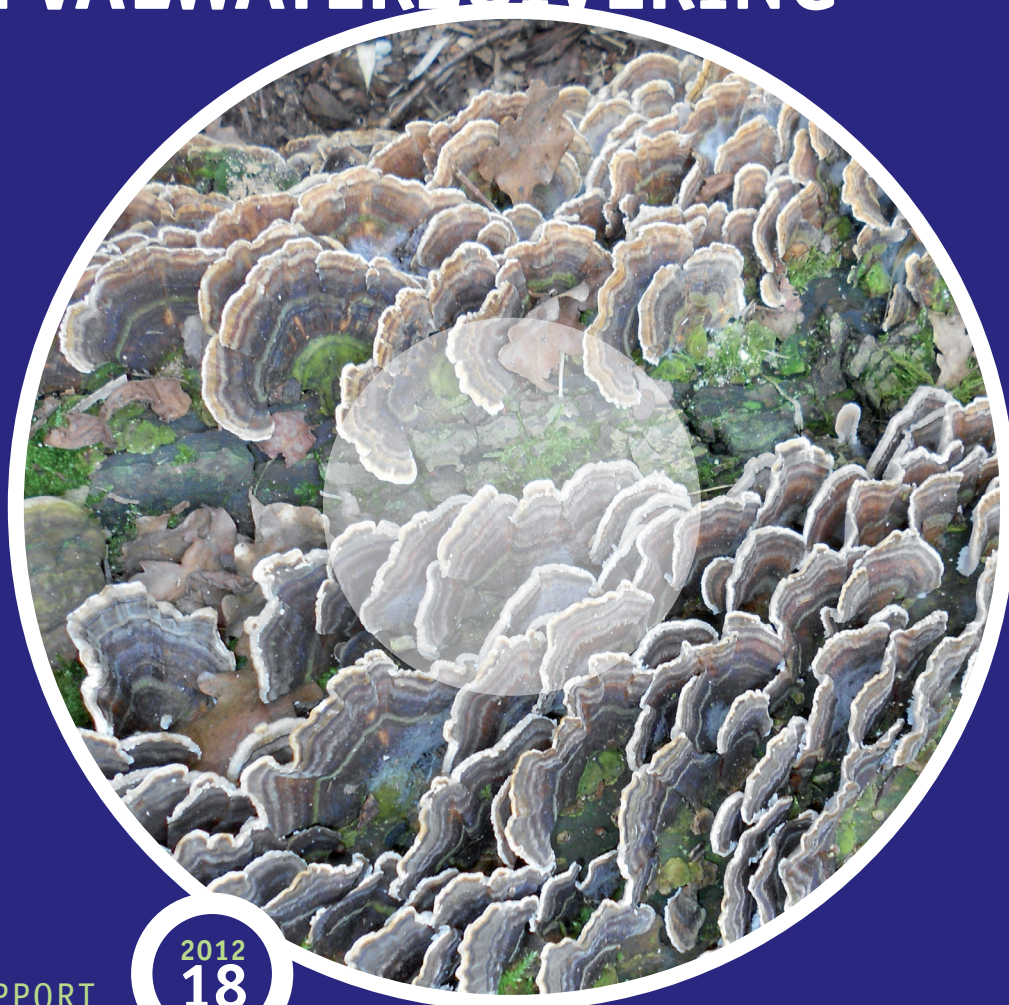


# LITERATUURSTUDIE NAAR DE INZETBAARHEID VAN ZWAMMEN IN DE AFVALWATERZUIVERING



RAPPORT

2012  
18

LITERATUURSTUDIE NAAR DE INZETBAARHEID VAN ZWAMMEN  
IN DE AFVALWATERZUIVERING

RAPPORT

2012

18

ISBN 978.90.5773.557.8



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

# COLOFON

UITGAVE Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer  
Postbus 2180  
3800 CD Amersfoort

AUTEURS Ir. A.J. Otte (Bioniers)

## BEGELEIDINGSCOMMISSIE

Ing. R. van Dalen (Waterschap Vallei en Veluwe i.o.)  
Ing. M.E.P. Verhoeven (Waterschap De Dommel)  
Dr. G.R. Zoutberg (Hoogheemraadschap Hollands Noorderkwartier)  
Ir. C.A. Uijterlinde (STOWA)

DRUK Kruyt Grafisch Adviesbureau

STOWA STOWA 2012-18

ISBN 978.90.5773.557.8

**COPYRIGHT** De informatie uit dit rapport mag worden overgenomen, mits met bronvermelding. De in het rapport ontwikkelde, dan wel verzamelde kennis is om niet verkrijgbaar. De eventuele kosten die STOWA voor publicaties in rekening brengt, zijn uitsluitend kosten voor het vormgeven, vermenigvuldigen en verzenden.

**DISCLAIMER** Dit rapport is gebaseerd op de meest recente inzichten in het vakgebied. Desalniettemin moeten bij toepassing ervan de resultaten te allen tijde kritisch worden beschouwd. De auteurs en STOWA kunnen niet aansprakelijk worden gesteld voor eventuele schade die ontstaat door toepassing van het gedachtegoed uit dit rapport.

# DE STOWA IN HET KORT

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

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

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

Het geld voor onderzoek, ontwikkeling, informatie en diensten brengen de deelnemers samen bijeen. Momenteel bedraagt het jaarlijkse budget zo'n 6,5 miljoen euro.

U kunt de STOWA bereiken op telefoonnummer: 033 - 460 32 00.

Ons adres luidt: STOWA, Postbus 2180, 3800 CD Amersfoort.

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

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



# LITERATUURSTUDIE NAAR DE INZETBAARHEID VAN ZWAMMEN IN DE AFVALWATERZUIVERING

## INHOUD

	STOWA IN HET KORT	
<b>1</b>	<b>SAMENVATTING</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>INLEIDING</b>	<b>3</b>
2.1	Aanleiding en scope	3
2.2	Wat zijn schimmels?	3
2.3	Classificatie	6
2.4	Witrotzwammen	6
<b>3</b>	<b>ZWAMMEN VOOR ZUIVERING</b>	<b>8</b>
3.1	Afbraak van ligninen door zwammen	8
3.2	Stoffen die door (witrot)zwammen worden verwijderd	9
3.3	Type reactoren	12
	3.3.1 Type mycoreactoren	12
	3.3.2 Geïmmobiliseerde systemen op labschaal	12
	3.3.3 MBR systemen	14
3.4	Pilotexperimenten	15
3.5	Eisen aan zuiveringssystemen	16
3.6	Type afvalwaterstromen	18
	3.6.1 Zwammen in de rioolwaterzuivering	18
3.7	Niet-steriele omstandigheden	19
3.8	Gebruik van de zwambiomassa	19
3.9	Kosten en vergelijking met andere systemen	19

<b>4</b>	<b>AANBEVELINGEN VOOR NADER ONDERZOEK</b>	<b>20</b>
4.1	Hiaten in kennis	20
4.1.1	Communaal afvalwater	20
4.1.2	Reactorontwerp	21
4.1.3	Overig	21
4.2	Onderzoeksvragen	22
<b>5</b>	<b>CONCLUSIES</b>	<b>23</b>
5.1	Zwammen als zuiveraars	23
5.2	Mogelijkheden voor de praktijk van de zuivering	23
5.3	Kansrijke opties	24
5.3.1	Deelstroombehandeling	24
5.3.2	Stimuleren zwammen in de rwzi	25
5.3.3	Slibbehandeling	25
<b>6</b>	<b>LITERATUUR</b>	<b>26</b>
	<b>BIJLAGEN</b>	<b>31</b>

# 1

## SAMENVATTING

De waterwereld staat voor een uitdaging. Hoe gaan we om met moeilijk afbreekbare stoffen in afvalwater. Op dit moment staat er een aantal stoffen op de nominatie om opgenomen te worden op de lijst van Prioritaire stoffen in de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW). Als deze stoffen definitief op de lijst terecht komen, mogen zij over 20 jaar niet meer worden geloosd. Het gaat hierbij onder andere om hormoonverstorende en -actieve stoffen en medicijnen. Deze stoffen passeren voor een belangrijk deel de rioolwaterzuiveringsinstallaties (rwzi's), zodat een extra behandeling van het afvalwater noodzakelijk zou kunnen worden.

In de wetenschappelijke literatuur zijn aanwijzingen te vinden dat dit soort stoffen wel afgebroken worden door een bepaalde klasse van zwammen. (Na)zuivering met deze zwammen van effluent of deelbehandeling van een geconcentreerde afvalwaterstroom zou een kosten-effectieve methode kunnen zijn om de hormoonverstorende effecten van effluent te elimineren en medicijnresten en bestrijdingsmiddelen te verwijderen.

In dit document zijn de bevindingen van een literatuurstudie gerapporteerd. Deze studie is uitgevoerd met als doel inzicht te krijgen in de mogelijkheid om zwammen in te zetten in de waterzuivering als aanvulling op de bacteriën van het actief slib. Hierbij wordt gefocust op het verwijderen van moeilijk afbreekbare of verwijderbare stoffen uit afvalwater.

In het laboratorium is duidelijk aangetoond dat zwammen potentie hebben om ongewenste stoffen te verwijderen. (Witrot)zwammen zijn als geen andere organismegroep in staat om moeilijk afbreekbare, aromatische stoffen af te breken. De enzymen die de zwammen daarvoor gebruiken zijn niet specifiek. Dat wil zeggen dat zij een breed scala aan organische stoffen kunnen oxideren. Zwammen zijn beter dan bacteriën (en actiefslib) in staat om pesticiden, hormoonactieve en -verstorende stoffen en medicijnen af te breken.

Een ander mogelijk groot voordeel van zwammen ligt in de mogelijkheden voor gebruik. Zwammen bevatten over het algemeen een hoge concentratie winbare eiwitten. Uit gisten die in de voedingsmiddelenindustrie worden ingezet voor de behandeling van suikerrijke afvalwaterstromen, worden de eiwitten geogst en benut.

Verschillende auteurs concluderen dat de toepassing van witrotschimmels in de waterzuivering mogelijk en zelfs veelbelovend is, maar dat een aantal problemen nog moet worden opgelost. Deze problemen liggen vooral in de sfeer van het kweken van voldoende biomassa en processturing onder variabele omstandigheden. Technieken voor het kweken van biomassa kunnen worden gevonden bij commerciële paddenstoelenkwekers. Processturing onder variabele omstandigheden kan worden geoptimaliseerd door praktijkproeven uit te voeren.

De nabehandeling van effluent lijkt op dit moment weinig kansrijk. Verblijftijden van langer dan een halve tot een hele dag betekenen dat behandeling van een totale effluentstroom met zwammen lastig is. Lange verblijftijden betekenen immers grote reactoren en daarmee



hoge kosten. De concentraties van de stoffen waar het om gaat liggen laag, er dient een grote hoeveelheid water behandeld te worden, er is onvoldoende substraat aanwezig en de temperatuur is laag. Behandeling van effluent komt wellicht in zicht wanneer regenwater volledig is afgekoppeld. Behandeling van ruw rioolwater is, vanwege het volume en de temperatuur, eveneens nauwelijks een optie, al bevat ruw rioolwater wellicht wel voldoende substraat. Ook hiervoor geldt dat de optie pas in zicht komt als regenwater volledig is afgekoppeld.

Lange verblijftijden kunnen wel worden toegepast bij het verwijderen van bijvoorbeeld medicijnresten in geconcentreerde deelstromen, zoals urine en rejectiewater van slibbehandeling. Het leeuwendeel van de medicijnresten zit in urine en behandeling van deze deelstroom zou dan ook een aantrekkelijke optie kunnen zijn.

Er zijn drie opties die kansrijk lijken voor een zwammenbehandeling:

- behandeling van sterk verontreinigde deelstromen (urine en rejectiewater)
- stimuleren van al voorkomende zwammen in de rwzi (optimalisering zuiveringsproces)
- slibbehandeling

Uit deze verkennende literatuurstudie blijkt dat het verwijderen van vooral hormoonactieve en -versturende stoffen en medicijnen uit communaal afvalwater met zwammen het verder onderzoeken waard is. Mogelijk ontwikkelt zich een nieuwe, kosteneffectieve techniek.

# 2

## INLEIDING

### 2.1 AANLEIDING EN SCOPE

De waterwereld staat voor een uitdaging. Hoe gaan we om met moeilijk afbreekbare stoffen in afvalwater. Op dit moment staat er een aantal stoffen op de nominatie om opgenomen te worden op de lijst van Prioritaire stoffen in de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW). Als deze stoffen definitief op de lijst terecht komen, mogen zij over 20 jaar niet meer worden geloosd. Het gaat hierbij onder andere om hormoonverstorende en -actieve stoffen en medicijnen. Deze stoffen passeren voor een belangrijk deel de rioolwaterzuiveringsinstallaties (rwzi's), zodat een extra behandeling van het afvalwater noodzakelijk zou kunnen worden.

Technieken om deze stoffen te verwijderen zijn duur en/of energie-intensief. Een biologische zuivering zou kosteneffectiever kunnen zijn. De waterzuiveringssector heeft altijd gewerkt met bacteriën voor de afbraak van verontreinigingen, maar hormoonactieve stoffen en medicijnresten worden niet of slecht door bacteriën afgebroken. Een aantal hormoonverstorende stoffen blijken zich met name op te hopen in de slibfractie (Derksen, 2005). Afbraak door zwammen zou een optie kunnen zijn voor de verwerking van dit slib. Maar ook de oestrogene activiteit van effluent is niet te verwaarlozen (Derksen, 2005).

In de wetenschappelijke literatuur zijn aanwijzingen te vinden dat dit soort stoffen wel afgebroken worden door een bepaalde klasse van zwammen. Deze zogenaamde witrotzwammen zijn in staat om een breed scala aan moeilijk afbreekbare stoffen aan te pakken. Deze stoffen worden soms door bacteriën afgebroken, maar veel effectiever door zwammen (Woertz et al., 2001). (Na)zuivering met zwammen van effluent of deelbehandeling van een geconcentreerde afvalwaterstroom zou een kosteneffectieve methode kunnen zijn om de hormoonverstorende effecten van effluent te elimineren en medicijnresten en bestrijdingsmiddelen te verwijderen.

