

VERKENNING VERWAARDING VAN ZUIVERINGSSLIB MET BEHULP VAN BIOLOGISCHE METHODEN



RAPPORT

2019
11



VERKENNING VERWAARDING VAN ZUIVERINGSSLIB
MET BEHULP VAN BIOLOGISCHE METHODEN

RAPPORT

2019

11

ISBN 978.90.5773.837.1



COLOFON

UITGAVE Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer
Postbus 2180
3800 CD Amersfoort

AUTEUR Peter Laan (Faro advies)

BEGELEIDINGSCOMMISSIE

Coert Petri (Waterschap Rijn en IJssel)
Caroline van der Horst (CNC Holding)
Martin Wilschut (GMB Bioenergie)
Henk Schat (Vrije Universiteit)
Arjan Budding / Peter-Jan van Oene (Waterschap Vallei en Veluwe)
Yede van der Kooij (Wetterskip Fryslân)
John Koop / Otto Kluiving (Waterschap Hunze en Aa's)
Jan Feersma Hoekstra (Agriton)
Hans Ghijssels (B-MGA)
Cora Uijterlinde (STOWA)

DRUK Kruyt Grafisch Adviesbureau

STOWA STOWA 2019-11

ISBN 978.90.5773.837.1

Copyright Teksten en figuren uit dit rapport mogen alleen worden overgenomen met bronvermelding.

Disclaimer Deze uitgave is met de grootst mogelijke zorg samengesteld. Niettemin aanvaarden de auteurs en de uitgever geen enkele aansprakelijkheid voor mogelijke onjuistheden of eventuele gevolgen door toepassing van de inhoud van dit rapport.

TEN GELEIDE

BIOLOGISCHE REINIGING VAN ZUIVERINGSSLIB MAAKT HERGEBRUIK IN DE LANDBOUW NOG NIET MOGELIJK.

De eerste verkenning om met behulp van biologische methoden door de inzet van planten-, paddenstoelen- of diersoorten (phytoremediatie) effectief metalen uit slib te verwijderen en daarmee wegen te openen naar hergebruik van slib in de landbouw, heeft nog niet de gehoopte resultaten opgeleverd.

De mogelijkheden voor hergebruik van zuiveringsslib hangen nauw samen met de mate van verontreiniging. Primair zijn het zware metalen die een hergebruik belemmeren omdat de gehalten van met name koper en zink te hoog zijn. Daar tegenover staat dat juist zuiveringsslib veel nuttige stoffen bevat waar in de landbouw in toenemende mate behoefte aan bestaat. Het belang van de toevoeging van organische stof vormt inmiddels op alle landbouwgronden, zowel zand- als kleigronden een speerpunt, omdat bodemstructuurverbetering positieve effecten heeft op gewasopbrengsten, vooral doordat het waterbergend vermogen en het biologisch bodemleven op peil gehouden kan worden.

Het tegenvallende resultaat van dit onderzoek wordt met name veroorzaakt door het feit dat de biobeschikbaarheid van metalen erg laag is door het hoge gehalte aan organische stof in slib. In een vervolgonderzoek zou het probleem van de biobeschikbaarheid kunnen worden aangepakt door terrestrische wormen aan slibmengsels toe te voegen.

Ook de landbouwsector staat open voor de verkenning van herintroductie van slib in het licht van de circulaire economie en de kringlooplandbouw en dit biedt kansen voor de waterschappen. De uitkomsten van onderhavig onderzoek hebben geleid tot een vervolgproject, waarin samen met landbouwpartners kleinschalige veldexperimenten met polyelectrolyet vrije en weinig verontreinigde slibmengsels worden opgezet die verdere kennis en inzicht zullen bieden in de mogelijkheden en onmogelijkheden van directe toepassing van gehygiëniseerd slibcompost.

Joost Buntsma
Directeur STOWA

SAMENVATTING

In Nederland wordt ca 1,3 miljoen ton communaal zuiveringsslib per jaar geproduceerd. Dit slib wordt voor het grootste deel thermisch verwerkt, waardoor niet alleen alle waardevolle stoffen in het slib verloren gaan maar ook nog eens een forse bijdrage aan de (kort-cyclische) CO₂ productie in Nederland geleverd wordt. De waterschappen hebben de ambitie om nieuwe alternatieve afzetroutes te ontwikkelen, waarbij energiewinning (energiefabriek) en het hergebruik van waardevolle stoffen (grondstoffenfabriek) centraal staan. Daarbij wordt de hernieuwde afzet van slib naar de landbouw gezien als een mogelijkheid voor hergebruik van slib of slibproducten, waarmee gelijktijdig een flinke reductie van de toenemende kosten voor de Waterschappen kan worden gerealiseerd. Deze ontwikkeling valt samen met de veranderende zienswijze die in veel landbouwkringen plaatsvindt; niet alleen in de akkerbouw op zandgronden, maar ook op kleigronden en in de bollenteelt is een structureel tekort aan organische stof en sporenelementen, die aangevuld dienen te worden om bodemstructuurverbetering te realiseren en gewasopbrengsten op peil te houden. Bodemstructuurverbetering is ook van groot belang voor vergroting van het vochthoudend vermogen van de bodem (klimaatadaptatie) en een versterking van de biologische bodemvruchtbaarheid.

Hergebruik van grondstoffen past ook in de maatschappelijke ontwikkeling die de transitie van een lineaire naar een circulaire economie voorstaat. Door de EU zijn in 2016 maatregelen voorgesteld die dit moeten stimuleren. Onderdeel daarvan is de nieuwe Meststoffenverordening (EU 2016), die de handel in voorheen als afvalstof te boek staande meststoffen niet langer verbiedt maar onder voorwaarden toestaat. Echter dit geldt niet voor zuiveringsslib dat voortsnog expliciet uitgesloten blijft van het vrije handelsverkeer, ondanks het feit dat communaal slib voldoet aan de Europese normen voor zware metalen in organische meststoffen en er recent zelfs sprake is van een verruiming van de norm voor de kritische elementen koper en zink (ontwerpnormen). Binnen Nederland echter voldoet veel slib niet aan de vigerende normen voor zware metalen (Ubm), aangezien deze veel strenger zijn dan de EU normen en feitelijk de strengste binnen de gehele EU. Voor mogelijk nieuwe afzetroutes in Nederland betekent dit dan ook dat primair voldaan moet worden aan de normen voor zware metalen en dus dat slib gereinigd moet worden van met name koper en zink en in mindere mate cadmium, waarna het gehygiëniseerd en gestabiliseerd dient te worden.

De landbouwkundige waarde en afzetmogelijkheden van slib hangen grotendeels samen met de slibsamenstelling. Hoewel slib zich kenmerkt door zowel een hoog organisch stofgehalte als een hoog gehalte aan fosfaat moet het zich toch positioneren als organische fosfaatmeststof en niet als bodemverbeteraar. Omdat er in Nederland een fosfaatoverschot bestaat is de marktpositie van slib voorlopig niet gunstig. De marktwaarde in andere EU landen is veel beter, maar lastig omdat Nederlands slib als afvalstof is gekenmerkt, waardoor de export moeilijk is. De toepassing van het toetsingskader (Ubm) voor gebruik van slib in de landbouw staat de laatste jaren onder druk omdat de laatste decennia veel lagere concentraties van de zware metalen chroom, cadmium en lood gemeten zijn (CBS Statline) en de overschrijdingen voor deze toxische metalen vaak marginaal zijn. En hoewel de concentraties aan koper en zink dezelfde zijn gebleven, zijn dit elementen waarvan door velen wordt aangedragen dat deze als micronutriënten de minst schadelijke of zelfs noodzakelijke elementen zijn en waarvoor in EU verband veel ruimere normen worden gehanteerd. Daarbij is het ook zo dat de accumulatie van koper en zink op landbouwgronden bij gebruik van slib gelijk of lager is dan bij

gebruik van dierlijke mest. In die zin is het toetsingskader aan herziening toe, mede doordat de kwaliteit niet langer wordt gedomineerd door verontreiniging met metalen, maar veeleer door nieuwe schadelijke stoffen (organische microverontreinigingen en microplastics). Ook de Transitieagenda's die zich richten op een nuttig hergebruik van grond-stoffen spelen een rol in de nieuwe mogelijkheden voor slib in de landbouw.

In dit project zijn de mogelijkheden verkend voor het reinigen van slib van zware metalen met behulp van biologische methoden. Een beproefde methode om substraten te reinigen is phyto-remediatie met planten of paddenstoelen. Deze methode is gebaseerd op het feit dat er soorten zijn die zich hebben gespecialiseerd op het effectief opnemen en accumuleren van metalen in de bovengrondse delen (bij planten: bladeren en stengel, bij paddenstoelen: de vruchtlichamen). Door metalen uit het slib op te nemen en te concentreren in de bovengrondse delen kan reiniging van het slib plaatsvinden en het overgebleven plantenmateriaal worden verbrand, met eventueel de mogelijkheid tot terugwinning van metalen. Voorwaarde voor succesvolle phyto-remediatie is dat het substraat zodanig wordt voorbereid dat het een geschikt groeimedium is voor de gebruikte soorten. Dit betekent voor de gekozen plantensoorten dat slib gemengd dient te worden met zand om de structuur en de aeratiegraad te verbeteren. Hiertoe werden een aantal substraten bereid, zowel met PE-houdend als PE-vrij (borstelcentrifuge) slib. Vervolgens is een succesvolle phyto-remediatie afhankelijk van enerzijds de groeisnelheid en daarmee de biomassa-productie van de gekozen soort, anderzijds van de biobeschikbaarheid van de metalen. In dit project werd geëxperimenteerd met voor dit doel geselecteerde, kansrijke soorten: soorten die bekend staan om hun vermogen tot metaalaccumulatie: verschillende populaties van de zinkboerenkers, vetkruid (*Sedum plumbizincicola*) en soorten van zoete en zoute milieus die natuurlijkerwijs voorkomen op natte, organische bodems (meldesoorten, schietwilg en schorrekruid).

In een serie potexperimenten in de klimaatkamer en in kweekbakken (modelopstelling) in de kas werd onderzocht of groei en metaalopname uit het substraat effectief plaatsvond. Uit de studie bleek dat de potentieel metaalaccumulerende soorten (zinkboerenkers en *Sedum*) niet in staat bleken effectief het slib te reinigen: metaalverwijderingspercentages van slechts 1-2% werden gemeten. Dit was vooral het gevolg van het feit dat de soorten niet in staat bleken de organisch gebonden metalen te mobiliseren en dus op te nemen. Omdat ook de groeisnelheid van de gekozen soorten laag was en daarmee de biomassa-productie en dus de potentiële stapeling van een grote hoeveelheid metalen, moet geconcludeerd worden dat zowel zinkboerenkers als *Sedum plumbizincicola* ongeschikt zijn om slib effectief te reinigen. Soorten van natte en meer organische bodems, vooral meldesoorten gedijden goed op het slibsubstraat, maar vertoonden ook een lage metaalopname, waardoor deze soorten evenmin als phyto-remediator kunnen worden ingezet. Metaalverwijderingspercentages bij deze soorten kwamen niet hoger dan 0,5% voor zink en cadmium. Om effectieve phyto-remediatie toe te kunnen passen lijkt het in alle gevallen dan ook noodzakelijk om eerst de biobeschikbaarheid van metalen te vergroten. Daartoe zijn een aantal mogelijkheden, o.a. om het slibsubstraat eerst aan te bieden aan terrestrische wormen, waardoor de microbiële activiteit in het substraat vergroot wordt en de beschikbaarheid van metalen aanzienlijk verhoogd kan worden. In een pilot experiment werd getest of de op metaalverrijkte bodems voorkomende soort *Dendrobena* het zuiveringsslib wil verteren. Dit bleek niet het geval zodat deze aanpak in dit onderzoek niet nader is toegepast. Een andere mogelijkheid is om de metalen in oplossing te brengen met behulp van een toegevoegde chelator (zgn. geïnduceerde phyto-remediatie). Deze methode is in dit onderzoek niet toegepast, maar de kansrijkdom en de voor- en nadelen van deze methode worden besproken in het kader van mogelijk vervolgonderzoek.

In een experiment met twee soorten champignons, de amandel- en de akkerchampignon, die bekend staan om hun vermogen zware metalen aan het substraat te kunnen onttrekken, werd met verschillende slib-compost en slib-champost mengsels getest of deze in staat waren het slib te reinigen van zware metalen. Zowel de amandel- als de akkerchampignon bleek te kunnen groeien op de slib-compost mengsels, waarbij de amandelchampignon het beter deed dan de akkerchampignon. Het gedrag t.o.v. de opname van zware metalen van beide soorten was vergelijkbaar: het verwijderingspercentage van cadmium uit het substraat was zowel bij de amandel- als de akkerchampignon hoog: resp. 25 en 20% (tot meer dan 10 mg/kg DW bij de amandelchampignon). Zink en koper werden door beide soorten niet geaccumuleerd (verwijderingspercentage slechts 1-2%). Aangezien het juist zink en koper zijn die te hoge concentraties in het uitgangsmateriaal vertonen en de paddenstoelen deze metalen niet accumuleren blijven de gehalten ook na de behandeling hoog en boven normwaarde (U_{bm}). De conclusie is dan ook dat de toepassing van deze paddenstoelensorten voor het reinigen van slib om het toepasbaar te maken als vermarktbaar product alleen geschikt is voor slibsoorten die relatief hoge concentraties aan cadmium, maar niet aan andere metalen bevatten.

DE STOWA IN HET KORT

STOWA is het kenniscentrum van de regionale waterbeheerders (veelal de waterschappen) in Nederland. STOWA ontwikkelt, vergaart, verspreidt en implementeert toegepaste kennis die de waterbeheerders nodig hebben om de opgaven waar zij in hun werk voor staan, goed uit te voeren. Deze kennis kan liggen op toegepast technisch, natuurwetenschappelijk, bestuurlijk-juridisch of sociaalwetenschappelijk gebied.

STOWA werkt in hoge mate vraaggestuurd. We inventariseren nauwgezet welke kennisvragen waterschappen hebben en zetten die vragen uit bij de juiste kennisleveranciers. Het initiatief daarvoor ligt veelal bij de kennisvragende waterbeheerders, maar soms ook bij kennisinstellingen en het bedrijfsleven. Dit tweerichtingsverkeer stimuleert vernieuwing en innovatie.

Vraaggestuurd werken betekent ook dat we zelf voortdurend op zoek zijn naar de 'kennisvragen van morgen' – de vragen die we graag op de agenda zetten nog voordat iemand ze gesteld heeft – om optimaal voorbereid te zijn op de toekomst.

STOWA ontzorgt de waterbeheerders. Wij nemen de aanbesteding en begeleiding van de gezamenlijke kennisprojecten op ons. Wij zorgen ervoor dat waterbeheerders verbonden blijven met deze projecten en er ook 'eigenaar' van zijn. Dit om te waarborgen dat de juiste kennisvragen worden beantwoord. De projecten worden begeleid door commissies waar regionale waterbeheerders zelf deel van uitmaken. De grote onderzoekslijnen worden per werkveld uitgezet en verantwoord door speciale programmacommissies. Ook hierin hebben de regionale waterbeheerders zitting.

STOWA verbindt niet alleen kennisvragers en kennisleveranciers, maar ook de regionale waterbeheerders onderling. Door de samenwerking van de waterbeheerders binnen STOWA zijn zij samen verantwoordelijk voor de programmering, zetten zij gezamenlijk de koers uit, worden meerdere waterschappen bij één en het zelfde onderzoek betrokken en komen de resultaten sneller ten goede aan alle waterschappen.

De grondbeginselen van STOWA zijn verwoord in onze missie:

Het samen met regionale waterbeheerders definiëren van hun kennisbehoeften op het gebied van het waterbeheer en het voor én met deze beheerders (laten) ontwikkelen, bijeenbrengen, beschikbaar maken, delen, verankeren en implementeren van de benodigde kennis.

