijn daarmee de resultaten van 11 species uit klasse III en IV en van 6 species uit klasse IV gebruikt. De resultaten voor klasse III en IV en voor klasse IV species zijn weergegeven in de figuren 29 en 30.

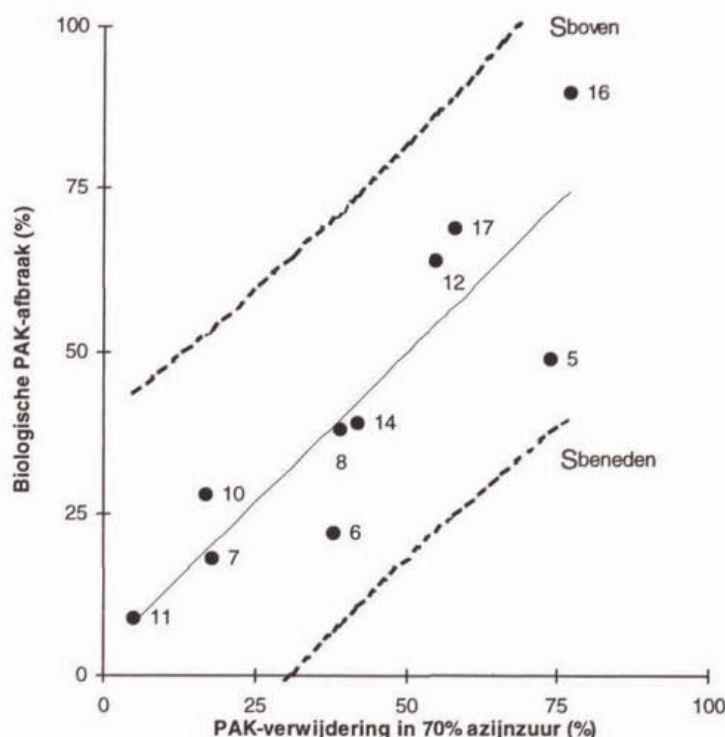
De correlatie tussen de waarden (figuur 29) voor de PAK extractie met 70% azijnzuur (x-as) en de biologische afbreekbaarheid (y-as) toont nu een kleinere spreiding (S_{beneden} en S_{boven}) rond de waarde y.

De spreiding rond de waarde y (S_{beneden} en S_{boven}) is relatief klein (figuur 30) voor de zes species in klasse IV ten opzichte van de grotere verzameling meetpunten voor de species uit alle klassen en lijkt een duidelijke aanwijzing dat de relatie tussen de twee uitgezette parameters een statistische samenhang vertonen.

Deze berekening van een willekeurige y-waarde voor te verwachten biologische PAK afbraak kan gedaan worden met de op de volgende pagina in het kader weergegeven formule:

De statistische analyse geeft voor klasse IV specie het volgende kwantitatieve verband tussen een gemeten PAK verwijdering met 70% azijnzuur en een te verwachten biologisch afbraak van PAK:

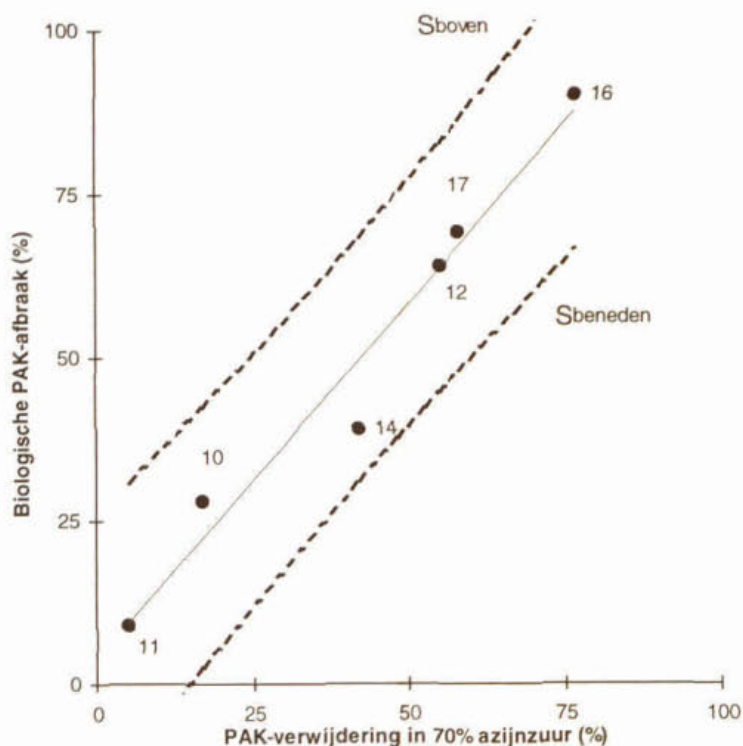
Biologische afbraak = $4 + 1.09 \times \text{azijnzuur extraheerbare PAK (in procenten)}$.



Figuur 29 Correlatie tussen extractie van PAK in 70 % azijnzuur(10VROM) in elf klasse III- en IV-specie en de biologische afbreekbaarheid (5 Goeree Overflakkee, 6 Sassenheim, 7 Barsingerhorn, 8 Voorwetering Nieuwkoop, 10 Berkenwoude, 11 Overschie Rotterdam, 12 Assendelft, 14 Wemeldinge, 16 Petroleumhaven 2, 17 Petroleumhaven).

Van deze vergelijking kan als volgt gebruik gemaakt worden. Stel men vindt met behulp van vier analyses uit de azijnzuurextractie een verwijdering van 40%. De beste voorspelling voor het gemiddelde van vier analyses in de biologische karakterisering is dan $4 + 1,09 \times 40 = 48\%$. Tevens kan aangegeven worden dat met 95% betrouwbaarheid de te meten waarde voor de biologische PAK verwijdering tussen de 30 en 66% zal liggen ($48 \pm 18\%$). De minimaal bereikbare spreiding die bereikt kan worden bij vier analyses per specie is $\pm 11\%$; deze waarde wordt bereikt indien het aantal onderzochte species meer dan 70 bedraagt. Wanneer het aantal species zestien is, zal de spreiding $\pm 12\%$ bedragen.

Bij deze conclusie moet de kanttekening geplaatst worden dat de relatie lijkt op te gaan voor de onderzochte klasse IV species. Bij de statistische verwerking van de resultaten zijn de meetgegevens van drie species niet meegewogen waardoor het aantal species waarvan de resultaten zijn verwerkt slechts zes is. Voor verdere evaluatie kunnen praktijkgegevens uit toekomstige praktijkmetingen gebruikt worden.



Figuur 30 Correlatie tussen PAK extractie in 70% azijnzuur en biologische afbreekbaarheid van PAK in zes baggerspecies klasse IV (10 Berkenwoude, 11 Overschie Rotterdam, 12 Assendelft, 14 Wemeldinge, 16 Petroleumhaven 2, 17 Petroleumhaven).

Voor de species uit klasse II en III is om diverse boven beschreven redenen een groot aantal meetpunten weggelaten zodat voor deze klassen de relatie een veel grotere spreiding kent. Dit hoeft voor de praktijk nog niet bezwaarlijk te zijn: voor de praktijk is niet het verwijderingspercentage van belang maar de restconcentratie. Hierop wordt ingegaan in hoofdstuk 6.

Om een grotere betrouwbaarheid te bereiken zou de spreiding in de meetgegevens van de PAK analyses teruggebracht moeten worden tot beneden de nu gevonden 10%. Met behulp van de huidige stand van de technologie en kennis van voorbehandelen en analyses van waterbodem valt een verbetering van de nauwkeurigheid niet te verwachten.

5.4 Analytisch-chemische en biologische verwijdering van PAK naar molecuulgewicht

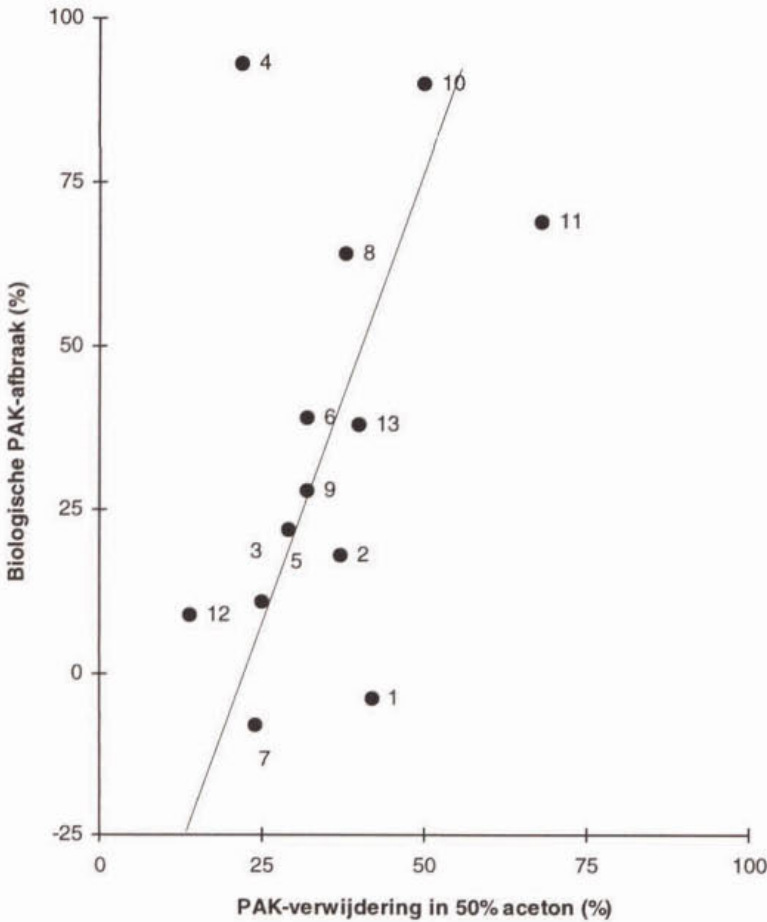
Nagegaan is of er voor PAK met een verschillende molecuulgewicht (aantal aromatische ringen) een relatie bestaat tussen de verwijdering van PAK door azijnzuurextractie en biologische behandeling voor de achttien onderzochte species klasse III en IV. De resultaten staan in tabel 21.

Tabel 21 Azijnzuurextractie en de biologische verwijdering van PAK in procenten, onderverdeeld naar het aantal ringen.

baggerspecie	azijnzuur extractie (%)				biologische verwijdering (%)			
klasse	aantal ringen				aantal ringen			
	2&3	4	5&6	2 t/m 6	2&3	4	5&6	2 t/m 6
klasse III en IV	57	41	46	58	30	23	23	23
klasse IV	32	30	15	29	34	26	24	26

Uit de resultaten blijkt dat de azijnzuurextractie een iets hoger extractierendement geeft voor de PAK met lager molecuulgewicht terwijl bij de biologische behandeling deze voorkeur voor PAK met lager molecuulgewicht minder uitgesproken is. Opgemerkt moet worden dat de spreiding in de analytisch-chemische experimenten groter is dan in de biologische experimenten. Er is op grond van deze resultaten geen aanwijzing dat het molecuulgewicht van PAK een belangrijke rol speelt bij de overeenkomsten of verschillen in de azijnzuurextractie en biologische PAK afbraak.

5.5 Statistisch verband tussen de meetgegevens voor PAK verwijdering met 50/50 (v/v) aceton/water en de biologische PAK afbraak.



Figuur 31 PAK verwijdering met aceton/water en biologische PAK afbraak voor 13 species (1 Maartensbrug, 2 Barsingerhorn, 3 Bergambacht, 4 Achterburggracht, 5 Sassenheim, 6 Wemeldinge, 7 Lemster Rien, 8 Assendelft, 9 Berkenwoude, 10 Petroleumhaven, 11 Petroleumhaven 2, 12 Overschie Rotterdam, 13 Voorwetering Nieuwkoop).

De correlatie tussen de PAK extractie met aceton-water en de biologische afbreekbaarheid wordt grafisch weergegeven door figuur 31.

De hoeveelheid PAK die met aceton/water uit species wordt geëxtraheerd ligt tussen de 20 en 50%, terwijl de gemeten biologische afbreekbaarheid tussen 0 tot 90% ligt. Ook is in een aantal gevallen de extraheerbaarheid van PAK met aceton/water sterk afwijkend van de biologisch afgebroken PAK. Het verband tussen de twee parameters is een vrijwel verticaal lopende lijn. Op grond daarvan kan geen correlatie tussen de twee parameters worden vastgesteld die bruikbaar is om de biologische PAK afbraak te voorspellen. Ook voor minder species (bijvoorbeeld alleen uit klasse IV) blijft het verband tussen extractierendement en biologische afbraak van PAK weergegeven te worden door een te verticaal lopende lijn. De extractie van PAK met een aceton/water 50/50 v/v mengsel, zoals uitgevoerd in dit onderzoek, is dus géén betrouwbare methode om de biologische reinigbaarheid van baggerspecie te voorspellen. Daarom is in dit onderzoek verder alleen gebruik gemaakt van de PAK extractie met 70% azijnzuur.

5.6 Karakterisering van negen reeds gereinigde baggerspecies

Vergelijking met reinigingsresultaten in landfarm en depot

Negen baggerspecies die reeds in de praktijk gereinigd waren in een doorgangsdepot of in een landfarm, zijn onderworpen aan extractie met azijnzuur en aan biologische karakterisering. Aangenomen is dat de reeds gereinigde specie geen biologisch beschikbare PAK meer bevat en dat daarom geen significante PAK extractie of PAK afbraak meer kan worden aangetoond. De resultaten staan in tabel 22.

Zoals verwacht kan geen significante PAK afbraak of verwijdering worden vastgesteld (de gegeven afbraakpercentages liggen beneden 20%, de waarde waar beneden geen betrouwbare uitspraak gedaan kan worden, zie paragraaf 3.4). In de specie uit de Geulhaven en de Zierikzee specie wordt in lopende landfarmexperimenten nog 10 respectievelijk 4% van de PAK af gebroken (per jaar) [Harmsen et al., 1997].

Tabel 22 PAK extractie en PAK afbraak in reeds in de praktijk gereinigde specie

Locatie	70% azijnzuurextractie, % PAK verwijderd	biologische afbraak, % PAK afgebroken
Geulhaven landfarm	29	0
Goeree Overflakkee landfarm	-	0
Goeree Overflakkee stort	o.d. ¹	o.d. ¹
Petroleumhaven 2 landfarm	-	19
Wemeldinge landfarm	5	0
Zevenhuizen depot	9	5
Zierikzee landfarm	12	0
Zoetermeer depot	14	14
Zuidbroek depot	6	11

1: o.d. betekent onder de detectielimiet

Vergelijking met reinigingsresultaten uit het laboratorium

De gevonden overeenkomst tussen analytische beschikbaarheid van PAK met azijnzuurextractie en de biologische beschikbaarheid is verder onderzocht door biologisch behandelde specie te extraheren met 70% azijnzuur en met azijnzuur geëxtraheerde specie biologisch te behandelen. Verondersteld

mag worden dat biologisch gereinigde specie geen met azijnzuur extraheerbare PAK meer bevat en dat met azijnzuur geëxtraheerde specie geen biologisch afbreekbare PAK meer bevat. Gebaseerd op deze veronderstelling zou de tweede behandeling dus geen PAK meer moeten verwijderen. In tabel 23 staan de resultaten van de experimenten weergegeven.

Tabel 23 Overzicht van de PAK-afbraak (8TSL) bij baggerspecie afkomstig uit Overschie Rotterdam (OR), Petroleumhaven (PH) en Voorwetering Nieuwkoop (VN). Biologische incubatie gedurende 16 weken

	OR PAK (mg/kg d.s.)	OR PAK (%)	PH PAK (mg/kg d.s.)	PH PAK (%)	VN PAK (mg/kg d.s.)	VN PAK (%)
[PAK]begin	104	100	713	100	76	100
[PAK]na azijnzuur	99	95	221	31	46	61
[PAK]na biologie	123	100	155	22	41	54
[PAK]begin	104	100	713	100	76	100
[PAK]na biologie	95	91	221	31	47	62
[PAK]na azijnzuur	47	45	111	16	33	43

Geconcludeerd wordt dat na de azijnzuurextractie de biologische behandeling geen PAK meer afbreekt (afbraak kleiner dan 20%). Na biologische behandeling wordt wel veel PAK alsnog geëxtraheerd; de monsters zijn echter gedroogd voor de extractie, hetgeen mogelijk de beschikbaarheid van PAK vergroot: de extractierementen zijn hoger dan in niet gedroogde monsters (zie tabel 18). De resultaten bevestigen slechts dat na azijnzuurextractie geen PAK meer biologisch beschikbaar zijn, terwijl over de extraheerbaarheid van PAK na biologische behandeling geen uitspraken gedaan kunnen worden.

5.7 Vergelijking van karakteriseringsmethoden met (praktijk)resultaten voor vijf species

De resultaten met vijf species die ook in (praktijk)experimenten buiten dit onderzoek gereinigd waren, zijn vergeleken met de resultaten uit dit onderzoek om na te gaan of de ontwikkelde karakteriseringsmethoden een juiste uitspraak doen. De resultaten van deze vergelijking staan in tabel 24.

Tabel 24 Vergelijking van PAK verwijdering in de praktijk en in de karakteriseringsmethoden

Locatie en techniek	Praktijk	Gevonden in dit onderzoek		
(Uitvoerder)		70% azijnzuur	1/1 aceton/water	biologische toets
Petroleumhaven 2 Landfarm (SC-DLO)	89	87	-	92
Goeree Overflakkee Landfarm (SC-DLO)	76	-	-	48
Wemeldinge Landfarm (SC-DLO)	51	33	-	34
Petroleumhaven Geroerde tank (Heidemij realisatie)	70-80	64	68	69
Voorwetering Nieuwkoop Rollenbank (TNO, Rijnland)	50	40	36	38

Uit dit overzicht blijkt dat de analytisch-chemische (70% azijnzuur), fysisch-chemische (50/50 (v/v) aceton/water mengsel) en biologische karakteriseringsmethoden in drie van de vijf gevallen een onderschatting geven van het op de lange duur te behalen reinigingsrendement. De karakteriseringsmethoden geven wel in grote trekken aan of een specie reinigbaar is. De vergelijking zou aan kracht winnen indien de reinigingsresultaten in de praktijk na 1 en 2 jaar bekend zouden zijn. Hierbij moet worden opgemerkt dat de tijdsduur van de landfarmexperimenten in de praktijk enige jaren is en de rollenbankexperimenten bij TNO ook 4 maanden hebben geduurd.

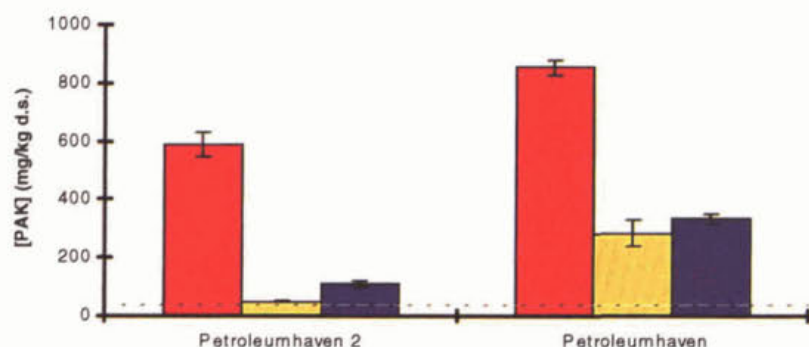
6 WEERGAVE VOOR PRAKTIJKGEBRUIK: KLASSEINDELING VOOR DE 19 ONDERZOCHE VERSE BAGGERSPECIES.