In dit document zijn de bevindingen van een literatuurstudie gerapporteerd. Deze studie is uitgevoerd met als doel inzicht te krijgen in de mogelijkheid om zwammen in te zetten in de waterzuivering als aanvulling op bacteriën. Hierbij wordt gefocust op het verwijderen van moeilijk afbreekbare of verwijderbare stoffen uit afvalwater.

### 2.2 WAT ZIJN SCHIMMELS?

Schimmels of zwammen (wetenschappelijke naam: fungi) bestaan uit cellen met een celkern, mitochondriën en een cytoskelet. Tot de zwammen behoren zowel meercellige organismen zoals paddenstoelen maar ook eencellige organismen zoals gisten. Net als dieren en planten vormen schimmels in de taxonomie een eigen rijk. Het wetenschappelijk onderzoek naar schimmels heet mycologie en de geleerden in dat onderzoeksgebied worden mycologen genoemd.

Schimmels planten zich zowel geslachtelijk als ongeslachtelijk voort. De geslachtelijke voortplanting gaat door middel van sporen, de ongeslachtelijke voortplanting is op vegetatieve

wijze door schimmeldraden en zwamvlokken. Als saprofyten (afbrekers) spelen schimmels een belangrijke ecologische rol bij de afbraak van plantaardig materiaal (bacteriën zijn vooral belangrijk bij de afbraak van dierlijk materiaal). Veel schimmels leven in symbiose met planten, door bijvoorbeeld voor bomen mineralen te absorberen en in ruil daarvoor suikers terug te krijgen voor hun eigen voeding. Op deze wijze verhogen schimmels de biodiversiteit, omdat de boom (of andere plant) kan overleven in moeilijker omstandigheden.

Er zijn zowel eencellige schimmels, zoals gisten, als meercellige. Meercellige schimmels leven op een ondergrond, bijvoorbeeld op een bodem of op (al dan niet levend) hout van bomen. Bij eencellige schimmels is dat vaak niet het geval.

AFBEELDING 1

VOORBEELD VAN EEN WITROTZWAM



Meercellige schimmels hebben een diffuus lichaam, in tegenstelling tot planten en dieren die een 'compact' lichaam bezitten. Dit diffuse lichaam bestaat uit in de ondergrond groeiende schimmeldraden, microscopisch dunne draden met een doorsnee van 2 tot 100 micrometer, die vaak tot netwerken verweven zijn. Het hele netwerk van draden wordt mycelium of zwamvlok genoemd. De vorm van de schimmeldraden hangt sterk van de soort schimmel af. Bij op planten parasiterende soorten zitten vaak aan het einde van de schimmeldraad haustoriën, zuigende organen die in de cellen van de plant doordringen om daar voedingsstoffen te onttrekken. Sommige schimmels zijn carnivoor, ze kunnen in hun netwerk van schimmeldraden kleine dieren als rondwormen vangen. Bij sommige soorten liggen bundels schimmeldraden parallel naast elkaar, deze bundels worden synnemata of rhizomorfen genoemd en kunnen wel op de wortels van planten lijken.

AFBEELDING 2

NOG EEN VOORBEELD VAN EEN WITROTZWAM



Het opvallendste deel van meercellige schimmels zijn echter niet de ondergrondse schimmel-draden, maar bovengrondse vruchtlichamen. Deze organen worden paddenstoelen genoemd en dienen voor de voortplanting. Ze kunnen behalve verschillende kleuren ook veel verschillende vormen hebben, zoals hoedvormig, rond, kokervormig, knolvormig of in de vorm van korsten. Hoewel ze voor mensen het opvallendste deel zijn, vormen ze maar een klein deel van het organisme. Bij sommige soorten, zoals truffels, zit het vruchtlichaam ondergronds. Het vruchtlichaam bestaat niet uit echt weefsel, maar uit nauw vervlochten schimmeldraden. Men spreekt daarom wel van “schijnweefsel”. Paddenstoelen bestaan uit een hymenium, een deel waarin zich sporen ontwikkelen, en een deel dat hymenophore genoemd wordt en het hymenium ondersteunt.

Niet alle schimmels vormen vruchtlichamen. Er zijn ook soorten die bovengronds te zien zijn als een witte of grijze laag aanslag. Deze aanslag kan men onder andere aantreffen op bedorven voedsel, maar kan ook ontstaan op bijvoorbeeld muren. Deze aanslag wordt ook wel beschimmeling genoemd. Schimmels die er zo uitzien zijn onder andere *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*, en *Alternaria*.

AFBEELDING 3

MYCELIUM VAN EEN WITROTZWAM OP EEN BOOMSTAM



De grootte van schimmels kan sterk verschillen: er bestaan microscopisch kleine soorten maar ook soorten die gigantische afmetingen kunnen krijgen. Een honingzwam (*Armillaria ostoyae*) in de Amerikaanse staat Oregon is naar schatting 2400 jaar oud en heeft een ondergronds mycelium met een omvang van 890 hectare. Daarmee is deze schimmel het grootste bekende organisme ter wereld. Ook in het Engadin in Zwitserland is een schimmel met een grote omvang bekend. Hier is de schimmel ongeveer duizend jaar oud en ongeveer 800 meter lang en 500 meter breed. Ook in oppervlaktewateren spelen zwammen een belangrijke rol, al is de aandacht daarvoor pas recent ontstaan en is er nog veel niet bekend (Wurzbacher, Bärlocher & Grossart, 2010).

### 2.3 CLASSIFICATIE

Voor de opkomst van de moleculaire fylogenetica rekenden biologen de schimmels tot het rijk der planten, vanwege overeenkomsten in levensstijl. Net als planten zijn schimmels sessiel (ze kunnen zich niet voortbewegen), ze hebben daarnaast vergelijkbare vormen (overeenkomstige morfologie) en leven in vergelijkbare habitats (op bodems). Daarnaast bezitten schimmels net als planten een celwand, een eigenschap die de dieren missen. Tegenwoordig worden schimmels echter niet meer tot de planten gerekend en is zelfs bekend geworden dat ze nauwer verwant zijn met de dieren.

### 2.4 WITROTZWAMMEN

Al lang is bekend dat zwammen een specifieke rol spelen in de natuur. Een specifieke groep zwammen is in staat om ligninen af te breken (Reddy, 1995). Ligninen zijn complexe, aromatische en slecht afbreekbare polymeren die voorkomen in planten. Na cellulose zijn ligninen de meest voorkomende polymeren in de natuur. Witrotzwammen breken ligninen (zie Afbeelding 4) af door enzymen uit te scheiden die de ligninen omzetten in kleinere, oplos-

bare stoffen die zwammen en andere organismen vervolgens kunnen opnemen. Het grote verschil met afbraak door bacteriën ligt er dan ook in dat zwammen werken met extracellulaire enzymen. Extracellulaire enzymen worden door de zwam uitgescheiden en doen hun werk buiten de cel. De meeste bacteriën moeten een stof eerst in de cel opnemen alvorens het te kunnen afbreken. Hierdoor kunnen zwammen andere en vooral complexere stoffen afbreken dan bacteriën.

Afbraak van ligninen kost de zwam energie, maar het levert de zwam ook wat op. Een groot deel van de cellulose ligt namelijk vast in een lignine-cellulose matrix. Deze cellulose is alleen toegankelijk door eerst de lignine-component af te breken. De zwammen moeten dus eerst investering in de afbraak van ligninen om beloond te worden met een extra koolstofbron in de vorm van cellulose. Witrotschimmels hebben hierdoor een concurrentievoordeel ten opzichte van niet-lignineafbrekende organismen.

Omdat ligninen aromatische verbindingen zijn, werd in de jaren tachtig van de vorige eeuw bedacht dat zwammen wellicht in staat zouden kunnen zijn om aromatische verontreinigingen af te breken. Sindsdien wordt er geëxperimenteerd met in situ-sanering van aromatische verontreinigingen in bodems door zwammen en deze experimenten wijzen uit dat zwammen goed in staat zijn om de bodems te reinigen (Grotenhuis et al., 1998; Reddy, 1995; Gadd, 2001; Pointing, 2001). Hierbij zijn zwammen in staat om een breed scala aan stoffen af te breken. Dit is mogelijk omdat de enzymen die de zwammen gebruiken om lignines af te breken niet stofspecifiek zijn. Polymeren van lignines kunnen allerlei vormen hebben en daarom kunnen de enzymen ook niet stofspecifiek zijn, maar moeten kunnen passen op een breed scala aan molecuulvormen (Gadd, 2001).

Witrotzwammen hebben zuurstof nodig om te groeien en ligninen te kunnen afbreken. Te behandelen afvalwater zal daarom aeroob moeten zijn.

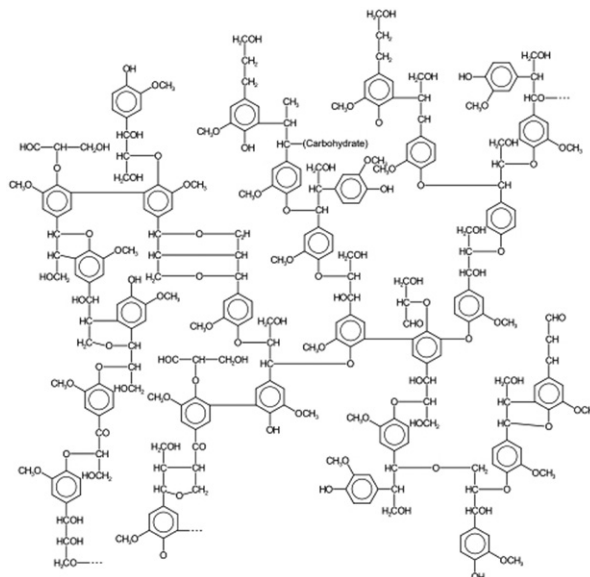
# 3

## ZWAMMEN VOOR ZUIVERING

### 3.1 AFBRAAK VAN LIGNINEN DOOR ZWAMMEN

Witrotzwammen, zijn, in tegenstelling tot bacteriën, in staat ligninen af te breken (Reddy, 1995). Ligninen zijn complexe, aromatische polymeren die voorkomen in planten. Deze afbraak doen zij door enzymen uit te scheiden die de ligninen omzetten in kleinere, oplosbare stoffen die de zwammen en andere organismen vervolgens kunnen opnemen. Hoe deze afbraak verloopt, is nog niet tot in detail bekend.

AFBEELDING 4 STRUCTUURFORMULE VAN LIGNINE



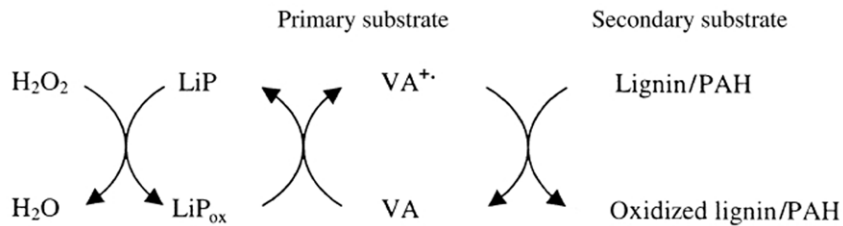
De afbraak van ligninen kost de zwam energie. Deze afbraak is echter nodig om cellulose vrij te maken uit het lignine-cellulosecomplex in het plantmateriaal. Dit cellulose levert de zwam voldoende energie op. Zwammen kunnen niet leven op lignine alleen (Gadd, 2001).

Complexen van ligninen zijn zeer divers. Enzymen die deze complexen afbreken kunnen daardoor niet erg stofspecifiek zijn (Gadd, 2001). Twee soorten enzymen spelen een rol bij de afbraak: peroxidasen die waterstofperoxide gebruiken en laccasen (polyfenol oxidasen) die moleculair zuurstof gebruiken. Zij vormen vrije zuurstofradicalen die een groot scala aan organische stoffen kunnen afbreken.

Lignine peroxidase (LiP) heeft zijn optimum bij een pH van 3, maar is niet heel stabiel bij die zuurgraad. In rottend hout komen pH's van 4 vaak voor. De zwammen maken bij de afbraak extracellulair veratryl alcohol aan en deze stof beschermt LiP tegen hoge concentraties van  $H_2O_2$  gevormd door de zwam. Een andere essentiële peroxidase is mangaanperoxidase (MnP). Dit enzym werkt net als LiP, aangevuld met een omzetting van  $Mn^{2+}$  naar  $Mn^{3+}$ .

AFBEELDING 5

## ENZYMATISCHE AFBRAAK VAN LIGNINE. VA = VERATRYL ALCOHOL



Beide peroxidases werken met waterstofperoxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), dat de zwam zelf vormt. Enzymen die daarbij actief zijn, zijn glucose oxidase, glyoxal oxidase en arylalcohol oxidase. MnP maakt daarnaast waterstofperoxide door oxidatie van organische zuren. Organische zuren, zoals malonaat, citraat en oxalaat, zijn essentieel voor het stabiliseren van  $\text{Mn}^{3+}$ . Het afbraakmechanisme loopt via een intermediair (primaire substraat), zoals afgebeeld in afbeelding 5.

Het zuurstofradicaal dat wordt vrijgemaakt uit waterstofperoxide is in staat om vele verbindingen te oxideren. Deze oxidatieproducten worden vervolgens verder afgebroken. Fenolen worden extracellulair geoxideerd door laccase (mono- en difenolen) en tyrosinase (monofenolen).

Er wordt aangenomen dat zowel de peroxidasen als laccase nodig zijn voor afbraak van lignine (Gadd, 2001). Verder houden de zwammen van een zuur milieu en is er een koolstofbron nodig (een bron van koolhydraten). In afvalwaterstromen zonder koolstofbron wordt in het laboratorium glucose toegevoegd tot een concentratie van 5 tot 10 g/l. Deze concentraties zijn (veel) hoger dan in de meeste afvalwaterstromen worden aangetroffen.