VERKENNING VERWAARDING VAN ZUIVERINGSSLIB MET BEHULP VAN BIOLOGISCHE METHODEN

INHOUD

	TEN GELEIDE	
	SAMENVATTING	
	DE STOWA IN HET KORT	
	BEGRIPPENLIJST	
1	INLEIDING	1
	1.1 Aanleiding: herintroductie van slib als grondstof in de landbouw	1
	1.2 Doelstelling en onderzoeksvragen	3
2	KANSEN VOOR HERGEBRUIK VAN ZUIVERINGSSLIB IN DE LANDBOUW	5
	2.1 Wet- en regelgeving voor landbouwkundig gebruik van zuiveringsslib	5
	2.1.1 De EU richtlijn voor gebruik van zuiveringsslib (SSD, 86/278, 1986)	5
	2.1.2 Besluit gebruik meststoffen (Bgm) en Uitvoeringsbesluit meststoffenwet (Ubm)	6
	2.1.3 Gebruik van zuiveringsslib in de landbouw binnen de EU	7
	2.1.4 Conclusies	8
	2.2 Landbouwkundig perspectief	9
	2.2.1 Verandering in landbouwkundige inzichten ten aanzien van bodemgebruik	9
	2.2.2 Landbouwkundige waarde van slib en marktperspectieven	9
	2.2.3 Conclusie	11
	2.3 Kansen voor toepassing van slib vanuit de circulaire economie	12
	2.4 Conclusies	13
3	ZUIVERINGSSLIB ALS UITGANGSMATERIAAL VOOR BIOLOGISCHE TOEPASSING	15
	3.1 Inleiding	15
	3.2 Geselecteerde slibsoorten	16
	3.3 Analyse van gebruikte slibsoorten en substraten	16
	3.4 Voorbereiding slib voor biologische toepassing: mengen	17

4	PHYTOREMEDIATIE MET METAAL-ACCUMULERENDE PLANTENSOORTEN	20
4.1	Inleiding	20
4.2	Overzicht van metaaltolerante plantensoorten en hun eigenschappen	21
4.3	Accumulerend vermogen en bodemeigenschappen	22
4.4	Geselecteerde soorten: eigenschappen en natuurlijke groeiomstandigheden	22
4.5	Experiment: groei en metaalopname van <i>Noccaea caerulescens</i> in vergelijking met een referentieplant (gele mosterd, <i>Sinapis alba</i>) op PE-houdend zuiveringsslib	24
4.5.1	Proefopzet	24
4.5.2	Materiaal en Methoden	25
4.5.3	Resultaten	26
4.5.4	Conclusie en discussie	29
5	PHYTOREMEDIATIE MET GESELECTEERDE CHAMPIGNONSOORTEN	31
5.1	Inleiding	31
5.2	Uitgangspunt: een verdienmodel voor de afzet van champost en zuiveringsslib	32
5.3	Experiment: onttrekking van zware metalen door geselecteerde <i>Agaricus</i> soorten	32
5.3.1	Inleiding	32
5.3.2	Resultaten	33
5.3.3	Algemene conclusies	38
6	VOORLOPIGE CONCLUSIES TEN AANZIEN VAN PHYTOREMEDIATIE EN TOEPASSING VAN SLIB ALS BODEMSTRUCTUURVERBETERAAR EN AANPASSINGEN IN HET ONDERZOEKSPLAN	42
6.1	Substraatkeuze en -voorbereiding en gebruikte soorten	42
6.2	Aanpassing onderzoeksplan	44
7	EXPERIMENTEN MET VERSCHILLENDE PLANTENSOORTEN OP PE-HOUDEND EN PE-VRIJ SLIB	45
7.1	Groei en metaalopname van <i>Noccaea caerulescens</i> populaties en <i>Sedum plumbizincicola</i> op PE-houdend en PE-vrij slib in een modelopstelling in de kas	45
7.1.1	Proefopzet	45
7.1.2	Materiaal en Methoden	45
7.1.3	Resultaten	47
7.1.4	Conclusie/discussie	51
7.2	Groei en metaalopname van kansrijke soorten van natte, organische standplaatsen en <i>Noccaea caerulescens</i> populaties op PE-vrij slib	51
7.2.1	Inleiding	51
7.2.2	Resultaten	52
7.2.3	Conclusie en discussie	54
8	CONCLUSIES EN DISCUSSIE	55
9	REFERENTIES	61

BEGRIPPENLIJST

- AAS: atoom absorptie spectrometer, analytische techniek om de concentratie aan kationen in waterige oplossingen te bepalen m.b.v. spectrometrie
- Anaerobie: zuurstofloosheid, hier geassocieerd met het gebrek aan zuurstof in de wortelzone van de plant
- Bokashi: een product gemaakt uit organisch materiaal welke onder anaerobe omstandigheden met behulp van toegevoegde micro-organismen wordt gefermenteerd
- Borstelcentrifugeslib: slib dat zonder polymeren op een mechanische manier wordt ontwaterd m.b.v. een borstelcentrifuge (zie ook STOWA rapport 35, 2018)
- CEC: cation exchange capacity (kationenomwisselingscapaciteit) is de capaciteit van de bodem om positief geladen ionen uit te wisselen met de bodemoplossing
- Chelator: een stof die bindingscapaciteiten voor andere stoffen heeft en daarmee de chemische activiteit van die stof uitschakelt. Een bekende chelator is EDTA
- Chlorose: gebreksziekte bij planten die zich uit door geelkleuring van de bladeren. Chlorose wordt veroorzaakt door een tekort aan essentiële nutriënten zoals magnesium of ijzer
- Cutteren: machinaal fijn snijden of vermalen en verhakselen
- Dekaaarde: in de champignonteelt wordt de compost na enten afgedekt met een zogenaamde deklaag bestaande uit een mengsel van verschillende soorten turf en schuimaarde (een afvalproduct van de suikerindustrie), die dekaarde genoemd wordt.
- Exclusion of avoidance-mechanisme van planten: de capaciteit van een plant om te groeien op een bodem of substraat met een hoge concentratie aan metalen door de metalen efficiënt 'buiten de deur te houden' casu quo niet op te nemen waardoor deze geen schadelijke effecten kunnen veroorzaken
- Exudaten: de uitscheiding van stoffen door plantenwortels om in de directe wortelzone stoffen te mobiliseren en daarmee beschikbaar te maken voor opname
- Hyperaccumulator: een soort die de capaciteit heeft om grote hoeveelheden metalen op te nemen en in wortel, stengel en/of bladeren op te slaan
- ICP: Inductively-Coupled Plasma, analytische techniek om de concentratie aan verschillende ionen in waterige oplossingen te bepalen
- Metallicole plantensoorten / populaties: soorten die van nature voorkomen en gedijen op metaalhoudende bodems en daartoe aanpassingsmechanismen hebben ontwikkeld
- Non-metallicole plantensoorten: soorten of populaties van soorten die geen aanpassingsmechanismen hebben ontwikkeld om op bodems met hoge metaalconcentraties te gedijen
- Phytoremediatie: techniek waarbij gebruik wordt gemaakt van de eigenschappen van plant- of diersoorten om effectief metalen uit de bodem of een substraat op te nemen en te accumuleren
- Redoxpotentiaal (Eh): potentiaalverschil dat bij een redoxreactie ontstaat tussen reductiemiddel, electronendonor en oxydatiemiddel
- Rhizosfeer: wortelzone; de zone om de wortel van een plant die door de plant zelf beïnvloed kan worden
- Schistgronden: metamorf gesteente, gekenmerkt door arme droge en enigszins zure omstandigheden, zoals die voorkomen op (voormalige) mijngronden

- Standard Error (SE of standaardfout): de standaarddeviatie (SD) van de spreiding in monsternamen (Gauss curve) ofwel een schatting van de standaarddeviatie van het gemiddelde. Getalsmatig: SD/\sqrt{n} waarbij n de steekproefgrootte is
- Tolerantie- of accumulatiemechanisme van planten: de eigenschap van een plant om metalen op te nemen en in wortel, bladeren of stengel op te slaan zonder dat dit veel negatieve effecten op de groei of vitaliteit van de plant heeft
- Vernalisatie: het door kou beïnvloeden van groeiprocessen, zoals kieming van bepaalde koudebehoefte zaden of het in bloei brengen van meestal tweejarige planten. Vernalisatie vindt doorgaans plaats bij temperaturen tussen de 0 en 10 graden Celsius

1

INLEIDING

1.1 AANLEIDING: HERINTRODUCTIE VAN SLIB ALS GRONDSTOF IN DE LANDBOUW

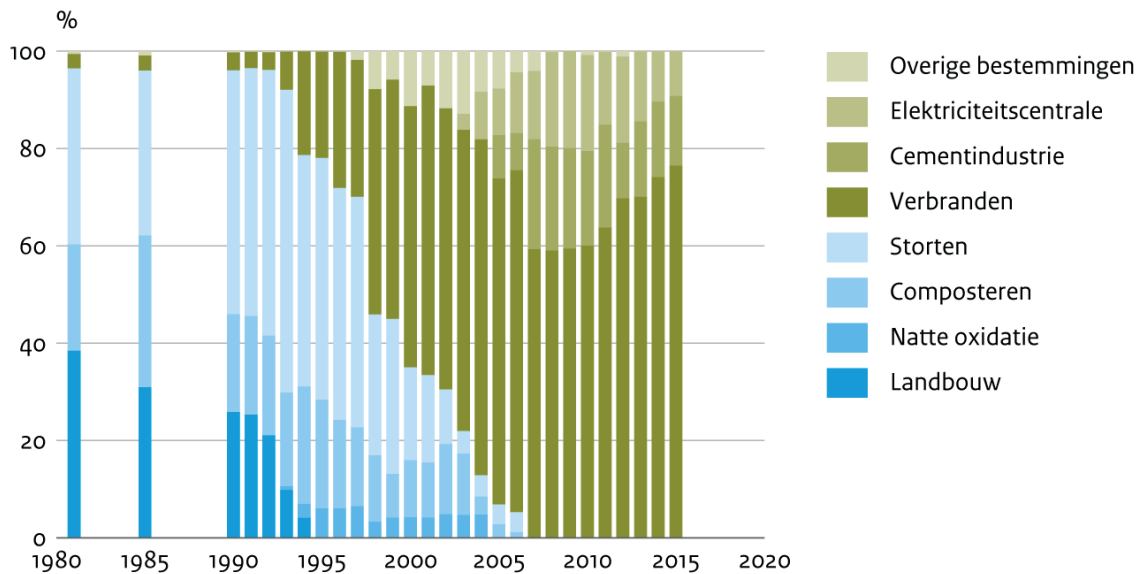
Zuiveringsslib bevat veel nuttige stoffen, die op verschillende manieren toegepast zouden kunnen worden. Primair betreft dat de grote hoeveelheid organische stof en micronutriënten, die het een potentieel waardevolle bodemstructuurverbeteraar en meststof maakt, waaraan in de landbouw een grote behoefte bestaat. De mate van verontreiniging van het slib in relatie tot de in Nederland vigerende regelgeving maakt echter dat nagenoeg al het in Nederland vrijkomende zuiveringsslib tegenwoordig uiteindelijk thermisch wordt verwerkt, al dan niet na composteren. Voor de waterschappen vormt zuiveringsslib daarmee een aanzienlijk probleem, omdat er forse kosten gemoeid zijn met het vervoer en de eindverwerking van deze reststroom¹.

Vanuit het streven naar een efficiënter gebruik van reststromen, waarbij energiewinning (de energiefabriek) en hergebruik van waardevolle grondstoffen (de grondstoffenfabriek) centraal staan heeft de Unie van Waterschappen haar ambitie gericht op alternatieve afzetroutes. En hoewel verbranding tot op heden de meest toegepaste manier van hergebruiken is ('groene energie'), is de bijdrage aan de CO₂ productie – hoewel kort-cyclisch - een toenemend discussiepunt in het licht van de klimaatdiscussie. Het gebruik van zuiveringsslib als meststof en bodemverbeteraar in de landbouw vormt daarom een van de meest efficiënte manieren voor nuttig hergebruik van organische stof en nutriënten. Zuiveringsslib wordt in Nederland echter al decennia lang niet meer in de landbouw gebruikt (zie Figuur 1.1). Dat heeft een aantal redenen:

- bij afzet naar de landbouw moet het meestal fosfaatrijke zuiveringsslib concurreren met dierlijke meststoffen
- het gebruik van communaal zuiveringsslib is vaak niet mogelijk omdat de normen voor zware metalen worden overschreden, met name koper en zink en het dus niet voldoet aan de toetsingsnormen van het Uitvoeringsbesluit Meststoffenwet (Ubm)
- zuiveringsslib heeft een negatief imago door de hoge concentraties zware metalen en de slechte ervaringen in het verleden met grote hoeveelheden ongezuiverd slib dat afspoeelde naar sloten en oppervlaktewater en tegenwoordig door de aanwezigheid van 'nieuwe' stoffen (organische microverontreinigingen, waaronder geneesmiddelen en microplastics).

1 De kosten voor verbranding van afvalslib in de verbrandingsoven bedragen € 60 - 100 per ton ontwaterd slib (Ringoot, 2014; IJzerman et al., 2014). Omgerekend naar geheel Nederland bedraagt de slibeindverwerking daarmee ca. € 110 Miljoen per jaar.

FIGUUR 1.1 BESTEMMING SLIB VAN RIOOLWATERZUIVERINGSINSTALLATIES (CBS, 2017)



De milieuhygiënische kwaliteit van slib is sinds de tachtiger jaren van de vorige eeuw sterk verbeterd. Omdat echter de normen voor met name koper en zink worden overschreden is toepassing van communaal slib in de landbouw niet toegestaan vanuit het wetgevend kader.

Voor de landbouwsector biedt de hernieuwde inzet van slib kansen vanuit de behoefte aan bodem-(structuur)verbetering door toevoeging van organische stof aan de bodem, alsook vanuit de doelstellingen van de landbouw om stofkringlopen te sluiten en minder afhankelijk te worden van externe grondstoffen (met name fosfaat). Het is duidelijk dat bodemverbetering door middel van toevoeging van organische stof in toenemende mate noodzakelijk is op zowel zand- als kleigronden, aangezien deze maatregel een belangrijke bijdrage kan leveren aan het vochtbergend vermogen van de grond (klimaatadaptatie), de beperking van de uitspoeling van nutriënten naar grond- en oppervlakte-water, een verbetering van de landbouwproductie (bodembenutting) en een versterking van de biologische bodemvruchtbaarheid.

Verwaarding door hergebruik van slib als grondstof past niet alleen in de doelstellingen van de waterschappen (Grondstoffenfabriek), maar ook in die van de nationale overheid (Transitieagenda's van het Ministerie van LNV) en de nieuwe Europese regelgeving rondom de transitie van lineair naar circulair en de nieuwe Meststoffenverordening (EU, 2016). Dit impliceert dat er een verbinding gemaakt dient te worden met potentiële afnemers, casu quo de landbouwsector om de marktwaarde en de afzetmogelijkheden van slib en slibproducten als slibcompost in relatie tot bestaande producten en mogelijke concurrentie te bezien. Hierin staan het belang van organische stof voor bodemverbetering en fosfaat als niet herwinbare grondstof centraal.

Dit onderzoek richt zich op de mogelijkheden van biologische methoden om slib te verwaarden en opnieuw toepasbaar te maken ten behoeve van landbouwdoeleinden, met name ter verbetering van de bodemstructuur. Daarmee richt het onderzoek zich primair op het reinigen van het slib van metalen om daarmee aan de toetsingsnormen volgens het Ubm te kunnen voldoen. Een biologische methode om dit te bewerkstelligen is de zogenoemde phytoremediatie, waarin geselecteerde planten- of paddenstoelen-soorten worden ingezet om metalen effectief uit het substraat te onttrekken en te stapelen in de bovengrondse delen. Vervolgens kunnen deze delen worden gedroogd en verbrand, wat een drastische beperking

van de hoeveelheid restafval met zich meebrengt. Omdat de metalen zo geconcentreerd in de bovengrondse delen van de plant gestapeld worden, behoort een nadere verkenning van de mogelijkheden om metalen terug te winnen dan ook tot de mogelijkheden. Cruciaal in een succesvolle aanpak zijn drie factoren:

- de hoeveelheid beschikbaar stikstof en fosfaat in het zuiveringsslib. Het is bekend dat zuiveringsslib hoge concentraties aan zouten bevat, vooral stikstof (ammonium, > 70 g/kg DS NKjeld) en fosfaat (60-70 g/kg DS). Wanneer deze ook biobeschikbaar zijn, kunnen ze belemmerend op de groei van planten werken.
- de bio-beschikbaarheid van de zware metalen. Omdat zuiveringsslib veel organische stof bevat is de kans groot dat metalen daarin gebonden zijn en moeilijk voor de plant beschikbaar komen. Dit is een belangrijke factor die de mogelijkheden bepaalt voor het effectief kunnen reinigen van het substraat.
- de groeisnelheid casu quo turnover van de planten of paddenstoelen. De snelheid waarmee de planten of paddenstoelen groeien is van belang omdat daarmee de snelheid van onttrekking wordt bepaald. Dat is vooral voor planten relevant omdat zij afhankelijk zijn van het groeiseizoen en daarmee aan het aantal batches dat per jaar ingezet kan worden voor fytoremediatie.

1.2 DOELSTELLING EN ONDERZOEKSVRAGEN

Dit project heeft als doel om biologische methoden te testen om slib te reinigen van zware metalen, als eerste stap om de herintroductie van slib in de landbouw mogelijk te maken ('proof of principle'). Wanneer blijkt dat metalen effectief kunnen worden verwijderd met een van de hier toegepaste methoden kan daarmee de belangrijkste belemmering voor toelating van slib vanuit het Besluit gebruik meststoffen worden weggenomen. Vervolgens dient onderzocht te worden of en hoe een dergelijke methode opgeschaald kan worden en of er een haalbare business case van gemaakt kan worden. In een dergelijke opschaling dient tevens bekeken te worden hoe aan de andere eisen vanuit het wettelijk kader voldaan kan worden: hygienisatie en stabilisatie van het product via compostering, waarbij tevens wordt onderzocht of het eindproduct voldoet aan de wettelijke eisen voor anorganische en organische verontreinigingen. Gelijktijdig dient dan, samen met landbouwpartijen, onderzocht te worden aan welke voorwaarden slib en slibproducten moeten voldoen om kansrijk te zijn op de markt.