6.1 Weergave van de reinigbaarheid

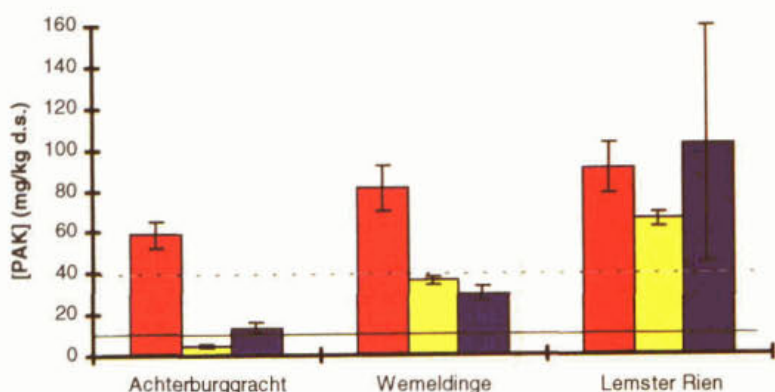
In de vorige paragrafen is de reinigbaarheid weergegeven in percentages verwijdering of afbraak van PAK. Voor de praktijk is het interessanter om de afbraak of verwijdering weer te geven in concentraties PAK. Dit geeft inzicht in een klasseverbetering van de specie, na extractie met azijnzuur of na biologische behandeling. In dit hoofdstuk zijn dezelfde meetgegevens als in hoofdstuk 5 weergegeven maar als PAK concentraties voor en na de biologische behandeling en voor en na de azijnzuurextractie en niet als verwijderingspercentages. Dit is voor elk van de 19 onderzochte verse species weergegeven. De in het hoofdstuk 5 bij de statistische analyse niet gebruikte resultaten van enkele species zijn hier wel weergegeven. In de staafdiagrammen zijn tevens de grenswaarden aangegeven tussen de verschillende klassen. Deze grenswaarden kunnen eenvoudig worden vervangen door andere grenswaarden (bijvoorbeeld afwijkende grenswaarden of uit een aanvulling van het bouwstoffenbesluit voor organische stoffen). De standaarddeviatie van de PAK analyses is ook in de diagrammen opgenomen.

Met een dergelijke wijze van presenteren valt snel in te schatten of een karakteriseringsmethode een verbetering van de baggerkwaliteit aangeeft die een klassenverbetering betekent, met andere woorden of biologische reiniging zinvol is, ook bij grote spreiding van meetresultaten.

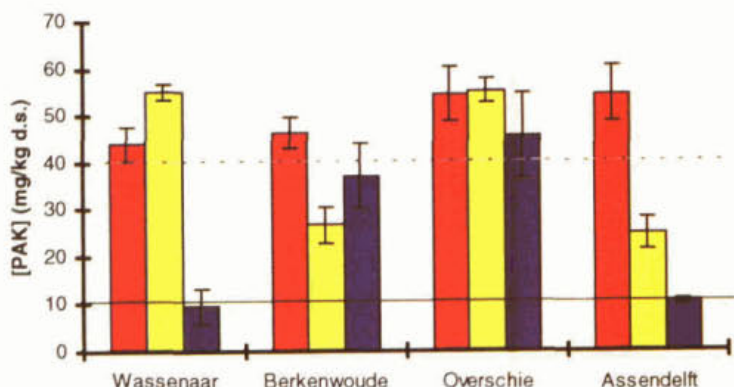
In de figuren 32 tot en met 34 wordt voor de onderzochte negen species van klasse IV de PAK concentratie vóór behandeling, na extractie in 70% azijnzuur en na biologische karakterisering weergegeven. Voor de vier onderzochte species van klasse III zijn de meetgegevens op eenzelfde wijze als voor de species van klasse IV weergegeven in figuur 35. De PAK concentratie in de vier species van klasse II voor en na behandeling staan weergegeven in figuur 36.



Figuur 32 PAK concentratie in zeer sterk verontreinigde klasse IV-baggerspecie voor en na biologische afbraak en extractie met 70% azijnzuur. ■ gemiddelde van n metingen van de verse specie (Petroleumhaven2, $n=12$; Petroleumhaven $n=8$); ■ na biologische afbraak (Petroleumhaven2, $n=4$; Petroleumhaven $n=4$); ■ na extractie met 70% azijnzuur (Petroleumhaven2, $n=4$; Petroleumhaven $n=4$). I = standaarddeviatie van het gemiddelde; --- grenswaarde tussen klasse IV en III.



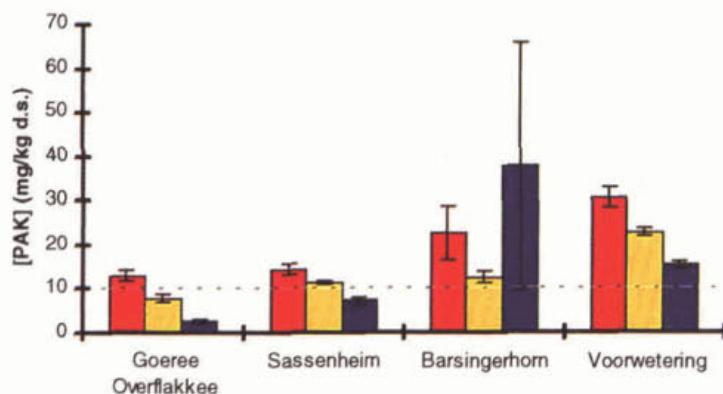
Figuur 33 PAK concentratie in klasse IV-baggerspecie voor en na biologische afbraak en extractie met 70% azijnzuur. ■ gemiddelde van n metingen van de verse specie (Achterburggracht, $n=10$; Wemeldinge, $n=12$; Lemster Rien, $n=10$); ■ na biologische afbraak (Achterburggracht, $n=4$; Wemeldinge, $n=3$; Lemster Rien, $n=4$); ■ na extractie met 70% azijnzuur (Achterburggracht, $n=2$; Wemeldinge, $n=4$; Lemster Rien, $n=2$). I = standaarddeviatie van het gemiddelde; --- grenswaarde tussen klasse IV en III; — grenswaarde tussen klasse III en II.



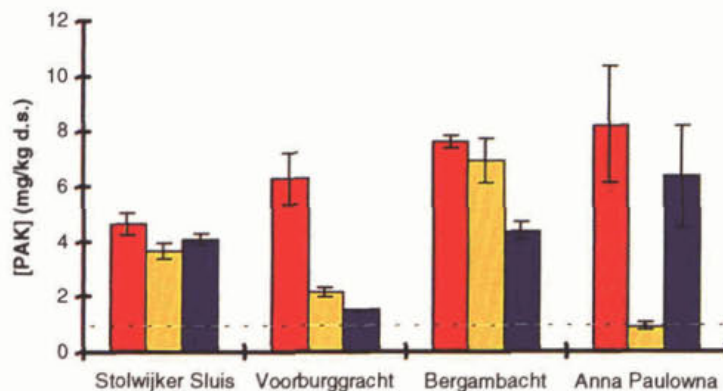
Figuur 34 PAK concentratie in klasse IV-baggerspecie voor en na biologische afbraak en extractie met 70% azijnzuur. ■ gemiddelde van n metingen van de verse specie (Wassenaar, $n=6$; Berkenwoude, $n=10$; Overschie Rotterdam, $n=8$; Assendelft, $n=10$); ■ na biologische afbraak (Wassenaar, $n=4$; Berkenwoude, $n=4$; Overschie Rotterdam, $n=4$; Assendelft, $n=4$); ■ na extractie met 70% azijnzuur (Wassenaar, $n=2$; Berkenwoude, $n=2$; Overschie Rotterdam, $n=4$; Assendelft, $n=2$). I = standaarddeviatie van het gemiddelde; --- grenswaarde tussen klasse IV en III; — grenswaarde tussen klasse III en II.

Voor vier van de baggerspecies uit klasse IV (fig. 33 en 34) geldt dat de PAK verwijdering met 70% azijnzuur geen klasseverbetering oplevert; deze voorspelling wordt bevestigd door de biologische reiniging (Petroleumhaven en Petroleumhaven2, Lemster Rien en Overschie). Voor vijf andere baggerspecies blijkt dat de azijnzuurextractie wel leidt tot een klasseverbetering, een voorspelling die wordt bevestigd door de biologische toets. Bij de PAK extractie uit specie uit Wassenaar is ten onrechte de mogelijkheid vastgesteld dat een specie reinigbaar is (fout van eerste soort, α), zie hoofdstuk 3. De specie uit Assendelft wordt weliswaar biologisch gereinigd (met klasseverbetering) maar niet in de mate die de analytisch chemische extractie voorpelt. Dit benadrukt de noodzaak om na een snelle bepaling van biologische reinigbaarheid met behulp van PAK extractie met 70% azijnzuur

deze biologische reinigbaarheid wel te bevestigen met de biologische karakteriseringsmethode om eventuele storende invloeden vast te stellen. Azijnzuurextractie lijkt op grond van deze resultaten zeker voor klasse IV specie een bruikbaar instrument om het effect van de biologische reiniging in termen van klasseverbetering te voorspellen en daarmee de zin van een biologische reiniging vast te stellen.



Figuur 35 PAK concentratie in klasse III-baggerspecie voor en na biologische afbraak en extractie met 70% azijnzuur. ■ gemiddelde van n metingen van de verse specie (Goeree Overflakkee, n=8; Sassenheim, n=11; Barsingerhorn, n=9; Voorwetering, n=8;); ■ na biologische afbraak (Goeree Overflakkee, n=2; Sassenheim, n=3; Barsingerhorn, n=4; Voorwetering Nieuwkoop, n=4); ■ na extractie met 70% azijnzuur (Goeree Overflakkee, n=4; Sassenheim, n=4; Barsingerhorn, n=2; Voorwetering Nieuwkoop, n=4). I = standaarddeviatie van het gemiddelde; --- grenswaarde tussen klasse III en II.



Figuur 36 PAK concentratie in klasse II-baggerspecie voor en na biologische afbraak en extractie met 70% azijnzuur. ■ gemiddelde van n metingen van de verse specie (Stolwijker Sluis, n=6; Voorburggracht, n=6; Bergambacht, n=10; Anna Paulowna, n=7); ■ na biologische afbraak (Stolwijker Sluis, n=4; Voorburggracht, n=4; Bergambacht, n=2; Anna Paulowna, n=4); ■ na extractie met 70% azijnzuur (Stolwijker Sluis, n=2; Voorburggracht, n=2; Bergambacht, n=2; Anna Paulowna, n=3). I = standaarddeviatie van het gemiddelde; --- grenswaarde tussen klasse II en I.

De door extractie met azijnzuur voorspelde klasseverbetering voor twee van de vier species uit klasse III (fig. 35) wordt bevestigd door de biologische karakteriseringstoets, terwijl voor de twee species waarvoor geen klasseverbetering wordt 'voorspeld' door de azijnzuurextractie, blijkt dat zij niet

biologisch reinigbaar zijn. Voor het beperkte aantal species klasse II lijkt de azijnzuur extractie een bruikbaar instrument om de biologische reinigbaarheid te voorspellen.

Ook bij de vier species uit klasse II (fig. 36) blijkt dat de met behulp van azijnzuurextractie voorspelde (afwezigheid van) klasseverbetering bij drie van de vier species in de biologische toets wordt bevestigd. Bij de vierde specie wordt door de azijnzuurextractie geen biologische reinigbaarheid voorspeld, terwijl deze specie wel reinigbaar blijkt (fout van de tweede soort β , zie hoofdstuk 3).

Geconcludeerd wordt dat de extractie van PAK met behulp van 70% azijnzuur voor alle klassen species een voorspelling geeft van de mogelijkheid voor een klasseverbetering na biologische reiniging. Indien de extractie van PAK in azijnzuur aanleiding geeft om biologische reiniging in de praktijk in overweging te nemen, dient de biologische reinigbaarheid in de biologische karakteriseringstoets wel gemeten te worden om zeker te zijn van de afwezigheid van storende invloeden op de biologische activiteit.

6.2 Voorspelling van de reinigbaarheid van baggerspecies op korte en lange termijn

In hoofdstuk 5 is aangegeven dat de ontwikkelde protocollen voor species uit klasse IV een goede indruk geven van de biologische reinigbaarheid op korte (1 à 2 jaar) termijn, maar onderschatting geven van het mogelijke reinigingsresultaat op lange (>5 jaar) termijn. Aan de hand van de in dit onderzoek behaalde resultaten is door SC-DLO een schatting gemaakt van de reinigbaarheid (in termen van klassenindeling) van zestien species op korte termijn (1 à 2 jaar). Vervolgens is voor dezelfde species op grond van praktijkervaring van SC-DLO de reinigbaarheid op lange termijn (>5 jaar) geschat. De resultaten zijn weergegeven in tabel 25.

Tabel 25 Voorspelling klassenindeling van diverse species na korte (1 à 2 jaar) behandeling in een bioreactor of intensieve landfarm of lange (> 5 jaar) biologische behandeling in extensieve landfarm. Uitspraken gebaseerd op basis van de praktijkervaring van SC-DLO.

Locatie baggerwerk	Klasse na behandeling in reactor of korte landfarm (1 à 2 jaar).	Klasse na extensieve landfarm (duur > 5 jaar).
Petroleumhaven	3	3 (aangetoond)
Achterburggracht	2	0
Wemeldinge	3	2
Lemster Rien	4	3
Wassenaar	4	4 of 3?
Berkenwoude	3	3
Overschie Rotterdam	4	4 of 3?
Assendelft	3	2
Goeree Overflakkee	2	0
Sassenheim	2	2
Barsingerhorn	2	2
Voorwetering Nieuwkoop	3	2
Stolwijker Sluis	2	2
Voorburggracht	2	0
Bergambacht	2	2
Anna Paulowna	0	0

7 FRACTIESCHEIDING EN BIOLOGISCHE REINIGBAARHEID VAN FRACTIES VAN BAGGERSPECIE

7.1 Achtergrond en opzet

In hoofdstukken 4, 5 en 6 zijn protocollen ontwikkeld en gevalideerd waarmee kan worden ingeschat of biologische behandeling van met PAK vervuilde baggerspecie zal leiden tot een klasseverbetering. Aan de hand van deze protocollen kan een uitspraak worden gedaan over de biologische reinigbaarheid van specie. In dit hoofdstuk wordt ingegaan op de mogelijkheden om specie verder te karakteriseren door middel van fractionering.

Indien blijkt dat biologische reiniging niet zal leiden tot een gewenste klasseverbetering kan worden gezocht naar andere oplossingen voor de behandeling van de specie. Een mogelijke oorzaak van het falen van biologische behandeling is dat er in de specie een fractie aanwezig is die een goed resultaat van biologische behandeling van de totale specie in de weg staat. In dat geval is het interessant een dergelijke fractie te verwijderen uit de bulk, waarna biologische behandeling van de overige specie mogelijk is. Verder is het mogelijk dat een specie die als geheel niet reinigbaar is relatief schone fracties bevat die kunnen worden afgescheiden van de rest van het materiaal. Door het materiaal verder te karakteriseren kan achterhaald worden of een niet biologisch reinigbare specie zou kunnen worden gesaneerd door het scheiden van reinigbare en niet reinigbare fracties of door scheiding van schone en verontreinigde fracties.

Een verdere karakterisering kan ook profijt opleveren wanneer toetsen aangeven dat biologische reiniging van een met PAK vervuilde specie wel mogelijk is. Zo kan het zijn dat de specie schone fracties bevat die van de verontreinigde bulk kunnen worden afgescheiden. De hoeveelheid biologisch te behandelen specie wordt dan kleiner. Ook kan het zo zijn dat een fractie aanwezig is waarin PAK zeer slecht worden afgebroken. Afscheiding van een dergelijke fractie zal leiden tot een beter reinigingsresultaat. Zo kan fractionering leiden tot een kosteneffectievere behandeling van specie, zelfs wanneer biologische behandeling van de totale specie al leidt tot een klasseverbetering.

Dit hoofdstuk richt zich op de biologische reinigbaarheid van fracties van specie en op de mogelijkheid om schone of verontreinigde fracties af te scheiden uit de specie. De volgende aspecten zijn nader onderzocht:

- (1) onderzocht is of er een eenduidig verband bestaat tussen de afbreekbaarheid van PAK in deeltjesgroottefracties en de grootte van deeltjes in die fracties. Dit onderzoek is uitgevoerd met de zeeffracties <32 µm, 45-90 µm, 125-200 µm en 200-500 µm van de specie uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop.
- (2) nagegaan is hoe bepaalde fysisch-chemische scheidingsmethoden in het laboratorium kunnen worden gebruikt voor het voorspellen van het resultaat van fysisch-chemische scheiding met praktijkmethoden. Dit deel van het onderzoek was gericht op de keuze van een aantal fysisch-chemische technieken die na (of naast) een biologische karakterisering kunnen worden gebruikt voor verdere karakterisering van baggerspecie. Het onderzoek is uitgevoerd met de zeeffracties 45-90 µm, 125-200 µm en 200-500 µm van de specie uit Overschie Rotterdam, Petroleumhaven en Voorwetering Nieuwkoop. Deze zeeffracties zijn behandeld met fysisch-chemische technieken gebaseerd op verschillende scheidingsprincipes, zoals: flotatie, opstromen en dichtheidsscheiding. De fracties zijn bekeken onder de UV-microscoop en stereomicroscoop, omdat dat mogelijk snel inzicht oplevert in de voorkomensvorm van PAK.

(3) onderzocht is of de PAK concentratie in een afgescheiden zandfractie kan worden verlaagd door biologische afbraak. Het onderzoek is uitgevoerd met de relatief schone onderloopfracties verkregen bij het opstromen van de zeeffracties 45-90 μm , 125-200 μm en 200-500 μm van Petroleumhavenspecie.

De resultaten van de biologische reinigbaarheid per fractie (punt 1) van drie species worden gegeven in paragraaf 7.2. De resultaten van het onderzoek naar de verschillende scheidingsmethoden (punt 2) worden in paragraaf 7.3, gepresenteerd per specie en niet per scheidingsmethode. Hiervoor is gekozen omdat op deze manier extra informatie kan worden verkregen over de vóórkomensvorm van PAK en de bruikbaarheid van de onderzochte methoden voor het aantonen van vóórkomensvormen. Conclusies over de toepassing van fysisch-chemische scheiding worden getrokken in paragraaf 7.4. De resultaten met betrekking tot de biologische behandeling van relatief schone zandfractie van Petroleumhavenspecie (punt 3) worden gegeven in paragraaf 7.5. Het hoofdstuk wordt afgesloten met enkele algemene conclusies.

7.2 Biologische reinigbaarheid van deeltjesgroottefracties

De resultaten van de biologische behandeling van fracties van baggerspecie zijn gepresenteerd in tabel 26.