Sommige zwammen produceren meer van de vereiste enzymen in stikstofgelimiteerde condities (o.a. *Phanerochaete chrysosporium*), maar andere doen het juist beter onder stikstofrijke omstandigheden (o.a. *Bjerkandera adusta* en *Phanerochaete flavidobrunnea*). Een experiment met een ongeïdentificeerde zwam liet zien dat bij het eerste gebruik de zwam beter presteerde onder nutriëntgelimiteerde omstandigheden, maar bij hergebruik van het mycelium de behoefte aan stikstof toenam tot 0,25 g/l ammoniumchloride (Gadd, 2001).

### 3.2 STOFFEN DIE DOOR (WITROT)ZWAMMEN WORDEN VERWIJDERD

Vroege experimenten met afvalwater laten zien dat verschillende soorten zwammen in staat zijn om verschillende stoffen af te breken of te accumuleren (Akhtar & Gaffar, 1986; Thanh & Simar, 1973). Fosfaat, ammonium, totaal-stikstof en CZV worden snel en grondig verwijderd uit huishoudelijk afvalwater. Thanh & Simar testten zeventien verschillende soorten op hun vermogen om deze stoffen te verwijderen. Gemiddeld werd fosfaat voor 84,1% verwijderd, ammonium voor 73,3%, totaal-stikstof voor 68,1% en CZV voor 39,3%. De beste zwam voor fosfaatverwijdering was *Trichothecium roseum* (97,5%). *Epicoccum nigrum*, *Geotrichum candidum* en *Trichoderma* sp. verwijderden het best respectievelijk ammonium (84%), totaal-stikstof (87%) en CZV (72%).

De-Li et al (2006) tonen aan dat zwammen een belangrijke rol kunnen spelen bij denitrificatie. De denitrificerende bacterie *Pseudomonas stutzeri* denitrificeert snel onder anaerobe omstandigheden, maar een mengsel van deze bacterie met de zwam *Fusarium oxysporum* denitrificeerde snel onder omstandigheden met weinig zuurstof (5% of minder). Ook Greben et al (2007) melden denitrificatie door *Fusarium* uit grondwater met te hoge nitraatconcentraties en met



gebruik van zaagsel of andere organische koolstofbronnen. Een consortium van zes zwammensoorten (*Penicillium corylophilum*, *Penicillium citrinum*, *Hyphomycetous sp.*, *Mucor circinelloides*, *Hyphomycetous sp.* en *Fusarium oxysporum*) was in staat om tot 89% van het nitraat te verwijderen met gras als substraat. De hydraulische verblijftijd wordt niet genoemd.

Een zeer groot aantal toxische stoffen wordt door zwammen verwijderd. Tabel 3.1 geeft een overzicht van stoffen waarvan is aangetoond dat zij verwijderd worden. De stoffen zijn onderverdeeld in polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK), gechlloreerde aromaten, pigmenten, nitro-aromatische stoffen, bestrijdingsmiddelen, hormoonactieve of -verstorende stoffen, farmaceutische en cosmetische stoffen en overige.

De meeste organische stoffen worden afgebroken, metalen en sommige organische stoffen worden verwijderd door biosorptie (Aksu, 2005). Deze biosorptie werkt niet alleen met levende zwammen, maar ook met dode zwammen (Aksu, 2005; Kumar & Min, 2011).

**TABEL 1** TYPE STOFFEN DIE DOOR WITROTZWAMMEN EN/OF HUN ENZYMEN WORDEN VERWIJDERD (AUGUSTIN ET AL., 2006; AURIOL ET AL., 2007; AURIOL ET AL., 2008; CARR ET AL., 2011; CASTRO ET AL., 2007; EIBES ET AL., 2011; GADD, 2001; JUNGHANS ET AL., 2005; KUMAR & MIN, 2011; RODARTE-MORALES ET AL., 2011; PICKARD ET AL., 1999; PRENAFETA-BOLDÚ ET AL., 2002; PRENAFETA-BOLDÚ ET AL., 2006; QUINTERO ET AL., 2007; SPIGNO ET AL., 2003; SUZUKI ET AL., 2003; TAMAGAWA ET AL., 2006; VALENTÍN, ET AL., 2007)

Type stoffen	Stoffen
Polycyclische aromatische koolwaterstoffen (PAK)	Antraceen, 2-methyl antraceen, 9-methyl antraceen, benzo(a)pyreen, fluoreen, naftaleen, acenaftteen, acenaftaleen, fenantreen, pyreen, bifenyleen, dibenzothiofeen
Aromaten	Tolueen, ethylbenzeen, xylenen
Gechlloreerde aromaten	Chloorfenolen (o.a. Pentachloorfenolen (PCP), trichloorfenolen (TCP) en dichloorfenolen (DCP), chloorligholen, 2,4-dichlorophenoxyazijnzuur (2,4-D), 2,4,5-trichloorfenoxyazijnzuur (2,4,5-T), PCB's, dioxinen, chloorbenzenen
Verfstoffen	Azuur B, Congo Rood, DY3, Oranje II, Poly R, Reactief zwart 5, Reactief oranje 96, reactief violet 5, remalol briljant blauw R (RBRR), solvent geel 14, tropaeoline
Nitroaromatische stoffen	TNT (2,4,6-trinitrotolueen), 2,4-dinitrotolueen, 2-amino-4,6-dinitrotolueen, 1-chloro-2,4-dinitrobenzeen, 2,4-dichloro-1-nitrobenzeen, 1,3-dinitrobenzeen
Bestrijdingsmiddelen	Alachloor, aldrin, atrazine, chloordaan, glyfosaat, heptachloor, lindaan, mirex, 1,1,1-trichloor-2,2-bis (2-chloorfenyl)ethaan (DDT)
Hormoonversturende stoffen	17 $\beta$ -estradiol, ethinylestradiol, estriol, nonylfenol, (17 $\alpha$ -ethinylestradiol
Farmaceutische en cosmetische stoffen	carbamazepine, citalopram, diazepam, diclofenac, fluoxetine, fluoxetine hydrochloride, hydrobromide, ibuprofen, naproxen, sulfametoxazool
Overige	Benzeen, tolueen, ethylbenzeen, o-, m-, p-xylenen, liniar alkylbenzeensulfonaat (LAS), trichloorethyleen, 1-naftol, ( $\alpha$ -, $\beta$ -, $\gamma$ - en $\delta$ -hexachloorcyclohexaan (HCH), hexaan

In de tabellen B1.1 tot en met B1.4 in bijlage 1 is een samenvatting te zien van een groot aantal experimenten met afbraak van stoffen in een aquatische omgeving. De overzichten geven weer welke zwammen zijn getest met welke stoffen, in hoeverre deze stoffen zijn afgebroken, welke verblijftijd hiervoor nodig was of getest is, bij welke zuurgraad en welke temperatuur deze afbraak plaatsvond, welk type reactor is gebruikt en in welke orde van grootte de concentraties van de stoffen lagen bij aanvang van de proef. Tevens is aangegeven of de stof een prioritaire, prioritair gevaarlijke of voorgestelde prioritaire stof is in de Europese Kaderrichtlijn Water. Deze stoffen mogen op termijn niet meer worden geloosd. Een aantal van de voorgestelde stoffen zijn farmaceutische stoffen die in effluent van rwzi's voorkomen.

De tabellen laten zien dat veel moeilijk afbreekbare stoffen goed door zwammen kunnen worden verwijderd. De geteste hormoonactieve of -versturende stoffen worden zelfs geheel verwijderd, ook bij concentraties in de orde van nanogrammen per liter. De gehanteerde verblijftijden hierbij zijn 1 uur tot 1 dag. Het experiment met een verblijftijd van 1 dag werd uitgevoerd bij 14°C, de overige bij 25 tot 30°C.

De afbraak van pesticiden verschilt sterk van stof tot stof. Duidelijk is wel dat zwammen de afbraak van pesticiden aanzienlijk versnellen in vergelijking met afbraak zonder zwammen. De meeste geteste stoffen worden binnen een week voor minimaal de helft verwijderd.

Verskillende farmaceutische en cosmetische stoffen zijn getest, waaronder antibiotica, antidepressiva, anti-epileptica en kalmeringsmiddelen. Op diazepam en fluoxetine na werden alle geteste stoffen volledig verwijderd binnen 14 dagen. Diazepam werd voor ongeveer de helft afgebroken en fluoxetine voor ongeveer een kwart. Diclofenac en ibuprofen waren volledig afgebroken na 7 dagen. Er zijn geen grote verschillen te zien tussen de drie geteste zwammen.

Metalen worden verwijderd door biosorptie en bio-accumulatie. Dit zijn metabolisme-onafhankelijke processen (Tobin, White & Gadd, 1994), maar kunnen wel afhankelijk zijn van de morfologie van de zwammen en concentraties van stoffen in de zwammen (Freitas-Lima et al., 2011). Ook dode biomassa is te gebruiken. Fijngemalen en chemisch behandelde dode biomassa verwijdert metalen zelfs beter dan levende biomassa en ook aan deeltjes geadsorbeerde metalen worden verwijderd (Tobin, White & Gadd, 1994).

Metalen worden zeer effectief door zwammen uit afvalwater verwijderd (Kapoor et al., 1999; Coulibaly, 2003; Dursun et al., 2002; Liu et al., 2006). Bij een pH van 4.0 of hoger kan biomassa van dode zwammen effectiever zijn dan actieve koolkorrels (F-400). Adsorptie van zware metalen gaat effectiever wanneer de biomassa is voorbehandeld met soda. In het afvalwater wisselt de biomassa dan metaalionen uit tegen Na<sup>+</sup>-ionen. Biomassa kan vervolgens worden gerege-nerend met een bad met Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> en K<sup>+</sup>-ionen (Kapoor et al., 1999). Voleski en Holan (1995) vonden dat biomassa van dode *Rhizopus* en *Absidia* tot 25% van het drooggewicht van de biomassa aan metalen kan absorberen. Andere bronnen melden adsorptiecapaciteiten van 10 tot 50 mg metaal/g DS (Kapoor et al, 1999; Tsekovaa & Petrov, 2002; Coulibali, 2003; Dursun et al., 2003; Liu et al., 2006). Bij tests met metalen bleek dat schimmelbiomassa van *Rhizopus arrhizus* een adsorptiecapaciteit heeft van 1,1 meq/g DS. Afhankelijk van het metaal komt dit overeen met 140 tot 900 mg metaal/g DS. Coulibaly (2003) meldt een vergelijkbare capaciteit. De sorptie van metalen is te beschrijven met de Langmuir isotherm. Dit betekent dat de mate van adsorptie afhangt van de concentratie van het metaal in de oplossing. Na verloop van tijd (2 tot 6 uren) wordt een evenwichtssituatie bereikt waarbij de adsorptie niet verder toe- en de concentratie in de oplossing niet verder afneemt.

Juist bij verdunde afvalwaterstromen is verwijdering van metalen door zwammen vaak de meest kosteneffectieve methode, omdat verwijdering van concentraties rond 1-10 mg/l met actief kool relatief erg duur is (Igwe & Abia, 2006. Dursun et al., 2003).

In effluenten met relatief veel zware metalen kunnen zwammen zeer effectief zijn. Zwammen kunnen "getraind" worden te functioneren bij hoge concentraties zware metalen. Romero et al. (2006) lieten *Talaromyces helicus* groeien in een medium met bifenyl en koper. De koperconcentratie werd elke 3 dagen verhoogd met 100 mg/l tot een maximum van 600 mg Cu<sup>2+</sup>/l.

Deze getrainde zwammen werden effectievere verwijderaars van koper dan niet getrainde zwammen. Daarnaast groeiden deze getrainde zwammen tot twee keer zo snel in media met hoge concentraties van metalen (anders dan koper) dan niet getrainde zwammen. Deze eigenschappen werden bovendien doorgegeven met de sporen.

### 3.3 TYPE REACTOREN

#### 3.3.1 TYPE MYCOREACTOREN

Reactoren waarin zwammen groeien en hun werk doen worden ook wel mycoreactoren genoemd.

In het laboratorium is meestal sprake van twee stappen: een kweekstap, waarbij voldoende biomassa mycelia wordt gekweekt en een zuiveringsstap, waarbij de mycelia in contact worden gebracht met het te zuiveren medium. Kweeksystemen voor mycelia op grotere schaal zijn commercieel in gebruik bij kwekers van eetbare paddestoelen. In dit document wordt daar verder niet op in gegaan.

Voor de afbraak van contaminanten zijn verschillende type reactoren in het laboratorium gebruikt. Grofweg zijn er twee klassen systemen gebruikt: geïmmobiliseerde systemen (biofilm) en gesuspendeerde groei.

Geïmmobiliseerde systemen zijn besproeiende filters, draaiende roterende schijven of buizen, opwaarts doorstroomde vaste film reactoren en wervelbed reactoren. Hierbij groeit de zwam op een drager (meestal polyurethaan). Geroerde tanks zijn het meest gebruikt voor gesuspendeerde groeisystemen, maar ook gepakte bed, bellenkolommen en airlift reactoren worden gebruikt. Welke reactor het meest geschikt is, hangt sterk af van de gekozen zwammensoort. Zo vormen sommige zwammen mycelia in korrels en deze zijn prima te gebruiken in bellenkolommen of airlift reactoren. Zwammen met mycelia in matten kunnen weer het best worden toegepast op vaste filmreactoren (Singh, 2006).

Mycoreactoren kunnen batchreactoren zijn, maar ook semi-batch, achtereenvolgende batch of continu.

In tabellen B1.1 tot en met B1.4 in bijlage 1 is te zien welke (typen) reactoren zijn gebruikt bij de afbraakexperimenten. Een simpele batch reactor (een glazen container op een magneetroerder of een schudmachine) is het meest gebruikt. Andere typen die zijn getest zijn gepakte kolomreactoren en roterende buisreactoren. Roterende buisreactoren lijken op roterende schijfreactoren. Zij bestaan uit ronddraaiende buizen waarin de zwammen groeien op een doek die tegen de wand van de buis gemonteerd zit. Roterende buis- en schijfsystemen hebben gemeen dat de zwammen afwisselend met het medium en met lucht in contact, zodat zij niet lijden onder zuurstofgebrek. Deze systemen kosten minder energie dan actief met bellen beluchte systemen.