Stap 1	Experimenten met biologische methoden om slib te reinigen van zware metalen ("proof of principle") op laboratorium- of kasschaal
Stap 2	Opschaling, nadere modellering en ontwikkelen van een business case voor een methode die veelbelovend is. Test methode op veldschaal
Stap 3	Schoon (van zware metalen gereinigd) eindproduct verder bewerken om aan overige eisen van het wetgevend kader te voldoen: hygienisatie en stabilisatie via compostering. Daarnaast ook defosfatering van het product en verkenning anorganische en organische verontreinigingen
Stap 4	Marktverkenning van het eindproduct en herintroductie slib in de landbouw

Voor wat betreft het onderzoek richt dit project zich volledig op stap 1 van bovengenoemd kader, waarbij een verkenning van de markt en de kansen voor herintroductie van slib in de landbouw gelijktijdig is onderzocht (stap 4). Dit leidt tot de volgende onderzoeksvragen:

1. Wat zijn de kansen voor hergebruik van slib of slibcompost in de landbouw en aan welke voorwaarden moet een eindproduct voldoen? (Hoofdstuk 2)
2. Wat is de kwaliteit van verschillende slibsoorten met betrekking tot de mate van verontreini-

ging met zware metalen en de hoeveelheid stikstof en fosfaat anno 2017, met andere woorden welke slibsoorten zijn geschikt als uitgangsmateriaal voor de kweek van geselecteerde planten en paddenstoelen? (Hoofdstuk 3)

3. Op welke manier kunnen we een substraat bereiden die geschikt is voor de kweek van geselecteerde planten en paddenstoelen? (Hoofdstuk 3)
4. Zijn de geselecteerde planten- en paddenstoelensorten in staat om zodanig veel zware metalen op te nemen dat het slib voldoende gereinigd wordt en dus voldoet aan de toetsingsnormen? (Hoofdstuk 4 en 5)
5. Is het zinvol of mogelijk het effect van zuivering te versterken door toepassing van *Mycorrhiza* en/of kan een structuurverbetering van het eindproduct bereikt worden door een nabehandeling met geselecteerde wormensoorten? (Hoofdstuk 3)

Aan de hand van de resultaten van deze eerste fase worden voorlopige conclusies getrokken (Hoofdstuk 6) en is het onderzoeksplan aangepast. Hierna komen de volgende onderzoeksvragen voor de 2^e fase aan de orde:

1. Zijn de geselecteerde soorten van natte, organische milieus en andere, metaal-accumulerende plantensoorten in staat om op de slibsubstraten te groeien en metalen effectief op te nemen? (Hoofdstuk 7)
2. Welke conclusies en perspectieven zijn er voor de inzet van biologische methoden voor herwaardering en hergebruik van slib (Hoofdstuk 8).

2

KANSEN VOOR HERGEBRUIK VAN ZUIVERINGSSLIB IN DE LANDBOUW

2.1 WET- EN REGELGEVING VOOR LANDBOUWKUNDIG GEBRUIK VAN ZUIVERINGSSLIB

2.1.1 DE EU RICHTLIJN VOOR GEBRUIK VAN ZUIVERINGSSLIB (SSD, 86/278, 1986)

De wettelijke eisen ten aanzien van landbouwkundig gebruik van zuiveringsslib worden in Nederland en andere EU landen bepaald door de concentraties van zeven zware metalen in het slib (Cd, Cr, Hg, Pb, Zn, Cu, Ni). Wanneer zuiveringsslib de maximale waarden voor de zeven metalen niet overschrijdt mag het als meststof in de landbouw worden toegepast. De richtlijn stelt verder eisen aan de hygienisatie van slib en aan wachttermijnen voor gebruik in akkerbouw, fruitteelt, tuinbouw en veehouderij. Binnen het wettelijk kader van de SSD is het EU lidstaten toegestaan om de normen verder aan te scherpen en extra voorwaarden of aanvullende criteria te formuleren. Nederland heeft de normen voor toepassing van slib in de landbouw aangescherpt en daarmee een uitzonderingspositie binnen de EU gecreëerd, getuige de maximaal aanvaarde hoeveelheden in andere landen (Tabel 2.1). Hoewel zuiveringsslib de laatste jaren steeds schoner is geworden voor wat betreft verontreiniging met toxische metalen (cadmium, lood, chroom, CBS Statline 2019), voldoet het toch vaak niet aan de wettelijke eisen, dat wil zeggen niet aan de Nederlandse, wel aan de Europese.

TABEL 2.1 MAXIMAAL TOEGESTANE GEHALTEN AAN ZWARE METALEN IN ZUIVERINGSSLIB VOOR LANDBOUWKUNDIG GEBRUIK IN EU LIDSTATEN (IN MG/KG DS; MILIEU LTD ET AL., 2008)

	Cd	Cr	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
<i>Sewage sludge directive EU</i>	20-40	-	1000-1750	16-25	300-400	750-1200	2500-4000
Nederland	1,2	75	75	0,75	30	100	300
Duitsland	2	80	600	1,4	60	100	1500
Engeland	20-40	-	1000-1750	16-25	300-400	750-1200	2500-4000
Denemarken	0,8	100	1000	0,8	30	120	4000
Belgie – Vlaand	6	250	375	5	50	300	900
Belgie – Wall	10	500	600	10	100	500	2000
Frankrijk	20	1000	1000	10	200	800	3000
Zweden	2	100	600	2,5	50	100	800
Italië	20	-	1000	10	300	750	2500
Portugal	20	1000	1000	16	300	750	2500
Spanje	20-40	1000-1750	1000-1750	16-25	300-400	750-1200	2500-4000
Finland	1,5	300	600	1	100	100	1500
Slib-NL	1,2	41	409	0,7	28	107	978

2.1.2 BESLUIT GEBRUIK MESTSTOFFEN (BGM) EN UITVOERINGSBESLUIT MESTSTOFFENWET (UBM)

In de Nederlandse landbouw is het gebruik van zuiveringsslib geregeld in het Besluit gebruik Meststoffen, nader uitgewerkt in het Uitvoeringsbesluit meststoffen (Ubm, 2005). In het Besluit gebruik meststoffen zijn de voorwaarden voor toepassing van slib in de landbouw opgenomen. Dit betreft doseringsvoorschriften, hygiëniseringsbehandeling en een aantal aanvullende voorwaarden. Het gebruik van slib in de landbouw is toegestaan wanneer de toetsingsnormen voor zware metalen niet overschreden worden (Bijlage III van het Bgm). Omdat de normen worden berekend aan de hand van het organische stof- en lutumgehalte van de bodem, verschillen de mogelijkheden voor toepassing per locatie. De EU schrijft een bereik voor in toetsingsnormen, die per land verder kunnen worden ingevuld. Ook hier heeft Nederland destijds voor een scherpere norm gekozen.

Het Uitvoeringsbesluit meststoffenwet (Ubm) stelt maximaal toelaatbare waarden voor zware metalen in zuiveringsslib en compost (Tabel 2.2). Deze waarden zijn gebaseerd op het voorkomen van accumulatie van metalen in de bodem met als uitgangspunt dat er na 100 jaar bemesting met zuiveringsslib geen toename in de gehalten aan zware metalen mag zijn opgetreden ('voorzorgsprincipe'). Dat betekent dat de maximale vracht aan zware metalen (dosering x concentratie) gelijk gesteld is aan de jaarlijkse afvoer via opname door gewas en door uitspoeling (TCB, 1989, 1991). De kritische parameters voor landbouwkundige toepassing van zuiveringsslib zijn bijna altijd koper en zink. Ook wordt de voorwaarde gesteld dat zuiveringsslib langs biologische, chemische of thermische weg een hygiëniseringsproces heeft ondergaan teneinde aanwezige pathogenen te doden. Het wordt als meststof geacht ten minste 50 gewichtsprocenten organische stof van de droge stof te bevatten of een pH-neutraliserende waarde van 25 (op basis van droge stof).

TABEL 2.2 GRENSWAARDEN ZWARE METALEN IN COMPOST EN ZUIVERINGSSLIB (CF. BIJLAGE II, UBM, 2005)
(IN MG/KG DS; PER 1 JAN 2008 ZIJN DE GRENSWAARDEN VOOR CU EN ZN VOOR COMPOST VERRUIMD DOOR TOEPASSING VAN EEN
HANDHAVINGSFACTOR (1,43), WAARMEE DE PRAKTIJK IS GEFORMALISEERD)

	Compost	Zuiveringsslib
Cd	1	1,25
Cr	50	75
Cu	90	75
Hg	0,3	0,75
Ni	20	30
Pb	100	100
Zn	290	300

Vanaf 1980 werd door de Unie van Waterschappen (UvW 1980, 1985) een advies ten aanzien van de norm voor zware metalen in zuiveringsslib ontwikkeld, een advies dat later nader werd uitgewerkt en aangepast door de Technische Commissie Bodembescherming (TCB, 1991). Met de invoering van de Europese Sewage Sludge Directive (SSD 86/278 EEG, 1986) ontstond de noodzaak om concrete normen op te stellen op basis van de genoemde adviezen, wat resulteerde in het Besluit kwaliteit en gebruik Overige Organische Meststoffen (BOOM), dat vanaf 1993 van kracht werd. Het was bij de ontwikkeling van deze normen al duidelijk dat zuiveringsslib hiermee uitgesloten zou worden voor toepassing in de landbouw. Vanaf 1 januari 2008 is het BOOM-besluit opgenomen in het huidige Besluit gebruik meststoffen (Bgm) en de Uitvoeringsregeling gebruik meststoffen.

2.1.3 GEBRUIK VAN ZUIVERINGSSLIB IN DE LANDBOUW BINNEN DE EU

Binnen de EU landen bestaan grote verschillen in normstelling voor zware metalen (Tabel 2.1) en dientengevolge ook in het gebruik van zuiveringsslib voor landbouwkundig gebruik (Tabel 2.3). In sommige landen is het gebruik van slib in de landbouw zeer gangbaar (Frankrijk, Engeland, Spanje, Portugal), in andere niet of vrijwel niet mogelijk (België, Zwitserland, Nederland). Dat verschil heeft deels te maken met de historie, deels met de manier waarop tegen de risico's van metaalaccumulatie in de bodem wordt aangekeken en deels ook met de marktvrage (voor dit laatste punt, zie 2.2).

In de jaren tachtig van de vorige eeuw ontstond maatschappelijke weerstand tegen het gebruik van slib in de landbouw vanwege twijfels over de voedselveiligheid en door incidenten met het gebruik van slib door gebrek aan hygienisatie (o.a het feit dat koeien niet meer tochtig werden). Ook was het zo dat in gebieden met een intensieve veehouderij een overschot aan dierlijke mest ontstond (Nederland!) waardoor de vraag naar zuiveringsslib als meststof afnam. Dit verklaart voor een groot deel de verschillen in de discussie die binnen de EU-landen gevoerd is. In Nederland is de discussie gestopt na het besluit slib niet langer in de landbouw te gebruiken, in andere landen door de invoering van strengere voorwaarden (Engeland, Denemarken, Zweden). In de zuid-Europese landen is er weinig discussie over toepassing geweest.

TABEL 2.3 PRODUCTIE VAN ZUIVERINGSSLIB IN EEN AANTAL GESELECTEERDE EU-LANDEN EN TOEPASSING VOOR LANDBOUWDOELEINDEN EN VOOR COMPOSTERING (GEMIDDELTE WAARDEN OVER 2006-2015; GETALLEN IN TONNEN *1000 (DS BASIS), PERCENTUEEL AANDEEL VOOR LANDBOUWKUNDIG GEBRUIK EN COMPOSTERING IN GEKLEURDE KOLOMMEN; NB = GEGEVENS NIET BESCHIKBAAR) (EUROSTAT, 2018)

	Productie	Landbouwkundig gebruik		Compostering en andere toepassingen	
Duitsland	1.930	540	28%	330	17%
Polen	541	108	20%	33	6%
Zweden	207	48	23%	62	30%
Hongarije	176	29	17%	55	31%
Ierland	80	62	78%	16	20%
Belgie	146	15	10%	0	0%
Denemarken	130	67	51%	NB	NB
Spanje	1.144	871	76%	NB	NB
Frankrijk	978	543	56%	291	30%
Italië	1.103	316	29%	NB	NB
Nederland	351	0	0%	0,5	0,1%
Oostenrijk	255	41	16%	73	29%
Portugal	291	164	56%	NB	NB
Verenigd Koninkrijk	1.627	981	60%	NB	NB
Zwitserland	206	7	3%	0	0%

Ook met betrekking tot de inschatting van en omgang met milieurisico's verbonden aan de verspreiding van zware metalen via de landbouw zijn er grote verschillen tussen de EU landen. Daarbij betreft het vooral koper en zink. Aangezien deze metalen als micronutriënten moeten worden beschouwd en bij de meeste gewassen pas bij zeer hoge concentraties in de bodem merkbare negatieve effecten vertonen, verschilt juist hiervoor de norm (zie Tabel 2.1), terwijl de overige metalen meer eenduidig als toxisch worden beschouwd. Illustratief hiervoor is dat in Denemarken de discussie over landbouwkundig gebruik van slib gestopt is na de invoering van nieuwe normen voor zware metalen, waarbij ruime normen voor koper (1000 mg/kg DS) en zink (4000 mg/kg DS) werden gehanteerd, maar daar tegenover zeer strenge normen voor de overige metalen (zie Tabel 2.4).

TABEL 2.4 KWALITEIT VAN ZUIVERINGSSLIB GEBRUIKT IN DE LANDBOUW IN EEN AANTAL GESELECTEERDE EU-LANDEN (METALEN IN MG/KG, N EN P IN G/KG, ALLE OP DS BASIS, BRON: MILIEU LTD, 2008)

	Zn	Cu	Pb	Ni	Cr	Hg	Cd	Ntot	Ptot
Zweden	481	349	24	15	26	0,6	0,9	4,5	2,7
Denemarken	713	300	37	25	37	0,4	1,0	4,3	3,7
Spanje	744	252	68	30	72	0,8	2,1	4,5	3,6
Italie	879	283	101	66	86	1,4	1,3	4,1	2,1
Portugal	996	153	51	32	127	4,6	4,0	0,9	0,6
Verenigd Koninkrijk	574	295	112	30	61	1,2	1,3	2,8	2,2

Door de verschillende inzichten en toelatingseisen in de verschillende EU landen blijft dit onderwerp van discussie en hoewel er vooralsnog geen nieuwe normen voor koper en zink zijn opgenomen in de nieuwe EU Meststoffenverordening, zijn er ontwerpnormen voor organische meststoffen en bodemverbeteraars voorgesteld door de Joint Research Centre (Tabel 2.5), die laten zien dat er meer ruimte wordt gecreëerd voor met name koper en zink. Echter, voor alle slib en slibproducten geldt nog steeds dat deze expliciet verboden blijven als meststof met een CE-markering.

TABEL 2.5 ONTWERPNORMEN VOOR ORGANISCHE MESTSTOFFEN EN BODEMVERBETERAARS ALS ONDERDEEL VAN HET ONTWERP VOOR DE NIEUWE EU MESTSTOFFENVERORDENING (COM (2016) 157; IN MG/KG DS)

Cu	600*
Zn	1500*
Cd	1,5
Cr	2
Hg	1
Ni	50
Pb	120

* in het voorstel uit 2017 zijn geen normen voor koper en zink voorgesteld; echter vanuit de lidstaten is het voorstel gedaan koper en zink te reguleren met een norm van resp. 600 en 1500 mg/kg DS

2.1.4 CONCLUSIES

De EU richtlijn (SSD 86/278/EC), gebaseerd op kennis uit die tijd is inmiddels verouderd. In vele EU-landen zijn aanpassingen gedaan op basis van nieuwe wetenschappelijke inzichten ten aanzien van effecten van zuiveringsslib voor landbouwkundig gebruik. De kwaliteit van slib is de laatste decennia verbeterd (voor wat betreft een aantal toxische metalen: cadmium, lood en chroom), maar gelijktijdig zien we daarbij in een aantal (voornamelijk noordwest-Europese) landen een verschuiving naar lagere grenswaardes voor zware metalen². Binnen Nederland is slib uitgesloten als meststof op basis van een overschrijding van de norm voor zware metalen, meestal koper en zink. Er zijn inmiddels veel argumenten die pleiten voor een verruiming: er wordt bezwaar gemaakt tegen het feit dat de belasting en milieurisico's van zware metalen worden afgemeten aan totaalconcentraties en niet aan de reactiviteit (Ehlert et al., 2017) en er wordt gesteld dat de Nederlandse normen te streng en te algemeen zijn en er veel meer aandacht zou moeten komen voor het terugleveren van organische stof en sporenelementen aan de bodem, gerelateerd aan de specifieke behoeften en conditie van de bodem, teelt en gebied (o.a. *Dutch Biorefinery Cluster*, Hemel en Klijn, 2017).