Tabel 26 *Biologische PAK afbraak in vier fracties van Overschie Rotterdam-, Petroleumhaven- en Voorwetering Nieuwkoop-specie.*

	[PAK]begin (mg PAK/kg d.s.)	[PAK]rest (mg PAK/kg d.s.)	afbraak (%)	t-toets
Overschie Rotterdam				
< 32 μm	52	31	40	significant
45 - 90 μm	11	10	8	niet significant
125 - 200 μm	12	10	11	niet significant
200 - 500 μm	48	39	< 20	niet significant
Petroleumhaven				
< 32 μm	1013	143	86	significant
45 - 90 μm	420	190	55	significant
125 - 200 μm	151	73	52	significant
200 - 500 μm	550	374	32	n.u. ¹
Voorwetering Nieuwkoop				
< 32 μm	66	64	2	niet significant
45 - 90 μm	109	90	17	niet significant
125 - 200 μm	67	68	0	
200 - 500 μm	76	62	< 20	niet significant

¹: n.u. = t-toets niet uitvoerbaar wegens te kleine hoeveelheid specie

Uit tabel 26 blijkt dat van de onderzochte deeltjesgroottefracties van Overschie Rotterdamspecie alleen de fractie <32 μm beter gereinigd (30 % PAK afbraak) kan worden dan de ongescheiden specie (<10% afbraak) en de overige fracties niet. De PAK afbraak in de fractie <32 μm leidt niet tot een klasseverbetering. Het is in die zin niet mogelijk om op basis van deeltjesgrootte een reinigbare fractie af te scheiden uit Overschie Rotterdamspecie.

De biologische experimenten tonen aan dat de PAK microbiologisch kunnen worden afgebroken in alle onderzochte deeltjesgroottefracties van Petroleumhavenspecie. De biobeschikbaarheid van PAK is groter naar mate de deeltjesgrootte afneemt en ligt voor de fijnste fractie boven de PAK afbraak in de ongescheiden specie (86% en 69% respectievelijk).

Bij de Voorwetering Nieuwkoop-specie ligt de PAK afbraak beneden de 20% en is daarmee volgens de gehanteerde methode niet aantoonbaar. De PAK afbraak in de onderzochte fracties ligt daarmee lager dan de PAK afbraak in de ongescheiden specie (40%).

De resultaten van Overschie Rotterdamspecie en Petroleumhavenspecie wijzen erop dat PAK beter biologisch kunnen worden afgebroken in fracties met kleine deeltjes, dit in tegenstelling tot de gangbare gedachte (zie stand van zaken, hoofdstuk 2). Er is uit tabel 26 nog geen algemeen geldend verband af te leiden tussen deeltjesgrootte en biologische reinigbaarheid van fracties; onderzoek aan meer baggerspecies is daarvoor wenselijk.

7.3 Fysisch-chemische scheiding op laboratoriumschaal voor de karakterisering

De resultaten van de fysisch-chemische scheiding van deeltjesgroottefracties van Overschie Rotterdamspecie, Petroleumhavenspecie en Voorwetering Nieuwkoop-specie worden hieronder per specie gepresenteerd. Deze resultaten zijn eerst voor de species apart geïnterpreteerd en bediscussieerd, waarbij aandacht is besteed aan de mogelijkheden om de species fysisch-chemisch (en/of microbiologisch) te reinigen en aan de vóókomensvorm van de PAK verontreiniging in de speciefractionen. Ook zijn de resultaten van de fysisch-chemische scheiding besproken in relatie tot de resultaten van de biologische experimenten. Algemene conclusies ten aanzien van het gebruik van laboratoriummethoden voor het inschatten van de resultaten van fysisch-chemische scheiding in de praktijk worden getrokken in paragraaf 7.4.

7.3.1 Karakterisering van fracties van baggerspecie uit Overschie Rotterdam

Flotatie:

Tabel 27 Verdeling van PAK en droge stof over residu en schuimfractie na flotatie van drie fracties van Overschie Rotterdamspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	DS [*] (%)	PAK [*] (%)
45-90µm totaal	-	100	100
residu	5	94	53
schuim	39	6	47
125-200µm totaal	-	100	100
residu	1	97	20
schuim	34	3	80
200-500µm totaal	-	100	100
residu	108	99	93
schuim	354	1	7

* som van droge stof en PAK in residu en schuim is op 100% gesteld.

Flotatie van de fracties 45-90 µm en 125-200 µm leidt tot concentratie van PAK in de schuimfractie. Flotatie is effectiever voor de fractie 125-200 µm dan voor de fractie 45-90 µm, wat mogelijk is

veroorzaakt door de aanwezigheid van kleine aggregaten in de fractie 45-90 μm (waargenomen onder microscoop). Deze aggregaten bevatten naast organisch materiaal ook mineraal materiaal, zodat het soortelijk gewicht toeneemt en het effectief oppervlak voor flotatie afneemt. Hierdoor neemt het rendement van de flotatie af. Flotatie is nauwelijks effectief voor de fractie 200-500 μm . Dit kan drie oorzaken hebben, namelijk: (1) PAK zijn in een zodanige vorm aanwezig dat zij niet door flotatie kunnen worden afgescheiden; (2) PAK zijn aanwezig in deeltjes, maar deze zijn te zwaar om te floteren met behulp van de kleine bellen die zijn gebruikt voor flotatie in de laboratoriumopstelling; (3) PAK zijn aanwezig in deeltjes maar de gebruikte chemicaliën zijn niet selectief genoeg om de grove (en dus zware) deeltjes af te scheiden.

Opstromen

Tabel 28 Verdeling van PAK, organische stof en droge stof over bovenloop en onderloop na opstromen van drie fracties van Overschie Rotterdamspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	OS (% van ds)	DS [*] (%)	PAK ^{**} (%)
45-90 μm totaal	26	6,2	100	100
onderloop	11	3,2	93	41
bovenloop	245	70,5	6	59
125-200 μm totaal	11	2,4	100	100
onderloop	2	1,3	96	19
bovenloop	518	63,5	2	81
200-500 μm totaal	81	8,9	100	100
onderloop	2	2,0	88	3
bovenloop	483	51,3	13	97

* percentage in onderloop en bovenloop berekend op basis van toegevoegde hoeveelheid d.s.

** som van de PAK in onderloop en bovenloop is op 100% gesteld.

Door middel van opstromen van fracties van Overschie Rotterdamspecie worden PAK en organische stof geconcentreerd in een klein gedeelte van het droge materiaal. De concentratie van PAK en organische stof in de bovenloop is minder verregaand voor de fractie 45-90 μm dan voor de fracties 125-200 μm en 200-500 μm , wat mogelijk is veroorzaakt door de aanwezigheid van kleine aggregaten van mineraal en organisch materiaal. Deze aggregaten hebben een hogere dichtheid dan organisch materiaal en kunnen daarom minder makkelijk worden opgestroomd. Voor de fractie 200-500 μm is met opstromen een veel verdergaande concentratie van PAK en organische stof te verkrijgen dan met flotatie.

Dichtheidsscheiding

Met behulp van zware vloeistoffen is een groot deel van de PAK en de organische stof in een drijf laag afgescheiden van de bulk van het materiaal. Er is een goede scheiding bewerkstelligd voor alle onderzochte fracties. De PAK concentratie in het residu is voor alle fracties zeer laag.

Met dichtheidsscheiding (zie tabel 29) is in vergelijking met flotatie en opstromen voor de fractie 45-90 μm een veel verdergaande concentratie van PAK en organische stof bewerkstelligd. Dit houdt mogelijk verband met het desintegreren van aanwezige aggregaten tijdens de ultrasoonbehandeling van het monster bij dichtheidsscheiding.

Tabel 29 Verdeling van PAK, organische stof en droge stof over residu en drijfslaag na toepassing van dichtheidscheiding op drie fracties van Overschie Rotterdamspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	OS (% van ds)	DS [*] (%)	PAK ^{**} (%)
45-90µm totaal	26	6,2	100	100
residu	2	1,2	88	7
drijfslaag	219	39,4	9	93
125-200µm totaal	11	2,4	100	100
residu	1	0,7	92	7
drijfslaag	165	21,5	8	93
200-500µm totaal	81	8,9	100	100
residu	2	0,5	80	3
drijfslaag	412	38,2	18	97

* percentage in residu en drijfslaag berekend op basis van toegevoegde hoeveelheid d.s.

** som van de PAK in residu en drijfslaag is op 100% gesteld.

Microscopie

De vier onderzochte fracties van Overschie Rotterdamspecie bevatten deeltjes die, ten opzichte van de rest van het materiaal, duidelijk fluoresceren onder invloed van UV-licht. Waarschijnlijk zijn dit de harde "koolachtige" deeltjes die zichtbaar zijn onder de stereomicroscop. Waarschijnlijk is (een deel van) de PAK in Overschie Rotterdamspecie aanwezig in deze deeltjes.

Olieanalyse

Tabel 30 Oliegehalte in fracties van Overschie Rotterdamspecie

Fractie (µm)	oliegehalte (mg/kg d.s.)
<32	350
45-90	46
125-200	49
200-500	572

Discussie

De resultaten van de fysisch-chemische scheiding van fracties van Overschie Rotterdamspecie laten zien dat door de combinatie van scheiding op diameter (zeven) en op dichtheid (dichtheidsscheiding, opstromen) een relatief schone restfractie kan worden teruggewonnen. Dit gaat gemakkelijk voor grove deeltjesgroottefracties (>125 µm) en wordt moeilijker naarmate de deeltjes kleiner zijn. Voor de praktijk betekent dit dat het waarschijnlijk mogelijk is om uit Overschie Rotterdamspecie een schone zandfractie af te scheiden met behulp van hydrocyclonen, spiraalscheiders, of bezinkingsbasins, eventueel gecombineerd met polishing door middel van opstromen. De vervuilde slibfractie blijkt niet verder gereinigd te kunnen worden met behulp van biologische technieken (tabel 26).

De fysisch-chemische karakterisering geeft inzicht in de achtergrond van de slechte biobeschikbaarheid van PAK in (de fracties van) Overschie Rotterdamspecie (zie 7.2). De resultaten van de dichtheidsscheiding en microscopie geven aan dat een groot deel van de PAK in de fracties 45-90 µm, 125-200 µm en 200-500 µm van Overschie Rotterdamspecie geabsorbeerd is in organische stof en/of aanwezig in koolachtige deeltjes. De flotatieexperimenten maken niet verder duidelijk welk deel van de PAK in de deeltjes aanwezig is, enerzijds omdat veel organische stof wordt

meegefloteerd, zodat flotatie niet selectief is voor PAK in deeltjes, anderzijds omdat grote deeltjes mogelijk niet floteren als gevolg van een te hoog soortelijk gewicht en/of een te lage selectiviteit van de gebruikte chemicaliën.

Het is bekend dat PAK, zeker in het geval van verouderde verontreinigingen, sterk geabsorbeerd kan zijn in organische stof. Absorptie van PAK in kooldeeltjes is meestal nog veel sterker [Püschel en Calmano, 1995]. De combinatie van de zeer lage biologische beschikbaarheid van PAK en de resultaten van de fysische karakterisering zijn een sterke aanwijzing dat PAK in Overschie Rotterdamspecie aanwezig is in kooldeeltjes.

Het feit dat PAK wel waarneembaar afbreekt in de deeltjesgroottefractie <32 µm en niet in de andere onderzochte fracties is te verklaren met behulp van theoretische modellen voor het oplosgedrag van PAK uit deeltjes [Rulkens & Bruning, 1995; Rulkens et al., 1996]. In fracties met kleine deeltjes treedt minder transportlimitatie op bij biodegradatie van PAK omdat de transportafstand van PAK van de vaste fase naar de vloeistoffase kleiner is.

7.3.2 Karakterisering van fracties van baggerspecie uit Petroleumhaven

Flotatie

Tabel 31 Verdeling van PAK, organische stof en droge stof over residu en schuimfractie na flotatie van drie fracties van Petroleumhavenspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	OS (% van ds)	DS* (%)	PAK** (%)
45-90µm totaal	-	5,2	100	100
residu	87	1,9	55	4
schuim	2335	10,0	45	96
125-200µm totaal	-	1,5	100	100
residu	5	0,4	91	3
schuim	1607	4,5	9	97
200-500µm totaal	1119	4,7	100	100
residu	46	0,5	89	3
schuim	14910	17,1	11	97

* percentage in residu en schuim berekend op basis van toegevoegde hoeveelheid d.s.

** som van de PAK in residu en schuim is op 100% gesteld.

Door flotatie worden PAK en organische stof uit elk van de drie onderzochte deeltjesgroottefracties geconcentreerd in een schuimlaag. De concentratie van PAK is minder verregaand voor de fractie 45-90 µm dan voor de fracties 125-200 µm en 200-500 µm. Bij flotatie van de fractie 45-90 µm belandt weliswaar 96% van de PAK in het schuim maar deze schuimfractie bevat ook 45% van het droge materiaal. Ondanks de vergaande concentratie van PAK in het schuim is de restconcentratie PAK in het residu nog hoog, zeker voor de fracties 45-90 µm en 200-500 µm.

Opstromen

Opstromen van fracties (zie tabel 32) van Petroleumhavenspecie leidt tot concentratie van PAK en organische stof in een klein deel van het materiaal in de bovenloop. Ondanks deze vergaande concentratie is het PAK gehalte in de onderloop van alle deeltjesgroottefracties nog erg hoog.

Tabel 32 Verdeling van PAK, organische stof en droge stof over bovenloop en onderloop na opstromen van drie fracties van Petroleumhavenspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	OS (% van ds)	DS* (%)	PAK* (%)
45-90µm totaal	-	5,2	100	100
onderloop	306	0,9	83	14
bovenloop	8844	25,4	17	86
125-200µm totaal	-	1,5	100	100
onderloop	43	1,1	82	7
bovenloop	2799	24,9	18	93
200-500µm totaal	1119	4,7	100	100
onderloop	208	0,7	89	11
bovenloop	15459	39,8	9	89

* percentage in onderloop en bovenloop berekend op basis van toegevoegde hoeveelheid d.s.

** som van de PAK in onderloop en bovenloop is op 100% gesteld

Dichtheidsscheiding

Tabel 33 Verdeling van PAK, organische stof en droge stof over residu en drijfslaag na toepassing van dichtheidsscheiding op drie fracties van Petroleumhavenspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	OS (% van ds)	DS* (%)	PAK** (%)
45-90µm totaal	421	8,1	100	100
residu	166	0,8	70	13
drijfslaag	3235	21,0	24	87
125-200µm totaal	134	5,2	100	100
residu	41	0,3	91	34
drijfslaag	1131	8,4	6	66
200-500µm totaal	1119	1,5	100	100
residu	115	0,5	82	14
drijfslaag	3776	9,9	16	86

* percentage in residu en drijfslaag berekend op basis van toegevoegde hoeveelheid d.s.

** som van de PAK in residu en drijfslaag is op 100% gesteld.

Door middel van dichtheidsscheiding zijn PAK en organische stof uit de drie fracties van Petroleumhavenspecie geconcentreerd in een beperkt deel van de droge stof in de drijfslaag. Het PAK gehalte in het residu is ondanks de vergaande concentratie van PAK in de drijfslaag nog vrij hoog.

Microscopie

De vier onderzochte fracties van Petroleumhavenspecie bevatten deeltjes die zeer sterk fluoresceren onder invloed van UV-licht. De fluorescerende deeltjes zijn onder de stereomicroscop te herkennen als aggregaatjes van kleine speciedeeltjes en olie- of teerachtig materiaal.

Tabel 34 Oliegehalte in fracties van Petroleumhavenspecie

fractie (μm)	oliegehalte (mg/kg)
<32	9720
45-90	7640
125-200	2180
200-500	1940

Discussie

De resultaten van de fysisch-chemische scheiding van fracties van Petroleumhavenspecie laten zien dat door zeven in combinatie met flotatie, opstromen of dichtheidsscheiding een relatief schoon materiaal kan worden afgescheiden. Dit geeft aan dat in de praktijk scheidingstechnieken die berusten op verschillen in diameter en dichtheid kansrijk zijn voor de reiniging van vervuilde specie. Een relatief schone zandfractie kan mogelijk worden afgescheiden door middel van hydrocyclonen, spiraalscheiders of bezinkingsbassins. Deze zandfractie kan verder worden gepolished door biologische behandeling, opstromen of flotatie. De resultaten voor Petroleumhavenspecie geven aan dat de restconcentratie PAK in een afgescheiden zandfractie waarschijnlijk nog boven de norm voor bouwstoffen zal liggen.

De slibfractie die vrijkomt bij classificatie van Petroleumhavenspecie kan niet zonder meer eenvoudig worden gereinigd met biologische technieken. Dat biologische reiniging goed toepasbaar is op kleine deeltjes van Petroleumhavenspecie betekent niet automatisch dat zij succesvol zal zijn voor een slibfractie die wordt afgescheiden bij classificatie. Omdat classificatie berust op scheiding op zowel diameter als dichtheid, bevat een door classificatie verkregen slibfractie ook grotere deeltjes met lage dichtheid, zoals organische stof en PAK deeltjes.

De fysisch-chemische karakterisering geeft ook meer inzicht in de achtergrond van de resultaten van de biologische PAK afbraakexperimenten. De resultaten van opstromen en dichtheidsscheiding geven aan dat een groot deel van de PAK in de fracties 45-90 μm , 125-200 μm en 200-500 μm van Petroleumhavenspecie geab- of geadsorbeerd is in of aan de organische stof en/of aanwezig is als deeltje. De microscopie laat zien dat er in ieder geval teerachtige deeltjes aanwezig zijn die waarschijnlijk een deel van de aanwezige PAK bevatten. De flotatieexperimenten kunnen geen uitsluitsel geven over welk deel van de PAK in deze deeltjes aanwezig is. Behalve PAK is bij flotatie namelijk ook organische stof in het schuim geconcentreerd, zodat moet worden geconcludeerd dat de gebruikte flotatiehulpmiddelen niet specifiek zijn voor het afscheiden van deeltjes die aan het oppervlak zijn verontreinigd met PAK. Gezien de grote hoeveelheid olie die aanwezig is in de fracties zal ook een deel van de PAK aanwezig zijn in eventueel aanwezige oliefilms.

De slechtere biologische afbreekbaarheid van PAK in de grove fracties van Petroleumhavenspecie is deels verklaarbaar door het feit dat PAK door transportlimitatie langzamer uit grote (organischestof of teer) deeltjes beschikbaar komt dan uit kleine deeltjes. Het PAK transport limiteert mogelijk de bio-beschikbaarheid van PAK in grove fracties. In het oog moet worden gehouden dat ook verschillen in de samenstelling van de matrix een grote rol spelen in de degradatiekinetiek van PAK (zie hoofdstuk 2).

7.3.3 Karakterisering van fracties van baggerspecie uit Voorwetering Nieuwkoop

Opstroomen

Tabel 35 Verdeling van PAK, organische stof en droge stof over bovenloop en onderloop na opstroomen van drie fracties van Voorweteringspecie

Fractie	PAK (mg/kg d.s.)	OS (% van ds)	DS [*] (%)	PAK ^{**} (%)
45-90µm totaal	109	ND	100	100
onderloop	102	16,2	44	38
bovenloop	134	74,5	55	62
125-200µm totaal	89	29,0	100	100
onderloop	14	1,4	50	12
bovenloop	163	75,0	31	88
200-500µm totaal	97	18,1	100	100
onderloop	6	0,7	78	6
bovenloop	315	77,7	23	94

* percentage in onderloop en bovenloop berekend op basis van toegevoegde hoeveelheid d.s.

** som van de PAK in onderloop en bovenloop is op 100% gesteld.

Opstroomen van de fracties 125-200 µm en 200-500 µm van Voorweteringspecie leidt tot concentratie van PAK en organische stof in de bovenloop. Bij het opstroomen van de fractie 45-90 µm treedt geen concentratie van PAK op in de bovenloop. Dit is mogelijk het gevolg van aggregaatforming. Opstroomen blijkt over het algemeen minder effectief voor Voorweteringspecie dan voor Overschie Rotterdamspecie en Petroleumhavenspecie. Dit houdt waarschijnlijk verband met het zeer hoge organischstofgehalte van Voorweteringspecie.