#### 3.3.2 GEÏMMOBILISEERDE SYSTEMEN OP LABSCHAAL

Verschiedende gepatenteerde systemen zijn ontwikkeld voor de groei van witrotzwammen, zoals het MYCOR proces (Christov & Van Driessel, 2003; Zhang, Knapp & Tapley, 1999) op labschaal.

Het MYCOR systeem is een roterend biologisch systeem (zie Afbeelding 6 voor voorbeelden zonder zwammen), waarbij de zwammen geïmmobiliseerd groeien op een drager. Door de rotatie komen de zwammen afwisselend in contact met lucht en het te zuiveren medium. Een nadeel van het MYCOR proces is het beperkte contactoppervlak tussen vloeistof en mycelia van de zwammen. Het contactoppervlak is beperkt tot het totale oppervlak van de schijven. Dit is deels te ondervangen door de schijven dichter op elkaar te plaatsen en het contactoppervlak te maximaliseren. Daarnaast kan een te dikke laag mycelia leiden tot zuurstof- en voedselgebrek en daarmee tot een lagere productiviteit en zuiveringsrendement. Voor een goed functionerend roterend schijfsysteem zal een automatisch oogststelsel ontwikkeld moeten worden. Vergelijkbare systemen met films van bacteriën laten zien dat het overschot van biomassa soms vanzelf loslaat en bezinkt. Dit kan wellicht ook het geval zijn bij sommige zwammensoorten.

Zhang, Knapp & Tapley (1999) testten drie verschillende reactoren: continue packed-bed bioreactor, fedbatch fluidized-bed bioreactor en continue fluidized-bed bioreactor voor ontcleuring van Orange II. De fedbatch fluidized-bed reactor gaf de beste resultaten met 97% ontcleuring in 1 dag. Geïmmobiliseerde mycelia werden steeds hergebruikt met een continu goed resultaat gedurende twee maanden.

AFBEELDING 6 VOORBEELDEN VAN ROTERENDE BIOLOGISCHE SYSTEMEN BIJ EEN WATERZUIVERINGSINSTALLATIE MET ACTIEFLIB



### DRAGERS

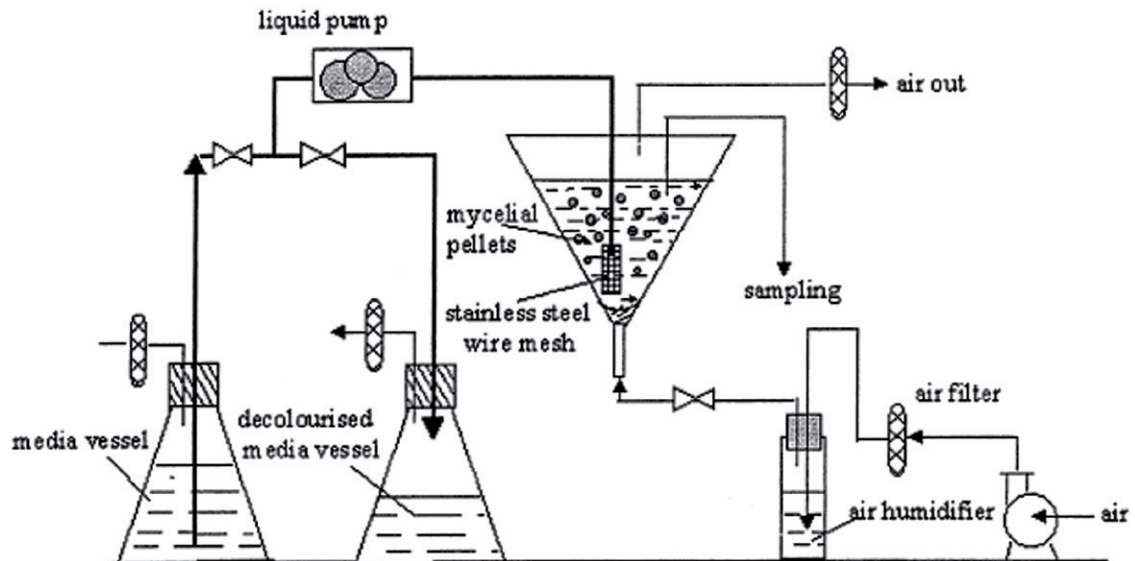
Verschillende dragers voor de zwammen zijn uitgetest (Christov & Van Driessel, 2003). Parels van een calcium alginaat gel werkten goed (80% ontcleuring van afvalwater uit de papierindustrie in 3 dagen in aanwezigheid van sucrose) in een beluchte kolom. Een reactor met polyurethaan als drager werkte eveneens goed (65% verwijdering in 9 uur). Deze reactor werkte stabiel gedurende 45 dagen achtereen. In het Mycopor proces zijn witrotzwammen geïmmobiliseerd in een schuim van polyurethaan in een besproeid biofilter (trickling filter) van 1 meter lengte.

Yang & Yu (1996) immobiliseerden *Phanerochaete chrysosporium* op poreus schuimmateriaal (polyurethaan) en maakten een medium met onder andere verfstoffen en 10 g/l glucose. In deze reactor lukte het om 80% ontcleuring te bereiken bij 35°C in een tot twee dagen. Ook Kim & Shoda (1999) immobiliseerden op polyurethaan en deden dat met *Geotrichum candidum*. De werking van de reactor nam af na acht weken, waarna een nieuwe cultuur geënt moest worden. Waarom de activiteit na een bepaalde tijd afneemt is niet duidelijk. Men

vermoed dat het te maken heeft met het ophopen van inhibitie veroorzakende stoffen in de mycelia. Fujita et al. (2000) deden experimenten met geïmmobiliseerde zwammen op polyurethaan kubusjes in een fedbatch systeem. Ook zij tekenden goede resultaten op met ontcleuring van melanoidinen in afvalwater met *Coriolus hirsutus* (70% ontcleuring in 1 dag).

Rodríguez Couto et al. (2003) melden dat immobilisatie op roestvrij stalen sponsjes een hogere productie van laccasen oplevert dan andere geteste dragers (polyurethaan, nylon en calcium-alginaatpolymeerparels). Zij deden de tests met *Trametes hirsuta*.

AFBEELDING 7 FEDBATCH FLUIDIZED-BED BIOREACTOR (ZHANG ET AL., 1999) MET MYCELIA IN PELLETS



### 3.3.3 MBR SYSTEMEN

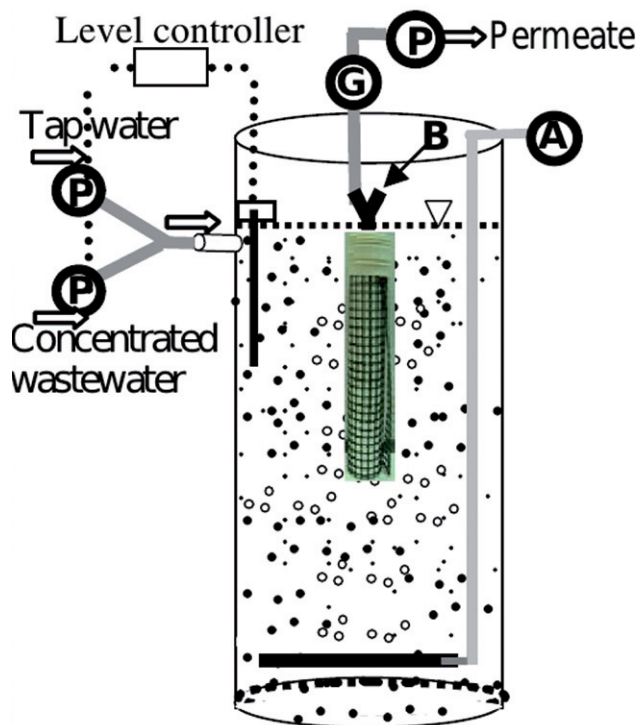
Kim et al. (2004) testten een Membraan Bio Reactor (MBR) met *Trametes versicolor* op lab-schaal voor de ontcleuring van afvalwater uit een textielververij. De ontcleuring kon worden toegeschreven aan afbraak door de zwammen, terwijl de verwijdering van CZV werd gedaan door het membraan. Het membraan diende ook om de zwammen binnen het systeem te houden. Binnen 8 uur was 95-99% van de kleurstoffen verdwenen en binnen 2 dagen 100%. In dit systeem werd het water na in contact te zijn geweest met de zwammen gefilterd door een microfilter om de zwambiomassa in de reactor te houden en daarna door een nanofiltratie membraan en een omgekeerde osmose membraan om achtergebleven organische stoffen te verwijderen.

Tests met een MBR voor de verwijdering van textielkleurstoffen (Hai et al., 2008, zie Afbeelding 3.5) laten zien dat langdurige operatie mogelijk is onder niet-steriele omstandigheden. Gedurende de geteste periode van 120 dagen bleef de ontcleuring stabiel (ongeveer 93% ontcleuring bij een verblijftijd van 1 dag). Uit eerdere studies was gebleken dat bacteriegroei de prestaties van een mycoreactor sterk kan doen afnemen en in de praktijk is een zuiveringsinstallatie natuurlijk niet steriel. Observaties in de MBR lieten zien dat de activiteit van de zwammen sterk afhangt van de morfologie van deze zwammen. Bij gebrek aan voedingsstoffen klonteren de zwammen samen tot korrels, waardoor de bacteriën de activiteiten van de zwammen minder kunnen verstoren. Dit gebeurde toen een van de pompen uitviel waardoor het medium alleen gevoed werd met kraanwater.

AFBEELDING 8

EXPERIMENTELE MBR OP LABSCHAAL (HAI ET AL., 2008).

A: LUCHTPOMP, B: TERUGSPOELING, G: VACUÛMMETER, P: POMP)



### 3.4 PILOTEXPERIMENTEN

De verwijdering van contaminanten uit water is alleen nog op laboratoriumschaal gedaan en, zoals uit vorige paragrafen blijkt, behoorlijk uitgebreid. Op pilotschaal bestaan nog maar weinig experimenten. In de literatuur is slechts een artikel te vinden.

Thomas et al (2009) experimenteerden met een helofytenfilter met inheemse planten en zwammen. Verwijdering van e-coli en nutriënten uit oppervlaktewater werd getest in een filter met en een filter zonder zwammen. De filters werden gevuld met een substraat van een aardemengsel en nutriënten. Beide cellen werden beplant met inheemse plantensoorten. In een van de cellen werden snippers van vlierstruiken toegevoegd die geënt waren met zwammen (*Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus ulmarius* en *Stropharia rugoso-annulata*). Daarnaast werd een commercieel mengsel van zwammen toegevoegd (Down to earth™, bestaande uit zwammen die een symbiose aangaan met planten). Beide cellen verwijderden e-coli, maar de cellen met zwammen deden dit enigszins beter (80% verwijdering tegen 65% verwijdering). Nutriëntverwijdering was minder eenduidig. De eerste periode was er een grote nalevering van nutriënten uit de bodem in de cellen. In de laatste maanden van het experiment werd stikstof verwijderd. Fosfaat werd altijd nageleverd.

Hoewel het toevoegen van zwammen aan een helofytenfilter een goed idee is, is dat bij dit experiment niet het geval. De redenering van de auteur is dat zwammen een positief effect zouden hebben op de opnamecapaciteit van fosfaat door planten en dat zwammen de overlevingskansen van e-coli verlagen. Door echter het helofytenfilter uit te voeren met een aardemengsel met nutriënten bleef het filter nutriënten naleveren en voldeed het niet aan zijn doel. Dat dit experiment hier toch wordt aangehaald, is omdat het het enige pilotexperiment is dat in de literatuur gevonden is.

### 3.5 EISEN AAN ZUIVERINGSSYSTEMEN

Uit de laboratoriumproeven is een aantal eisen te destilleren die gesteld moeten worden aan een grootschaliger zuiveringssysteem. Hieronder wordt een aantal aspecten belicht.

#### PH

pH waarden van 4,0 tot 8,0 zijn in de laboratoriumproeven gebruikt. Bij verschillende onderzoekers komen soms verschillende optimale pH waarden naar voren. Bij de afbraak van planten presteren zwammen het best onder zure omstandigheden, maar in de proeven blijkt dat zij ook bij neutrale of licht basische omstandigheden stoffen afbreken. Zo lang de pH onder de 8,0 blijft, lijkt er geen belemmering te zijn.

#### TEMPERATUUR

De optimale temperatuur voor de meeste zwammen ligt tussen 25 en 39°C. Een experiment is uitgevoerd bij 14°C en de afbraak verliep bij deze temperatuur langzamer. Lagere temperaturen betekenen langere verblijftijden voor een vergelijkbare verwijdering. Wat de minimumtemperatuur is waaronder zwammen hun werk nog kunnen doen is niet onderzocht. Huishoudelijke afvalwaterstromen halen de optimale temperaturen zelden of nooit en opwarming van deze afvalwaterstromen zal alleen haalbaar zijn bij de beschikbaarheid van veel restwarmte. Dit zal in de praktijk echter niet haalbaar zijn. Bij de behandeling van geconcentreerde stromen (urine) zal het beter mogelijk zijn om restwarmte te benutten en middels warmtewisseling in het systeem te houden.

#### ZUURSTOF

De afbraak van moeilijk afbreekbare contaminanten gaat altijd onder zuurstofrijke omstandigheden. Welke zuurstofconcentratie minimaal nodig is, is niet onderzocht. De in het laboratorium gebruikte systemen blazen lucht door het medium, roeren het medium of zijn roterende systemen waarbij de zwammen afwisselend met lucht en het medium in contact komen. Dit soort systemen liggen dan ook voor de hand voor een opschalingsexperiment.

#### SUBSTRAAT

Het afbreken van moeilijk afbreekbare stoffen kost de zwammen energie. Er is daarom altijd een goed afbreekbaar substraat nodig. In het laboratorium is hiervoor meestal glucose of melasse gebruikt met een concentratie van 5-10 g/l als vervanger van cellulose zoals zwammen in de natuur gebruiken. Ook zetmeel is een mogelijk substraat en dit biedt de mogelijkheid om de te zuiveren afvalwaterstroom te mengen met een zetmeelhoudende afvalwaterstroom. Mogelijk voldoen lagere concentraties van het substraat, maar dit is niet onderzocht. Het onderzoek van Thanh & Simar (1973) laat zien dat de organische stoffen die in rioolwater voorkomen ook als substraat kunnen dienen. Tevens is een aantal soorten aangetoond in een communale rioolwaterzuivering in Maleisië. Soorten die hierbij zijn aangetroffen behoren tot de genera *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Spicaria* en *Hyaloflorea*.