2 http://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/part_iii_report.pdf (2010)

Daarnaast is een verschuiving te constateren van de aandacht voor de normstellende metalen naar stoffen die in de EU Richtlijn niet voorkomen of wettelijk geregeld zijn, maar desalniettemin de kwaliteit en daarmee de mogelijkheden voor toepassing in de landbouw sterker zijn gaan bepalen: pathogenen, organische microverontreinigingen en microplastics.

2.2 LANDBOUWKUNDIG PERSPECTIEF

2.2.1 VERANDERING IN LANDBOUWKUNDIGE INZICHTEN TEN AANZIEN VAN BODEMGEBRUIK

In steeds meer landbouwkundige kringen ontstaat het inzicht dat de (fysieke) structuur en de biologische kwaliteit van de bodem in toenemende mate van belang is voor een duurzaam landbouwkundig gebruik. Daarin speelt de toevoeging van organische stof een cruciale rol. Op veel landbouwgronden, zowel op de zand- als kleigronden, is een structureel tekort aan effectieve, stabiele organische stof. Bodemverbetering door middel van toevoeging van organische stof die het bodemleven stimuleert is daarom noodzakelijk om de landbouwproductie op peil te kunnen houden. Het levert een belangrijke bijdrage aan het vochthoudend vermogen van de grond (klimaatadaptatie), beperking van de uitspoeling van nutriënten naar grond- en oppervlaktewater, een verbetering van de landbouwproductie (bodembenutting) en versterking van de biologische bodemvruchtbaarheid (o.a. Conijn, 2015; de Haan, 2017; Hemel en Klijn, 2017; Aequator Groen & Ruimte, 2018). Meer specifiek voor de akkerbouw geldt dat de klassieke chemische benadering, waarin de hoeveelheden macronutriënten (N,P,K) als bepalend worden gesteld voor gewas-opbrengst, aan een grondige herziening toe is nu meer en meer duidelijk wordt dat de afvoer (door hogere productie) van nutriënten groter is dan kan worden aangevoerd (beperkingen vanuit wet- en regelgeving) en bovendien dat het in veel meststoffen ontbreekt aan essentiële micronutriënten (sporenelementen) (Hemel en Klijn, 2017). Men noemt de neerwaartse trend in het aanbod aan micronutriënten en organische stof in de Nederlandse bodem zorgwekkend en geeft aan dat gerichte toepassing van slib, dat rijk is aan de meest noodzakelijke sporenelementen een goede oplossing zou zijn om dit evenwicht te herstellen (Chardon & Oenema, 2013; Hemel & Klijn, 2017). Hoewel door Hemel en Klijn weliswaar aan AWZI slib wordt gerefereerd, kan dit wellicht ook betekenis hebben voor RWZI slib, omdat het rijk is aan stabiele organische stof en sporenelementen en dus een belangrijke rol kan spelen in bodemverbetering, mits het niet al te zeer met andere stoffen verontreinigd is. Er zijn daarbij vooral zorgen omtrent organische microverontreinigingen en microplastics, maar daarover is nog weinig bekend.

2.2.2 LANDBOUWKUNDIGE WAARDE VAN SLIB EN MARKTPERSPECTIEVEN

De afzetmogelijkheden voor zuiveringsslib in de landbouw hangen nauw samen met de mogelijkheden om het slib te verwerken tot meststof of bodemverbeteraar. Bij organische meststoffen gaat het vooral om de toegevoegde hoeveelheid nutriënten, bij de meeste bodemverbeteraars is het nutriëntengehalte laag en gaat het vooral om organische stof en sporenelementen. Het probleem van de Nederlandse landbouw is dat zij kampt met een groot overschot aan nutriënten, met als gevolg dat de afzet van dierlijke mest en organische meststoffen naar 'tekortgebieden' met geld toe plaatsvindt. Het gehalte aan nutriënten is daarom bepalend voor de positie en mogelijke afzet van slib, omdat de samenstelling van een product bepaalt hoe het gepositioneerd wordt. Hierin speelt *fosfaat* een cruciale rol. Omdat slib en slibproducten gekenmerkt worden door een hoog fosfaatgehalte, kunnen zij vooralsnog alleen als organische meststof op de markt komen. Paradoxaal genoeg heeft fosfaat potentieel een waardeverhogend effect, maar dat geldt niet in Nederland, waar een enorm fosfaatoverschot bestaat. Aangezien de gift van meststoffen op landbouwgronden wordt gereguleerd casu quo

beperkt door de zgn. *gebruiksnormen* (vooral fosfaat en in mindere mate stikstof) moet slib met dierlijke mest concurreren en is fosfaat juist een probleem; omdat het fosfaatgehalte in slib veel hoger is dan in dierlijke mest is de concurrentiepositie van slib als fosfaathoudende organische meststof slecht, temeer daar akkerbouwers in Nederland geld toe krijgen wanneer ze fosfaathoudende dierlijke mest 'kopen'³. In andere EU-landen ligt dat heel anders en heeft juist fosfaat een toegevoegde landbouwkundige waarde.

Er is inmiddels dan ook veel aandacht voor de terugwinning van fosfaat, ook uit zuiverings-slib (struviet). Wanneer slib fosfaatarm kan worden gemaakt, wordt daarmee de marktwaarde van slib voor de Nederlandse markt versterkt. Er zijn de laatste jaren een aantal studies gedaan naar het terugwinnen van fosfaat uit slib (o.a. Regelink et al., 2017) die aangeven dat slib inderdaad budgetneutraal fosfaatarm kan worden gemaakt. Echter, dit zou er gelijktijdig toe leiden dat in de toekomst de Nederlandse fosfaatmarkt nog ongunstiger zal worden en daarmee ook de kansen voor de afzet van slib als organische fosfaatmeststof (Regelink et al., 2017, Hemel en Klijn, 2017). Een alternatief voor de afzet van slib kan dan worden gezocht in de export naar andere EU-landen, hoewel dit met de huidige afvalstatus van zuiveringsslib niet eenvoudig is. Daarbij werd vooral de afzet van slib naar Duitsland als kansrijk beschouwd (Ijzerman et al., 2014) maar door de nieuwe wetgeving (AbfKlärV, 2015) is het duidelijk dat er een verbod komt op landbouwkundig gebruik en daarmee vervalt deze route. Frankrijk biedt meer perspectieven voor nieuwe afzetmarkten vanwege de grote vraag naar fosfaatmeststoffen en de soepele normen ten aanzien van zware metalen. Gehygiëniseerd slib als meststof wordt voornamelijk in de wijnteelt toegepast en is daar als zodanig geaccepteerd. GMB Bioenergie heeft inmiddels productierkenning om zijn gecomposteerde en gehygiëniseerde communale zuiveringsslib (biogranulaat) als meststof naar Frankrijk af te zetten.

Bodemverbeteraars, vooral bestaande uit GFT- of groencompost, zorgen primair voor organische stof en veel minder voor de aanvoer van nutriënten. Vooral in de akkerbouw en de bollenteelt is grote behoefte aan bodemverbeteraars die bijdragen aan een hoog organisch stofgehalte in de bodem. Om voldoende organische stof aan te voeren moet het fosfaatgehalte voldoende laag zijn om te voldoen aan de fosfaatgebruiksnorm. Hierbij profiteert compost van de zgn. fosfaatvrije voet, waardoor het fosfaatgehalte voor 50% is vrijgesteld van de gebruiksnorm. Het is duidelijk dat ook vanuit dit perspectief slib en slibproducten een lage marktwaarde hebben.

De fosfaatgebruiksnormen bepalen dus voor een groot gedeelte de positionering en daarmee de marktwaarde van reststromen. Conform de huidige wetgeving is dit gebaseerd op de verhouding tussen organische stof en het stikstof- en fosfaatgehalte. Vanuit deze berekeningswijze heeft een product met een hoog organisch stofgehalte per kg fosfaat een goede positionering en marktwaarde; vergelijkenderwijs is compost in dit geval veel gunstiger dan slib of rundermest omdat het percentage organische stof per kg fosfaat erg hoog is (zie Tabel 2.6). Rundermest heeft daarin ook een hogere waarde dan varkensmest, omdat het een hogere organische stofaanvoer per kg fosfaat heeft. Bij bemesting met zuiveringsslib is de aanvoer van organische stof per kg fosfaat lager dan bij dierlijke mest, waardoor toepassing van dierlijke mest aantrekkelijker is dan slib.

3 De afzetkosten exclusief transportkosten bedragen ca. € 17/ton voor varkensmest en ca. € 11/ton voor rundermest (de Koeijer & Luesink, 2017)

TABEL 2.6

LANDBOUWKUNDIGE WAARDE VAN ZUIVERINGSSLIB, GROENCOMPOST EN MESTSOORTEN UITGEDRUKT ALS DE AANVOER VAN ORGANISCHE STOF (OS AANVOER, KG OS/KG P₂O₅; GEHALTES AAN P₂O₅ EN NTOT IN G/KG DS) [NAAR: REGELINK ET AL., 2017]

	DS%	OS%	P205	Ntot	OS aanvoer
Slib	24	68	78	56	8,7
Groencompost	63	28	4,6	8	116
Varkensmest	8	69	50	90	14
Runderdrijfmest	7	77	17	50	44

Vanuit nieuw landbouwkundig perspectief, zoals geschetst in paragraaf 2.2.1, zijn er echter ook andere invalshoeken voor waardegevende bestanddelen, waarbij het belang van organische stof en de hoeveelheid sporenelementen voorop staan vanuit een duurzaam, circulair landbouw-perspectief. In een studie van het Dutch Biorefinery Cluster wordt de verhouding tussen organische stof, de hoeveelheid sporenelementen en het fosfaat- en stikstofgehalte als bepalend gezien voor de bemestende waarde (Hemel en Klijn, 2017). Dit is vooral van belang in de akkerbouw op oude zeekleigronden met lage (< 2,5%) organische stofgehalten (voornamelijk gelegen in Zeeland, Flevoland, Noord-Holland, Friesland en Groningen), met een laag fosfaatleverend vermogen en lage waarde voor koper (< 40 ug Cu/kg), magnesium (< 50 mg Mg/kg), zink (< 500 ug Zn/kg), calcium (< 218 kg Ca/ha) en zwavel (< 20 kg S/ha) [Eurofins Agro, 2016]. In Tabel 2.7 zijn gegevens samengevat van de samenstelling van zuiveringsslib, verschillende mest- en compost- soorten. Daaruit blijkt dat vooral slib een hoog aandeel heeft aan sporenelementen.

Vanuit dit perspectief zou de marktwaarde van slib veel gunstiger uit kunnen pakken, mits het niet al te zeer verontreinigd is met andere stoffen. Verschillende onderzoekers benadrukken het belang van sporenelementen en Hemel en Klijn (DBC rapport, 2017) stellen daarom dat het in dit licht bezien voor de wetgever van belang is om het gebruik van biomassa reststromen die sporenelementen en organische meststof bevatten aan te moedigen.

2.2.3 CONCLUSIE

Nieuwe inzichten in het landbouwkundig gebruik van de bodem dagen uit om de huidige berekeningsmethoden en waardebepaling van zowel organische meststoffen als bodemverbe-teraars, hoofdzakelijk gebaseerd op fosfaatgebruiksnormen, te heroverwegen. Voor een duurzame, op circulair gebruik gebaseerde landbouw - vooral in de akkerbouw - zijn de hoeveelheid sporen-elementen in combinatie met het organisch stofgehalte van cruciaal belang en verdienen meer aandacht. Slib en slibproducten kenmerken zich door een hoog fosfaatgehalte, maar tegelijkertijd door een hoog gehalte aan organische stof en sporenelementen. Omdat de druk op fosfaat en stikstof de komende decennia verder toe zal nemen, is het belang groot om slib ofwel te defosfateren of in te zetten in gebieden waar er vraag naar is. Ook is het hierin van belang te onderzoeken in welke mate zuiveringsslib verontreinigd is met andere verontreinigingen dan zware metalen zoals organische microverontreinigingen, microplastics en nanodeeltjes.

TABEL 2.7 VERGELIJKING VAN DE KWALITEIT VAN ZUIVERINGSSLIB MET VERSCHILLENDE MEST- EN COMPOSTSOORTEN [(1) METINGEN ZUIVERINGSSLIB IN 2017 DOOR PETER LAAN, ICP, B-WARE NIJMEGEN; (2) BRON: RÖMKENS & RIETSTRA, 2008; DELTARES, 2018; NUTRINORM 2018; (3) GEGEVENS GROENCOMPOST: ATTERO, 2016-2018; BOKASHI OP BASIS VAN GROENCOMPOST, AGRITON, NOORDWOLDE; VOORBEELDEN, WANT AFHANKELIJK VAN INGANGSMATERIAAL]

	Zuiveringsslib (1)		Mestsoorten (2)			Compostsoorten (3)	
	Steekvast slib Zwolle, 2017	Surplus slib Apeldoorn 2017	Vleesvarkens (drijf)mest	Rundveemest	Vleeskuiken mest (droog)	Groen-compost	Bokashi
pH	nb	nb	nb	nb	nb	7,5	6,5
DS (%)	23	7,6	10,7	9,2	62	68,5	49,3
Org.stof %	33,3	25,4	87	69	85	29,3	38
Nkj (g N/kg DS)	nb	nb	6,4	4	31,1	13	6,3
Ptot (g P/kg DS)	34,6	39,9	3,8	1,5	15,4	7,5	2,8
K ₂ O (g/kg DW)	13,6	31,2	5,3	5,4	20	11,2	4,1
MgO (g/kg DW)	10	14,2	1,4	1,2	7	5,5	2,5
Ca (g/kg DW)	5,3	13,7				17,8	20
Fe (g/kg DW)	47	11,7				5-7,3	
B (mg/kg DW)	61	34				17-20	
Mn (mg/kg DW)	835	194				200-274	
Si (mg/kg DW)	880	1037				69	
Mo (mg/kg DW)	6,1	4,6				1,3-1,7	
Co (mg/kg DW)	5,5	4,4					
S (g/kg DW)	18	9,4	0	0,7	5		0,9
totaalgehalte mg/kg DW							
Cd	2,15	1,1	0,35	0,25	< 0,21	0,4	0,25
Cr	34	15	8,1	< 6,4	3,9	25	12
Cu	481	142	404	135	78	24-35	23
Hg	0	0	< 0,14	< 0,12	< 0,04	0,09	0,03
Ni	21	15	9,2	4,5	3,3	14	5
Pb	103	64	<5,6	< 4,8	< 6,3	53	19
Zn	1081	721	952	198	266	150-174	94

2.3 KANSEN VOOR TOEPASSING VAN SLIB VANUIT DE CIRCULAIRE ECONOMIE

In 2016 heeft de Europese Commissie een set maatregelen uitgevaardigd die zijn gericht op een transitie van een lineaire naar een circulaire economie. Onderdeel daarvan is de nieuwe Meststoffen verordening, die het mogelijk maakt om hernieuwbare bronnen te hergebruiken en afvalstoffen die aan de voorwaarden van deze nieuwe verordening voldoen, van hun afvalstatus af te laten komen, waardoor ze als meststof met CE-markering vrij verhandeld kunnen worden.

Ook in Nederland is de transitie van een lineaire naar een circulaire economie in volle gang. In de Transitieagenda's wordt een toekomstig beleid geschetst waarin het in essentie gaat om het circulair benutten van nutriënten, minder primaire grondstoffen te verbruiken (vooral de extern aangevoerde bronnen zoals fosfaat) en de beschikbare materialen en nutriënten zo veel mogelijk binnen de kringloop te houden (Transitieagenda's Circulaire Economie, Transitieagenda Biomassa en Voedsel, 2018). Dit is inmiddels ook een van de speerpunten van het Ministerie van LNV, die kringlooplandbouw en het hergebruik van nutriënten op regionaal niveau centraal stelt in haar beleidsvisie. De zoektocht naar mogelijkheden voor regionaal hergebruik van potentiële grondstoffen en nutriënten is daarmee een belangrijke opgave in de versterking van de circulaire economie.

Hoewel de EU de ambitie heeft de afhankelijkheid van externe fosfaatbronnen terug te dringen en fors in te zetten op terugwinning, is verplichte terugwinning uit communiaal afvalwater of slib nog geen verplichting, ondanks het feit dat hier wel een grote potentie in zit (ca. 20% van het totale P-verlies in de EU). Ondanks het belang van terugwinning van fosfaat als eindige, niet hernieuwbare grondstof wordt voorzien dat de prijs van zowel stikstof als fosfaat de komende 5 jaar eerder zal dalen dan stijgen.

In het kader van circulaire landbouw is het op peil houden van de hoeveelheid nutriënten in de bodem cruciaal. Hierin spelen niet alleen de macronutriënten (fosfaat, stikstof, kalium) een rol, maar ook de hoeveelheid organische stof en sporenelementen (de Haan, 2017).

Hoewel zuiveringsslib en slibcompost vooralsnog expliciet uitgesloten zijn van hergebruik zit er wel beweging in: enerzijds omdat slib steeds schoner wordt en deels reeds aan de normen voor zware metalen voldoet, anderzijds omdat het met name koper en zink betreft, elementen waar in het nieuwe EU ontwerp Meststoffenverordening meer ruimte voor gegeven zal gaan worden. Hier tegenover staat echter wel dat er veel nieuwe verontreinigende stoffen in slib zijn geconstateerd, zoals organische microverontreinigingen en microplastics. In welke slibsoorten (AWZI of RWZI slib, maar ook per locatie zeer verschillend) en in welke mate deze verontreinigingen aanwezig zijn is op dit moment niet duidelijk en dient nader onderzocht te worden.