Microscopie

De vier onderzochte fracties van Voorwetering Nieuwkoopspecie bevatten deeltjes die onder invloed van UV-licht fluoresceren. De fluorescentie is echter zwak. Onder de stereomicroscop is te zien dat de fluorescerende deeltjes houtachtig zijn.

Olieanalyse

Tabel 36 Oliegehalte in fracties van Voorwetering Nieuwkoopspecie

Fractie (µm)	oliegehalte (mg/kg)
<32	426
45-90	64
125-200	126
200-500	55

Discussie

De resultaten van de fysisch-chemische scheiding laten zien dat door middel van zeven in combinatie met opstroomen een hoeveelheid relatief schoon materiaal kan worden afgescheiden uit grove fracties van Voorwetering Nieuwkoopspecie. Dit geeft aan dat in de praktijk mogelijk een relatief schone zandfractie kan worden afgescheiden door toepassing van scheidingstechnieken die berusten op verschillen in diameter en dichtheid. Er zal echter een grote vervuilde restfractie overblijven die veel organische stof bevat. In het algemeen kan worden gesteld dat Voorwetering Nieuwkoopspecie als

gevolg van het hoge organisch stof gehalte moeilijker is te verwerken dan specie met meer minerale delen.

De opstroomexperimenten en de microscopische waarnemingen geven bovendien aan dat PAK in de onderzochte fracties van Voorwetering Nieuwkoop-specie geabsorbeerd zijn in organische stof. Het hoge organische stofgehalte van de fracties van Voorwetering Nieuwkoop-specie bemoeilijkt de toepassing van de karakteriseringsmethoden flotatie en dichtheidsscheiding.

7.4 Toepassing van fysisch-chemische scheiding bij karakterisering

Uit de resultaten voor de drie onderzochte species (paragrafen 7.3.1, 7.3.2 en 7.3.4) blijkt dat fysisch-chemische scheiding van fracties door middel van zeven, flotatie, opstromen en/of dichtheidsscheiding kan worden gebruikt om aan te geven of er uit een baggerspecie schone fracties kunnen worden afgescheiden. Hieronder wordt kort samengevat hoe de verschillende technieken te gebruiken zijn bij de karakterisering van baggerspecie.

Scheiding met behulp van zeven geeft aan of er schone of sterk vervuilde deeltjesgroottefracties kunnen worden afgescheiden uit de bulk van het materiaal. Scheiden op grond van deeltjesgrootte door middel van zeven kan in de praktijk worden uitgevoerd tot 500 µm.

Scheiding kan in de praktijk plaatsvinden met een opstroomkolom of een flotatiecel. Opstromen in het laboratorium kan worden gebruikt voor het afscheiden van fracties die representatief zijn voor fracties die in de praktijk kunnen worden afgescheiden met hydrocyclonen of bezinkingsbassins. Hiervoor moet een aantal kolommen in serie worden bedreven. Door Tauw Milieu is een karakteriseringstest ontwikkeld op basis van dit principe [Cuperus en Van Veen, 1997].

Met een combinatie van opstromen met zeven kan in het laboratorium worden aangegeven of het in principe mogelijk is om uit een specie een schone zandfractie af te scheiden met scheidingstechnieken uit de praktijk die gebaseerd zijn op verschillen in diameter en dichtheid, zoals bijvoorbeeld hydrocyclonage. Dezelfde informatie kan ook verkregen worden door toepassing van een combinatie van zeven en dichtheidsscheiding. Op basis van deze combinatie van zeven en dichtheidsscheiding is door Heidemij Realisatie en TNO de zogenaamde TDG-test ontwikkeld voor karakterisering [Pruijn et al., 1997]. Uit de hier beschreven experimenten is af te leiden dat voor PAK verontreinigde baggerspecie een combinatie van zeven en opstromen een mogelijk alternatief is voor deze TDG-test. Dichtheidsscheiding met zware vloeistoffen is op praktijkschaal niet toepasbaar.

Het was niet mogelijk om aan de hand van de verkregen resultaten een nieuwe laboratoriummethode te ontwikkelen waarmee een scheidingstechniek kan worden gekozen voor de behandeling van met PAK vervuilde baggerspecie.

Tot slot wordt kort ingegaan op de relatie tussen de resultaten van de fysisch-chemische scheiding van fracties van baggerspecie en de voorkomensvorm van PAK in baggerspecie. De experimenten hebben informatie opgeleverd over de toepasbaarheid van de verschillende fysisch-chemische methoden voor het aantonen van de voorkomensvormen van PAK in fracties van baggerspecie, waarbij de volgende conclusies getrokken kunnen worden:

Flotatie is niet selectief voor deeltjes die aan de oppervlakte zijn verontreinigd met PAK omdat ook organische stof met hieraan geabsorbeerde PAK wordt gefloateerd. De flotatie-experimenten kunnen daarom niet worden toegepast voor het aantonen van PAK aan de oppervlakte van baggerspeciedeeltjes.

Opstromen kan worden toegepast voor het bepalen van de hoeveelheid PAK in organische stof en/of PAK deeltjes, in deeltjesgroottefracties met deeltjes groter dan 125 µm.

Dichtheidsscheiding kan worden toegepast voor het bepalen van de hoeveelheid PAK in organische stof en/of PAK deeltjes, in deeltjesgroottefracties met deeltjes groter dan 45 µm.

Microscopie is een methode waarmee informatie kan worden verkregen over de aanwezigheid van PAK in specifieke deeltjes (bijvoorbeeld roet- of teerdeeltjes) en heeft een subjectief en kwalitatief karakter.

In dit onderzoek kon geen standaardmethode ontwikkeld worden voor het aantonen van de vóórkomensvormen van PAK in de deeltjesgroottefracties van een baggerspecie. De relatie tussen de vóórkomensvorm van PAK en de biologische reinigbaarheid van fracties van baggerspecie kon derhalve niet worden gelegd.

7.5 Biologische PAK afbraak in een zandfractie

Paragraaf 7.3.2 geeft aan dat een relatief schone zandfractie kan worden afgescheiden uit Petroleumhavenspecie met behulp van scheidingstechnieken die zijn gebaseerd op verschillen in diameter en dichtheid. De restconcentratie PAK in een dergelijke afgescheiden zandfractie ligt (waarschijnlijk) boven de norm voor bouwstoffen. Met het oog op hergebruik van de zandfractie is onderzocht of de resterende PAK in de zandfractie biologisch konden worden afgebroken.

Hiertoe zijn experimenten uitgevoerd met materiaal uit de onderloopfracties van opstroomexperimenten. De resultaten zijn weergegeven in tabel 37.

Tabel 37 *Biologische PAK afbraak in de onderloop van opgestroomde fracties van Petroleumhavenspecie.*

Fractie	[PAK]begin (mg/kg)	[PAK]rest (mg/kg)	afbraak (%)
45-90 µm	54	41	25
125-200 µm	30	22	26
200- 500 µm	106	95	11

Tabel 37 laat zien dat er weinig PAK zijn afgebroken in het onderloopmateriaal van de opgestroomde fracties van Petroleumhavenspecie, zeker in vergelijking de hoeveelheid PAK die is afgebroken in de niet-opgestroomde fracties van Petroleumhavenspecie (32-86%, zie tabel 27).

Het is dus mogelijk om een deel van de PAK af te breken in een zandfractie die met behulp van fysisch-chemische technieken is afgescheiden. Het grootste deel van de aanwezige PAK is echter niet beschikbaar voor micro-organismen.

Het is niet mogelijk om aan de hand van de resultaten een algemeen geldende uitspraak te doen voor alle soorten baggerspecie. Verwacht mag worden dat de verlaging van de biologische afbreekbaarheid in een zandfractie ten opzichte van de bulk van het materiaal, zoals die hier is waargenomen voor Petroleumhavenspecie, ook bij andere species zal optreden.

7.6 Conclusies over fractiescheiding, PAK en biobeschikbaarheid

Uit het onderzoek aan drie baggerspecies met sterk uiteenlopende eigenschappen kan worden geconcludeerd dat PAK afbraak in fracties met kleinere diameter beter verloopt dan in grotere deeltjes en beter dan in de ongescheiden specie. Of dit algemene geldigheid heeft zou door verder onderzoek vastgesteld kunnen worden.

In een door opstromen afgescheiden zandfractie van de Petroleumhavenspecie, die schoon is ten opzichte van de ongescheiden specie, maar nog steeds te veel PAK bevat voor direct hergebruik, kan een deel van de PAK biologisch worden verwijderd. Hoewel bij de specie van de Petroleumhaven de zandfractie na biologische reiniging nog steeds niet direct herbruikbaar is, zou dat bij andere species wel het geval kunnen zijn.

In de praktijk wordt een aantal testen gebruikt voor het voorspellen van het resultaat van reiniging van baggerspecie met fysisch-chemische scheidingstechnieken. Deze testen berusten op fractiescheiding door middel van opstromen, hydrocyclonage, of zeven in combinatie met dichtheidsscheiding. Op grond van de beschreven resultaten wordt geconcludeerd dat nieuwe toetsen op basis van flotatie of een combinatie van zeven en opstromen een aanvulling of alternatief kunnen zijn voor bestaande toetsen. Het bleek echter niet mogelijk om al aan de hand van de beschreven resultaten met een beperkt aantal species een nieuwe karakteriseringsmethode te ontwikkelen.

8 CONCLUSIES

Baggerspecies uit de klassen I, II, III en IV en enige reeds in landfarming gereinigde baggerspecies zijn behandeld met analytisch-chemische extractietechnieken om na te gaan of met een snelle en betrouwbare methode dat deel van de PAK kan worden verwijderd dat biologisch beschikbaar is. Tevens is nagegaan of fysisch-chemische technieken inzicht kunnen geven in de vóórkomensvorm van de PAK en de analytische en biologische beschikbaarheid. Na vergelijking van de extractiekinetiek en de extractierendementen van diverse polaire en apolaire oplosmiddelen bleek dat extractie van PAK uit baggerspecie in 70% azijnzuur, in een 10 % w/v verhouding bij 25 °C gedurende 10 minuten een indruk geeft van de biologisch beschikbare PAK. De biologisch beschikbare PAK werden bepaald met een in dit onderzoek geoptimaliseerde methode gebaseerd op een DECHEMA-protocol voor terrestrische bodems.

Met 16 verse species is onderzocht of de gevonden kwantitatieve relatie tussen PAK extractie in 70% azijnzuur en biologische afbraak van PAK- na statistische analyse - algemene geldigheid heeft. Gebleken is dat de onnauwkeurigheid van de bepalingen voor klasse I en II specie een grote spreiding in de meetresultaten tot gevolg heeft waardoor de relatie tussen de PAK extractie in azijnzuur en de biologische beschikbaarheid grote marges kent. De gevonden relatie tussen het extractierendement en de biologische beschikbaarheid voor klasse III en met name voor klasse IV specie heeft een kleinere spreiding. De relatie tussen PAK extractie in azijnzuur en de biologische beschikbaarheid kan voor klasse IV specie worden weergegeven als: *Biologische beschikbaarheid in % = 4 + 1.09 * het extractierendement in 70% azijnzuur (in procenten)*. Het aantal species was beperkt, hetgeen een uitspraak over de algemene geldigheid van de relatie beperkt: de spreiding is +/- 18%. Als de aangenomen relatie bestaat, kan door het aantal metingen te verhogen tot 16 species (in plaats van 6) deze spreiding worden teruggebracht tot +/- 12% en door het aantal te verhogen tot 70 species tot +/- 11%. Met andere woorden: door het geringe aantal species is de onzekerheid over de gevonden kwantitatieve relatie nog groot; de zekerheid kan alleen vergroot worden door meer species te testen.

De doelstelling om een snelle, betrouwbare methodiek te ontwikkelen om de biologische reinigbaarheid van baggerspecies te kunnen voorspellen is zo gedeeltelijk gerealiseerd. De ontwikkelde methode is bruikbaar voor klasse IV specie, waarbij de betrouwbaarheid vergroot kan worden door een groter aantal species in de praktijk te testen met de ontwikkelde protocollen.

Voor de praktijk is de kwantitatieve relatie tussen het extractierendement van PAK en de biologische beschikbaarheid in procenten minder van belang dan de begin- en eindconcentratie PAK in de baggerspecies. De klasse-indeling van species en daarmee de noodzaak tot reiniging zijn immers gebaseerd op deze concentraties. Indien de PAK concentraties (mg/kg) voor en na extractie in 70% azijnzuur en voor en na biologische behandeling worden uitgezet in staafdiagrammen, inclusief de spreiding, blijkt dat de azijnzuurextractie voor de species uit klasse II, III en IV een goede indicatie levert voor de biologische reinigbaarheid; biologische reinigbaarheid is daarbij gedefinieerd als klasseverbetering.

Weergave van de PAK concentraties in een baggerspecie voor en na behandeling met 70% azijnzuur geeft voor species uit de klassen II, III en IV goed weer of biologisch behandeling van een specie tot een klasseverbetering zal leiden. Sommige species blijken de biologische afbraak van PAK echter te remmen, zodat na een PAK extractie in azijnzuur die wijst op de mogelijkheid van biologische PAK afbraak, altijd een biologische test moet worden uitgevoerd.

PAK extractie in 70% azijnzuur kan in de praktijk gebruikt worden om snel en betrouwbaar een indicatie te krijgen over mogelijke klasseverbetering van baggerspecie door biologische behandeling. Deze extractiemethode kan zo gebruikt worden als beslissingsondersteunend instrument.

Fysisch-chemische methoden zoals microscopie, dichtheidsscheiding (met opstromen, zwarevloeistofscheiding, of floteren), fotoakoestische spectroscopie en hydrolyse van het organisch materiaal geven geen algemeen geldend inzicht in de voorkomensvorm van PAK en de biobeschikbaarheid.

De scheidingsexperimenten geven wel aan dat de biobeschikbaarheid van PAK bij drie onderzochte species beter lijkt bij de fijnere fracties, terwijl in de literatuur meestal wordt beschreven dat de biobeschikbaarheid van PAK juist groter is in de grove fracties. In een grove zandfractie van Petroleumhavenspecie kon door biologische behandeling weliswaar PAK verwijderd worden, maar de restconcentratie bleef te hoog voor direct hergebruik. De geteste fysisch-chemische technieken kunnen een alternatief of een aanvulling betekenen op de reeds in de praktijk gebruikte fysisch-chemische testen.

De doelstelling van het onderzoek om na te gaan hoe de ontwikkelde protocollen gebruikt kunnen worden om vast te stellen hoe biologische reinigingstechnieken gecombineerd kunnen worden met fysisch-chemische technieken is hiermee niet gehaald. Indien in de praktijk blijkt dat de ontwikkelde protocollen betrouwbaar en bruikbaar zijn, en het vervolgonderzoek naar fysisch-chemische technieken nieuwe inzichten oplevert kan het onderzoek naar de relatie tussen de biologische reinigbaarheid en de fysisch-chemisch onderzoek opnieuw opgepakt worden.

De ontwikkelde methoden voor de extractie van PAK in 70% azijnzuur en de bepaling van de biologische beschikbaarheid van PAK op grond van een aangepast DECHEMA protocol zijn vastgelegd in twee protocollen. De ontwikkelde protocollen geven voor de praktijk ondersteuning bij beslissingen over reinigbaarheid, hergebruik of andere bestemmingen van aangeboden partijen baggerspecie. Door gebruik van de protocollen in de praktijk kan de betrouwbaarheid vergroot worden.

9 DE KARAKTERISERINGSPROTOCOLLEN

Als resultaat van dit onderzoek zijn twee methoden beschreven om de biologische beschikbaarheid van PAK in baggerspecie te karakteriseren. Een analytisch-chemische methode kan voor baggerspecie klasse IV binnen een dag de biologisch beschikbare PAK voorspellen en de klasse-indeling van een specie na biologische reiniging schatten. Vervolgens kan met een biologische toets de biologisch beschikbare fractie met een grotere zekerheid worden gemeten. Eventuele remming van de biologische activiteit kan daarmee ook worden vastgesteld. De met de analytisch-chemische en biologische methoden vastgestelde reinigbaarheid betreft de reinigbaarheid in bioreactoren of landfarming op korte termijn, dat wil zeggen de reinigbaarheid in landfarm in een periode van 1 à 2 jaar. Met de gebruikte fysisch-chemische toetsen is het nog niet mogelijk na te gaan of behandeling van fracties van de baggerspecie tot bruikbare of reinigbare producten leidt.

In dit hoofdstuk wordt weergegeven hoe de ontwikkelde protocollen ingezet kunnen worden bij de beoordeling van de baggerspecie om te komen tot een reinigingstraject.

9.1 Plaats van protocollen in de besluitvorming

Oriënterend en nader onderzoek

Baggeren van een watergang vindt plaats vanwege een waterbeheersing of milieu. Als de noodzaak tot baggeren is vastgesteld, vindt bemonstering van de waterbodem plaats ter vaststelling van de kwaliteit. Hierbij kan gebruikt worden gemaakt van protocollen ontwikkeld door het NNI: bemonstering met behulp van NEN 5720, monstervoorbehandeling met NEN 5719 en analyse van PAK met NEN 5771. Ook voor analyse van andere contaminanten bestaan er NEN-normen of zijn deze in ontwikkeling.

Op basis van de verzamelde resultaten kan worden vastgesteld of er sprake is van een vervuilde situatie en of reiniging kan leiden tot een klasseverbetering. Door klasseverbetering zijn er meer toepassingen mogelijk voor de baggerspecie. Biologische reiniging komt in aanmerking bij een vervuiling met biologisch afbreekbare stoffen als PAK.

Analytisch-chemische karakterisering

Voordat wordt besloten tot nader onderzoek moet eerst worden vastgesteld of biologische reiniging een optie is voor reiniging. In dat geval kan een azijnzuurextractie worden uitgevoerd. Afhankelijk van de gewenste nauwkeurigheid en de bekende spreiding in de PAK analyseresultaten moet worden gekozen voor een meervoudige uitvoering. Het veelvoud kan bepaald worden met statistische methoden. Medebepalend voor het aantal waarnemingen is de spreiding in waarnemingresultaten van het uitvoerend laboratorium. Als wordt uitgegaan van een spreiding van 10% moet voor een gewenste onbetrouwbaarheid van 20 % in viervoud worden gemeten. Bij een onbetrouwbaarheid van 30% kan worden volstaan met een meting in duplo. Is de door het te raadplegen laboratorium opgegeven spreiding groter, dan zullen meer metingen nodig zijn (zie hoofdstuk 3).

Met het resultaat van de azijnzuurextractie kan worden voorspeld tot welk niveau een baggerspecie reinigbaar is. Dit bepaalt welke klasse-indeling wordt bereikt na biologische reiniging. Het met azijnzuur geëxtraheerde deel van de PAK, is een schatting van de biologisch beschikbare fractie en geeft de reinigbaarheid die realiseerbaar is in een korte periode in een bioreactor of gedurende 1 à 2 jaar in een landfarm.

De voorspelde PAK concentratie na reiniging moet worden vergeleken met de vereiste concentratie voor een toepassing. Dit kunnen zijn:

Gebruik als bouwstof. Zodra het PAK-gehalte kleiner is dan 40 mg. kg^{-1} d.s. mag de baggerspecie worden hergebruikt als bouwstof.