#### NUTRIËNTEN

Sommige zwammen produceren meer van de vereiste enzymen in stikstofgelimiteerde condities (o.a. *Phanerochaete chrysosporium*), maar andere doen het juist beter onder stikstofrijke omstandigheden (o.a. *Bjerkandera adusta* en *Phanerochaete flavido-alba*). Een experiment met een ongeïdentificeerde zwam liet zien dat bij het eerste gebruik de zwam beter presteerde onder nutriëntgelimiteerde omstandigheden, maar bij hergebruik van het mycelium de behoefte aan stikstof toenam tot 0,25 g/l ammoniumchloride (Gadd, 2001). De behoefte aan nutriënten zal een belangrijk criterium kunnen zijn voor het kiezen van een zwammensoort voor het verwijderen van stoffen uit afvalwater.

### VERBLIJFTIJD

De verblijftijd is sterk afhankelijk van de zuurgraad, de temperatuur, de zwammensoort, de te verwijderen stof en de actuele en gewenste concentratie van die stof. Tabellen B1.1 tot en met B1.4 in bijlage 1 laten duidelijk zien dat er geen universeel geldende verblijftijd te geven is. De combinatie verblijftijd/temperatuur/verwijderingsrendement varieert bij de afbraak van pesticiden sterk. Bij de afbraak van hormoonactieve en -versturende stoffen lijkt een verblijftijd van een dag of minder haalbaar te zijn. Farmaceutische en cosmetische stoffen worden in 1 tot 2 weken volledig verwijderd. De adsorptie van metalen is een evenwichtsreactie die tussen 1 uur en een dag kan plaatsvinden.

### DRAGERS

Sommige zwammen vormen korrelvormige mycelia, andere draden. De draadvormige mycelia hebben een drager nodig. Deze drager is een inert materiaal dat niet wordt aangetast door de schimmel. In de meeste laboratoriumproeven is polyurethaan gebruikt, maar er is ook geëxperimenteerd met nylon, calcium-alginaatpolymeerparels en roestvrij staal. In een vergelijkingsexperiment (Rodríguez Couto et al. ,2003) produceerde de geteste zwam de meeste enzymen op roestvrij staal. In reactoren die suikerrijk afvalwater behandelen met zwammen wordt celiet (diatomeeënaarde) gebruikt als drager (Singh, 2006).

### CONCENTRATIE VAN CONTAMINANTEN

De concentratie van contaminanten varieert sterk in de laboratoriumproeven en liggen ook lang niet altijd in het concentratiegebied dat gevonden wordt in rioolwater of effluent. De concentraties van de geteste pesticiden liggen in de orde van grootte van mg/l, terwijl in riool- en oppervlaktewater de concentraties een factor 1000 lager liggen. In enkele proeven is wel met deze concentraties getest. Verwijderingsrendementen en verblijftijden verschillen dan niet sterk van die bij concentraties in de mg/l orde.

Hormoonactieve en -versturende stoffen zijn getest in zeer lage concentraties (ng/l-µg/l). Hierbij was de verwijdering binnen 1 dag vrijwel altijd 100%.

Verwijdering van farmaceutische en cosmetische stoffen is altijd getest met concentraties in de orde van mg/l. De verwijdering was dan vrijwel altijd 100% binnen twee weken.

De geteste concentraties van metalen liggen in de orde van µg/l-mg/l. De verwijdering is afhankelijk van de concentratie.

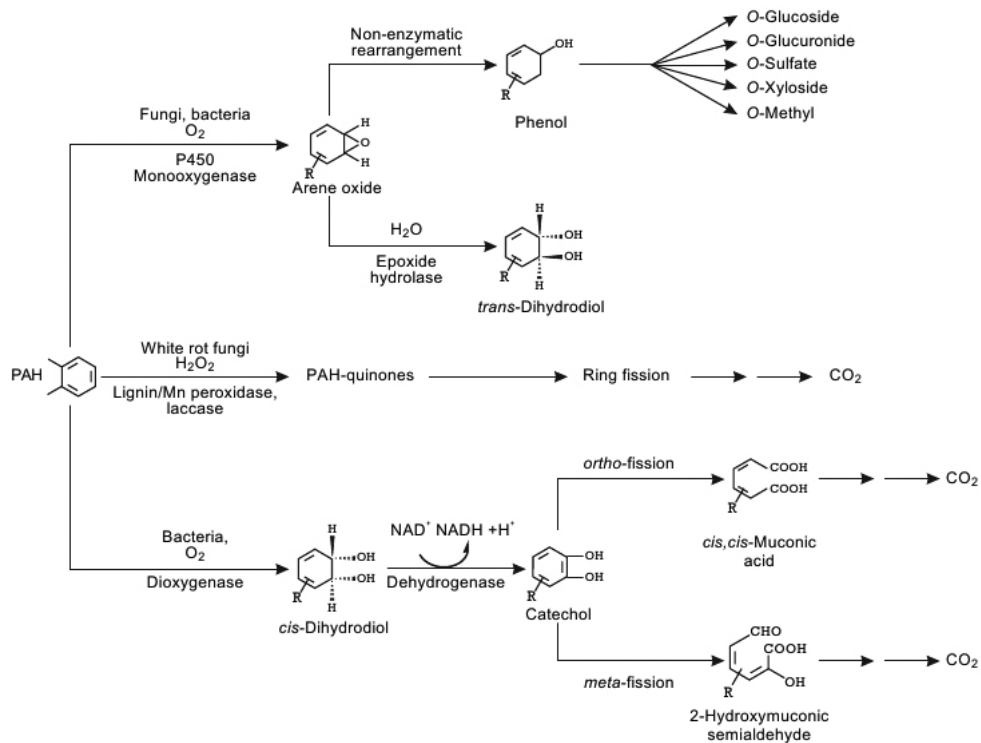
Hoge concentraties van toxische stoffen kunnen groei-inhibitie veroorzaken. Concentraties waarbij dat gebeurt, worden niet in rioolwater of effluent aangetroffen.

### METABOLIETEN

Er is weinig onderzoek gedaan naar de geproduceerde metabolieten bij afbraak door zwammen. De resultaten van het spaarzame onderzoek ernaar staan in de tabellen B1.1 tot en met B1.4 in bijlage 1 en dit zijn alle onderzoeken naar de afbraak van pesticiden. In een aantal gevallen zijn de metabolieten gelijk aan de metabolieten die ontstaan na afbraak zonder zwammen. Voor een groot deel zijn metabolieten ook nog niet bekend en daardoor moeilijk te onderzoeken (Singh, 2006). Er wordt echter ook gerapporteerd dat stoffen volledig worden afgebroken tot water en kooldioxide. Voor hormoonversturende en -actieve stoffen, farmaceutische en cosmetische stoffen is geen onderzoek bekend naar metabolieten bij afbraak door zwammen. Afbeelding 9 laat zien hoe PAK's worden afgebroken in bodems door schimmels en bacteriën volgens verschillende paden. Volledige afbraak tot CO<sub>2</sub> is mogelijk. Afbraak door zwammen volgt een heel andere route dan bij actiefslib in een zuiveringsinstallatie. Daar worden PAK's voornamelijk vastgelegd in het slib.



AFBEELDING 9 AFBRAAK VAN PAK (UIT: SINGH, 2006)



### 3.6 TYPE AFVALWATERSTROMEN

In het laboratorium is voornamelijk onderzoek gedaan met kunstmatige afvalwatermedia. Aan water met voedingsstoffen zijn een of meer contaminanten toegevoegd waarna getest is of zwammen deze stoffen konden verwijderen.

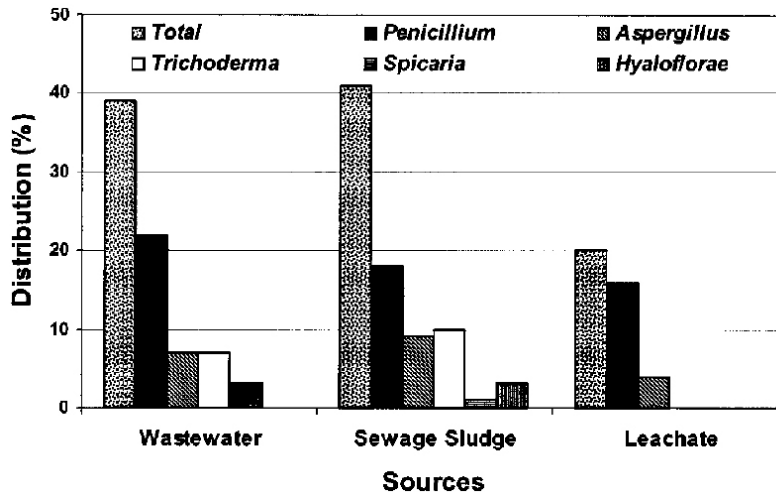
Enkele experimenten zijn gedaan met ruw afvalwater. Dit was meestal afvalwater uit de papierindustrie (Ek & Eriksson, 1980; Christov & van Driessel, 2003; Singh, 2006) en afvalwater uit ververijen (Nyanhongo et al., 2002; Schliephake et al., 1993; Singh, 2006). Enkele experimenten zijn gedaan met afvalwater uit oljefolielmolens (Kahraman & Ye ilada, 2001; Blánuez et al. 2002; Singh, 2006) en afvalwater uit een farmaceutisch bedrijf (Singh, 2006). Gist wordt veelvuldig gebruikt voor de zuivering van suikerrijk afvalwater uit destilleerderijen en draadvormige zwammen voor de verwijdering van bijvoorbeeld fenolen en voor ontkleuring (Sing, 2006). Ook is er een proef gedaan met het verwijderen van e-coli en fosfaat uit oppervlaktewater (Thomas et al., 2009).

#### 3.6.1 ZWAMMEN IN DE RIOOLWATERZUIVERING

Verschillende soorten zwammen zijn aangetroffen in een rioolwaterzuiveringsinstallatie (Fakhru'l-Razi et al., 2002). Zwammen zijn aangetoond in het afvalwater, in het zuiveringsslib en in het percolaat van het zuiveringsslib. In totaal zijn 72 soorten aangetroffen van de geslachten *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Spicaria* en *Hyaloflorae*. De auteurs hopen dat deze soorten of een deel daarvan in staat zijn om het zuiveringsslib gedeeltelijk af te breken of de bezinkbaarheid of ontwatering te verbeteren.

In afbeelding 3.7 is de verdeling van de verschillende families in de waterzuivering te zien. De grafiek geeft weer welk percentage van de soorten (totaal en van vijf geslachten) gevonden wordt in het afvalwater, in het slib en in het percolaat van het slib.

AFBEELDING 10 VERDELING VAN DE GENERA BIJ DE VERSCHILLENDE STADIA VAN DE RIOOLWATERZUIVERING (UIT: FAKHRU'L-RAZI ET AL., 2002)



### 3.7 NIET-STERIELE OMSTANDIGHEDEN

Uit een onderzoek in Finland blijkt dat in een rwzi de groeisnelheid van zwammen ten opzichte van die van bacteriën afhangt van de verhouding tussen koolstof en fosfaat. Bij lagere C:P verhoudingen overgroeien de bacteriën de zwammen (Hendrickx, Meskus & Keiski, 2002). Bij een C:P verhouding van 60:0,3 (mol:mol) werd bacteriegroei onderdrukt, bij een verhouding van 60:1,8 werd de zwammengroei onderdrukt. Dit kan een aanwijzing zijn voor sturing van een mycoreactor onder niet-steriele omstandigheden, zoals het geval bij zuivering van afvalwater.

### 3.8 GEBRUIK VAN DE ZWAMBIOMASSA

Bij de groei van zwammen wordt biomassa opgebouwd dat voor de helft uit eiwitten bestaat. Deze eiwitten kunnen worden gewonnen. Zwammen leveren ook nuttige enzymen (Coulibaly et al, 2003). Dit betekent dat de geoogste zwambiomassa mogelijk een nuttige toepassing kan hebben en niet hoeft te worden gestort of verbrand.

### 3.9 KOSTEN EN VERGELIJKING MET ANDERE SYSTEMEN

Omdat er geen pilotexperimenten met afvalwaterzuiveringssystemen zijn uitgevoerd, kunnen kosten nog niet in beeld worden gebracht.

# 4

## AANBEVELINGEN VOOR NADER ONDERZOEK

### 4.1 HIATEN IN KENNIS

#### 4.1.1 COMMUNAAL AFVALWATER

De literatuur geeft al veel inzichten in de potenties van zwammen voor zuivering. Het blijft in verreweg de meeste gevallen echter bij laboratoriumomstandigheden. De grote hiaten in kennis zitten dan ook in de vertaling naar de praktijk, maar ook bij de mogelijkheden van zuivering van communaal afvalwater.

De laboratoriumproeven zijn veelal gedaan in steriel, kunstmatig afvalwater onder geconditioneerde omstandigheden. Deze condities liggen ver af van de praktijk van de afvalwaterbehandeling. Voordat duidelijk is of zwammen (grootschalig) ingezet kunnen worden voor huishoudelijk afvalwater, zijn tussenstappen nodig in de vorm van aanvullende laboratoriumproeven, kleinschalige proefopstellingen en ten slotte grootschaliger pilots. Experimenten met verschillende typen afvalwater, reactoren en zwammen zijn hierbij mogelijk.