Door de Dutch Biorefinery Cluster wordt daarom aanbevolen om de toepassing van reststromen zoals (AWZI) slib en compost beter te faciliteren door de ruimte binnen de Europese wet- en regelgeving te benutten (Hemel en Klijn, 2017). Volgens hen kan dit het best door de normering (van slib/digestaat normen) aan te passen aan de specifieke behoefte van grond in relatie tot de conditie van de bodem in een bepaalde teelt en/of gebied. Als het duidelijk is dat op bepaalde gronden, bijvoorbeeld meer koper en zink noodzakelijk is voor het behoud van een goede bodemkwaliteit, dan zou voor deze behoefte de norm voor de benodigde sporenelementen verhoogd moeten worden.

2.4 CONCLUSIES

Het marktperspectief voor hergebruik van slib en slibproducten in de landbouw en het creëren van nieuwe afzetmarkten hangt nauw samen met de stringente Nederlandse en EU wet- en regelgeving; in Nederland is met name de fosfaatgebruiksnorm hierin bepalend en zorgt er voor dat slib vooralsnog een slechte marktpositie heeft.

Ondanks het feit dat slib en slibproducten vooralsnog uitgesloten zijn voor hergebruik als organische meststof of bodemverbeteraar is er wel degelijk perspectief voor slib. Dit is gebaseerd op een aantal achtergronden, te weten:

- a. zuiveringsslib is de afgelopen decennia schoner geworden, vooral voor wat betreft de hoeveelheid toxische zware metalen (cadmium, chroom, lood);
- b. in de nieuwe EU-meststoffenverordening wordt voorgesteld om voor koper en zink ruimere normen te hanteren, wat gunstig is voor slib omdat koper en zink vaak de kritische parameters zijn;
- c. hergebruik van slib in de landbouw is in een groot aantal EU-landen wel toegestaan en gebruikelijk, ook vanuit de behoefte aan fosfaat, waardoor export van slib nieuwe kansen biedt;
- d. de agenda voor circulaire economie in zowel de EU als Nederland richten zich sterk op terugwinning en hergebruik van grondstoffen, maar ook op klimaatadaptatie en terugdringen van de CO₂ footprint;

- e. nieuwe landbouwkundige inzichten geven aan dat vooral in de akkerbouw en bollenteelt de hoeveelheid organische stof en sporenelementen belangrijke factoren zijn voor een duurzaam bodemgebruik en een verbetering van de gewasopbrengst; hiernaast wordt ook het belang van het vochtbergend vermogen van de bodem een steeds belangrijker factor, vooral op zandgronden;
- f. er zijn weliswaar een groot aantal nieuwe stoffen zoals organische microverontreinigingen (o.a. medicijnresten) en microplastics geconstateerd, maar daarover is nog weinig bekend, vooral niet of en in welke mate deze voorkomen in slib. Nader onderzoek, vooral op veldschaal, is aan te bevelen om ook de manier waarop de bodem en het bodemleven omgaan met dergelijke stoffen te onderzoeken.

In dit kader zouden de waterschappen een rol kunnen vervullen door het verder (laten) onderzoeken van de effecten van landbouwkundig gebruik van slib op veldschaal inclusief monitoring, het liefst in nauwe samenwerking met landbouwpartners en potentiële afnemers.

3

ZUIVERINGSSLIB ALS UITGANGSMATERIAAL VOOR BIOLOGISCHE TOEPASSING

3.1 INLEIDING

In dit project wordt slib als uitgangsmateriaal voor de groei van planten of champignons gebruikt. Dat stelt andere eisen aan het slib dan de gebruikelijke. Immers, wanneer de eindbestemming verbranding is, is indikking en ontwatering van groot belang om daarmee het droge stofgehalte te verhogen en de transportkosten en kosten voor verwerking en eindafzet zo laag mogelijk te houden. Wanneer slib als groeimedium of grondstof wordt gebruikt zijn niet de indikking en ontwatering leidende principes, maar eerder de verkrijgbaarheid, hanteerbaarheid, mengbaarheid en fysisch-chemische samenstelling. Daarbij gaat het er om het slib zodanig te bereiden of te bewerken dat een geschikt groeimedium ontstaat: voor planten is dat een substraat dat enigszins lijkt op de bodem waar de plant onder natuurlijke omstandigheden voorkomt, voor champignons is dat een goed composteerproces. Aan de andere kant is het, om de opschaling naar een geschikte business case of verdienmodel te verkennen, gelijktijdig van belang om niet al te veel behandelingen te hoeven toepassen omdat dit – wanneer er een succesvolle methode wordt gevonden – de opschaalbaarheid moeilijk maakt. Cruciale factoren in de keuze voor een geschikte slibsoort zijn:

- het droge stofgehalte: voor de groei van planten en champignons is een slib nodig dat mengbaar is, niet te dun maar ook niet te dik (15-25% DS);
- de verkrijgbaarheid: wanneer we een methode ontwikkelen die opgeschaald kan worden is het van belang om een slib te gebruiken dat gemakkelijk verkrijgbaar is;
- de mengbaarheid: slib moet gemengd kunnen worden met bijvoorbeeld zand of met andere materialen in een composteringsproces.

Vervolgens is het vaststellen van de uitgangssituatie van de slibkwaliteit en -samenstelling van belang om een inschatting te kunnen maken van de manier waarop het slib toegepast kan worden of eventueel bewerkt alvorens de phytoremediatie-experimenten te starten. Het betreft hier factoren als:

- de hoeveelheid organische stof: dit is niet alleen van belang voor ons uiteindelijke doel om slib te gebruiken voor een toepassing in de landbouw als bodemstructuurverbeteraar, maar ook om de kansen voor groei van de geselecteerde soorten in te schatten. Immers, er zijn plantensoorten die van nature op organische of op meer minerale bodems voorkomen en dit bepaalt voor een belangrijk deel welke eisen aan het substraat gesteld moeten worden om een optimale groei te bewerkstelligen;
- het gehalte aan zware metalen: de keuze van het slib bepaalt voor een groot deel ook de hoeveelheid en de beschikbaarheid van zware metalen. Niet alleen hecht het overgrote

deel van de zware metalen zich aan actief slib (Lester, 1983; Lake, 1989), ook is het zo dat vergist slib hogere concentraties aan zware metalen bevat door de afbraak van organische stof (IJzerman et al., 2014). De beschikbare hoeveelheid zware metalen is van belang voor de keuze van plantensoorten of populaties van dezelfde soort, aangezien er soorten zijn die alleen bij (zeer) hoge concentraties aan metalen gedijen en soorten die juist bij wat lagere concentraties goed groeien (zie verder hoofdstuk 4);

- het gehalte aan macronutrienten: omdat slib zich kenmerkt door hoge stikstof- en fosfaatconcentraties, is het van belang te bepalen hoe hoog de oplosbare fracties zijn om daarmee in te kunnen schatten of de geselecteerde plantensoorten sowieso goed kunnen groeien op dergelijke zeer nutriëntenrijke substraten.

3.2 GESELECTEERDE SLIBSOORTEN

Bij het verkrijgen van geschikt slib voor deze experimenten is primair gekeken naar verkrijgbaarheid, droge stofgehalte, mate van vergisting en fysiek voorkomen, c.q. mengbaarheid en hanteerbaarheid. Op deze manier werden een aantal slibsoorten geselecteerd en vielen een aantal af⁴. Het steekvaste slib, dat regulier wordt aangevoerd ter verwerking bij GMB Bioenergie, met een DS% rond de 20-25% leek geschikt om mee te starten voor de experimenten met de planten. Dit slib werd verzameld bij de RWZI in Deventer. Voor de compostering ten behoeve van de experimenten met champignons werd, naast steekvast slib ook bio-granulaat (gehygieniseerd) gebruikt, afkomstig van GMB BioEnergie, Zutphen. Hoewel potentieel goed mengbaar bleek surplus slib te dun (DS% ca. 8); ook Anammox slib, dat een heel laag vrij N-gehalte bezit bleek te dun (1-3% DS) en bovendien moeilijk verkrijgbaar. 'Laag fosfaat' slib bleek erg moeilijk te krijgen en als het wel te verkrijgen was, was het fosfaatgehalte niet veel lager dan regulier slib. Ook werden een aantal slibsoorten en te gebruiken substraten chemisch geanalyseerd waardoor een beter idee werd verkregen van de gehalten aan macronutrienten en de mate van verontreiniging met zware metalen (zie paragraaf 3.3).

3.3 ANALYSE VAN GEBRUIKTE SLIBSOORTEN EN SUBSTRATEN

Van de potentiële slibsoorten en champost (het afvalproduct van de champignonteelt) werd een chemische analyse uitgevoerd: droge stof en organische stofgehalte en de gehalten aan micro- en macronutrienten alsook de gehalten aan zware metalen werden bepaald (Tabel 3.1). Uit de tabel is af te lezen dat:

- de concentraties zware metalen weliswaar in een aantal gevallen de norm overschrijden maar veel minder hoog zijn dan verwacht. Zoals verwacht zijn vooral koper en zink enigszins verhoogd en boven normwaarden;
- de fosfaatconcentraties zijn in lijn met reguliere metingen;
- het gehalte aan sporenelementen in slib relatief hoog is;
- champost een hoog organische stofgehalte heeft en niet of nauwelijks verontreinigd is met zware metalen.

Deze conclusies zijn van belang voor de voorbereiding van het substraat en de aanpak van de experimenten. Daarin spelen vooral de relatief lage concentraties zware metalen een rol bij de selectie van plantensoorten ten behoeve van phytoremediatie.

4 Slib werd verzameld bij Waterschap Vallei en Veluwe of GMB Bioenergie. Het zoeken van geschikt slib werd in het beheergebied van zowel WS Vallei en Veluwe als WS Rijn en IJssel gedaan.

TABEL 3.1 GEHALTES AAN MACRO- EN MICRONUTRIËNTEN EN ZWARE METALEN IN ZOWEL DE WATERIGE FRACTIE ALS DE TOTAALFRACTIE VAN EEN AANTAL GESELECTEERDE SLIBSOORTEN EN CHAMPOST

Analyses december 2017	Biogranulaat vers		Biogranulaat gerijpt		Surplus slib Apeldoorn		Steekvast slib GMB		Champost CNC	
	water opl. ⁽¹⁾	vast ⁽²⁾	water opl.	vast	water opl.	vast	water opl.	vast	water opl.	vast
% DS *	54,9		64		7,6		22,9		36,3	
% organische stof **	51,9		54,8		25,4		33,3		43,8	
Macronutriënten (in mg/kg DW)										
P totaal	845	33.679	1.123	35.061	16.550	39.857	690	34.632	2.490	6.252
K	0,4	6.409	0,4	6.856	918	12.053	2.253	3.438	0,4	31.452
Ca	3076	40.708	3.067	45.558	702	13.001	2.845	28.050	3.083	39.644
Na	12.532	4.811	11.777	4.680	6.285	2.940	1.906	1.047	15.438	4.393
S	25.802	16.800	27.263	16.672	3.255	6.126	6.045	12.197	40.798	26.957
Cl	6.910		4.880		482		3.962		1.889	
Sporenelementen (in mg/kg DW)										
Mg	1.118	9.213	1.117	9.959	1.264	7.257	779	5.222	1.119	5.461
Si	543	319	465	383	345	692	330	549	351	282
B	29	62	32	59	7	27	12	61	7	17
Fe	20	44.337	24	39.885	31	11.731	33	47.264	18	2.601
Mn	9,9	500	9	530	2,6	194	9,1	835	57	280
Mo	2,5	6,9	2,8	7,4	0,4	4,2	1,7	6,1	0,4	2,9
Co	0,6	7,2	0,6	7,4	1,2	3,2	1,3	5,5	0,1	1,6
Cu	11	362	9,7	356	14	142	6,5	481	4,6	38
Zn	8,4	1.024	10	1.017	9,3	721	5,8	1.081	18	170
Zware metalen (persistente stoffen) (in mg/kg DW)										
Al	5.263	9.842	3.716	9.908	367	23605	3.017	6.275	1.439	1.222
As	5,1	8,4	5,9	9,9	7,7	4,1	3,4	10	1,5	1,1
Cd	0,02	2,5	0,02	2,3	0,01	1,1	0	2,15	0,03	0,3
Cr	0,2	49	0,2	49	0,4	15	0,2	34	0,2	4,6
Hg	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ni	3,6	68	2,6	57	7,6	15	7,3	21	0,6	6,2
Pb	0,6	119	0,6	138	0,2	64	0,1	103	0,2	5,8

* DS% bepaald na 48 uur droging bij 103°C

** Organische stof % bepaald volgens gloeiverliesmethode (3 uur bij 550°C)

(1) wateroplosbare fractie met droog materiaal, aangezuurd met 0,1% HNO₃; niet verrekend voor (bodem)vochtfractie(2) destructiemonster (200 mg DW met 5 ml 65% HNO₃/2 ml 30% H₂O₂, meting op ICP)

- in blauw gemarkeerde getallen van gehalten aan zware metalen duiden op een normoverschrijding

3.4 VOORBEREIDING SLIB VOOR BIOLOGISCHE TOEPASSING: MENGEN

Het bleek noodzakelijk om het substraat te mengen omdat het onmogelijk was 100% slib direct te gebruiken voor experimenten in bloempotten of kweekbakken. Slib heeft de neiging om aan de bovenkant irreversibel uit te drogen, terwijl de onderste helft nat blijft. Deze eigenschap maakte het onmogelijk om daarin een kweek van planten uit te voeren. Mengten met 'neutraal' zand is daarom noodzakelijk en heeft daarbij expliciet niet het doel om materiaal te 'verdunnen' maar om een geschikt substraat te maken voor de groei van planten⁵. Het belangrijkste doel van het mengen met zand is om de doorluchting (aeratiegraad) van het substraat te verhogen en te voorkomen dat er anaërobie ontstaat. Met PE-houdend slib gaat

- 5 Mengten is in principe wettelijk verboden cf. de EU Kaderrichtlijn Afvalstoffen en het Landelijk Afvalbeheerplan (LAP2) waar het gaat om het 'verdunnen' van stoffen of het bijdragen aan diffuse verspreiding van persistente stoffen (zie IJzerman et al., 2014 - STOWA rapport 2014-35)

dit redelijk, maar het mengproces is niet volledig en er blijft op microschaal een scheiding van componenten (bolletjes slib). Er zijn twee soorten zand getest, die verschillen in hun voedingstoestand en korrelgrootte (duinzand en brekerzand). Deze werden in verschillende verhoudingen met slib gemengd tot een homogeen mengsel, dat diende als substraat voor de planten.

Omdat de menging moeilijk verliep en onvolledig was, is in de 2^e fase van het project omgezien naar alternatieven. PE-vrij slib, geproduceerd met de borstelcentrifuge⁶ (zie Figuur 3.1) diende zich aan als goed alternatief en in juni 2018 is een batch van 600 liter slib op de AWZI in Nieuwe Wetering gedraaid met de borstelcentrifuge (Figuur 3.1). Dit slib had een DS% variërend tussen 10-26%; voor de vervolggexperimenten met planten werd slib van 20-25% gebruikt dat inderdaad veel beter mengbaar was met zand tot een homogeen mengsel (Tabel 3.2).

Voor de champignonproeven (Hoofdstuk 5) werden slibsoorten gemengd volgens het standaard-protocol voor de bereiding van champignoncompost met paarden- en kippenmest, stro, gips en water. Hiertoe werd gehygeniseerd biogranulaat van GMB (DS 64%) en steekvast slib (DS ca. 23%) gebruikt in verschillende mengverhoudingen. Het biogranulaat bleek onbruikbaar omdat het zich niet mengde met de andere stoffen en dus een slecht resultaat mengsel opleverde. Het steekvaste slib leverde een beter resultaat op waarin de menging redelijk tot goed verliep en een redelijk homogeen substraat opleverde.