Multifunctioneel bodemgebruik. In het verleden was de streefwaarde 1 mg. kg^{-1} d.s. moeilijk te realiseren, omdat reinigingsresultaat op korte termijn moest worden behaald. Nu kan dit worden bereikt door toepassing van extensieve technieken. Als de voorspelde restconcentratie na reiniging laag is en/of het reinigingspercentage hoog, kan deze toepassing worden nagestreefd. Voor toepassingen kan worden gedacht aan het op de kant zetten van baggerspecie of toepassing in landbouw of natuur.

Storten. In de praktijk wordt momenteel veel specie gestort in depots. Biologische reiniging kan er voor zorgen dat een specie die geclassificeerd is als chemisch afval, door biologische reiniging terechtkomt in klasse 4. De stortprijs kan hierdoor aanzienlijk verminderen.

Biologische karakterisering

Als op grond van de resultaten van de analytisch-chemische karakterisering een specie als reinigbaar wordt bevonden, wordt aanbevolen een biologische karakterisering uit te voeren om de reinigbaarheid te testen voor het verkrijgen van zekerheid (bijvoorbeeld om na te gaan of de specie niet toxisch is door de aanwezigheid van andere contaminanten dan PAK). Bij de biologische karakteriseringsmethode wordt gemeten hoeveel PAK er onder optimale omstandigheden door micro-organismen kunnen worden afgebroken. Dit is een directe meting van de biologisch beschikbare fractie. Deze meting geeft een benadering van de hoeveelheid PAK, die binnen twee jaren met een biologische techniek kan worden verwijderd. Ook hiervoor geldt dat voor een grotere nauwkeurigheid de toets in meervoud moet worden uitgevoerd. Voor het bepalen van de aantallen te testen monsters kunnen statistische methoden worden toegepast. Als de resultaten de biologische reinigbaarheid of de mogelijkheid van een klasseverbetering bevestigen, kan eventueel gestart worden met de reiniging in de praktijk.

Indien dit niet het geval is dan kan via de fysisch-chemische karakterisering worden bepaald of schone of reinigbare fracties kunnen worden afgescheiden.

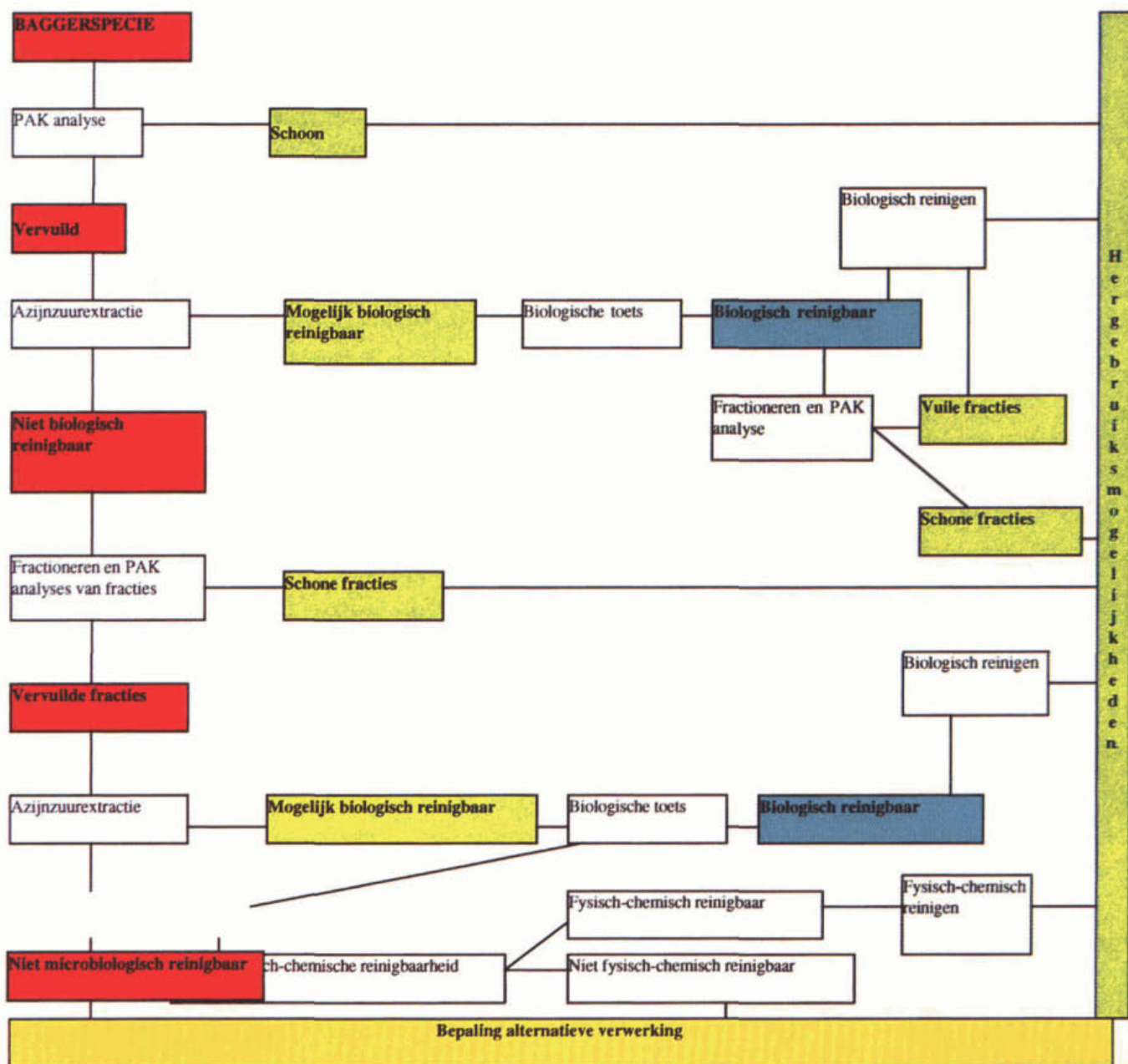
Fysisch-chemische karakterisering

Fysisch-chemische karakterisering levert informatie op over de verdeling van PAK over de deeltjesgroottefracties. Op grond hiervan kan bepaald worden of schone fracties kunnen worden afgescheiden.

Bij de fysische chemische karakterisering wordt in eerste instantie een fractionering uitgevoerd op basis van deeltjesgrootte met behulp van trilzeven. Vervolgens wordt de concentratie PAK in de zeeffracties gemeten, waarna bepaald kan worden welke fracties schoon zijn, welke licht vervuild en welke sterk vervuild. De licht vervuilde en sterk vervuilde fracties kunnen vervolgens verder worden behandeld in een laboratoriumopstroomkolom en/of een laboratoriumflotatiecel. Daarbij worden twee deelfracties verkregen, waarvan het gewichtspercentage en de concentratie PAK kunnen worden bepaald. Zo kan per deeltjesgroottefractie worden vastgesteld of een verdere scheiding in schoon, licht vervuilde en sterk vervuilde baggerspecie mogelijk is met technieken die gebaseerd zijn op verschillen in diameter en dichtheid (zeven + opstromen) of met technieken die gebaseerd zijn op verschillen in oppervlakte-eigenschappen (zeven + floteren).

De resultaten van een dergelijke fysisch-chemische karakterisering geven een indicatie of het zinvol is om in de praktijk een fractionering toe te passen. Tevens geven de resultaten aan met welke technologie deze fractionering zou moeten plaatsvinden (zeven, floteren, opstromen of hydrocycloneren). Door de fysisch-chemische karakterisering kan worden vastgesteld of en hoe in de praktijk schone en herbruikbare fracties kunnen worden verkregen.

9.2 Plaats van de protocollen bij de beoordeling van baggerspecie



Figuur 37 Beslisboom

De te volgen stappen om de zin en mogelijkheden van biologische reiniging snel, betrouwbaar en tegen minimale kosten te kunnen bepalen kunnen worden weergegeven in een beslisboom. In figuur 37 is met behulp van een voorstel tot een dergelijke beslisboom aangegeven hoe de in dit onderzoek ontwikkelde toetsen kunnen worden gebruikt.

Het totaal van de te bereiken doelen en de resultaten van de verschillende karakteriseringsmethoden, zal resulteren in keuzen voor mogelijke behandelingsmethoden. Door deze keuzemogelijkheden te combineren met andere randvoorwaarden zoals financiën, bestuurlijke en maatschappelijke acceptatie en milieurendement zal uiteindelijk worden gekozen voor één behandelingsmethode of behandelingstraject van de te baggeren specie. In deze besluitvorming spelen protocollen een rol. In

tabel 38 is aangegeven waar protocollen van belang zijn. In tabel 38 zijn de in het hier gerapporteerde onderzoek ontwikkelde protocollen vet aangegeven en wordt verwezen naar de betrokken bijlage.

Tabel 38 Te gebruiken protocollen bij de beoordeling van baggerspecie. Vetgedrukt is aangegeven bij welke activiteit protocollen uit dit rapport kunnen worden gebruikt.

Doel	Activiteit	Protocol
Vaststellen waterbodemkwaliteit	Bemonstering Voorbehandeling Analyse	NEN 5720 NEN 5719 o.a. NEN 5771
Vaststellen verontreinigingsgraad	Klasse-indeling. Klasse-bepalende verontreiniging	Normstelling
Schatting biologisch beschikbare fractie	Azijnzuurextractie	Bijlage I
Doel reiniging	Vergelijken restconcentratie met normen	Normstelling
Vaststellen biologisch beschikbare fractie	Biologische karakterisering	Bijlage II
Mogelijkheid biologisch reinigen	Keuze uit technieken (landfarming, reactoren, depot)	-
Verdere karakterisering	Fysisch-chemische karakterisering	Tauw § 7.4 Heidemij: TDG-test § 7.4
Behandeling deelfracties	Keuze technieken	-

10 REFERENCES

- Anonymus (1991); Water treatment handbook, Degrémont, sixth edition 2, 642-678.
- Anonymus (1994); Vergelijkend onderzoek naar de biologische reiniging van baggerspecie; Hoogheemraadschap van Rijnland, HAM-VOW, RA94.003/lvm.
- Annokkée, G.J. (1990); Grootschalige, extensieve uitvoeringswijzen van reinigingsmethoden voor vervuilde baggerspecie; TNO, Apeldoorn, RIZA rapport 91062.
- Arendt F., Hinsenveld M., Van den Brink, W.J. (Eds.) (1990); Contaminated Soil '90, Volume II, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.
- Bauer, J.E., G. Capone (1985); Degradation and mineralization of the PAH anthracene and naphthalene in intertidal marine sediments; *Applied and Environmental Microbiology*, 50 (1) 81-90.
- Beurskens, A.G.C. (1994); Monstervoorbehandeling en clean-up bij de bepaling van polycyclische aromatische koolwaterstoffen in grond. DLO Staring Centrum, Interne mededeling 301.
- Brummeler, E. ten (1995); Biotechnologische grondreiniging geeft voorspelbaar eindresultaat; IOP-Milieubiotechnologie 6, Senter, Den Haag.
- Bruning, H. (1995); Flotation in contaminated soil treatment. In: Van den Brink, W.J., R. Bosman, F. Arendt (Eds.), Contaminated Soil '95, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1169-1170.
- Bumpus, J.A. (1989); Biodegradation of PAHs by *Phanerochaete chrysosporium*; *Applied and environmental microbiology*, 55, 154-158.
- Carpels, M., L. Diels, L. Kinnaer, D. Vanhouten, H. Elslander, S. VanRoy, L. Hooybergs (1994); Bioremediation of oil contaminated soils in a dry solid reactor; VITO, Mol, België.
- Cerniglia, C.E. (1984); Microbial metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; National Centre for Toxicological Research, Food and Drug Administration, Jefferson, Arkansas, USA.
- Cerniglia, C.E. (1992); Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons; *Biodegradation*, 3, 351-368.
- Coates, J.D., J. Woodward, J. Allen, P.Philp, D.R. Lovley (1997); Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbor sediments; *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (9) 3580-3593.
- Cornelissen, G., P.C.M. van Noort, H.A.J. Govers (1997a); Desorption kinetics of chlorobenzenes, PAHs and PCBs: sediment extraction with Tenax and effects of contact time and solute hydrophobicity. *Env. Tox. Chem.* 16 (7): 1351-1357.
- Cornelissen, G., H. Rigterink, M.M.A. Ferdinandy, P.C.M. van Noort (1997b); Rapidly desorbing fractions of PAHs in contaminated sediments as a predictor of the extent of bioremediation. Submitted, *Environ. Sci. Technol.*

Crank, J. (1964); The Mathematics of Diffusion, Clarendon Press, Oxford.

Cuperus J.G., W.W. van Veen, P.N. Duijn (1997); Investigation into the behaviour of contaminants in dredge spoil during separation; In: W. Calmano, P. Roeters (eds.) Proceedings International Conference on Contaminated Sediments, 332-337.

Cuperus, J.G., W.W. van Veen (1997); The prediction of the performance of dredge spoil separation techniques, In: Calmano, W. Roeters, P. Roeters (eds.), Preprints International Conference on Contaminated Sediments, 7-11, Rotterdam, The Netherlands, 751-755.

DECHEMA-protocol (1992); Laboratory methods for the evaluation of biological soil cleanup processes; 2nd report of the interdisciplinary working group "Environmental Biotechnology-Soil" (Dr. J. Klein, Essen) and "Laboratory methods for the Evaluation of biological soil cleanup processes (Prof. W. Dott, Berlin); Frankfurt am Main, Germany.

Dekker, P.M. (1995); Emissie van organische en anorganische stoffen uit baggerspecie; RIVM, Bilthoven, rapportnummer 771402015.

Diels, L. (1996); persoonlijke mededeling, VITO, Mol, België.

Doddema, H.J., J. Harmsen, J.T.C. Grotenhuis (1998); Karakteriseringsmethoden voor de biologische reiniging van land- en waterbodems in Nederland; Programmabureau Geïntegreerd Bodemonderzoek, Wageningen.

Eikelboom, D.H. (1996); persoonlijk mededeling, TNO, Apeldoorn.

Elias, J.G., R.D. Neufeld (1989); Degradation of fluorene in soil by fungus *Phanerochaete chrysosporium*; Biotechnology & Bioengineering, 33, 1306-1310.

Ent, V. van der (1995); Biologische afbraak van PAK in waterbodems; Grontmij Milieu, De Bilt.

Feenstra, L. (1991a); Biologische reiniging van de fijne fractie van vervuilde baggerspecie in een beluchtingsbassin; TNO, Apeldoorn, ref.nr. 91-173.

Feenstra, L. (1991b); Biologische reiniging van vervuilde baggerspecie in een bioreactor; TNO, Apeldoorn, ref.nr. 91-134.

Feenstra, L. (1992); Biologische reiniging van met PAK verontreinigde klasse 2 en 3 baggerspecie; TNO, Apeldoorn, ref.nr. 92-302.

Feenstra, L. (1993); Biologische reiniging van met PAK verontreinigde klasse 3- en 4-baggerspecie; TNO, Apeldoorn, ref.nr. 93-112.

Feenstra L., J. Joziassse, M. Pruijn (1995a); A standard method for characterizing contaminated soil and sediment for processing with particle separation techniques, In: W.J. van den Brink, R.Bosman, F. Arendt (eds.) Contaminated Soil '95, 1123-1132.

Feenstra L., J. Joziassse, C.E.M. Heeremans, M.F. Pruijn (1995b); Natte deeltjesscheiding Karakterisering van grond en baggerspecie; TNO rapport R95-241, Apeldoorn.

Ferdinandy, M.M.M. (1997); Chances for biological techniques in sediment remediation; Preprints volume 1, september 7-11, International Conference on Contaminated Sediments, ICCS.

Graves, D.A., C.A. Lang, M.E. Leavitt (1991); Respirometric analysis of the biodegradation of organic contaminants in soil and water; *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 28/29, 813-826.

Groot, M. de, W.E. van Lierop (1995); Deel 2; Landfarming van baggerspecie: Laboratorium- en praktijkonderzoek; POSW Fase II; RIZA nota 95013; ISBN: 9036901057.

Harmsen, J. (1991); Possibilities and limitations of landfarming for cleaning contaminated soils; On-site Bioreclamation, Hinchee and Olfenbuttel (Eds), 255-272.

Harmsen, J., H.J. Velthorst, I.P.A.M. Bennehey (1994); Cleaning of residual concentrations with an extensive form of landfarming; *Applied biotechnology for site remediation*, Hinchee, Anderson, Blaine Metting and Sayles (Eds.) 84-91.

Harmsen, J., H.W. Bezemer, D. Boels, J. Stolte, H.J.J. Wieggers (1995); Time as an important factor for cleaning sediments by landfarming; in *Contaminated Soils '95*, Volume II, eds. W.J. van den Brink, R. Bosman, F. Arendt.

Harmsen J., J.J.H van den Akker , A. Beurskens, O.M. van Dijk-Hooyer, W. Ma, H.J.J. Wieggers (1996); Mogelijkheden van extensieve landfarming voor biologische reiniging van grond, Reeks Schone Technologie, Novem, Utrecht, DV3 st.02.

Harmsen J., J.J.H van den Akker , A. Beurskens, O.M. van Dijk-Hooyer, A. van den Toorn, H.J.J. Wieggers, A.J. Zweers (1997a); Intensieve landfarming van verontreinigde baggerspecie, ontwatering en afbraak, POSW rapport.

Harmsen J., H.J.J. Wieggers, W. Ma, A. Beurskens, O.M. van Dijk-Hooyer (1997b); Mogelijkheden van extensieve landfarming voor biologische reiniging van baggerspecie, POSW rapport.

Harmsen J., G.D. Vermeulen, J. Hoeks, K. Otten, M.C.G. Klaas, J. Joziasse, L. Feenstra (1997c); Definitiestudie biologische reiniging baggerspecie, NOBIS rapport 96-1-02.

Haskoning (1994); Deel 1, POSW fase II; Onderzoek naar producten voor *in situ* biologische reiniging van waterbodems; RIZA-notanummer 94035; ISBN 9036903343, Lelystad.

Herbes, S.E. (1981); Rates of microbial transformation of PAHs in water and sediments in the vicinity of a coal-coking wastewater discharge; *Applied and Environmental Microbiology*, 41 (1) 20-27.

Hinsenveld, M. (1993); Physical/Chemical Extraction Technologies, In: Olfenbuttel, R.F. (Ed), *Demonstration of Remedial Action Technologies for Contaminated Land and Groundwater*, NATO/CCMS.

Hunik, J.H. (1993); Engineering aspects of nitrification with immobilized cells; PhD-thesis, Landbouwwuniversiteit Wageningen.

Japenga, J. W.J. Wagenaar, F. Smedes, W. Salomons (1987); A new rapid clean-up procedure for the simultaneous determination of different groups of organic micropollutants in sediments; *Environmental Technical Letter* 8, 9-20.

Joziasse, J. (1995); Rapport POSW-fase 2, Biologische reiniging; Toepassing en opschaling van beluchtingsbassin; TNO, Apeldoorn, ref.nr. R95-093.