Pilotexperimenten met zwammen zijn alleen uitgevoerd met verontreinigde bodems (o.a. Kotterman & Grotenhuis, 1999) en met verontreinigde lucht (o.a. Spigno et al., 2003). Christov & Van Driessel (2003) concluderen dat de toepassing van witrotschimmels in de waterzuivering mogelijk en zelfs veelbelovend is, maar dat een aantal problemen nog moet worden opgelost. Grote debieten maken het proces in hun ogen ingewikkeld omdat een extra substraat nodig kan zijn (bij gebrek aan gemakkelijk afbreekbaar organisch materiaal) en er moet worden belucht. In rioolwater lijkt echter voldoende afbreekbaar materiaal aanwezig te zijn en beluchting kan door een roterend biologisch systeem (zie afbeelding 6) te gebruiken. Deze systemen zullen echter geoptimaliseerd moeten worden, omdat bij praktijkproeven in Nederland blijkt dat zij storings- en onderhoudsgevoelig kunnen zijn.

In het laboratorium zijn nog geen proeven gedaan met urine, zwart water of effluent van rwzi's. Voordat praktijkproeven worden gestart, moet duidelijk worden of en zo ja, onder welke omstandigheden, zwammen kunnen groeien op of in deze afvalwaterstromen. De zuivering van verontreinigingen onder deze omstandigheden geven aanwijzingen voor te hanteren verblijftijden in de praktijk. Deze zullen sterk afhangen van de af te breken stoffen en de gehanteerde temperaturen. Als blijkt dat zij daarop goed groeien, kan een of meer kleinschalige praktijkexperimenten een beter inzicht geven in investeringskosten en kosten voor onderhoud en beheer.

Hiervoor is eerst nodig te bepalen welke te zuiveren afvalwaterstroom hiervoor het meest geschikt is of voor welke stoffen het meest urgent een nieuwe zuiveringsoplossing nodig is. Dan wordt een plan van aanpak gemaakt voor een praktijkexperiment voor die specifieke afvalwaterstroom. Per afvalwaterstroom moet de beste (mix van) soort(en) worden uitgezocht alsmede het best bij die stroom en bij die soort(en) passende reactor. Vervolgens wordt het experiment uitgevoerd.

#### 4.1.2 REACTORONTWERP

In effluent, urine of andere te zuiveren waterstromen zal wellicht een extra substraat nodig zijn. Afhankelijk van de te verwijderen stoffen en de eigenschappen van de te zuiveren waterstroom zal een geschikte zwam en een geschikte reactor gekozen moeten worden. Een geschikt substraat kan alleen worden toegevoegd wanneer deze niet zorgt voor extra vervuiling in de vorm van BZV in het afvalwater en wanneer deze goedkoop is. Wellicht is menging met een zetmeelrijke afvalwaterstroom een optie, of is het mogelijk om een reactor te ontwikkelen met houtsnippers of andere goedkope biomassa waarop de zwammen groeien. Substraat moet in ieder geval gemakkelijk verkrijgbaar, constant van samenstelling en goedkoop zijn.

Het ophopen van zwambiomassa is bij sommige reactoren in het laboratorium een probleem. Dit kan worden opgelost door een zwammenetend organisme te introduceren (Woertz et al, 2002). In een systeem voor verwijdering van toluene uit lucht bleek predatie door mijten zeer effectief om de reactor langer te laten werken (periode van 120 dagen is getest). Welke predatoren in een aquatisch milieu het best gebruikt zouden kunnen worden is eveneens een onderwerp van nader onderzoek. Bij gebruik van roterende schijfreactoren met bacteriën blijkt dat deze soms vanzelf van de schijven loskomen bij een bepaalde biomassa. Dit kan ook het geval zijn bij sommige zwammensoorten. Nader onderzoek hiernaar is nodig.

Voor het grootschalig opkweken van zwammen kan te rade worden gegaan bij commerciële paddenstoelenkwekers. Veel informatie die zij kunnen verschaffen is niet in de literatuur opgetekend. Wellicht zijn geschikte witrotzwammen voor de zuivering te verkrijgen bij een commerciële zwammenkweker.

Voor een snellere inventarisatie van potenties verdient het opzetten van meerdere experimenten met meerdere typen afvalwaterstromen de voorkeur. Omdat wereldwijd nauwelijks ervaringen zijn opgedaan met praktijkexperimenten, kan Nederland hierin een voortrekkersrol gaan vervullen.

#### 4.1.3 OVERIG

Sommige zwammensoorten komen al voor in rioolwaterzuiveringsinstallaties. Wellicht kan groei van deze zwammen worden gestimuleerd zonder het actiefslib proces te verstoren. Tevens dient dan onderzocht te worden of deze zwammen microverontreinigingen afbreken en hoe deze afbraak gemaximaliseerd kan worden.

Uit de tabellen B1.1. tot en met B1.4 in de bijlage is te zien dat een aantal prioritaire stoffen, prioritair gevaarlijke stoffen en voorgestelde prioritaire stoffen van de Europese Kaderrichtlijn Water (KRW) zijn getest op afbraakpotentie door zwammen. Lang niet alle stoffen zijn echter getest. Omdat een deel van deze stoffen de rwzi passeert, kan verwijdering door zwammen een optie voor verwijdering zijn. Voor deze stoffen verdient het aanbeveling om hun afbraak door zwammen te testen in het laboratorium.

## 4.2 ONDERZOEKSVRAGEN

De belangrijkste onderzoeksvragen staan hieronder nog eens opgesomd.

De belangrijkste kennisvragen zijn:

1. Hoe kunnen zwammen zo effectief mogelijk gekweekt worden voor zuiveringsdoeleinden?
2. Welke soorten groeien goed in urine, zwartwater en rwzi effluent?
3. Hoe gedraagt een mycoreactor zich onder praktijkomstandigheden met variërende influentsamenstellingen en temperaturen?
4. Is een aanvullend substraat nodig en zo ja, welk substraat is goedkoop, goed en toepasbaar?
5. Bij welke minimumtemperatuur werkt de reactor niet meer?
6. Hoe wordt uitspoeling van zwammenbiomassa voorkomen of, bij overmatige groei, juist gestimuleerd?
7. Hoe wordt zwammenbiomassa geoogst?
8. Welke concentratie zwammenbiomassa zuivert het efficiëntst?
9. Hoe gedraagt de reactor zich op langere termijn?
10. Van welke factoren zijn de zuiveringsresultaten het meest afhankelijk?
11. Welke soort(en) presteren onder praktijkomstandigheden het best?
12. Blijft de zwambiomassa zuiver? Zo niet, hoe kan invasie van andere soorten worden voorkomen?
13. Welke metabolieten worden aangetroffen in het effluent?
14. Hoe reageren de zwammen en het zuiverend vermogen bij concurrentie met bacteriën in het te zuiveren water? Hoe is de concurrentiepositie van zwammen in de praktijk te verbeteren?
15. Welke gemakkelijk te observeren parameters kunnen worden gebruikt als indicatoren voor de prestatie van de mycoreactor?
16. Welke toepassing is/toepassingen zijn mogelijk voor de geoogste zwambiomassa?
17. Wat voor zwammen komen nu voor in Nederlandse rwzi's? Kunnen deze zwammen worden ingezet?

# 5

## CONCLUSIES

### 5.1 ZWAMMEN ALS ZUIVERAARS

In het laboratorium is duidelijk aangetoond dat zwammen potentie hebben om ongewenste stoffen te verwijderen. In de natuur hebben zij deze rol ook. Het grote verschil met bacteriën ligt in het feit dat zwammen werken met extracellulaire enzymen die het mogelijk maken stoffen af te breken die bacteriën noodgedwongen laten liggen. Daarnaast heeft (dode en levende) zwambiomassa een hoge affiniteit voor metalen die middels adsorptie worden vastgelegd.

(Witrot)zwammen zijn als geen andere organismegroep in staat om moeilijk afbreekbare, aromatische stoffen af te breken. De enzymen die de zwammen daarvoor gebruiken zijn niet specifiek. Dat wil zeggen dat zij een breed scala aan organische stoffen kunnen oxideren. Zwammen zijn beter dan bacteriën (en actiefslib) in staat om pesticiden, hormoonactieve en -versturende stoffen en medicijnen af te breken.

Een ander groot voordeel van zwammen ligt in de mogelijkheden voor gebruik. Zwammen bevatten over het algemeen een hoge concentratie winbare eiwitten. Uit gisten die in de voedingsmiddelenindustrie worden ingezet voor de behandeling van suikerrijke afvalwaterstromen, worden de eiwitten geoogst en benut.

### 5.2 MOGELIJKHEDEN VOOR DE PRAKTIJK VAN DE ZUIVERING

Christov & Van Driessel (2003) concluderen dat de toepassing van witrotschimmels in de waterzuivering mogelijk en zelfs veelbelovend is, maar dat een aantal problemen nog moet worden opgelost. Deze problemen liggen vooral in de sfeer van het kweken van voldoende biomassa en processturing onder variabele omstandigheden. Technieken voor het kweken van biomassa kunnen worden gevonden bij commerciële paddenstoelenkwekers. Processturing onder variabele omstandigheden kan worden geoptimaliseerd door praktijkproeven uit te voeren.

Verblijftijden van langer dan een halve tot een hele dag betekenen dat behandeling van een totale effluentstroom in een mycoreactor wellicht lastig is. Lange verblijftijden betekenen immers grote reactoren en daarmee hoge kosten. De concentraties van de stoffen waar het om gaat liggen in rioolwater en effluent laag, er dient een grote hoeveelheid water behandeld te worden, er is geen substraat aanwezig en de temperatuur is laag. Huishoudelijke afvalwaterstromen halen de optimale temperaturen voor zwammengroei zelden of nooit en opwarming van deze afvalwaterstromen zal alleen haalbaar zijn bij de beschikbaarheid van veel restwarmte. Dit zal in de praktijk echter niet haalbaar zijn.

Lange verblijftijden kunnen wel worden toegepast bij het verwijderen van bijvoorbeeld medicijnresten in geconcentreerde deelstromen, zoals urine en rejectiewater. Bij de behandeling van geconcentreerde stromen (urine) zal het beter mogelijk zijn om restwarmte te benutten

en middels warmtewisseling in het systeem te houden. Helaas blijft dan het grootste deel van de medicijnresten buiten schot. Dit zijn de medicijnresten die uit de huishoudens komen (STOWA, 2011). De rwzi haalt ongeveer 90% van de medicijnresten uit het rioolwater, maar de overgebleven 10% kunnen een niet te verwaarlozen verstorend effect hebben op het aquatische milieu. Het leeuwendeel van de medicijnresten zit in urine (STOWA, 2011) en behandeling van deze deelstroom zou dan ook een aantrekkelijke optie kunnen zijn.

De afbraak van moeilijk afbreekbare contaminanten gaat altijd onder zuurstofrijke omstandigheden. Dit betekent dat de te ontwikkelen reactor(en) aerobe omstandigheden moeten creëren en behouden.

Voor de behandeling van afvalwaterstromen met een laag BZV gehalte is een substraat nodig in de vorm van een koolstofbron voor de zwammen. In zwartwater zit wellicht voldoende substraat, maar daarvoor is nader onderzoek nodig. Wat voor substraat het meest geschikt is, moet worden onderzocht. Mogelijk zijn houtsnippers een goede optie. Deze dienen dan niet alleen als koolstofbron voor de zwammen, maar ook als drager.

### 5.3 KANSRIJKE OPTIES

Uit deze verkennende literatuurstudie blijkt dat het verwijderen van vooral hormoonactieve en -verstorende stoffen en medicijnen uit communaal afvalwater met zwammen het verder onderzoeken waard is. Mogelijk ontwikkelt zich een nieuwe, kosteneffectieve techniek. De vraag is natuurlijk bij welke afvalwaterstromen deze techniek het meest haalbaar lijkt.

De nabehandeling van effluent lijkt geen goede weg. Behandeling van effluent komt pas in zicht wanneer regenwater volledig is afgekoppeld. Behandeling van ruw rioolwater is, vanwege het volume en de temperatuur, eveneens nauwelijks een optie, al bevat ruw rioolwater wellicht wel voldoende substraat. Ook hiervoor geldt dat de optie in zicht komt als regenwater volledig is afgekoppeld.

Er zijn drie opties die kansrijk lijken voor een zwammenbehandeling:

- behandeling van sterk verontreinigde deelstromen (urine en rejectiewater)
- stimuleren van al voorkomende zwammen in de rwzi (optimalisering zuiveringsproces)
- slibbehandeling

#### 5.3.1 DEELSTROOMBEHANDELING

Veel medicijnresten zijn te vinden in de afvalwaterstromen van ziekenhuizen en in mindere mate van verzorgingstehuizen. Een groot deel komt echter van huishoudens. Behandeling met zwammen van deze afvalwaterstroom van ziekenhuizen is op dit moment de beste optie. Als scheiding van urine en feces gemeengoed wordt, dan is de behandeling van de urine, al dan niet behandeld, de beste optie, omdat medicijnresten en hormoonactieve stoffen geconcentreerd in de urine voorkomen. Omdat het dan om een relatief kleine deelstroom gaat, kan ook urine van huishoudens behandeld worden. Ontwikkelingen die nu gaande zijn om met brandstofcellen stroom op te wekken uit urine zullen wellicht urinescheiding en daarmee de behandeling van deze deelstroom dichterbij brengen.

Aangetoond is dat een hoge concentratie van hormoonactieve stoffen zich bevindt in het rejectiewater. Of dit ook geldt voor (een groot deel) van de medicijnresten dient nader onderzocht te worden. Deze geconcentreerde stroom kan dan behandeld worden.

### **5.3.2 STIMULEREN ZWAMMEN IN DE RWZI**

In de rwzi voorkomende zwammen kunnen klaarblijkelijk goed gedijen onder de omstandigheden die in de rwzi heersen. Mogelijk kunnen deze zwammen worden gestimuleerd waardoor zij effectiever moeilijk afbreekbare stoffen aan kunnen pakken. Dit zal moeten gebeuren zonder dat de werking van de rwzi wordt verstoord. Zoals eerder aangehaald, zal dit nog onderzoek vergen.

### **5.3.3 SLIBBEHANDELING**

Een groot deel van de stoffen zit geadsorbeerd aan het slib en deze stoffen verdwijnen niet bij bijvoorbeeld vergisting van dat slib. Zij verdwijnen wel bij verbranding. Mogelijk zijn zwammen in staat om de hormoonverstorende stoffen en medicijnen te verwijderen uit het slib, waardoor een hoogwaardiger toepassing van het slib in beeld komt.