FIGUUR 3.1 DE BORSTELCENTRIFUGE OPSTELLING IN NIEUWE WETERING, V.L.N.R. OVERZICHT PROEFOPSTELLING BORSTELCENTRIFUGE INSTALLATIE, HET SLIB IN DE BORSTEL, INGEDIKT SLIB IN DE TROMMEL EN HET EINDPRODUCT UIT DE TROMMEL (FOTO'S: PETER LAAN EN HANS NIEUWENHUIS)



6 Zie van den Bulk & van Boldrik (STOWA rapport 2018-35)

TABEL 3.2

DROGE STOF EN ORGANISCHE STOFGEHALTES VAN DE GEBRUIKTE SLIBSOORTEN

2018	DS (%)	Organische stof (%)
Borstelslib 26 juni	24,0	39,5
Borstelslib 28 juni	10,1	27,0
Deventer slib 25 juni	23,7	26,9

4

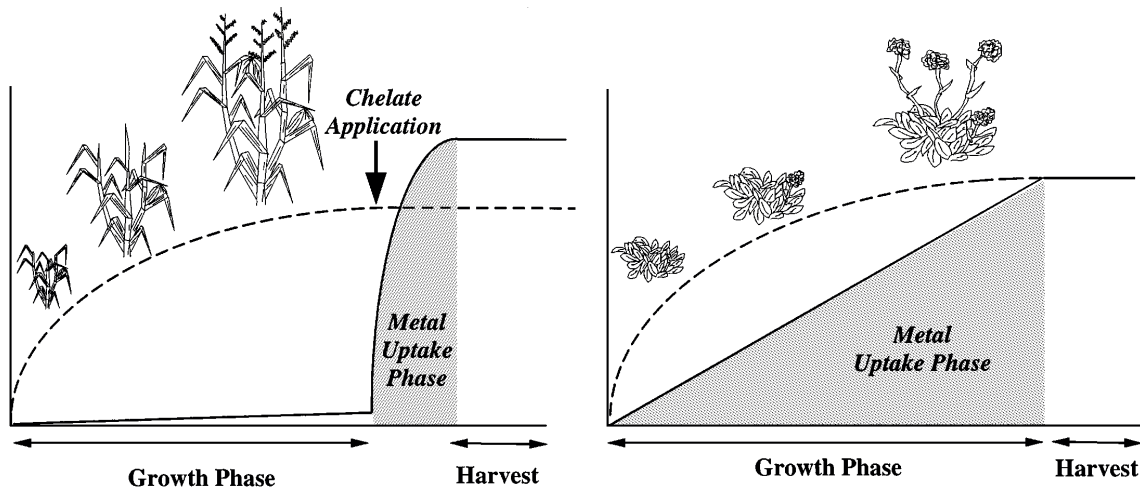
PHYTOREMEDIATIE MET METAAL-ACCUMULERENDE PLANTENSOORTEN

4.1 INLEIDING

Een van de mogelijkheden om slib te reinigen is door middel van fytoremediatie, een methode om verontreinigde bodems of substraten te reinigen. Hierbij wordt gebruik gemaakt van de eigenschappen van plant- of diersoorten om effectief metalen uit de bodem of een substraat op te nemen en te accumuleren. De techniek is gebaseerd op het verwijderen en concentreren van metalen uit het substraat om vervolgens het geoogste materiaal te drogen en te verbranden en eventueel de metalen terug te winnen. Meestal wordt fytoremediatie uitgevoerd met hogere planten, maar ook schimmels hebben eigenschappen die extractie van metalen uit de bodem mogelijk maken. Wormen en microorganismen worden vaak geassocieerd met fytoremediatie omdat zij in staat zijn de biobeschikbaarheid van de metalen te verhogen (White, 2001; Kocik et al., 2007; Udovic & Lestan, 2007; Sizmur & Hodson, 2009). De capaciteit van een soort om metalen te accumuleren is meestal niet beperkt tot een enkel metaal maar betreft meerdere metalen tegelijk. Wanneer planten cadmium kunnen hyperaccumuleren, is dat ook vaak het geval voor zink en lood, omdat deze elementen meestal in combinatie in de natuur voorkomen (van der Ent et al., 2013). Fytoremediatie is vooral effectief wanneer de geselecteerde planten snel groeien en een hoge biomassa-productie vertonen. Er zijn twee manieren waarop fytoremediatie kan worden toegepast: chelator-gekoppelde phytoextractie, ook wel *geïnduceerde phytoextractie* genoemd en lange termijn *continue phytoextractie* (Figuur 4.1). De chelator-gekoppelde phytoextractie bestaat uit twee fasen: het mobiliseren van gebonden metalen met behulp van een chelator gevolgd door het transport naar de oogstbare delen (bladeren en stengels) van de plant. Vaak wordt EDTA als chelator gebruikt om metalen effectief in oplossing te brengen en worden soorten als mais, zonnebloem en 'Indian' mosterd (*Brassica juncea*) toegepast (Salt et al., 1998). De continue phytoextractie wordt meestal toegepast met soorten die van nature op metaalverrijkte bodems voorkomen en mechanismen hebben ontwikkeld om metalen effectief te kunnen extraheren uit de bodem. Bij deze methode worden planten direct op het substraat gezet en de opname van metalen start vanaf het begin. Beide methoden hebben voor- en nadelen: de meeste in de natuur voorkomende soorten kunnen hoge concentraties metalen in hun bladeren accumuleren, maar hebben een lage groeisnelheid en dito biomassa-productie; landbouwgewassen daarentegen vertonen juist het omgekeerde patroon: een hoge groeisnelheid en biomassa-productie, maar een hoge gevoeligheid voor metalen en dus een relatief lage metaalaccumulatie in de stengel en bladeren.

FIGUUR 4.1

TOEPASSING VAN GEINDUCEERDE (LINKS) EN CONTINUE PHYTOEXTRACTIE (RECHTS). STIPPELLIJN REPRESENTEERT BIOMASSAPRODUCTIE VAN DE BOVENGRONDSE DELEN, DE ONONDERBROKEN LIJN DE METAAL-CONCENTRATIE IN DE BOVENGRONDSE DELEN (SALT ET AL., 1998).



Voor een succesvolle phytoremediatie zijn dus drie factoren van belang:

- een geschikt substraat waarin de plant in staat is zich goed te kunnen ontwikkelen en te groeien, dat wil zeggen de wortels het substraat efficiënt kunnen doorwortelen, een voorwaarde voor een efficiënte opname van metalen,
- de biobeschikbaarheid van de metalen in het substraat. In organische bodems zijn metalen sterk gebonden aan het klei-humuscomplex in de bodem of aan de organische stof in een substraat, en dienen dan eerst beschikbaar gemaakt te worden alvorens te kunnen worden opgenomen. Dit kan op verschillende manieren: pH-verlaging door uitscheiding van protonen door de plant, uitscheiden van exudaten in de wortelzone om metalen opneembaar te maken of door toevoeging van stoffen (zoals EDTA) om de metalen in oplossing te brengen (bij geïnduceerde phytoremediatie),
- de groeisnelheid en daarmee de biomassa-productie. Het meest ideale systeem bestaat uit een plantensoort die een hoge metaalopname plus een hoge groeisnelheid en biomassa-productie heeft, waardoor een grote hoeveelheid metalen per jaar per vierkante meter gekweekt gewas bereikt kan worden en daarmee een effectieve reiniging van het substraat. Deze combinatie bestaat echter niet of nauwelijks, zodat er een keuze gemaakt dient te worden voor een van de factoren. In dit project is primair gekozen voor natuurlijke soorten met een hoge metaal-accumulatiecapaciteit.

4.2 OVERZICHT VAN METAALTOLERANTE PLANTENSOORTEN EN HUN EIGENSCHAPPEN

Wereldwijd is er een scala aan natuurlijk voorkomende soorten die de eigenschap hebben om op metaalverrijkte bodems (mijnen) te kunnen groeien. Dat zijn meestal soorten die zich via selectie hebben gespecialiseerd om met de grote hoeveelheid beschikbare metalen in de bodem om te kunnen gaan. Resistentie t.o.v. metalen kan op twee verschillende principes berusten: a) door de metalen op te nemen en te stapelen in ofwel wortel of in blad en stengel (zgn. *tolerantie- of accumulatie-mechanisme*) en b) door de metalen effectief in de wortelzone (rhizosfeer) buiten de plant te houden (zgn. *exclusion of avoidance-mechanisme*). Voor ons doel zijn soorten die werken volgens het eerste principe (accumulatie) geschikt omdat op deze manier zware metalen effectief uit het substraat kunnen worden onttrokken en geconcentreerd in de plant kunnen worden opgeslagen, waarna de planten gedroogd en afgevoerd kunnen worden in de verbrandingsoven (en bij hoge concentraties metalen eventueel worden teruggewonnen).

In bodems op metaalverrijkte plaatsen komen zware metalen vaak in combinatie voor. Er zijn dan ook veel soorten die tolerantie hebben ontwikkeld voor meerdere metalen, waarbij zink- en cadmiumtolerantie meestal gekoppeld zijn (zoals *Noccaea*, *Sedum* soorten, *Arabidopsis*, *Gomphrena*). Kopertolerantie is echter een uitzondering; weliswaar zijn er een klein aantal soorten die koper wel tolereren (*Aeolanthus parvifolius* (uit zuidoost Congo/Zambia) en *Arabidopsis thaliana*) maar het slechts weinig of niet kunnen accumuleren (*Arabidopsis* is een redelijke koperaccumulator, maar zeer kopergevoelig (0,2 ppm in voedingsoplossing is al toxisch). Er is slechts één soort bekend (uit zuidoost Congo) die effectief kopertolerant is: *Haumannistrum* spec. Deze soort groeit dan ook op kopermijnen met een extreem hoge koperconcentratie in de bodem.

Ook boomsoorten zijn getest op hun vermogen voor fytoremediatie (opname en afvoer van metalen), vaak in het kader van energieteelten. Daarin zijn soorten als wilg, populier of berk toegepast. Maar hoewel alle soorten uit de Berkenfamilie (zoals *Salix*, *Populus*, *Betula*) bovengemiddelde metaal-accumulatoren zijn, vooral van zink en cadmium, zijn het geen echte metaalhyperaccumulatoren. Blad van de populier kan tot 1.500 mg Zn/kg DS bevatten en schietwilg tot 500 mg Zn/kg DS (Kay et al. 1988; van Dokkum & Bijl, 1999). Dat is tamelijk hoog (ca. 2 á 3 keer zo hoog als gemiddeld), en biedt perspectief voor phytoextractie omdat de teelt van snelgroeiende boomsoorten op grotere schaal kan worden toegepast en deze methode toepasbaar kan zijn voor slibsoorten met lichte verhogingen van de concentraties zink en/of koper. Daarentegen kwamen Vermeulen et al. (2004) in experimenten met wilg en baggerslib tot de conclusie dat 'landfarming' (bioremediatie) weinig perspectief biedt voor de onttrekking van zware metalen, omdat de door de planten opgenomen hoeveelheden zware metalen zeer klein zijn.

4.3 ACCUMULEREND VERMOGEN EN BODEMEIGENSCHAPPEN

De capaciteit van planten om metalen op te nemen is gerelateerd aan de eigenschappen van het substraat (bodem of slib). Daarin spelen de pH, de Cation Exchange Capacity (CEC), hoeveelheid organische stof en de concentraties aan zouten een belangrijke rol. Immers, het gaat uiteindelijk om de bio-beschikbare fractie. In het algemeen is het zo dat metalen beter beschikbaar zijn bij lagere pH. Een relatief lage pH kan een eigenschap van de bodem zijn, of kan worden bewerkstelligd door de plant zelf door het uitscheiden van H⁺ ionen of zgn. exudaten in de rhizosfeer (Römheld & Marschner, 1991; Marschner, 1995). Maar ook toevoeging van kunstmest, of combinatie met de kweek van andere plantensoorten kunnen een rol spelen (Huang et al., 2012; Deng et al., 2016). Voor *Noccaea* is in veldproeven gemeten dat de toevoeging van compost nadelige effecten heeft op de metaalopname t.g.v. immobilisatie van metalen in de bodem (Jacobs et al., 2017). Bodemeigenschappen en de interactie bodem-plant vormen dus cruciale factoren in de effectiviteit van de mogelijkheden voor metaalopname.

4.4 GESELECTEERDE SOORTEN: EIGENSCHAPPEN EN NATUURLIJKE GROEIOMSTANDIGHEDEN

Bij de keuze van plantensoorten voor het doel van dit onderzoek spelen een aantal zaken een rol: in de eerste plaats natuurlijk de accumulerende capaciteit van de soort. Dit is een eigenschap die sterk afhankelijk is van de beschikbare metaalconcentraties in het substraat; met andere woorden, 'superaccumulatoren' doen het slecht op substraten met relatief lage (beschikbare) concentraties aan metalen. Daarnaast speelt de gevoeligheid van de soort voor hoge zoutconcentraties een rol, van belang omdat slib wordt gekenmerkt door potentieel hoge concentraties aan stikstof en fosfaat. Vervolgens is het van groot belang om de groei-

omstandigheden van de soorten zo veel mogelijk aan te laten sluiten bij de natuurlijke omstandigheden om een redelijke groei en ontwikkeling te kunnen bewerkstelligen: soorten van droge, minerale bodems groeien in het algemeen slecht op natte organische bodems en omgekeerd. Ergo, de gekozen soorten moeten kunnen gedijen op het gekozen substraat; dat betekent dat we het slib in verschillende verhoudingen hebben gemengd met zand om structuurverbetering van het substraat te bewerkstelligen en daarmee de groei-omstandigheden van de gekozen soort(en). Voor onze experimenten is daarom in eerste instantie gekozen voor soorten, die bekend zijn vanwege hun hoge metaalopnamecapaciteit en redelijkerwijs goed verkrijgbaar waren of verzameld konden worden: zaden van verschillende *Noccaea* populaties en van *Sedum plumbizincicola*. Als referentiesoort werd mosterd (*Sinapis alba*) gekozen omdat deze soort ook tot de familie van de Kruisbloemigen behoort (net als *Noccaea*) en van deze soort dus een vergelijkbare respons verwacht mag worden. De soort kiemt gemakkelijk, is een snelle groeier en gemakkelijk verkrijgbaar.

1. NOCCAEA CAERULESCENS (voorheen *Thlaspi caerulescens*, de zinkboerenkers) – er zijn vele plaatsen in Europa waar deze soort voorkomt, voornamelijk in (voormalige) mijngebieden. De variant afkomstig uit de Cevennen (Frankrijk) is bekend om zijn hyperaccumulatie van Zn, Cd, Pb en mogelijk ook Ni. Deze populaties gedijen het best bij een hoog aanbod van de metalen en vertonen a.h.w. een (verhoogde) behoefte aan de metalen; ook zijn er de meer non-metallicole populaties, die beter groeien bij lage metaalconcentraties (zoals uit Lellingen, Luxemburg).

Noccaea groeit in het algemeen op schistachtige gronden met een kleiige bodem, het best onder enigszins basische omstandigheden, dat wil zeggen een pH van ca. 5 of hoger. De soort accumuleert metalen, met name cadmium maximaal bij pH 6, daaronder niet. Specifiek voor de gebruikte populaties zijn de volgende karakteristieken:



* Populatie *Monte Prinzera*: een heuvel, ten noorden van Firenze, bestaande uit serpentijn gesteente (veel Ni (> 1.000 ppm) en Cr (> 100 ppm Ni), weinig Zn (40 ppm), vrijwel geen Cd (< 0,1 ppm), veel Mg, weinig Ca, weinig organische stof, droog, hoge pH [6,7 – 7,5]). Deze populatie is naar verwachting de beste cadmiumaccumulator, maar als er veel cadmium in het substraat zit, komen planten van deze populatie in de problemen (ze zijn extreem cadmiumgevoelig, juist doordat ze dit metaal zeer efficiënt accumuleren, maar niet tolereren, omdat het in hun natuurlijke milieu slechts in niet detecteerbare concentraties in de bodem voorkomt);

- * Populatie *Ganges*: vermoedelijk afkomstig van de Pb/Zn mijn bij Saint-Laurent-le-Minier, in de Cevennen. De bodem is een gemineraliseerde, kalk en dolomiet bevattende schiste (veel Pb, Zn, Cd, veel Ca, veel Mg, weinig organische stof, droog, hoge pH [6,3 – 7,2]);
- * Populatie *Saint-Felix-de-Pallières*: een andere Pb/Zn mijn in de Cevennen, met ongeveer dezelfde bodemeigenschappen als populatie Ganges. Zowel de populatie Ganges als St. Felix zijn qua cadmiumaccumulatie wat minder efficiënt dan Monte Prinzera, maar extreem Cd-tolerant; er zijn geen noemenswaardige verschillen tussen deze twee, maar het zou natuurlijk kunnen zijn dat de ene het wat beter op het slibsubstraat doet dan de ander;
- * Populatie *Durfort*, afkomstig uit een andere Pb/Zn mijn in de Cevennen, vergelijkbaar met Ganges;
- * Populatie *Lellingen*, afkomstig uit Luxemburg. Deze populatie is non-metallicool.

Het belang van het gebruik van zowel metallicole als non-metallicole populaties van *Noccaea* is gelegen in het feit dat de te reinigen slibsoorten (sterk) kunnen verschillen in hun contaminatie-graad voor wat betreft metalen. Wanneer het slib relatief rijk aan metalen is zullen metallicole populaties het goed doen en niet “metaal-deficiënt” worden; dit is overigens wel sterk afhankelijk van de “beschikbaarheid” van deze metalen, zoals bepaald door de redox-potentiaal (Eh), pH, organische stof, etc. Het is daarom voor ons doel van belang ook niet-metallicole populatie te gebruiken in geval de slibmengsels slechts lage of laag beschikbare concentraties aan metalen bevatten. In onze experimenten is in het begin gewerkt met de populaties Monte Prinzera, Ganges, Saint-Felix-de-Pallières en later met de populaties Durfort en Lellingen.