- Karickhoff, S.W., D.S. Brown, T.A. Scott (1979); Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments; *Wat. Res.*, 13 (3) 241-248.
- Kelsey, J.W., B.D. Kottler, M. Alexander (1997); Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. *Environ. Sci. Technol.* 31 (1): 214-217.
- Kleijntjens, R., I. Oostenbrink, G. Mijnbeek (1995); Toepassing van het "Slurry Decontamination Process" voor de reiniging van vervuilde baggerspecie uit de Petroleumhaven Amsterdam; BIRD Engineering, Schiedam.
- Lamé, F.P.J., P.J. Kroes, P.R. Defise, G. Frapporti (1996); Protocol grond voor de handhaving van het bouwstoffenbesluit, onderbouwing van de monsternemingsprocedure, Deel 1: Rapportage, Deel 2: Bijlagen TNO-MEP R96/009.
- Lamé F.P.J., P.C. Tromp, E.J. Hoekstra (1997); Validatie van NVN 5730 "Bodem-Monster-voorbehandeling voor de bepaling van organische parameters in grond" Tussenrapport Projectfase II, minerale olie en PCB's/OCB's. TNO-MEP.
- Leboeuf, E.J., W.J. Weber (1997); A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments sorbent organic domains: discovery of a humic acid glass transition and an argument for a polymer based model; *Environ. Sci. Technol.*, 31 (6) 1697-1702.
- Lemlich, R. (1972); Adsorptive Bubble Separation Techniques, Academic Press, New York and London (1972).
- Luthy, R.G., G.R. Aiken, M.L. Brusseau, S.D. Cunningham, P.M. Gschwend, J.J. Pignatello, M. Reinhard, S.J. Traina, W.J. Weber, J.C. Westall (1997); Sequestration of hydrophobic organic contaminants by geosorbents; *Environ. Sci. Technol.*, 31 (12) 3341-3347.
- MacGillfray, A.R. (1993); Biotransformation of PAHs by yeasts isolated from coastal sediments; *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 1613-1618.
- Mihelcic, J.R., R.G. Luthy (1988a); Degradation of PAH compounds under various redox conditions in soil-water systems; *Applied and Environmental Microbiology*, 54 (5) 1182-1187.
- Mihelcic, J.R., R.G. Luthy (1988b); Microbial degradation of acenaphthene and naphthalene under denitrification conditions in soil-water systems; *Applied and Environmental Microbiology*, 54 (5) 1188-1198.
- Morsier, A. de, J. Blok, P. Gerike, L. Reynolds, H. Wellens, W.J. Bontinck (1987); Biodegradation test for poorly-soluble compounds; *Chemosphere*, 16 (4) 833-847.
- Noordkamp, E.R., J.T.C. Grotenhuis, W.H. Rulkens (1997); Selection of an efficient extraction method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil and sediment; *Chemosphere* 35 (9) 1907-1917.
- OECD (1992); Guidelines for the testing of chemicals, fifth addendum. OECD, Paris.
- Perry R.H., D.W. Green, J.O. Maloney (1984); Perry's Chemical Engineers' Handbook, sixth edition, McGraw-Hill Book Company.

Pignatello, J.J., B.S. Xing (1996); Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles; *Environ. Sci. Technol.*, Jan. 30 (1) 1-11.

Pruijn, M.F., S.C. van Winden, H.H.A.G. Wevers (1997); From characterization to full scale sediment treatment, results of translation, In: Calmano, W. Roeters, P. Roeters (eds.), *Preprints International Conference on Contaminated Sediments*, 7-11 September 1997, Rotterdam, The Netherlands, 789-796.

Pruijn, M., E. Groenendijk, (1993); Soil washing, from characterisation to tailor-made flow diagrams, results of full-scale installations; In: F. Arendt, G.J. Annokkee, W.J. van den Brink (eds.), *Contaminated Soil '93*, 1109-1118.

Püschel, R., W. Calmano (1995); Speciation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in aquatic sediments. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 23 (5) 226-232.

Püschel, R. (1996); Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe in Gewässern: Untersuchungen zum Sorptionsverhalten und zur abiotischen Oxidation; *Proefschrift*, TU Hamburg-Harburg, Deutschland.

Ramaswami, A., R.G. Luthy (1997); Mass transfer and bioavailability of PAH compounds in coal tar NAPL-slurry systems. 1. Model development; *Environ. Sci. Technol.*, 31 (8) 2260-2267.

Rietema, K., Verver, C.G. (1961); *Cyclones in Industry*, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, London, New York, Princeton.

Rulkens W.H. (1992); *Bodemreiniging via extractie en klassificatie*, *Procesttechnologie* 9, 43-55.

Schlautman M.A., J.J. Morgan (1993); Effects of aqueous chemistry on the binding of polycyclic aromatic hydrocarbons by dissolved humic material, *Environmental Science & Technology*, 27 (5) 961-969.

Schwall, L.R., S.E. Herbes (1979); Methodology for the determination of rates of microbial transformation of PAK in sediments; Lichtenfield and Seyfried (Eds); *American Society for testing and materials*, 167-183.

Spottiswood, E.G. (1982); *Introduction to Mineral Processing*, J. Wiley & Sons Inc.

Stefess, G.C., J.G. van Andel (1996); Biodegradatie Xenobiotica XII; Biodegradatie van organische verontreinigingen in (water)bodems met behulp van bioreactoren; Rapportnr. 775901001, RIVM, Bilthoven.

Stolker, G.H. (1997); *Uitkomsten reiniging Petroleumhaven in de demonstratiefase*, Heidemij Realisatie, Waalwijk.

Toorn, A. van der, J. Harmsen, O.M. van Dijk-Hooyer (1996); Effecten op het milieu van direct op de kant brengen van bagger, verontreinigd met PAK, op Goeree Overflakkee, DLO-Staring Centrum, rapport 447, Wageningen.

Volkering, F., A.M. Breure, J.G. van Andel, W.H. Rulkens (1995); Influence of nonionic surfactants on the bioavailability and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons; *Applied Environmental Microbiology*, 61, 1699-1705.

Warshawsky, D. (1990); Conjugation of benzo[a]pyrene metabolites by freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*; Chem-Biol Interact, 73, 93-105.

Weber, W.J.J., P.M. McGinley, L.W. Katz (1992); A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments: 1. Conceptual basis and equilibrium assessments; Environ. Sci. Technol., 26 (10) 1955-1962.

Weij, P. van der (1994); Karakterisering van verontreinigde grond ten behoeve van de afscheiding van een licht verontreinigde zandfractie; rapport vakgroep Milieutechnologie, Landbouwniversiteit Wageningen.

Weiss, N.L. (1985); SME Mineral Processing Handbook, AIME.

Weissenfels, W.D., H. Klewer, J. Langhoff (1992); Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons by soil particles: influence on biodegradability and toxicity; In: Soil decontamination using biological processes, DEHEMA, 136-141.

Weissenfels, W.D., H.J. Klewer, J. Langhoff (1993); Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradation and potential risk of contaminated sites; In: F. Arendt, G.J. Annokkée, R. Bosman, W.J. van den Brink (eds), Contaminated Soil '93, 337-345.

Wieggers, H.J.J., H.J. Perebolte (1992); Onderzoek naar het gedrag van polycyclische aromatische koolwaterstoffen in uiterwaardengrond. DLO-Staring Centrum, Interne Mededeling 204.

Xing, B.S., J.J. Pignatello (1997); Dual mode sorption of low polarity compounds in glassy poly(vinyl chloride) and soil organic matter; Environ. Sci. Technol., 31 (3) 792-799.

Young, T.M., W.J. Weber (1995); A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 3. Effects of diagenetic processes on sorption energetics; Environ. Sci. Technol., 29 (1) 92-97.

11 AFKORTINGEN

α	Onbetrouwbaarheid (in dit onderzoek 5%).
β :	Power dan wel onderscheidend vermogen (in dit onderzoek 80%).
BZV:	Biologisch zuurstofverbruik.
CZV:	Chemisch zuurstofverbruik.
$C_{st=n}$:	Concentratie PAK in oplosmiddel op tijdstip n (uren).
$C_{st=127}$:	Concentratie PAK in oplosmiddel na 127 uur.
$C_{n=127}$:	Concentratie PAK in matrix na 127 uur.
DECHEMA:	Deutsche Gesellschaft für Chemische Apparatewesen.
DITS-reactor:	Dual-injected turbulent suspension reactor.
d.s.:	Droge stof.
16 EPA:	Selectie van PAK gemaakt door Environmental Protection Agency.
FAS:	Fotoakoustische spectroscopie.
IOP:	Innovatief Onderzoek Programma.
ISO:	International Standards Office.
HPLC:	Hoge druk vloeistofchromatografie.
K:	Kalium.
LUW MT	Landbouwniversiteit Wageningen Vakgroep Milieutechnologie.
m/m:	maasaverhouding massa/massa (kg/kg).
MEP:	TNO Milieu, Energie en Procestechnologie.
MITI:	Japans Ministerie Economische Zaken.
N:	Stikstofverbindingen: nitraat, nitriet, NO, N ₂ O, ammonia.
NEN:	Nederlandse Eenheids Norm.
n.g.:	Niet gemeten.
NMP:	N-methylpirrolidinon.
NNI:	Nederlands Normalisatie Instituut.
NOBIS:	Nederlands Onderzoekprogramma Biotechnologische <i>In-situ</i> sanering.
NOVEM:	Nederlandse Onderneming voor Energie en Milieu.
OECD:	Organisation for Economic Co-operation and Development.
OR:	Overschie Rotterdam (meestal voluit geschreven).
o.s.:	Organische stof.
P:	Fosfaat.
PAK:	Polycyclische aromatische koolwaterstoffen.
PGBO:	Programmabureau Geïntegreerd Bodemonderzoek.
PH:	Petroleumhaven (meestal voluit geschreven).
POSW:	Programma Ontwikkeling Sanering Waterbodems.
r^2 :	Variantiecoëfficiënt.
R:	Extractierendement.
$\mathbb{K}$:	Regressieconstante.
R&D:	Research and Development, Onderzoek en Ontwikkeling.
RIZA:	Rijksinstituut Integraal Zoetwaterbeheer en Afvalwaterbehandeling.
RIVM:	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne.
r.p.m.:	Toeren per minuut.
s:	Restspreiding.
SC-DLO:	Staring Centrum Dienst Landbouwkundig Onderzoek.
SOP	Standard Operating Procedure.
SRM:	Standard Reference Material.
TNO:	Nederlandse Organisatie voor Toegepast Natuurwetenschappelijk Onderzoek.

8TSL:	Een selectie van 8PAK gebruikt in dit onderzoek.
UV:	Ultraviolet licht.
VN:	Voorwetering Nieuwkoop (meestal voluit geschreven).
v/v:	volumeverhouding (liter/liter).
W/v:	verhouding gewicht/volume (kilogram/liter).
VITO:	Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek.
10VROM:	Selectie van 10 PAK gebruikt door het Ministerie VROM.

BIJLAGE I

PROTOCOL: PARTIËLE EXTRACTIE VAN PAK UIT BAGGERSPECIE MET AZIJNZUUR ALS INDICATIE VOOR DE BIOLOGISCHE AFBRAAK

INHOUDSOPGAVE

1	Doel	107
2	Principe	107
3	Toepassingsgebied	107
4	Definities	107
5	Gerelateerde methoden	107
6	Veiligheids- en milieuaanwijzingen	108
7	Benodigdheden	108
8	Werkwijze	109
9	Kosten	114
10	Referenties NEN methoden	114
11	Registratietabel	115

1 Doel

Een voorspellende toets voor de biologische afbraak van PAK in baggerspecie door een partiële extractie met een 70% azijnzuuroplossing.

2 Principe

Natte specie wordt geëxtraheerd met 70% azijnzuur-water oplossingen. Na schudden van de slurrie en centrifugeren worden beide fracties (supernatant en residu) apart opgewerkt tot een extract waarin met behulp van chromatografie PAK geanalyseerd worden. Het supernatant wordt direct uitgeschud met petroleumether en gewassen met water. Het extract wordt gedroogd met natriumsulfaat en eventueel geconcentreerd met behulp van Kuderna-Danish. Het residu wordt eerst geschud met aceton en vervolgens met petroleumether waarna eveneens het extract wordt gewassen met water, gedroogd met natriumsulfaat en eventueel geconcentreerd met behulp van Kuderna Danish.

Indien gewenst kunnen beide extracten opgedeeld worden in twee fracties zodat naast PAK ook minerale olie geanalyseerd kan worden.

3 Toepassingsgebied

Bij deze methode kunnen de 16 PAK van EPA worden geanalyseerd met een minimale concentratie van 0,2 mg/kg ds (16 EPA). De verkregen concentraties naftaleen en acenaftyleen zullen een onderschatting zijn van wege de vluchtigheid van de componenten en de gebruikte techniek.

4 Definities

16EPA (Environmental Protection Agency):

Zestien verschillende PAK die geselecteerd zijn op basis van de analytisch-chemische kwantificeerbaarheid en op basis van toxiciteitsgegevens betreffende carcinogeniteit. Het betreft de volgende PAK: naftaleen, acenaftyleen, acenaften, fluoreen, fenantreen, antraceen, fluoranteen, pyreen, benzo(a)antraceen, benzo(a)pyreen, dibenzo(ah)antraceen, benzo(k)fluoranteen, benzo(a)pyreen, dibenzo(ah)antraceen, benzo(ghi)peryleen en indeno(1,2,3-cd)pyreen.

5 Gerelateerde methoden

NEN#

5719	Bodem: Voorbehandeling van watermonsters.
5747	Bodem: Bepaling van het vochtgehalte en het gehalte aan droge stof van veldvochtige grond.
5754,	Bodem: Bepaling van het gehalte aan organische stof in grond volgens de gloeiverliesmethode.
5733	Bodem: Bepaling van het gehalte aan minerale olie in grond en waterbodem met gaschromatografie.
5771	Bodem; Bepaling van het gehalte aan polycyclische koolwaterstoffen met behulp van hoge druk vloeistofchromatografie.

6 Veiligheids- en milieuaanwijzingen

Lees de veiligheidsaanwijzingen verstrekt bij de geleverde apparatuur en chemicaliën, lees tevens de chemiekaarten.

Polycyclische Aromatische Koolwaterstoffen (PAK)

Van een aantal PAK is de carcinogene werking aangetoond. Andere PAK zijn verdacht van carcinogene eigenschappen. Contact met vaste stoffen, extracten en oplossingen van PAK met het lichaam dient daarom steeds te worden vermeden. De oplossingen die PAK bevatten moeten in een daarvoor bestemd afvalvat (categorie III) worden afgevoerd.

Acetonitril, Aceton en Petroleumether

Genoemde oplosmiddelen zijn algemeen giftig en brandbaar. Voer werkzaamheden met organische oplosmiddelen zoveel mogelijk uit in de zuurkast. Deze stoffen bevatten na gebruik ook PAK en worden in het vat voor PAK gedeponeerd.

7 Benodigdheden

7.1 Apparatuur en hulpmiddelen

- gebruikelijk laboratoriumglaswerk als erlenmeyers, scheitrechters, trechters e.d.. Spoel al het glaswerk voor gebruik met petroleumether.
- centrifugebuizen met slijpstuk, glas, 80 ml, passend in het beschikbare centrifugeapparaat.
- indamptoestel volgens Kuderna-Danish.
- vouwfilters.
- schudapparaat, horizontale bewegingen, 50-300 slagen per minuut.
- centrifuge.
- balans.

7.2 Chemicaliën

- aceton p.a.
- azijnzuur c.p.
- 70% v/v azijnzuuroplossing. Bereid een 70% azijnzuuroplossing door toevoeging van 70 ml azijnzuur in 30 ml water.
- acetonitril for HPLC.
- florisil, 60-100 mesh. Verhit tenminste 16 uur bij 140 °C, bewaar het florisil in een goed afgesloten pot.
- interne standaard: 6-methyl-chryseen, 15 µg/l in acetonitril.
- petroleumether (kookpuntenbenzine), kooktraject 40-65 °C.
- natriumsulfaat, Na₂SO₄, watervrij, 99%. Verhit ten minste 3 uur op 550 °C, bewaar het watervrije natriumsulfaat goed afgesloten.
- water. Leidingwater voldoet voor de verwijdering van aceton en azijnzuur, gedemineraliseerd water kan weekmakers e.d. bevatten die storende signalen in chromatogrammen veroorzaken.
- gedestilleerd water.

8 Werkwijze

Extracties dienen plaats te vinden bij normale laboratoriumtemperatuur (20 tot 25 °C, bij voorkeur 22 +/- 1 °C), in ten minste tweevoud met minimaal 1 blanco per meetserie. Voer een blanco bepaling uit zonder toevoeging van een (grond)monster met een mengverhouding azijnzuur-water van 70%. Voer ter controle een blanco extractie uit. Hiermee kan later bij de meting worden vastgesteld of de gebruikte chemicaliën PAK of minerale olie bevatten en of extractiemiddelen een negatief effect hebben op de bepaling.

In de hier beschreven methode wordt uitgegaan van centrifugebuizen van 80 ml en 5 gram baggerspecie. De nauwkeurigheid kan worden verbeterd door meer monster in behandeling te nemen. Dit betekent wel dat de hoeveelheid extractievloeistoffen evenredig moet worden verhoogd en er gebruik moet worden gemaakt van grotere centrifugebuizen.

In paragraaf 8.1 staan in drie kolommen achtereenvolgens het nummer van de te nemen stap, een beschrijving van die stap en een of meer meetwaarden (**m1 tot en met m33**). Voor een overzicht van de meetwaarden, zie paragraaf 11 van deze bijlage.

In de werkwijze staan in een aantal gevallen twee te noteren massa's vermeld. De eerste is bedoeld voor de extractie van het supernatant, de tweede is bedoeld voor het residu.

8.1 Extractie met azijnzuur

Stap	Handeling	Waarde
1.1	Voer een drogestofbepaling uit volgens NEN 5747 en een organischestofbepaling uit volgens NEN 5754.	m1
		m2
		m3
		m4
1.2	Weeg een lege centrifugebuis.	m5
1.3	Weeg in een centrifugebuis 5 gram monster af op 0,01 gram nauwkeurig.	m6
1.4	Voeg met een dispenser 50 ml azijnzuuroplossing toe.	
1.5	Schud de afgesloten bus 10 minuten op de schudmachine.	
1.6	Centrifugeer de bus (zonder stop) 30 minuten bij 2.000 r.p.m.	
1.7	Weeg een 25 ml maatkolf.	m7
1.8	Pipetteer 25 ml van het supernatant met een Pasteurpipet over in een 25 ml maatkolf.	
1.9	Weeg de maatkolf met extract.	m8
1.10	Giet het restant supernatant af in het afvalvat.	
1.11	Bewaar de centrifugebuis met het monster afgesloten bij een temperatuur lager dan 10 °C.	

8.2 Extractie van het supernatant.

- 2.1 Filtreer de inhoud van de 25 ml maatkolf (supernatant) over een

- vouwfilter in een 250 ml scheitrechter.
- 2.2 Spoel de maatkolf twee maal met 10 ml petroleumether en breng de spoelvloeistof via het vouwfilter over in een scheitrechter.
 - 2.3 Breng ongeveer 100 ml kraanwater in de scheitrechter.
 - 2.4 Schud de scheitrechter enkele malen en ontluicht enkele malen door de kraan.
 - 2.5 Tap de waterfase na enkele minuten af.
 - 2.6 Gooi de waterfase weg in het afvalvat.
 - 2.7 Herhaal de stappen 2.3, 2.4, 2.5 en 2.6.
 - 2.8 Tap de petroleumetherfase af in een 100 ml erlenmeyer.
 - 2.9 Voeg zoveel watervrij natriumsulfaat toe aan de petroleumetherfase dat het niet meer klontert op de bodem.
 - 2.10 Weeg een 100 ml maatkolf. m9
 - 2.11 Breng de inhoud van de erlenmeyer via een vouwfilter over in de 100 ml maatkolf.
 - 2.12 Spoel de scheitrechter met 25 ml petroleumether.
 - 2.13 Laat de petroleumether wegglopen in de erlenmeyer.
 - 2.14 Giet de erlenmeyer leeg op het vouwfilter.
 - 2.15 Herhaal de stappen 2.12, 2.13 en 2.14.
 - 2.16 Weeg de maatkolf met het petroleumetherextract. m10
 - 2.17 Sluit de maatkolf en bewaar het extract bij een temperatuur lager dan 10 °C.