# 6

## LITERATUUR

- Akhtar, Y. & A. Ghaffar (1986). Removal of NH<sub>3</sub>-N from domestic waste water by fungi. *Biotechnology Letters* vol. 8, no. 8, pp 601-604.
- Aksu, Z. (2005). Application of biosorption for the removal of organic pollutants: a review. *Process Biochemistry* 40(2005): 997-1026.
- Alleman, B.C., B.E. Logan & R.L. Gilbertson (1995). Degradation of pentachlorophenol by fixed films of white rot fungi in rotating tube bioreactors. *Water Research* 29(1): 61-67.
- Augustin, T., D. Schlosser, R. Baumbach, J. Schmidt, K. Grancharov, G. Krauss & G.-J. Krauss (2006). Biotransformation of 1-naphtol by a strictly aquatic fungus. *Current Microbiology*, Vol. 52 (2006), pp. 216–220.
- Auriol, M., Y. Filali-Meknassi, R.D. Tyagi & C.D. Adams (2007). Laccase-catalyzed conversion of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater. *Water Research* 41(15): 3281-3288.
- Auriol, M., Y. Filali-Meknassi, C.D. Adams, R.D. Tyagi, T.-N. Nogueroles, & B. Piña (2008). Removal of estrogenic activity of natural and synthetic hormones from a municipal wastewater: Efficiency of horseradish peroxidase and laccase from *Trametes versicolor*. *Chemosphere* 70(2008): 445–452.
- Blánquez, P., G. Caminal, M. Sarrà, M.T. Vicent & X. Gabarrell (2002). Olive oil mill waste waters decoloration and detoxification in a bioreactor by the white rot fungus *Phanerochaete flavidolorata*. *Biotechnology Progress* 18(3): 660-662.
- Castro, J.V. jr., M.C.R. Peralba & M.A.Z. Ayub (2007). Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 42(8): 883-886.
- Carr, D.L., A.N. Morse, J.C. Zak & T.A. Anderson (2011). Microbially Mediated Degradation of Common Pharmaceuticals and Personal Care Products in Soil Under Aerobic and Reduced Oxygen Conditions. *Water Air Soil Pollut* (2011)216: 633–642.
- Chang, H., T.W. Joyce, T.K. Kirk & V.-B. Huynh (1985). Process of degrading chloro-organics by white-rot fungi. United States Patent. Patent number: 4.554.075. Date of patent: nov. 19, 1985.
- Christov, L. & B. van Driessel (2003). Waste water bioremediation in the pulp and paper industry. *Indian Journal of Biotechnology* 2(2003): 444-450.
- Chiu, S. W. , M.L. Ching, K.L. Fong & D. Moore (1998). Spent oyster mushroom substrate performs better than many mushroom mycelia in removing the biocide pentachlorophenol. *Mycol. Res.* 102 (12): 1553–1562.
- Coulibaly, L. G. Gourene & S.N. Agathos (2003). Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. *African Journal of Biotechnology* 2(12): 620-630.
- De-Li, L., Z. Yong-Liang, L. Ping, T. Naoki & S. Hirofumi (2006). Biological nitrogen removal from waste water by denitrification of mix-culturing fungi and bacteria. *Acta Hydrobiologica Sinica* 6(30):

- Derksen, J.G.M. (2005). Influent- en effluentonderzoek rwzi's. Deel B: hormoonverstorende stoffen. In opdracht van: Waterschap Reest en Wieden. Grontmij | AquaSense. Rapportnummer 2360.
- Dursun, A.Y., G. Uslu, Y. Cuci & Z. Aksu. Bioaccumulation of copper(II), lead(II) and chromium(VI) by growing *Apergillus niger*. *Process Biochemistry* 38(2003): 1647-1651.
- Eibes, G., G. Debernardi, G. Feijoo, M.T. Moreira & J.M. Lema. Oxidation of pharmaceutically active compounds by a ligninolytic fungal peroxidase. *Biodegradation* (2011)22: 539-550.
- Ek, M. & K.-E. Eriksson (1980). Utilization of the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum* for water purification and protein production on mixed lignocellulosic wastewaters. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXII, pp. 2273-2284.
- Fakhru'l-Razi, A., M.Z. Alam, A. Idris, S. Abd-Aziz & A.H. Molla (2002). Filamentous fungi in Indah Water Konsortium (IWK) sewage treatment plant for biological treatment of domestic wastewater sludge. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 37(3): 309-320.
- Freitas Lima, A. de, G. Ferreira de Moura, M.A. Barbosa de Lima, P. Mendes de Souza, C.A. Alves da Silva, G.M. De Campos Takaki & A. Elesbão do Nascimento (2011). *Molecules* 16: 2486-2500.
- Fujita, M., A. Era, M. Ike, S. Soda, N. Miyata & T. Hirao (2000). Decolorization of heat-treatment liquor of waste sludge by a bioreactor using polyurethane foam-immobilized white rot fungus equipped with an ultramembrane filtration unit. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 90(4): 387-394.
- Gadd, G.M. (Ed) (2001). *Fungi in bioremediation*. Cambridge University Press, New York. British Mycological Society. ISBN-13 978-0-511-40917-2.
- Greben, H.A., L.-M. Joubert, M.P. Tjatji, H.E. Whites & A. Botha (2007). Biological nitrate removal from synthetic wastewater using fungal consortium in one stage bioreactors. <http://www.wrc.org.za>.
- Grotenhuis, T., J. Field, R. Wasseveld & W. Rulkens (1998). Biodegradation of polyaromatic hydrocarbons (PAH) in polluted soil by the white-rot fungus *Bjerkandera*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 71(4): 359-360.
- Hai, I.H., K. Yamamoto, F. Nakajima & K. Fukushi (2008). Factors governing performance of continuous fungal reactor during non-sterile operation – The case of a membrane bioreactor treating textile wastewater. *Chemosphere* 74 (2008) 810-817.
- Hartman, P. & J. Cleland (2007). Wastewater treatment performance and cost data to support an affordability analysis for water quality standards. ICF International Lexington, Massachusetts.
- Hendrickx, T.L.G., E. Meskus & R.L. Keiski (2002). Influence of the nutrient balance on biofilm composition in a fixed film process. *Water Science and Technology* 46(4/5): 7-12.
- Igwe, J.C. & A.A. Abia (2006). A bioseparation process for removing heavy metals from waste water using biosorbents. *African Journal of Biotechnology* 5(12): 1167-1179.
- Junghanns, C., M. Moeder, G. Krauss, C. Martin & D. Schlosser (2005). Degradation of the xenoestrogen nonylphenol by aquatic fungi and their laccases. *Microbiology* (2005), 151, 45-57.
- Kahraman, S. & O. Ye ilada (2001). Industrial and agricultural wastes as substrates for laccase production by white-rot fungi. *Folia Microbiologica* 46(2): 133-136.
- Kang, G. & D.K. Stevens (1994). Degradation of pentachlorophenol in bench scale bioreactors using the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Hazardous Waste and Hazardous Materials* 11(3): 397-410.

- Kapoor, A., T. Viraraghavan & D.R. Cullimore (1999). Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 70(1): 95-104.
- Kim, S.J. & M. Shoda (1999). Batch decolorization of molasses by suspended and immobilized fungus of *Geotricum candidum* Dec 1. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 88(5): 586-589.
- Kim, T.-H., Y. Lee, J. Yang, B. Lee, C. Park & S. Kim (2004). Decolorization of dye solutions by a membrane bioreactor (MBR) using white-rot fungi. *Desalination* 168(15): 287-293.
- Kotterman, M.J.J. & J.T.C. Grotenhuis (1999). PAK-afbraak in verontreinigde grond en sediment met witschimmels. NOBIS 96025. CUR/NOBIS, Gouda.
- Kumar, N.S. & K. Min (2011). Phenolic compounds biosorption onto *Schizophyllum commune* fungus: FTIR analysis, kinetics and adsorption isotherms modeling. *Chemical Engineering Journal* 168(2011): 562-571.
- Liang, R. & M.J. McFarland (1993). Biodegradation of Pentachlorophenol Soil Amended with the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Hazardous Waste & Hazardous Materials* 11(3): 411-422.
- Liu, Y., T. Fan, G. Zeng, X. Li, Q. Tong, F. Ye, M. Zhou, W. Xu & Y. Huang (2006). Removal of cadmium and zinc ions from aqueous solution by living *Aspergillus niger*. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 16(2006): 681-686.
- Nagpal, V., M.C. Srinivasan & K.M. Paknikar (2008). Biodegradation of  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane (Lindane) by a non-white rot fungus *Conidiobolus* 03-1-56 isolated from litter. *Indian Journal of Microbiology* 48: 134-141.
- Nyanhongo G.S., J. Gomes, G.M. Gubitz, R. Zvauya, J. Read & W. Steiner (2002). Decolorization of textile dyes by laccases from a newly isolated strain of *Trametes modesta*. *Water Research* 36(2002): 1449-1456.
- Pickard, M.A., R. Roman, R. Tinoco & R. Vazquez-Duhalt (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism by white rot fungi and oxidation by *Coriopsis gallica* UAMH 8260 Laccase. *Applied and Environmental Microbiology*, Sept. 1999, p. 3805-3809.
- Pointing, S. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 57(1-2): 20-33.
- Prasad D Y & Joyce T W, 1991. Color removal from kraft bleach plant effluents by *Trichoderma* sp.. *Tappi Journal* 74: 165-169.
- Prefaneta-Boldú, F.X., J. Vervoort, J.T.C. Grotenhuis & J.W. Van Groenestijn (2002). Substrate interactions during biodegradation of benzene, toluene, ethylbenzene and xylene (BTEX) hydrocarbons by the fungus *Cladophialophora* sp. Strain T1. *Applied and Environmental Microbiology* 68(6): 2660-2665.
- Prenafeta-Boldú, F., R. Summerbell & G.S. De Hoog (2006). Fungi growing on aromatic hydrocarbons: biotechnology's unexpected encounter with biohazard? *FEMS Microbiological Reviews* 30 (2006): 109-130.
- Price, M.S., J.J. Classen & G.A. Payne (2001). *Aspergillus niger* absorbs copper and zinc from swine wastewater. *Bioresource Technology* 77(1): 41-49.
- Quintero, J.C., T.A. Lú-Chau, M.T. Moreira & G. Feijoo (2007). Bioremediation of HCH present in soil by the white-rot fungus *Bjerkandera adusta* in a slurry batch bioreactor. *International Biodeterioration & Biodegradation* 60(4): 319-326.

- Reddy, C.A. (1995). The potential for white-rot fungi in the treatment of pollutants. *Current Opinion in Biotechnology* 6(3): 320-328.
- Rodarte-Morales, A. I., G. Feijoo, M. T. Moreira & J. M. Lema (2011). Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.* (2011) 27: 1839–1846.
- Rodríguez Couto, S., M.A. Sanromán, D. Hofer & G.M. Gübitz (2004). Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. *Bioresource Technology* 95(1): 67-72.
- Romero, M.C., E.H. Reinoso, M.I. Urrutia & A..M. Kiernan (2006). Biosorption of heavy metals by *Talaromyces helicus*: a trained fungus for commer and biphenyl detoxification. *Electronic Journal of Biotechnology* 3(9): 221-226.
- Schliephake, K., G.T. Lonergan, C.L. Jones & D.E. Mainwaring (1993). Decolourisation of a pigment plant effluent by *Pycnoporus canibarinus* in a packed-bed bioreactor. *Biotechnology Letters* 15(11): 1185-1188.
- Singh, H. (2006). *Mycoremediation. Fungal bioremediation.* Wiley & Sons, New Jersey. ISBN-13: 978-0-471-75501-2. 592 p.
- Spigno, G., C. Pagella, M.D. Fumi, R. Molteni & D.M. de Faveri (2003). VOCs removal from waste gases: gas-phase bioreactor for the abatement of hexane by *Aspergillus niger*. *Chemical Engineering Science* 58(3-6): 739-746.
- STOWA, 2011. *Gebiedstudie geneesmiddelen Provincie Utrecht. STOWA rapport 2011/19.*
- Suzuki, K., H. Hirai, H. Murata & T. Nishida (2003). Removal of estrogenic activities of 17 $\beta$ -estradiol and ethinylestradiol by ligninolytic enzymes from white rot fungi. *Water research* 37(2003): 1972-1975.
- Tamagawa, Y., R. Yamaki, H. Hirai, S. Kawai & T. Nishida (2006). Removal of estrogenic activity of natural steroidal hormone estrone by ligninolytic enzymes from white rot fungi. *Chemosphere* 65(2006): 97-101.
- Thanh NC, Simar RE (1973). Biological treatment of domestic sewage by fungi. *Mycopathol. Mycol. Applicata* 51: 223-232.
- Tekere, M., I. Ncube, J.S. Read & R. Zvauya (2002). Biodegradation of the organochlorine pesticide lindane by a sub-tropical white rot fungus in batch and packed bed bioreactor systems. *Environmental Technology* 23(2): 199-206.
- Thomas, S.A., L.M. Aston, D.L. Woodruff & V.I. Cullinan (2009). Field demonstrations of mycoremediation for removal of fecal Coliform bacteria and nutrients in the Dungeness Watershed, Washington. Prepared for Jamestown S'Klallam Tribe in fulfillment of Task 2a (Mycoremediation Demonstration) of the Dungeness River Watershed Final Workplan for the EPA Targeted Watershed Grant Program (2004) under a Related Services Agreement with the U.S. Department of Energy under Contract DE-AC05-76RL01830.
- Tobin, J.M., C. White & G.M. Gadd (1994). Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 13(2): 126-130.
- Tsekovaa, K. & G. Petrov (2002). Removal of heavy metals from aqueous solution using *Rhizopus delemar* mycelia in free and polyurethane-bound form. *Z. Naturforsch* 57c: 629-633.

Valentín, L., T.A. Lu-Chau, C. Lopéz, G. Feijoo, M.T. Moreira & J.M. Lema (2007). Biodegradation of dibenzothiophene, fluoranthene, pyrene and chrysene in a soil slurry reactor by the white-rot fungus *Bjerkandera* sp. BOS55. *Process Biochemistry* 42(2007): 641–648.