2. SEDUM PLUMBIZINCICOLA



Deze soort is afkomstig uit lood-zink mijnen in de provincie Zhejiang in China en bekend om zijn hyperaccumulerende capaciteit voor zink en cadmium. De soort gedijt in een droog, bijna woestijnachtig klimaat. Omdat de soort afkomstig is uit min of meer continentale klimaten met een flink verschil tussen de zomer- en wintertemperatuur en/of neerslag – is het waarschijnlijk dat een koudeperiode nodig is om de zaden te laten ontkiemen. Inderdaad bleek het noodzakelijk om de zaden eerst aan een koudeperiode van 2 weken bloot te stellen alvorens ze te laten kiemen. Hoewel het opkomstpercentage buitengewoon laag was (< 0,5%) bleek de soort relatief gemakkelijk via a-sexuele reproductie (stekken) te vermeerderen. Aldus waren we in staat om toch voldoende planten te verkrijgen voor onze experimenten.

3. SINAPIS ALBA (GELE MOSTERD)



Deze soort is gemakkelijk verkrijgbaar, kiemt 100% en is net als *Noccaea* een kruisbloemige plant. Redelijkerwijs mag dus verwacht worden dat mosterd een representatieve referentiesoort is. De plant groeit snel en dient voor de bloei te worden geoogst om de potentie voor metaalopname in stengel en blad vast te kunnen stellen.

4.5 EXPERIMENT: GROEI EN METAALOPNAME VAN *NOCCAEA CAERULESCENS* IN VERGELIJKING MET EEN REFERENTIEPLANT (GELE MOSTERD, *SINAPIS ALBA*) OP PE-HOUDEND ZUIVERINGSSLIB

4.5.1 PROEFOPZET

Dit experiment was bedoeld om te testen of *Noccaea* op met polymeren verrijkt slib of mengsels daarvan kan groeien en functioneerde daarmee als een zgn. ‘proof of principle’ experiment. Hierdoor kon inzicht verkregen worden in een aantal karakteristieken van zowel plantenmateriaal als substraat: de snelheid van zaadvorming gecombineerd met de duur van een vernalisatie (=koude) periode en de kieming van de planten. Door het aanbieden van verschillende substraten kon worden onderzocht of en op welke substraten de planten (goed) gedijen en tevens of, hoeveel en welke metalen ze accumuleren. In een kleinschalig potexperiment in een klimaatkamer werd onderzocht of jonge planten van de metallicole populatie *Noccaea* Durfort groeiden op een aantal substraten: 100% steekvast slib en slib gemengd met twee verschillende soorten zand in verschillende verhoudingen. Als referentie werden planten van mosterd met dezelfde substraten gebruikt. Na een aantal weken groei werden de planten

geogst, vers- en drooggewichten bepaald en de gehalten aan metalen in de spruit (blad en stengel) bepaald. Aangezien de groeisnelheid van de soorten nogal verschilde (de referentieplant mosterd bereikte een forse grootte na ca. 3 weken, terwijl *Noccaea* ca. 3 maanden nodig hadden om tot rozetvorming te komen) werd gedifferentieerd in de tijd geogst.

Omdat het doel van dit project is om te onderzoeken of de planten in staat zijn effectief metalen uit het substraat op te nemen en in de bovengrondse delen (stengel en blad) te stapelen werd een massabalans opgesteld die inzicht verschafte in de flux aan metalen van substraat naar plant. De meest nauwkeurige methode om dit te doen is om de gemeten hoeveelheid metalen die in de spruit van de planten zijn opgenomen te vergelijken met de oorspronkelijke concentraties aan metalen in het slib. Op basis van deze concentraties kan vervolgens worden berekend hoeveel van het betreffende metaal maximaal kan worden geëxtraheerd uit het substraat (zgn. metaal verwijderingspercentages).

4.5.2 MATERIAAL EN METHODEN

4.5.2.1 SUBSTRAATVOORBEREIDING

Voor de experimenten werd PE-houdend uitgegist slib van de zuivering uit Deventer gebruikt, dat de volgende karakteristieken had: DS 22%, 42% organische stof (analyse juni 2018); 46-52 mg/kg DS N (Kjeldahl), 37-43 mg/kg DS Ptot (jaargemiddelden 2017). Dit slib werd gemengd met zand om de natuurlijke groeiomstandigheden enigszins te benaderen, waarbij het belang vooral was gelegen in een structuurverbetering van het slib, en zodoende te voorkomen dat er in de bodem anaerobe omstandigheden ontstaan. In dit eerste potexperiment werden twee soorten zand in verschillende verhoudingen getest (brekerzand uit de bouwmarkt en kalkrijk duinzand uit de duinen bij Hillegom; menging in metselkuip).

4.5.2.2 VOORBEREIDING PLANTEN

Zaden van *Noccaea* populatie Durfort, verzameld en ter beschikking gesteld door Dr. Henk Schat (Vrije Universiteit, Amsterdam), werden gebruikt voor de experimenten. De zaden werden na kieming 2 maanden op potgrond gekweekt totdat de planten rozetten gevormd hadden. Deze werden vervolgens geverniseerd gedurende 6 weken bij 4 °C (12 uur licht per dag). Na ca. 2 maanden werd de volgende generatie zaden geogst, die werden gebruikt voor experimenten. Deze zaden werden op potgrond te kiemen gelegd en de zaailingen werden na ca. 2 weken in de potten gevuld met de verschillende substraten gezet. Dezelfde procedure werd gevolgd voor mosterd-zaden, die al reeds na 1 week groot genoeg waren om te worden verspeend.

4.5.2.3 ANALYSE VAN SUBSTRAAT EN PLANTENMONSTERS

Van het slib en de verschillende soorten zand werd vers- (FW) en drooggewicht (DW) bepaald door de monsters 48 uur te drogen in een stoof bij 70 °C; organisch stofgehalte van droge monsters werd bepaald door 4 uur te verassen in een oven bij 550 °C. Totaalgehalten aan nutriënten en metalen werden bepaald door middel van destructie (200 mg DW met 5 ml 65% HNO₃ / 2 ml 30% H₂O₂), gevolgd door een elementanalyse op een Atomic Absorption Spectroscopy (AAS, kationen, VU Amsterdam) of een Inductively-Coupled Plasma analysis (ICP, B-ware, Nijmegen). In een aantal gevallen werd van de substraten de bio-beschikbare fractie van metalen bepaald door 17,5 g DW monsters 3 uur te schudden op een schudmachine met 50 ml 20 mM Na₂EDTA.

Van de bovengrondse delen van het plantenmateriaal (blad en stengel) werd FW en DW (48 uur drogen in een stoof bij 70 °C) bepaald; vervolgens werd het droge materiaal vermalen in een mortier en gedestruëerd (200 mg DW met 5 ml 65% HNO₃ / 2 ml 30% H₂O₂), waarna een

elementenanalyse werd uitgevoerd of op een AAS (kationen, VU Amsterdam) of op een ICP (B-ware, Nijmegen).

4.5.2.4 UITVOERING

Zaailingen van *Noccaea caerulescens* populatie Durfort werden in 1 liter potten, gevuld met de verschillende substraten gezet (klimaatkamer, 20 °C bij 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{sec}^{-1}\cdot\text{m}^2$ licht op plant-niveau). Het slib werd gemengd met twee soorten zand (kalkrijk duinzand en relatief arm brekerzand) in verschillende verhoudingen. In de potten werden een 4-10-tal planten tegelijk ingezet (Tabel 4.1). Tevens werd een zaailing van de referentieplant gele mosterd in dezelfde pot geplaatst. Het bleek onmogelijk om planten in te zetten in de potten gevuld met 100% slib, omdat het slib reeds na korte tijd (binnen 1 dag) zeer hard was geworden en na bewatering niet in de oude staat kon worden teruggebracht. De behandeling met 100% slib werd daarom verder niet uitgevoerd.

TABEL 4.1 PROEFOPZET: AANTAL POTTEN PER BEHANDELING (MENGSELS OP BASIS VAN VOLUMEVERHOUDINGEN; * CONTROLE = POTGROND MET KALKRIJK DUINZAND 1:1 V/V)

Aantal potten per behandeling	Slib		Zand : slib 2:1		Zand : slib 4:1	
	controle*	100%	brekerzand	duinzand	brekerzand	duinzand
<i>Noccaea</i> pop. Durfort + referentie gele mosterd	10	11	13	12	13	14

4.5.3 RESULTATEN

4.5.3.1 GROEI

Mosterd (*Sinapis alba*) groeide snel en gedijde onder zowel controleomstandigheden als op alle slibmengsels. Na 3 weken groei werden de bovengrondse delen geoogst, gewogen en gedroogd. Hoewel enig verschil tussen de behandelingen zichtbaar was – een sterkere groei onder controle-omstandigheden en een betere groei op duinzand-slib dan op brekerzand slib – was dit niet significant, behalve voor brekerzand/slib 2:1, die duidelijk slechter groeide (Tabel 4.2). De verschillen zijn waarschijnlijk het directe gevolg van verschillen in het aanbod aan essentiële nutriënten (N, P, K, micronutriënten).

TABEL 4.2 DROOGGEWICHT (IN MG) VAN MOSTERD EN NOCCAEE DURFORT NA RESP. 3 EN 11 WEKEN GROEI OP VERSCHILLENDE MENGSELS VAN ZAND EN PE-HOUDEND (DEVENTER) SLIB [GEMIDDELDE \pm SE; N=4 PER BEHANDELING]

	Controle	Duinzand : slib		Brekerzand : slib	
		2:1	4:1	2:1	4:1
Mosterd	254 \pm 38	278 \pm 49	295 \pm 24	115 \pm 18	228 \pm 20
<i>Noccaea</i> Durfort	3,3 \pm 0,2	3,1 \pm 0,2	3,1 \pm 0,1	2,7 \pm 0,1	2,7 \pm 0,3

* controle bestaat uit potgrond gemengd met kalkrijk duinzand (1:1 v/v)

De *Noccaea* zaailingen groeiden langzaam en in het begin slecht zowel op de mengsels met brekerzand als duinzand. Pas na 4 weken na inzet begonnen de planten enigszins te groeien. De aanvankelijke chlorose van de planten was toen ook grotendeels verdwenen. Planten groeiden beter op het mengsel met duinzand in vergelijking met brekerzand mengsels, wat waarschijnlijk het directe gevolg is van een hoger aanbod aan essentiële nutriënten. Er was echter geen significant verschil in groei tussen controle en de behandelingen (Tabel 4.2). Bij alle behandelingen, behalve in de controle waren chlorotische verschijnselen waarneembaar, ook van de jongere bladeren (zie Figuur 4.2, onder). Dit duidt op deficiëntieverschijnselen (Mg, Mn, Zn of Cu). Tevens waren er bij de behandeling slib met brekerzand (2:1) donkere bladverkleuringen waarneembaar (zie Figuur 4.2, onder), wat kan duiden op toxiciteitsverschijnselen (waarschijnlijk Fe of Mn) of op deficiëntie-verschijnselen (fosfaat).

Er was een grote variatie in zowel grootte als kwaliteit van de planten, zowel tussen als binnen de behandelingen. Dit zou het directe gevolg kunnen zijn van de inhomogeniteit van het substraat. Door toevoeging van polymeren (ter verdikking en indikking van het slib) worden een soort van klontjes of bolletjes gevormd die zich niet mengen met het toegevoegde zand. Dit is vaak met het oog slecht zichtbaar maar kan in de rhizosfeer zorgen voor grote verschillen in de potentiële opname van stoffen of wellicht lokale anaërobie. Een aanwijzing dat dit inderdaad het geval is, was dat – na begieten - het water in de potten waar de planten het goed doen, snel wegloopt en in de potten waar de planten het slecht doen langere tijd op de oppervlakte blijft staan.

FIGUUR 4.2 GROEI NA 7 WEKEN BIJ VERSCHILLENDE BEHANDELINGEN: CONTROLE, DUINZAND-SLIB 4:1 EN 2:1 (BOVEN); BREKERZAND -SLIB 4:1 EN BREKERZAND 2:1 (MIDDEN). ONDER: TWEE UITVERGROTINGS VAN PLANTEN BIJ BEHANDELING BREKERZAND -SLIB 2:1



4.5.3.2 METAALOPNAME

In Tabel 4.3 zijn de resultaten samengevat van de gemeten concentraties van de belangrijkste metalen in zowel het substraat als in de plant. Uit de tabellen kunnen de volgende zaken worden afgeleid:

- De concentraties metalen in het substraat zijn zoals verwacht en conform standaardwaarden (compost) en jaargemiddelden (slib). In slib zijn overschrijdingen t.o.v. toetsingswaarden voor zink en koper;
- Mosterd is zoals verwacht geen accumulator van metalen. Hoewel de planten goed groeiden op alle substraten, is de concentratie aan metalen in de bladeren en stengel laag;
- In *Noccaea Durfort* zijn de concentraties aan zink en koper hoger dan bij mosterd. Opvallend genoeg wordt de hoogste concentratie echter gemeten bij de planten die onder controleomstandigheden groeiden en niet in de slibmengsels. Voor cadmium en nikkel

zijn de verschillen tussen de opname van *Noccaea* en mosterd marginaal. Echter ook hier geldt dat de cadmiumopname onder controleomstandigheden het hoogst is. De loodopname is in alle gevallen te verwaarlozen.

TABEL 4.3 METAALCONCENTRATIES IN HET SUBSTRAAT (BOVEN) EN IN DE BLADEREN EN STENGELS VAN MOSTERD EN NOCCAEA POPULATIE DURFORT (ONDER)

Substraat: concentratie begin experiment (mg/kg DW; gemiddelde ± SE)					
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Deventer slib (n=6)	1.511 ± 240	610 ± 101	1,2 ± 0,4	23,5 ± 4,4	136 ± 24
Borstelcentrifugeslib (n=3)	2.251 ± 199	722 ± 164	2,1 ± 0,3	59,2 ± 5,7	178 ± 13
Brekerzand (n=2)	2,1 ± 2,0	0,8 ± 0,4	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,5	0,1 ± 0,0
Duinzand (n=2)	23,1 ± 0,0	1,8 ± 0,3	0,4 ± 0,0	2,2 ± 0,3	6,7 ± 1,0
Controle (n=2)*	78,2 ± 6,7	2,1 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,0 ± 0,0	< 0,1

* potgrond/brekerzand 1:1 (v/v)

Planten (mg/kg DW) (gemiddelde ± SE)	Mosterd					Noccaea Durfort				
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Controle	90 ± 4	8,3 ± 0,3	0,84 ± 0,04	2,4 ± 0,1	< 0,1	537 ± 20	10,9 ± 0,5	3,32 ± 0,34	0,4 ± 0,1	< 0,1
Brekerzand/slib 2:1	101 ± 19	13,6 ± 0,1	0,45 ± 0,09	2,0 ± 0,1	< 0,1	272 ± 45	32,9 ± 5,6	0,45 ± 0,04	1,8 ± 0,4	< 0,1
Brekerzand/slib 4:1	81 ± 8	12,9 ± 0,1	0,49 ± 0,02	1,7 ± 0,2	< 0,1	105 ± 10	24,3 ± 2,6	0,31 ± 0,02	0,8 ± 0,1	< 0,1
Duinzand/slib 2:1	88 ± 15	10,4 ± 0,3	0,53 ± 0,09	3,3 ± 0,2	< 0,1	470 ± 76	23,4 ± 1,6	0,94 ± 0,15	2,3 ± 0,3	< 0,1
Duinzand/slib 4:1	95 ± 5	12,1 ± 0,4	0,27 ± 0,02	1,9 ± 0,3	< 0,1	164 ± 20	16,4 ± 0,7	0,56 ± 0,03	1,0 ± 0,1	< 0,1

Uit de gemeten concentraties in de bovengrondse delen van de plant kan de potentiële opnamecapaciteit van de soort worden berekend via een massabalansberekening. Dit is in het kader hieronder uitgewerkt.