8.3 Extractie van het residu.

- 3.1 Weeg de centrifugebuis met het residu. m11
- 3.2 Voeg 50 ml aceton toe aan centrifugebuis.
- 3.3 Sluit de centrifugebuis en schud gedurende 10 minuten met een schudapparaat bij 75 slagen per minuut.
- 3.4 Voeg 25 ml petroleumether toe aan de centrifugebuis.
- 3.5 Sluit de centrifugebuis en schud gedurende 10 minuten met een schudapparaat bij 75 slagen per minuut.
- 3.6 Breng de inhoud van de centrifugebuis via een vouwfilter over in een 250 ml scheitrechter.
- 3.7 Spoel de centrifugebuis 2 maal na met 10 ml petroleumether en breng dit eveneens via het vouwfilter over in de scheitrechter
- 3.8 Voeg 200 ml kraanwater toe aan de het extract.
- 3.9 Schud de scheitrechter enkele malen en ontluicht enkele malen door de kraan.
- 3.10 Tap de waterfase na enkele minuten af.
- 3.11 Gooi de waterfase weg in het afvalvat.
- 3.12 Herhaal de stappen 3.8, 3.9, 3.10 en 3.11.
- 3.13 Tap de petroleumetherfase af in een 100 ml erlenmeyer.
- 3.14 Voeg zoveel watervrij natriumsulfaat toe aan de petroleumetherfase dat het niet meer klontert op de bodem.
- 3.15 Weeg een 100 ml maatkolf. m12
- 3.16 Breng de inhoud van de erlenmeyer via een vouwfilter over in de 100 ml maatkolf.
- 3.17 Spoel de scheitrechter met 25 ml petroleumether.
- 3.18 Laat de petroleumether wegglopen in de erlenmeyer.

- 3.19 Giet de erlenmeyer leeg op het vouwfilter.
- 3.20 Herhaal de stappen 3.16, 3.17 en 3.18.
- 3.21 Weeg de maatkolf met het petroleumether extract. m13
- 3.22 Sluit maatkolf en bewaar het extract bij een temperatuur lager dan 10 °C.

8.4 PAK-gehalte hoger dan 40 mg/kg d.s. (klasse IV specie)

Het supernatant- of residuextract hoeft niet geconcentreerd te worden voor de analyse van PAK. Beide extracten ondergaan dezelfde behandeling.

- 4.1 Weeg een lege rondbodemcultuurbuis. m14
- 4.2 Pipetteer ongeveer 5 ml van het extract (2.17 (supernatant) of 3.21 (residu)). m17
- 4.3 Weeg een rondbodemcultuurbuis met het petroleumetherextract. m15
- 4.4 Voeg 5 ml acetonitril toe aan het extract. m18
- 4.5 Damp de petroleumether af onder een stikstofstroom (40 ml/min).
- 4.6 Weeg een rondbodemcultuurbuis met het acetonitril-extract. m16
m19
- 4.7 Vul een HPLC-monsterpotje met het acetonitrilextract.
- 4.8 Voeg 25 µl interne standaard toe.
- 4.9 Sluit het HPLC-monsterpotje.
- 4.10 Bewaar het restant acetonitrilextract in de rondbodemcultuurbuis bij een temperatuur lager dan 10 °C.
- 4.11 Bewaar het HPLC-monsterpotje met het extract tot analyse bij een temperatuur lager dan 10 °C.

8.5 PAK-gehalte lager dan 40 mg/kg d.s. (klasse I, II en III specie)

De supernatant- en residuextracten dienen te worden geconcentreerd met behulp van Kuderna-Danish. Beide extracten ondergaan dezelfde behandeling.

- 5.1 Weeg een puntbuis met 2 à 3 glasparsels. m20
m27
- 5.2 Plaats een kookbol op de puntbuis.
- 5.3 Weeg de puntbuis met de kookbol. m21
m28
- 5.4 Breng het volledige petroleumetherextract 2.17 (supernatant) of 3.21 (residu) over in een puntbuis.
- 5.5 Spoel de maatkolf tweemaal met 10 ml petroleumether en voeg het toe aan het extract in een puntbuis.
- 5.5 Weeg de puntbuis met de kookbol en het extract. m22
m29
- 5.6 Plaats de puntbuis in het waterbad van 90 °C van de Kuderna-Danish opstelling.
- 5.7 Damp het extract in tot 5 à 10 ml.
- 5.8 Weeg de puntbuis met het ingedampde extract. m23
m30
- 5.9 Weeg een rondbodemcultuurbuis. m24

- | | | |
|------|--|-----|
| | | m31 |
| 5.10 | Pipetteer ongeveer de helft van het petroleumetherextract in de rondbodemcultuurbuis. | |
| 5.11 | Weeg de rondbodemcultuurbuis met het extract. | m25 |
| | | m32 |
| 5.12 | Voeg 2,5 ml acetonitril toe. | |
| 5.13 | Damp de petroleumether af onder een stikstofstroom (maximaal 40 ml/min). | |
| 5.14 | Weeg de rondbodemcultuurbuis met het acetonitrilextract. | m26 |
| | | m33 |
| 5.15 | Vul een HPLC-monsterpotje met het acetonitrilextract. | |
| 5.16 | Voeg 25 µl interne standaard toe. | |
| 5.17 | Sluit het HPLC-monsterpotje. | |
| 5.18 | Bewaar het restant van het acetonitrilextract in rondbodemcultuurbuis bij een temperatuur lager dan 10 °C. | |
| 5.19 | Bewaar het HPLC-monsterpotje met het extract tot analyse bij een temperatuur lager dan 10 °C. | |

8.6 Analyse PAK monsters

Analyseer de PAK van de in 8.4 of 8.5 verkregen extracten op een HPLC-opstelling met de mogelijkheid van een water-acetonitril-gradiënt en een on-line clean-up, en uitgerust met een programmeerbare fluorescentiedetector en monsterwisselaar. Maak gebruik van de in NEN 5771 beschreven clean-up en instellingen.

9 Berekeningen

9.1 Droge- en organischestof:

$$\text{drogestofpercentage:} \quad \text{d.s.\%} = \frac{(m3 - m1)}{(m2 - m1)} * 100\%$$

met	m1	massa gloeikroes leeg (g).
	m2	massa gloeikroes + monster inweeg (g).
	m3	massa gloeikroes + monster na drogen 105 °C (g).

$$\text{organischestofpercentage:} \quad \text{o.s.\%} = \frac{(m4 - m3)}{(m3 - m1)} * 100\%$$

met	m4	massa gloeikroes + monster na gloeien 550 °C (g).
-----	-----------	---

9.2 PAK concentratie >40 mg/kg ds

absolute hoeveelheid PAK component in supernatant (g):

$$C_{\text{absoluut supernatant}} = \frac{ph_{\text{supernatant}}}{rc} * [50 + \{(1 - \text{d.s.\%} / 100) * (m6 - m5)\}] * (m10 - m9) / (m15 - m14) * (m16 - m14) / 0,781 * vf_{\text{supernatant}}$$

met	ph_{supernatant}	piekhoogte PAK component in supernatant.
	m5	massa centrifugebuis leeg (g).
	m6	massa centrifugebuis + monster (g).
	m9	massa maatkolf leeg (g).

m10	massa maatkolf + petroleumetherextract (g).
m14	massa rondbodemcultuurbuis leeg (g).
m15	massa rondbodemcultuurbuis + petroleumetherextract (g).
m16	massa rondbodemcultuurbuis + acetonitrilextract (g).
0,781	dichtheid acetonitril.
vf_{supernatant}	verdunningsfactor supernatant extract.
rc	richtingscoëfficiënt PAK component.

absolute hoeveelheid PAK in supernatant achtergebleven in residu (g):

$$C_{\text{absoluut supernatant in residu}} = C_{\text{absoluut supernatant}} / \{50 + (1 - \text{d.s.} \% / 100) * (m6 - m5)\} * 25 * (m11 - m5)$$

met **m11** massa centrifugebuis + residu (g)
absolute hoeveelheid PAK component in residu (g):

$$C_{\text{absoluut residu}} = ph_{\text{residu}} / rc * (m13 - m12) / (m18 - m17) * (m19 - m17) / 0,781 * vf_{\text{residu}}$$

met ph_{residu}	piekhoogte PAK component in residu.
rc	richtingscoëfficiënt PAK component.
m12	massa maatkolf leeg (g).
m13	massa maatkolf + petroleumetherextract (g).
m17	massa rondbodemcultuurbuis leeg (g).
m18	massa rondbodemcultuurbuis + petroleumetherextract (g).
m19	massa rondbodemcultuurbuis + acetonitrilextract (g).
0,781	dichtheid acetonitril.
	verdunningsfactor residu.
rc	richtingscoëfficiënt PAK component.

9.3 PAK concentratie <40 mg/kg ds

absolute hoeveelheid PAK component in supernatant (g):

$$C_{\text{absoluut supernatant}} = ph_{\text{supernatant}} / rc * \{50 + (1 - \text{d.s.} \% / 100) * (m6 - m5)\} * (m23 - m20) / (m25 - m24) * (m26 - m24) / 0,781 * vf_{\text{supernatant}}$$

met ph_{supernatant}	piekhoogte PAK component in supernatant.
m5	massa centrifugebuis leeg (g).
m6	massa centrifugebuis + monster (g).
m20	massa puntbuis leeg (g).
m23	massa puntbuis + ingedampt extract (g).
m24	massa rondbodemcultuurbuis leeg (g).
m25	massa rondbodemcultuurbuis + petroleumetherextract (g).
m26	massa rondbodemcultuurbuis + acetonitrilextract (g).
0,781	dichtheid acetonitril.
vf_{supernatant}	verdunningsfactor supernatant extract.
rc	richtingscoëfficiënt PAK component.

absolute hoeveelheid PAK in supernatant achtergebleven in residu (g):

$$C_{\text{absoluut supernatant in residu}} = C_{\text{absoluut supernatant}} / \{50 + (1 - (\text{d.s.} \% / 100)) * (\text{m6} - \text{m5})\} * 25 * (\text{m11} - \text{m5}).$$

met **m11** massa centrifugebuis + residu (g).

absolute hoeveelheid PAK component in residu (g):

$$C_{\text{absoluut residu}} = \text{ph}_{\text{residu}} / \text{rc} * (\text{m30} - \text{m27}) / (\text{m32} - \text{m31}) * (\text{m33} - \text{m31}) / 0,781 * \text{vf}_{\text{residu}}.$$

met **ph_{residu}** piekhoogte PAK component in residu.
rc richtingscoëfficiënt PAK component.
m27 massa puntbuis leeg (g).
m30 massa puntbuis + extract (g).
m31 massa rondbodemcultuurbuis leeg (g).
m32 massa rondbodemcultuurbuis + petroleumetherextract (g).
m33 massa rondbodemcultuurbuis + acetonitrilextract (g).
0,781 dichtheid acetonitril.
vf_{residu} verdunningsfactor residu.
rc richtingscoëfficiënt PAK component.

9 Kosten

De calculatie is gebaseerd op één baggerspeciemonster.

Activiteit	prijs (guldens)
Extractie met azijnzuur in viervoud	400 - 700
Analysekosten	300 - 500
rapportage in briefvorm	100
Totaal	800 - 1700

10 Referenties NEN methoden

NEN 5719 (1995); Bodem: Voorbehandeling van waterbodemmonsters. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft

NEN 5747 (1990); Bodem: Bepaling van het vochtgehalte en gehalte aan droge stof van veldvochtige grond. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.

NEN 5754 (1990); Bodem: Bepaling van het gehalte aan organische stof in grond volgens gloeiverlies. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.

NEN 5733 (1997); Bodem: Bepaling van het gehalte aan minerale olie in grond en waterbodem met gaschromatografie. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.

NEN 5771 (1997); Waterbodem: Bepaling van de gehalten aan polycyclische aromatische koolwaterstoffen met behulp van hoge-drukvlloeistofchromatografie. Nederlands Normalisatie Instituut, Delft.

11 Registratietabel

Droge- en organischestof		extractie azijnzuur			
m1	gloeikroes leeg		m5	centrifugebuis leeg	
m2	gloeikroes + monster		m6	centrifugebuis + monster	
m3	gloeikroes + monster 105°C		m7	maatkolf leeg	
m4	gloeikroes + monster 550°C		m8	maatkolf + azijnzuurextract	
extractie supernatant		extractie residu			
m9	maatkolf leeg		m11	centrifugebuis + residu	
m10	maatkolf + pe-extract		m12	maatkolf leeg	
			m13	maatkolf + pe-extract	
extractie supernatant PAK (PAK klasse 4)		extractie residu PAK (PAK klasse 4)			
m14	Rondbodemcultuurbuis leeg		m17	rondbodemcultuurbuis leeg	
m15	Rondbodemcultuurbuis + pe-extract		m18	rondbodemcultuurbuis + pe-extract	
m16	rondbodemcultuurbuis + acn-extract		m19	rondbodemcultuurbuis + acn-extract	
extractie supernatant PAK (PAK klasse 1, 2 en 3)		Extractie residu PAK (PAK klasse 1, 2 en 3)			
m20	puntbuis leeg		m27	puntbuis leeg	
m21	puntbuis + kookbol leeg		m28	puntbuis + kookbol leeg	
m22	puntbuis + extract		m29	puntbuis + extract	
m23	puntbuis + ingedampt extract		m30	puntbuis + ingedampt extract	
m24	rondbodemcultuurbuis leeg		m31	rondbodemcultuurbuis leeg	
m25	rondbodemcultuurbuis + pe-extract		m32	rondbodemcultuurbuis + pe-extract	
m26	rondbodemcultuurbuis + acn-extract		m33	rondbodemcultuurbuis + acn-extract	

BIJLAGE II

PROTOCOL: BIOLOGISCHE BEPALING VAN HET REINIGBARE DEEL VAN PAK IN BAGGERSPECIE

INHOUDSOPGAVE

1	Doel	118
2	Principe	118
3	Toepassingsgebied	118
4	Definities	118
5	Gerelateerde standaardwerkvoorschriften.	118
6	Veiligheids- en milieuaanwijzingen	118
7	Benodigdheden	119
8	Werkwijze	119
9	Berekeningen	121
10	Kosten van de biologische toets	122
11	Referenties NEN methoden	122

1 Doel

Biodegradatie-experimenten om de biologische afbreekbaarheid van PAK in baggerspecie betrouwbaar te bepalen.

2 Principe

De biodegradatie-experimenten worden uitgevoerd in 5% slurries met toevoeging van medium. Vervolgens worden de flessen geschud bij 200 rpm en 25 °C. De experimenten zijn opgezet als opofferingsexperiment dat wil zeggen, elk monster bestaat uit de gehele inhoud van een incubatiefles. De uitgangssituatie wordt tenminste in viervoud bepaald, de PAK afbraak wordt vervolgens na vier weken tenminste in viervoud bepaald. De PAK bepaling wordt vervolgens uitgevoerd volgens NEN-5771.

3 Toepassingsgebied

De methode is geschikt voor de bepaling van de biodegradatie van PAK uit alle soorten baggerspecie. Bij deze methode kunnen de 16EPA PAK worden bepaald behalve acenaftyleen. Deze methode is ook geschikt om de afbraak van minerale olie te bepalen.

4 Definities

16EPA (Environmental Protection Agency): zestien verschillende PAK, die geselecteerd zijn op basis van de chemisch-analytische kwantificeerbaarheid en op basis van toxiciteitsgegevens betreffende carcinogeniteit. Het betreft de volgende PAK: naftaleen, acenaftyleen, acenaften, fluoreen, fenantreen, antraceen, fluorantreen, pyreen, benzo[a]antraceen, chryseen, b[b]fluorantreen, b[k]-fluorantreen, b[a]pyreen, dibenzo[a,h]antraceen, benzo[ghi]peryleen en indeno-[1,2,3-cd]pyreen.

5 Gerelateerde standaardwerkvoorschriften

- 5.1 NEN 6620; Bepaling van het vochtgehalte en gehalte aan droge stof van veldvochtige grond.
- 5.2 NEN 6620; Bepaling van het organisch stofgehalte van veldvochtige grond.
- 5.3 NEN 5771; Bepaling van de gehalten aan polycyclische aromatische koolwaterstoffen met behulp van hoge-drukvlloeistofchromatografie.
- 5.4 NEN 5730; Bepaling van het gehalte aan minerale olie in grond met behulp van infraroodspectrometrie en gaschromatografie.

6 Veiligheids- en milieuaanwijzingen

Lees de veiligheidsaanwijzingen verstrekt bij de geleverde apparatuur en chemicaliën, lees tevens de chemiekaarten.

Polycyclische Aromatische Koolwaterstoffen (PAK)

Van een aantal PAK is de carcinogene werking aangetoond. Andere PAK zijn verdacht van carcinogene eigenschappen. Contact met vaste stoffen, extracten en oplossingen van PAK met het lichaam dient daarom steeds te worden vermeden. Bij toepassing van dit standaardwerkvoorschrift dient er rekening mee gehouden te worden dat PAK met een oplosmiddel kunnen co-distilleren en aan de buitenkant van flessen met stoppen kunnen geraken. Alle flessen en vaten die PAK kunnen bevatten

dienen altijd met handschoenen te worden gehanteerd. De oplossingen die PAK bevatten moeten in een daarvoor bestemd afvalvat (categorie III) worden afgevoerd.

Acetonitril, Aceton en Petroleumether

Genoemde oplosmiddelen zijn algemeen giftig en brandbaar. Voer de werkzaamheden met organische oplosmiddelen zoveel mogelijk uit in de zuurkast. Deze stoffen bevatten na gebruik ook PAK en worden in het vat voor PAK gedeponeerd.

7 Benodigdheden

7.1 Apparatuur en hulpmiddelen

- Duranflessen van 1 liter.
- Bekerglas van 1 liter.
- Bovenweger.
- Schudapparaat, 200 r.p.m.
- Centrifugebuizen van minimaal 250 ml.
- Centrifuge, waar centrifugebuizen van 250 ml in passen.
- Duranflessen of erlenmeyers van 500 ml.
- Scheitrechters van 1000ml.
- Vouwfilters, bijvoorbeeld Schleicher & Schuell, type 597½.
- Duranflessen of erlenmeyers van 250 ml.
- Maatkolven van 250 ml.
- Puntbuis van 10 ml.
- HPLC-vials.

Reinig al het glaswerk voor gebruik en na gebruik met aceton.

7.2 Chemicaliën

- Aceton, HPLC-grade.
- Petroleumether (kookpuntenbenzine), kooktraject 40- 65 °C.
- Acetonitril, HPLC-grade.
- Demiwater.
- Natriumsulfaat, Na₂SO₄ watervrij, 99% (voor gebruik ± 3 uur verhitten bij 600 °C).
- Water, HPLC-grade.