Voleski, B. & Z.R. Holan (1995). Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress* 11(3): 235–250.

Woertz, J.R., K.A. Kinney, N.D.P. McIntosh & P.J. Szanislo (2001). Removal of toluene in a vapor-phase bioreactor containing a strain of the dimorphic black yeast *Exophiala lecanii-corni*. *Biotechnology and Bioengineering* 75(5): 550-558.

Woertz, J., W. van Heiningen, M. van Eekert, N. Kraakman, K. Kinney & J. van Groenestijn (2002). Dynamic bioreactor operation: effects of packing material and mite predation on toluene removal from off-gas. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58(5): 690-694.

Wurzbacher, C.M., F. Bärlocher & H.-P. Grossart (2010). Fungi in lake ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology* 59: 125-149.

Yang, F.-C. & J.-T. Yu (1996). Development of a bioreactor system using an immobilized white rot fungus for decolorization. Part I: Cell immobilization and repeated-batch decolorization tests. *Bioprocess and Biosystems Engineering* vol. 15 number 6 307-310.

Zhang, F., J. S. Knapp & K.N. Tapley (1999). Development of bioreactor systems for decolorization of Orange II using white rot fungus. *Enzyme and Microbial Technology* 24:48-53.

## BIJLAGE 1

TABEL B1.1 VERWIJDERING VAN PESTICIDEN (ALLEMAN, LOGAN & GILBERTSON, 1995; AUGUSTIN ET AL., 2006; AURIOL ET AL., 2008; CASTRO ET AL., 2007; CLASSEN & PAYNE, 2001; DURSUN ET AL., 2003; EIBES ET AL., 2011; JUNGHANS ET AL., 2005; KANG & STEVENS, 1994; LIANG & MCFARLAND, 1994; LIU ET AL., 2006; NAGPAL, SRINIVASAN & PAKNIKAR, 2008; NYANHONGO ET AL., 2002; PRICE, CLASSEN & PAYNE, 2001; PRICE, TEKERE ET AL., 2002; ROMERO ET AL., 2006; RODARTE-MORALES ET AL., 2011; SCHLIEPHAKE ET AL., 1993; SUZULI ET AL., 2003; TAMAGAWA ET AL., 2006; TOBIN, WHITE & GADD, 1994; TSEKOVAA & PETROV, 2002)

Zwam	Stof	Concentratie (orde van grootte)	Verwijdering (%)	Verblijftijd	Metabolieten	(Optimale) pH	(Optimale) temperatuur	Reactor- type	KRW
Herbiciden									
Phanerochaete chrysosporium	2,4,5-T	nM		30 d	Wateroplosbare stoffen				
Phanerochaete chrysosporium	2,4-D	mg/l		20 d					
Cunninghamella elegans	2,4-D	mg/l		5 d					
C. echinulata	2,4-D	mg/l		5 d					
Rhizoctonia solani	2,4-D	mg/l		5 d					
Verticillium lecanii	2,4-D	mg/l		5 d					
Aspergillus penicilloides	2,4-D	mg/l		7 d	2,4-DCP				
Mortierella isabellina	2,4-D	mg/l		7 d	2,4-DCP				
Ceriporiopsis subvermispora	Alachloor	mg/l		122 d	polaire en apolaire stoffen				pr
Phlebia tremellosa	Alachloor	mg/l		122 d					pr
Cunninghamella elegans	Alachloor	mg/l		4 d	4 metabolieten				pr
Fusarium oxysporum	Butachloor	mg/l		12 d					
Fusarium solani	Butachloor	mg/l		12 d					
Rhizoctonia solani	Chloortoluron	mg/l		15 d					
Rhizoctonia solani	Diuron	mg/l		10 d					pr
Rhizoctonia solani	Isoproturon	mg/l		10 d					pr
Bjerkandera adusta	Chloortoluron	mg/l		15 d					
Bjerkandera adusta	Diuron	mg/l		15 d					pr
Bjerkandera adusta	Isoproturon	mg/l		15 d					pr
Sordaria superba	Linuron	mg/l		5 d					
Botrytis cinerea	Linuron	mg/l		5 d					
Botrytis cinerea	Metobromuron	mg/l		5 d					
Rhizopus oryzae	Metobromuron	mg/l		5 d					
Absidia fusca	Metobromuron	mg/l		5 d					
Alternaria solani	Metamitron	mg/l		5 d					
Drechslera austaliensis	Metamitron	mg/l		5 d					
Absidia fusca	Metamitron	mg/l		5 d					
Botrytis cinerea	Metribuzin	mg/l		5 d					
Sordaria superba	Metribuzin	mg/l		5 d					
Absidia fusca	Metribuzin	mg/l		5 d					
Oxysporus sp.	Chloortoluron	mg/l		5 d					

Zwam	Stof	Concentratie (orde van grootte)	Verwijdering (%)	Verblijftijd	Metabolieten	(Optimale) pH	(Optimale) temperatuur	Reactor- type	KRW
Oxysporus sp.	Diuron	mg/l		5 d					pr
Oxysporus sp.	Isoproturon	mg/l		5 d					pr
Coriolus versicolor	Diuron	mg/l		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Diuron	mg/l		42 d					pr
Stereum hirsutum	Diuron	mg/l		42 d					pr
Coriolus versicolor	Diuron	µg/g		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Diuron	µg/g		42 d					pr
Stereum hirsutum	Diuron	µg/g		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Terbutylhazine	mg/l		42 d					
Stereum hirsutum	Terbutylhazine	mg/l		42 d					
Coriolus versicolor	Atrazine	mg/l		42 d					pr
Stereum hirsutum	Atrazine	mg/l		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Atrazine	mg/l		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Terbutylazine	µg/g		42 d					
Coriolus versicolor	Terbutylazine	µg/g		42 d					
Coriolus versicolor	Atrazine	µg/g		42 d					pr
Stereum hirsutum	Atrazine	µg/g		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Atrazine	µg/g		42 d					pr
Phanerochaete chrysosporium	Atrazine	µM		4 d	De-ethylatrazine, deisopropyl-atrazine, hydroxyatrazine, de-ethyl- hydroxyatrazine				pr
Pleurotus pulmonarius	Atrazine	µg/g		42 d					pr
Cunninghamella elegans	Alachloor	mg/l		4 d					pr
Fusarium oxysporum	Glyfosaat	mg/l		20 d					
Insecticiden									
Phanerochaete chrysosporium	DDT	nM		30 d	dicofol, FW-152, DBP				
Pleurotus ostreatus	DDT	nM		30 d					
Phellinus weirii	DDT	nM		30 d					
Polyporus versicolor	DDT	nM		30 d					
Phanerochaete chrysosporium	DDE	nM		60 d	DBP en ongeïdentificeer- de stoffen				
Phanerochaete chrysosporium	Metoxychlor	µM		7 d	1,1-dichloro-2,2-bis (4-methoxyfenyl)ethaan, 2,2,2-trichloro-1,1-bis(4- methoxyfenol)ethanol, 2,2-dichloro-1,1-bis(4- methoxyfenyl)ethanol				
Phanerochaete chrysosporium	Lindaan	mM		30 d					pr
Phanerochaete chrysosporium	Lindaan	mM		60 d					pr
Phanerochaete chrysosporium	Chloordaan	mM		30 d					
Phanerochaete chrysosporium	Chloordaan	mM		60 d					
Trichoderma harzianum	Endosulfan	mg/l		13 d	endosulfan sulfaat, endosulfan diol				pr gev.
Trichoderma harzianum	Dieldrin	mg/l		13 d					
Trichoderma harzianum	DDT	mg/l		13 d					
Phanerochaete chrysosporium	Endosulfan	µg/l	>95	50 d	endosulfan sulfaat, endosulfan diol, endosulfan hydroxyether, endosulfan dialdehyde				pr gev.

Zwam	Stof	Concentratie (orde van grootte)	Verwijdering (%)	Verblijftijd	Metabolieten	(Optimale) pH	(Optimale) temperatuur	Reactor- type	KRW
Phanerochaete chrysosporium	Lindaan	µM		14 d	Tetrachlorocyclohexeen, tetrachlorocyclohexene epoxide, tetrachlorohexenol				pr
Witrotschimmel DSPM95	Lindaan	mg/l		5 d			30-35	pb	pr
Phanerochaete chrysosporium	Chloorpyrifos	µM		18 d					pr
	Fonofos	µM							
	Terbufos	µM							
Coriolus versicolor	Chloorpyrifos	µg/g		42 d					pr
Hypholoma fasciculare	Chloorpyrifos	µg/g		42 d					pr
Stereum hirsutum	Chloorpyrifos	µg/g		42 d					pr
Phanerochaete chrysosporium	Hydramethylnon	µM		10 d	p-(trifluoromethyl) cinnamic acid, p-(trifluoromethyl)benzoic acid				
Phanerochaete chrysosporium	Pentachloorfenol	mg/l		1,5 h					div
Trametes versicolor	Pentachloorfenol	mg/l		8 d					rtb
Inonotus dryophilus	Pentachloorfenol	mg/l		8 d					rtb
Armillaria gallica	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
A. mellea	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
Ganoderma lucidum	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
Lentinula edodes	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
Pleurotus pulmonarius	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
Polyporus sp.	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
Volvariella volvacea	Pentachloorfenol	mg/l		7 d					b
Conidiobolus 03-1-56	Lindaan	mg/l		24 h					b pr
Fungiciden									
Coriolus versicolor	Iprodioon	µg/l		42 d					
Hypholoma fasciculare	Iprodioon	µg/l		42 d					
Stereum hirsutum	Iprodioon	µg/l		42 d					
Cunninghamella elegans	Fenylvinclazole	mg/l		4 d					b

## Legenda

\* = laccasen uit de zwam in kwestie

\*\* = laccasen en MnP uit de zwam in kwestie

Cursief onderstreepte waarden van temperatuur en pH geven optima aan wanneer dit bij de experimenten is onderzocht.

## Reactortype:

b = batch, geroerd of geschud

rtb = rotating tube bioreactor

div = diverse

pb = packed bed reactor (gepakte kolom)

BB = BBraun bioreactor (geroerde temperatuurgestuurde gesloten bioreactor)

## KRW:

pr : prioritaire stof

pr gev. : prioritair gevaarlijke stof

v pr: voorgestelde prioritaire stof



TABEL B1.2 VERWIJDERING VAN HORMOONACTIEVE EN -VERSTORENDE STOFFEN (LITERATUUR EN LEGENDA: ZIE TABEL B1.1)

Zwam	Stof	Concentratie (orde van grootte)	Verwijdering (%)	Verblijftijd Metabolieten	(Optimale) pH	(Optimale) temperatuur	Reactortype	KRW
Trametes versicolor*	esterone	ng/l		1 h	8,0		b	
Phanerochaete sordida	esterone	10E-4M		5 d	4,5		b	
Phanerochaete sordida**	esterone	10E-5M		2 h	6,0		b	
Phanerochaete chrysosporium**	17 $\beta$ -estradiol	10E-7M		8 h	8,0		b	v pr
Trametes versicolor*	17 $\beta$ -estradiol	ng/l		1 h			b	v pr
Trametes versicolor**	17 $\beta$ -estradiol	10E-7M		8 h			b	v pr
Phanerochaete chrysosporium**	ethinylestradiol	10E-7M		8 h			b	
Trametes versicolor**	ethinylestradiol	10E-7M		8 h			b	
Clavariopsis aquatica	nonylfenol	$\mu$ M		24 h				v pr
UHH 1-6-18-4	nonylfenol	$\mu$ M		24 h				v pr
Trametes versicolor*	estriol	ng/l		1 h	8,0		b	
Trametes versicolor*	17 $\alpha$ -ethinylestradiol	ng/l		1 h	8,0		b	v pr

TABEL B1.3 VERWIJDERING VAN FARMACEUTISCHE EN COSMETISCHE STOFFEN (LITERATUUR EN LEGENDA: ZIE TABEL B1.1)

Zwam	Stof	Concentratie (orde van grootte)	Verwijdering (%)	Verblijftijd	Metaboliëten	(Optimale) pH	(Optimale) temperatuur	Reactortype	KRW
Bjerkandera adusta	carbamazepine	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera adusta	citalopram	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera adusta	diclofenac	mg/l		14 d				b	v pr
Bjerkandera adusta	fluoxetine	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera adusta	fluoxetine	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera adusta	hydrobromide, ibuprofen	mg/l		7 d				b	
Bjerkandera adusta	naproxen	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera adusta	sulfametoxazool	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera sp. R1	carbamazepine	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera sp. R1	citalopram	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera sp. R1	diclofenac	mg/l		14 d				b	v pr
Bjerkandera sp. R1	fluoxetine	mg/l		4 d				b	
Bjerkandera sp. R1	fluoxetine	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera sp. R1	hydrobromide, ibuprofen	mg/l		7 d				b	
Bjerkandera sp. R1	naproxen	mg/l		14 d				b	
Bjerkandera sp. R1	sulfametoxazool	mg/l		14 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	carbamazepine	mg/l		14 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	citalopram	mg/l		14 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	diclofenac	mg/l		14 d				b	v pr
Phanerochaete chrysosporium	fluoxetine	mg/l		7 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	fluoxetine	mg/l		14 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	hydrobromide, ibuprofen	mg/l		7 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	naproxen	mg/l		4 d				b	
Phanerochaete chrysosporium	sulfametoxazool	mg/l		14 d				b	

TABEL B1.4 VERWIJDERING VAN METALEN (LITERATUUR EN LEGENDA: ZIE TABEL B1.1)

Zwam	Stof	Concentratie (orde van grootte)	Verwijdering (%)	Verblijftijd	Metaboliëten	(Optimale) pH	(Optimale) temperatuur	Reactortype	KRW
Aspergillus niger	Cadmium		15,1 mg/g	24 h		4,0		b	v pr
Aspergillus niger	Chroom	mg/l		24 h		5,0		b	
Aspergillus niger	Koper	µM		24 h		5,0		b	
Aspergillus niger	Lood	mg/l		24 h		5,0		b	
Aspergillus niger	Zink	µM	70% / 18,25 mg/g	24 h		6,0		b	