8 Werkwijze

8.1 Maken van de geconcentreerde mediumoplossing

- Los achtereenvolgens met water in een 1 liter bekerglas de volgende componenten op:
K₂HPO₄, 174 gram; KH₂PO₄, 74 gram; NH₄Cl, 6 gram; sporenelementenoplossing, 40 ml en vitaminenoplossing, 40 ml. Voor de samenstelling van de vitaminen- en sporenelementenoplossing, zie hieronder.
- Stel de pH bij tot pH 7, met NaOH (2M) of HCl (2M) en vul aan tot 1 liter met demiwater.

Samenstelling van de sporenelementenoplossing en de vitaminenoplossing .

Sporenelementen:	FeCl ₃	120 mg
	H ₃ BO ₃	50 mg

CuSO ₄ .5H ₂ O	10 mg
KI	10 mg
MnSO ₄ .H ₂ O	45 mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	20 mg
ZnSO ₄ .7H ₂ O	75 mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	50 mg
AlK(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	20 mg
CaCl ₂ .2H ₂ O	13,25 gram
NaCl	10 gram

Oplossen en aanvullen tot 1 liter, pH3.

Vitaminen:	nicotinezuur	100 mg
	Ca-pantothenaat	200 mg
	cyanocobalamine	25 mg
	inositol	100 mg
	p-aminobenzoëzuur	20 mg
	thiamine-HCl	50 mg
	pyridoxine-HCl	25 mg
	biotine	10 mg
	riboflavine	10 mg
	folinezuur	10 mg
	thiocticzuur	10 mg

Oplossen en aanvullen tot 1 liter pH 7

8.2 Inzetten van de biodegradatie-experimenten

- Voer een drogestofbepaling uit in duplo volgens NEN 6620.
- Weeg in 8 Duranflessen een hoeveelheid baggerspecie af overeenkomstig met 10 gram d.s.
- Voeg aan de fles 10 ml geconcentreerd medium toe.
- Vul de fles aan met water zodat het totale volume aan vocht 200 ml is (5% slurrie).
- Sluit de fles af met een wattenprop.
- Zet vier flessen direct weg bij 4 °C (= uitgangssituatie).
- Zet de overige 4 flessen bij 25 °C op een schudplateau, 200 toeren per minuut en laat deze weken incuberen.

8.3 Extractie van de baggerspecie voor de PAK bepaling

- Schud voorzichtig de incubatiefles.
- Breng de inhoud van de fles over in een 500 ml centrifugebuis.
- Spoel twee maal na met zo min mogelijk water.
- Tarreer de centrifugebuizen.
- Centrifugeer ± 10 minuten bij 4.000*g.
- Schenk het supernatant voorzichtig af.
- Voeg 100 ml aceton toe aan de centrifugebuis.
- Los het neerslag op en breng de oplossing over in een 500 ml erlenmeyer.
- Spoel de centrifugebuis na met 50 ml aceton en breng dit ook in de 500 ml erlenmeyer.
- Herhaal de spoelstap met 50 ml aceton.
- Schud 10 minuten op een schudapparaat (170 slagen per minuut).
- Voeg 100 ml petroleumether toe aan de 500ml erlenmeyer.

- Schud 20 minuten op een schudapparaat (170 slagen per minuut).
- Droog een vouwfilter gedurende 2 uur bij 105 °C en weeg deze (M₁).
- Filtreer de slurrie over het vouwfilter in een 1000ml scheitrechter.
- Spoel de erlenmeyer met 25 ml petroleumether en breng over het vouwfilter.
- Herhaal deze spoelstap met 25 ml petroleumether.
- Laat het vouwfilter uitlekken en droog het overnacht bij 105 °C.
- Weeg het vouwfilter. (M₂)
- Voeg 500 ml demiwater in de scheitrechter en schud uit.
- Tap de onderste (water)fase af in een afvalvat.
- Breng wederom 500 ml demiwater in de scheitrechter en schud uit.
- Tap de onderste (water)fase af en gooi deze weg via de afvoer.
- Breng de petroleumetherfase over in een 250 ml erlenmeyer.
- Voeg zoveel watervrij natriumsulfaat toe dat het niet meer klontert op de bodem.
- Weeg een 250 ml maatkolf. (M₃)
- Breng de petroleumetherfase via een vouwfilter over in de maatkolf.
- Spoel de scheitrechter met 25 ml petroleumether.
- Voeg dit toe aan de erlenmeyer met natriumsulfaat.
- Schud en breng via het vouwfilter over in de maatkolf.
- Herhaal deze spoelstap met 25 ml petroleumether.
- Weeg de maatkolf. (M₄)
- Het extract is bij 4 °C minimaal een week houdbaar.
- Voor opwerking extract zie 8.4 Opwerking van het extract .

8.4 Opwerking van het extract t.b.v. HPLC-analyse

- Weeg een 10ml puntbuis. (M₅)
- Breng 2,5ml petroleumetherfase uit de maatkolf in de puntbuis.
- Weeg de puntbuis. (M₆)
- Voeg 2,5ml acetonitril toe .
- Damp de petroleumetherfase af onder stikstofstroom (± 40 ml/min).
- Voeg 2,5ml acetonitril toe.
- Weeg de puntbuis. (M₇)
- Vul de HPLC-vial en sluit het af .

8.5 Controle van de methode

Voer ter controle een blanco extractie uit (8.3). Hiermee kan later bij de meting worden vastgesteld of de gebruikte chemicaliën PAK of minerale olie bevatten en of extractiemiddelen een negatief effect hebben op de bepaling.

9 Berekeningen

$$C_p = \text{piekhoogte} * (M_4 - M_3 / M_6 - M_5) * (M_7 - M_5 / 0.781) * (C_s / h_s) / (M_2 - M_1)$$

waarin:

- C_p: concentratie PAK in het monster in mg PAK per kg droge stof.
- C_s: concentratiestandaard.
- h_s: hoogte van standaardpiek.
- M₁: massa vouwfilter.
- M₂: massa vouwfilter + drooggewicht geëxtraheerde specie.

- M₃: massa maatkolf.
M₄: massa maatkolf + Petroleumetherextract.
M₅: massa puntbuis.
M₆: massa puntbuis + Petroleumether.
M₇: massa puntbuis + acetonitril.
0,781: dichtheid acetonitril.

10 Kosten van de biologische toets

De calculatie is gebaseerd op één baggerspeciemonster.

Uitvoering: Baggerspecie homogeniseren, 12 Duranflessen of erlenmeyers vullen met specie en kweekmedium. Vier monsters voor t = 0 bepaling opofferen en extraheren voor PAK analyse conform NEN-norm. Acht Duranflessen of erlenmeyers worden gedurende vier weken geïncubeerd. Vier flessen worden opgeofferd en extraheren voor PAK bepaling conform NEN-norm.

Tabel 1: Prijsberekening

Activiteit		prijs (guldens)
Microbiologische handelingen	8 uur	500 -1.200
Doorlooptijd	5 weken	-
Analysekosten 8 à 12 extracties	à 200 gulden	1.600 à 2.400
Rapportage in briefvorm		100
Totaal		2.200 - 3.700

11 Referenties NEN methoden

- NEN 6620; Bepaling van het vochtgehalte en gehalte aan droge stof (organisch stof) van veldvochtige grond, NNI, Delft 1990.
NEN 5771; Bepaling van de gehalten aan polycyclische aromatische koolwaterstoffen met behulp van hoge-drukvlloeistofchromatografie, NNI, Delft.

BIJLAGE III: Ringonderzoeken TNO MEP, SC DLO en LU Wageningen MT.

Bij de tabellen:

- ¹: standaardafwijking
- ²: relatieve standaardafwijking
- ³: door TNO, SC-DLO en LUW geselecteerde PAK, te weten, fluoreen, antraceen, fluoranteen, benz[a]antraceen, chryseen, benzo[k]fluoranteen, benzo[g,h,i]peryleen, indeno[1,2,3-c,d]pyreen.

III.1 Ringonderzoek 1, monster 1 (willekeurig slibmonster)

PAK	PAK-concentratie (µg/ml)				std ¹	rel.afwijk ²
	TNO	SC-DLO	LUW	gemiddelde		
fluoreen		3,7	4,3	4,0	0,5	12
fenantreen	4,3	9,5	4,8	6,2	2,9	46
antraceen	1,6	3,2	2,0	2,3	0,9	39
fluoranteen	23,4	7,2	8,8	13,1	8,9	68
pyreen	2,4	3,8	5,0	3,7	1,3	35
b[a]antraceen	1,1	1,5	2,9	1,8	1,0	52
chryseen	1,1	1,9	1,8	1,6	0,4	27
b[b]fluoranteen	0,7	0,8	0,9	0,8	0,1	13
b[k]fluoranteen	0,3	0,4	0,4	0,4	0,0	9
b[a]pyreen	0,6	0,7	0,9	0,7	0,1	21
dib[ah]antraceen	0,1	0,1	0,5	0,2	0,2	100
b[ghi]peryleen	0,2	0,4	0,4	0,3	0,1	42
ind[123cd]pyreen	0,2	0,4	0,4	0,3	0,1	25
som 8TSL ³	27,9	18,7	21,0	22,5	4,8	21
som PAK	36,0	33,6	33,1	34,2	1,6	5

III.2 Ringonderzoek 1, monster 2 (willekeurig landfarmmonster)

PAK	PAK-concentratie (µg/ml)				std ¹	rel.afwijk ²
	TNO	SC-DLO	LUW	gemiddelde		
fluoreen		0,1	0,2	0,1	0,01	9,4
fenantreen	4,4	0,03	0,04	1,5	2,5	168,9
antraceen	1,0	0,01	0,03	0,4	0,7	165,4
fluoranteen	19,4	0,1	0,1	6,5	11,1	170,2
pyreen	2,9	0,2	0,2	1,1	1,5	139,2
b[a]antraceen	1,7	0,2	0,2	0,7	1,9	124,4
chryseen	1,6	0,2	0,3	0,7	0,8	115,3
b[b]fluoranteen	1,0	0,5	0,6	0,7	0,3	37,3
b[k]fluoranteen	0,7	1,1	1,5	1,1	0,4	33,3
b[a]pyreen	1,4	0,6	0,7	0,9	0,4	48,9
dib[ah]antraceen	0,3	3,4	1,1	1,6	1,6	99,2
b[ghi]peryleen	0,6	0,9	1,3	0,9	0,4	39,9
ind[123cd]pyreen	0,5	1,0	1,4	0,9	0,5	47,3
som 8TSL ³	25,5	3,6	5,03	11,4	12,3	108
som PAK	35,5	8,3	7,7	17,2	15,6	91

III.3 Ringonderzoek 1, monster 3 (willekeurig verdund referentiemateriaal)

PAK	PAK-concentratie (µg/ml)				std ¹	rel.afwijk ²
	TNO	SC-DLO	LUW	gemiddelde		
fluoreen		0,3	0,2	0,3	0,03	12,7
fenantreen	0,2	0,2	0,2	0,2	0,02	12,8
antraceen	0,04	0,05	0,02	0,04	0,01	39,4
fluoranteen	0,4	0,4	0,4	0,4	0,03	9,4
pyreen	0,4	0,5	0,4	0,4	0,04	8,3
b[a]antraceen	0,2	0,2	0,2	0,2	0,02	11,3
chryseen	0,2	0,2	0,2	0,2	0,03	16,5
b[b]fluoranteen	0,2	0,2	0,2	0,2	0,04	17,2
b[k]fluoranteen	0,2	0,3	0,2	0,2	0,03	13,4
b[a]pyreen	0,2	0,3	0,2	0,2	0,02	10,2
dib[ah]antraceen	0,1	0,2	0,2	0,2	0,03	18,8
b[ghi]peryleen	0,1	0,2	0,2	0,2	0,04	20,5
ind[123cd]pyreen	0,1	0,3	0,2	0,2	0,08	46,0
som 8TSL ³	1,2	2,0	1,6	1,6	0,4	25
som PAK	2,3	3,4	2,8	2,8	0,6	21

III.4 Ringonderzoek 2, Overschie Rotterdam monster

PAK	PAK-concentratie (µg/ml)				std ¹	rel.afwijk ²
	TNO	SC-DLO	LUW	gemiddelde		
luoreen	2,7	1,6	3,0	2,5	0,70	30
fenantreen	18,6	10,4	17,7	15,4	4,4	28
antraceen	6,5	4,7	3,6	4,9	1,5	30
fluoranteen	36,6	27,8	41,0	35,1	6,7	19
pyreen	32,0	17,7	36,3	22,7	9,7	43
b[a]antraceen	15,9	11,7	10,6	12,7	2,8	22
chryseen	16,7	16,1	11,2	14,6	3,0	21
b[b]fluoranteen	17,8	10,3	9,9	12,7	4,4	35
b[k]fluoranteen	7,1	5,2	5,2	5,8	1,1	19
b[a]pyreen	15,9	8,9	8,9	11,2	4,1	36
dib[ah]antraceen	2,4	1,6	0,7	1,5	0,9	56
b[ghi]peryleen	11,2	7,2	4,3	7,6	3,6	46
ind[123cd]pyreen	14,5	9,1	4,5	9,4	5,0	53
som 8TSL ³	110,2	83,4	83,4	92,3	15,5	17
som PAK	196,9	132,3	156,8	1620	32,6	20

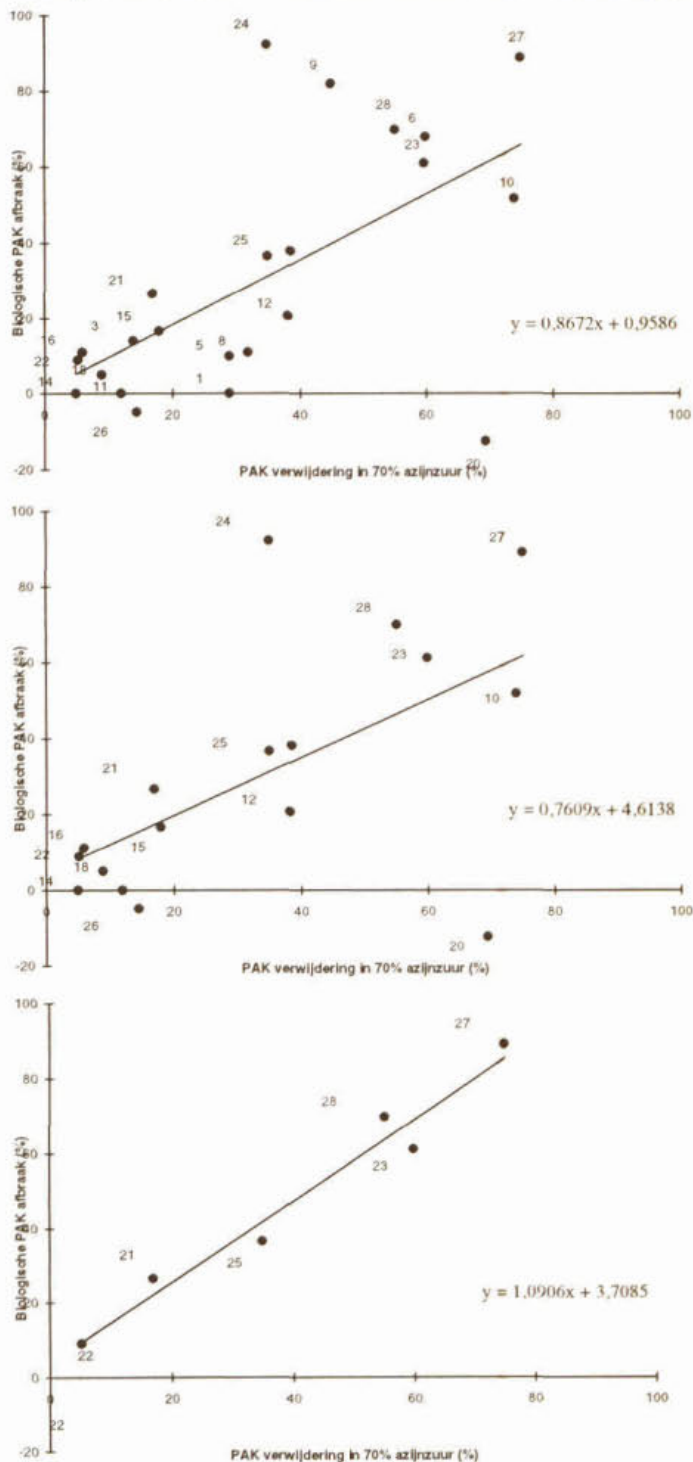
III.5 Ringonderzoek 2, Voorwetering Nieuwkoop monster

PAK	PAK-concentratie (µg/ml)				std ¹	rel.afwijk ²
	TNO	SC-DLO	LUW	gemiddelde		
fluoreen	1,0	0,9	1,1	1,0	0,13	13
fenantreen	9,9	6,0	17,1	11,0	5,6	51
antraceen	2,2	2,2	2,2	2,2	0,01	0
fluoranteen	26,3	26,4	38,5	30,4	7,0	23
pyreen	21,8	14,3	32,7	22,9	9,2	40
b[a]antraceen	9,7	7,7	9,5	8,9	1,1	12
chryseen	11,0	8,6	10,7	10,1	1,3	13
b[b]fluoranteen	12,5	9,0	10,8	10,8	1,7	16
b[k]fluoranteen	5,4	4,4	5,1	5,0	0,53	11
b[a]pyreen	10,2	7,8	8,8	8,9	1,2	14
dib[ah]antraceen	1,3	1,3	0,8	1,1	0,31	28
b[ghi]peryleen	7,7	6,4	5,4	6,5	1,1	18
ind[123cd]pyreen	7,6	7,1	6,1	6,9	0,76	11
som 8TSL ³	70,9	63,6	78,6	71,0	7,5	11
som PAK	126,6	101,9	148,8	125,8	23,4	19

III.6 Ringonderzoek 3, willekeurig extract

PAK	PAK-concentratie (µg/ml)				std ¹	rel.afwijk ²
	TNO	SC-DLO	LUW	gemiddelde		
fluoreen	0,04	0,03	0,03	0,03	0,006	20
fenantreen	0,19	0,14	0,17	0,17	0,024	15
antraceen	0,05	0,05	0,06	0,05	0,006	11
fluoranteen	0,46	0,40	0,40	0,42	0,033	8
pyreen	0,37	0,23	0,29	0,30	0,068	23
b[a]antraceen	0,19	0,15	0,15	0,16	0,022	14
chryseen	0,21	0,19	0,18	0,19	0,015	8
b[b]fluoranteen	0,20	0,14	0,11	0,15	0,048	31
b[k]fluoranteen	0,09	0,07	0,07	0,08	0,012	15
b[a]pyreen	0,18	0,14	0,18	0,17	0,026	16
dib[ah]antraceen	0,03	0,02		0,03	0,003	13
b[ghi]peryleen	0,16	0,08	0,09	0,11	0,043	40
ind[123cd]pyreen	0,11	0,12	0,11	0,11	0,003	3
som 8TSL ³	1,47	1,16	1,24	1,30	0,161	12
som PAK	2,28	1,76	1,83	2,00	0,310	16

BIJLAGE IV: Correlatie tussen PAK extractie in 70 % azijnzuur en biologische afbreekbaarheid in de onderzochte species



Figuur 38: Correlatie tussen extractie van PAK (10VROM) uit baggerspecie in 70% azijnzuur en de biologische afbreekbaarheid. In deze drie figuren zijn weergegeven; alle geteste baggerspecies (boven), baggerspecies uit klasse III en IV (midden) en baggerspecies na selectie uit klasse IV (onder).