MASSABALANS: BEREKENING VAN VERWIJDERINGSPERCENTAGES VAN METALEN UIT SLIB DOOR NOCCAEA CAERULESCENS POPULATIE DURFORT

Als voorbeeld werd de groei en metaalopname van zink door *Noccaea caerulea* pop. Durfort berekend voor het substraat brekerzand : slib 2:1 (v/v). De berekening is als volgt:

- Concentratie in bovengrondse delen plant (Tabel 4.3) 272 mg/kg DW = 0,272 mg/g
Gemiddeld drooggewicht planten (Tabel 4.2) 2,7 g
Opname uit substraat aldus 2,7 * 0,272 mg = 0,73 µg Zn
- Concentratie Zn in slib (Tabel 4.3) 1.511 mg/kg DW
Aandeel slib (volumebasis) 0,33
Correctiefactor volume (slib / volume mengsel) 1080 ml / 800 ml = 1,35
Gemiddeld volume pot 837,5 ml
Soortelijke massa slib 772 g / 1080 ml = 0,71
DS% slib 25,5%
Berekend DW slib per pot = [837,5 * 0,33 * 1,35/1080] * 772 * 0,255 = 66,7 g
Gehalte Zn (mg DW) per pot: 66,7 * 1.511 / 1000 = 100,7 mg
- Onttrekking % zink aan substraat 0,734 / 100,7 * 100% = 0,73%

(PS: in deze berekening is geen rekening gehouden met de afbraak van droge stof / organische stof gedurende de proef)

TABEL 4.4

METAALVERWIJDERINGSPERCENTAGES DOOR *NOCCAEA* DURFORT IN DE VERSCHILLENDE SUBSTRATEN

	Metaalverwijderingspercentages				
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Controle	1,0	0,1	1,7	0,3	0,0
Brekerzand/slib 2:1	0,7	0,2	1,0	0,3	0,0
Brekerzand/slib 4:1	0,5	0,3	1,1	0,2	0,0
Duinzand/slib 2:1	1,5	0,2	2,3	0,4	0,0
Duinzand/slib 4:1	0,9	0,2	2,4	0,3	0,0

4.5.4 CONCLUSIE EN DISCUSSIE

Voor soorten als *Noccaea*, die natuurlijkerwijs op vooral minerale bodems voorkomen, is het gebruikte substraat bestaande uit slib met een hoog organisch stofgehalte, niet ideaal. Mengen met zand was nodig om de algehele structuur en de aeratie te verbeteren, primair om er voor te zorgen dat er geen anaerobe omstandigheden in de rhizosfeer ontstaan. Hoewel *Noccaea* van nature geen snelle groeier is, was ook hier de groeisnelheid en de biomassa-productie laag, zeker in vergelijking met de referentieplant mosterd: ca. 3 mg DW na 11 weken voor *Noccaea* ten opzichte van 250 mg DW na 3 weken voor mosterd.

De populatie Durfort is een metallicole populatie, wat wil zeggen dat de plant zinkbehoefstig is en in mindere mate ook cadmium nodig heeft voor een optimale groei. Aan de andere kant is bekend dat *Noccaea* extreem gevoelig is voor koper en al snel aan kopertoxiciteit leidt als de concentraties in het substraat maar enigszins verhoogd zijn. De chlorotische verschijnselen, zoals die in het begin van het experiment maar ook later (zie Figuur 4.2) werden waargenomen, zijn eigenlijk slechts te verklaren door aan te nemen dat het slib voor *Noccaea* toxisch is en/of zorgt voor deficiëntieverschijnselen. De koperconcentraties in de bladeren wijzen er op dat dit inderdaad voor toxiciteitsverschijnselen en dientengevolge verminderde groei heeft gezorgd.

Parallel met de slechte groei op alle aangeboden substraten was ook de opname van metalen erg laag, zeker voor een metaal-accumulerende soort als *Noccaea* Durfort, die afkomstig is van bodems met extreem hoge zink- en andere metaalconcentraties. Onder natuurlijke omstandigheden kan de soort tot meer dan 20.000 mg Zn/kg DW in de bladeren accumuleren (Assunção et al., 2003), terwijl in deze experimenten maximaal 470 mg/kg DW werd gemeten. De geconstateerde deficiëntieverschijnselen worden naar alle waarschijnlijkheid veroorzaakt door een gebrek aan een essentieel micronutriënt, wellicht zelfs zink! Want hoewel het slib relatief veel zink bevat, is dit blijkbaar slecht beschikbaar voor de plant vanwege het hoge aandeel organische stof, waardoor het element gebonden blijft en *Noccaea* populatie Durfort van nature waarschijnlijk niet is aangepast om organisch gebonden zink te mobiliseren. Uit de berekening van de mate van verwijdering van metalen uit slib (Tabel 4.4) blijkt dit ook: verwijderingspercentages tot hoogstens 1,5% voor Zn; bovendien werd de hoogste opname van metalen vaak gevonden onder controleomstandigheden, wat er op duidt dat metalen beter beschikbaar en dus opneembaar zijn in de controlesubstraten.

Voor een effectieve fytoremediatie is primair groei en biomassa-productie nodig en vervolgens een hoge opname van metalen door de wortels en stapeling in stengel en blad. Voor *Noccaea* Durfort geldt dat zowel de groeisnelheid erg laag is alsook de metaalopname, waardoor de verwijderingspercentages uit het substraat erg laag blijven. Hierdoor is deze soort ongeschikt voor ons doel. Het alternatief voor deze soort is om in vervolgentoelagen

niet-metallicole populaties te gebruiken, omdat deze vermoedelijk veel “Zn-efficiënter” zijn (bijv. de non-metallicole populatie uit Lellingen) en wellicht veel effectiever metalen uit het substraat kunnen verwijderen. Daarnaast is het goed om soorten te selecteren die een hoge groeisnelheid hebben, gedijen op organische, natte substraten en tevens de potentie hebben om een redelijke hoeveelheid metalen te kunnen extraheren uit het substraat (zie uitwerking in Hoofdstuk 6). Of dergelijke soorten dan ook stevig aan het organisch complex gebonden metalen kunnen opnemen blijft de vraag. Er zijn weliswaar veel soorten die via uitscheiding van exudaten of protonen in de rhizosfeer metalen kunnen mobiliseren, maar of dat ook leidt tot een significante verwijdering uit het hele substraat is zeer de vraag en ook is onduidelijk of hierdoor voldoende opname van de ‘kritische metalen’ zink en koper plaatsvindt.

5

PHYTOREMEDIATIE MET GESELECTEERDE CHAMPIGNONSOORTEN⁷

5.1 INLEIDING

Zowel champost, het restproduct uit de champignonteelt, als zuiveringsslib zijn grote reststromen. De champost-productie in Nederland bedraagt ca. 800.000 ton per jaar en is daarmee de grootste reststroom in de tuinbouw. Net als zuiveringsslib is ook de verwerking en afzet van champost duur en kost de paddenstoelensector zo'n € 19 miljoen per jaar. De afzetmarkt voor champost in Nederland is beperkt vanwege de fosfaat- en stikstofwetgeving en de afzet naar de grootste afzetmarkt, Duitsland wordt steeds moeilijker (van der Maas et al., 2016). Nieuwe afzetmogelijkheden en -markten zijn dan ook zeer welkom, temeer daar de toekomst van de afzetmarkt van champost onzeker is. Het verkennen van de markt voor mengsels van zuiveringsslib en champost is onderdeel van dit project.

Zowel zuiveringsslib als champost zijn rijk aan organische stof (zie Tabel 3.1), waardoor ze beide potentieel interessant zijn voor de land- en tuinbouw vanuit het oogpunt van bodemverbetering, biologische bodemvruchtbaarheid en landbouwproductie, met name in de akkerbouw. Echter beide afvalstromen zijn ook rijk aan fosfaat, wat in verband met de fosfaatgebruiksnorm problemen oplevert ten aanzien van de afzet op de Nederlandse markt. Er is een toenemende vraag naar fosfaatarme bodemverbeteraars en er zijn nieuwe fosfaatbronnen nodig voor de bereiding van kunstmest. Experimenten met fosfaatextractie door van der Maas et al. (2016) lieten zien dat champost met een fosfaatgehalte van ca. 1 g P₂O₅ per kg product kon worden bereid in een proefinstallatie (ter vergelijking: normale champost bevat zo'n 4, vaste rundermest ca. 5 g P₂O₅ / kg product, van der Maas et al., 2016). Dit is van belang voor de mogelijke toepassing en afzet van zowel champost als fosfaat; vanwege een toekomstig wereldwijd fosfaattekort wordt hergebruik van fosfaat uit zowel slib als champost steeds lucratiever.

De businesscase richt zich op het reinigen van mengsels van zuiveringsslib en champost van de aanwezige zware metalen met behulp van geselecteerde champignonsoorten om daarmee nieuwe afzetmarkten te creëren voor 'slib-champost'. Het is bekend dat er champignonsoorten zijn die zeer effectief metalen uit het substraat kunnen extraheren (o.a. Demirbas, 2001; Garcia et al., 2005; Stoknes et al., 2017). Met name *Agaricus arvensis* en *A. subrufescens* (in casu *A. blazei*) staan bekend om hun vermogen vooral cadmium te kunnen accumuleren in de paddenstoel. Met deze twee soorten is in dit project geëxperimenteerd.

⁷ Deze experimenten zijn in nauwe samenwerking met CNC Holding BV (Milsbeek) uitgevoerd

5.2 UITGANGSPUNT: EEN VERDIENMODEL VOOR DE AFZET VAN CHAMPOST EN ZUIVERINGSSLIB

De grootschalige productie van champignoncompost vindt plaats in zogenoemde tunnels waar de basisingrediënten (paarden- en kippenmest, stro, gips en water) worden gemengd. Deze compost wordt vervolgens gedistribueerd naar de champignon telers die het als substraat voor hun teelten gebruiken. Analoog zou op dezelfde manier een inrichting gebouwd kunnen worden waar champost en zuiveringsslib tot *slib-champost* gemengd worden om als substraat voor de geselecteerde champignonsoorten te dienen. Wanneer de soorten op het slib-champostmengsel groeien en daaruit metalen onttrekken tot een niveau onder de vereiste normwaarden, ontstaat een potentieel interessant en vermarktbaar product dat rijk is aan organische stof, gehygieniseerd en gestabiliseerd is maar nog wel rijk is aan fosfaat.

5.3 EXPERIMENT: ONTTREKKING VAN ZWARE METALEN DOOR GESELECTEERDE AGARICUS SOORTEN

5.3.1 INLEIDING

In een experiment werd de mogelijkheid onderzocht of met behulp van paddenstoelen zuiverings-slib gereinigd kan worden van zware metalen. Hiertoe werd compost (Indoor Verse Compost, IVC) of het afvalproduct van de paddenstoelenteelt (champost) gemengd met verschillende soorten zuiveringsslib. Het experiment werd uitgevoerd om de 'proof of principle' te testen. Steekvast zuiveringsslib (RWZI Zwolle, DS 23%) of gehygieniseerd biogranulaat (GMB, DS 64%) werd gemengd met IVC compost en met champost. Een van de uitdagingen van het experiment was om een fermentatieproces op gang te brengen waardoor menging van de afzonderlijke substraten plaatsvindt en dat er toe leidt dat de hoge concentraties vrij ammonium afnemen door inbouw in de thermofiele microflora die tijdens het fermentatieproces actief is. Dit is van belang omdat vrij ammonium een probleem vormt voor de kolonisatie van substraten door schimmels van het geslacht *Agaricus*. In dit experiment werd geprobeerd om het ammonium uit het substraat te verwijderen door de mengsels te fermenteren in een 'solid state fermentor' (zie Figuur 5.1)

FIGUUR 5.1 DE SOLID STATE FERMENTOR VAN CNC (INHOUD 175-200 L)



Wanneer aan het einde van het fermentatieproces (5-6 dagen) het ammonium is ingebouwd, worden de geselecteerde soorten in de mengsels van zuiveringsslib / biogranulaat met compost/champost geënt. Als beide paddenstoelsoorten hun substraat hebben gekoloniseerd, zal geprobeerd worden om paddenstoelvorming te induceren. De uiteindelijke bedoeling van het experiment is om een massabalans op te stellen, waarin wordt gekeken welk percentage van de zware metalen vanuit het substraat wordt geaccumuleerd in het paddenstoelweefsel.

In dit experiment worden *Agaricus arvensis* (de akker- of anijschampignon) en *Agaricus blazei* c.q. *subrufescens* (amandelchampignon, zie Figuur 5.2) gebruikt omdat deze soorten bekend staan om hun vermogen zware metalen te kunnen accumuleren in hun paddenstoelen (o.a. Stoknes et al. 2017). Vooral *A. blazei* staat bekend om zijn vermogen om voornamelijk cadmium uit het substraat sterk te kunnen transloceren naar de vruchtlichamen van de paddenstoelen.

FIGUUR 5.2 DE AMANDELCHAMPIGNON (*AGARICUS BLAZEI*, LINKS) EN DE AKKER- OF ANIJSCHAMPIGNON (*AGARICUS ARVENSI*S, RECHTS)



5.3.2 RESULTATEN

5.3.2.1 MENGING VAN HET SUBSTRAAT

Ontwaterd slib, zowel steekvast slib als bio-granulaat is lastig te mengen met zowel compost als champost. Hierdoor composteert/fermenteert het niet of slecht en blijven afzonderlijke substraten bestaan, omdat de micro-organismen slecht of niet 'fysiek binnendringen' in het zuiveringsslib c.q. bio-granulaat. Het gevolg is dat de ammoniumconcentraties relatief hoog blijven. Deze conclusies zijn gebaseerd op de volgende waarnemingen:

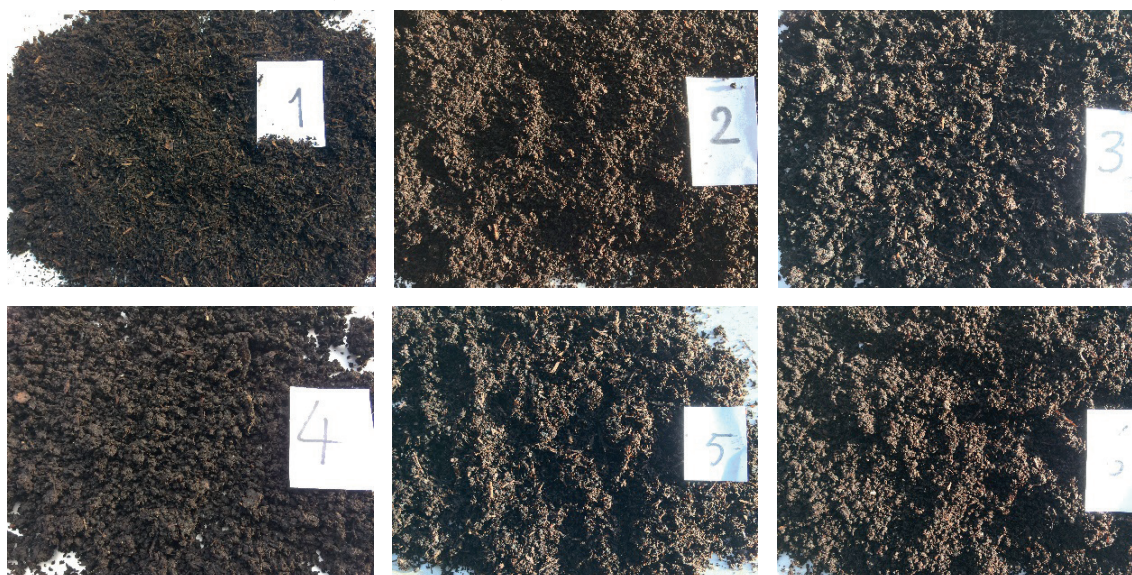
- a. de fysieke verschijningsvorm (zie Tabel 5.1, Figuur 5.3). Na beëindiging van de fermentatieperiode (1 week) is bij het legen van de solid state fermentor en het uitgieten van de uienzakken⁸ goed te zien dat er geen proces heeft plaatsgevonden dat er toe geleid heeft dat de afzonderlijke substraten goed met elkaar gemengd zijn. In de compost zijn de afzonderlijke substraten nog goed te onderscheiden. Bij bio-granulaat komen de granulaatkorrels zelfs los uit de zakken rollen.
- b. Er is na beëindiging van de fermentatieperiode nog steeds veel ammonium aanwezig (zie Tabel 5.2) waaruit blijkt het dat het fermentatieproces niet helemaal goed verlopen is en het ammonium niet voldoende is ingebouwd.

⁸ Slib-compost en slib-champost mengsels werden in uienzakken gedaan om de mengsels bijeen te houden en waarbij tevens voldoende luchtdoorstroming kon worden bereikt

TABEL 5.1 TOESTANDBESCHRIJVING VAN DE SUBSTRATEN NA FERMENTATIE EN CUTTEREN

Monsternr.	substraat	beschrijving uiterlijke verschijningsvorm
1	compost - biogranulaat 1:1	geurloos, rul/fijnkorrelig, "droge potgrond"
2	champost - biogranulaat 1:1	geurloos, rul/fijnkorrelig, "droge potgrond"
3	compost - steekvast slib 1:1	nat, versmeerd/plakkerig, licht geurend
4	champost - steekvast slib 1:1	nat, versmeerd, erg compact, geurend
5	compost - steekvast slib 3:1	vochtig, licht geurend, licht versmeerd
6	champost - steekvast slib 3:1	vochtig, rul, licht geurend, licht versmeerd

FIGUUR 5.3 FOTO'S VAN SUBSTRATEN (NRS. 1-6, ZIE TABEL 5.1) NA FERMENTATIE EN CUTTEREN



TABEL 5.2 ANALYSE VAN SUBSTRATEN MET COMPOST EN CHAMPOST

Monsternr.	substraat	Voor fermenteren		Na fermenteren	
		DS%	DS%	Org.stof %	NH ₄ (ppm)
1	compost-biogranulaat 1:1	45,4	50,9	44,9	70-80
2	champost - biogranulaat 1:1	47,2	50,2	54,9	>100
3	compost - steekvast slib 1:1	26,9	31,8	39,1	22-23
4	champost - steekvast slib 1:1	30,5	33,6	45,2	53
5	compost - steekvast slib 3:1	26,9	35,4	40,2	18-19
6	champost - steekvast slib 3:1	35,3	39,4	50,5	>100

geënte substraten

CONCLUSIE

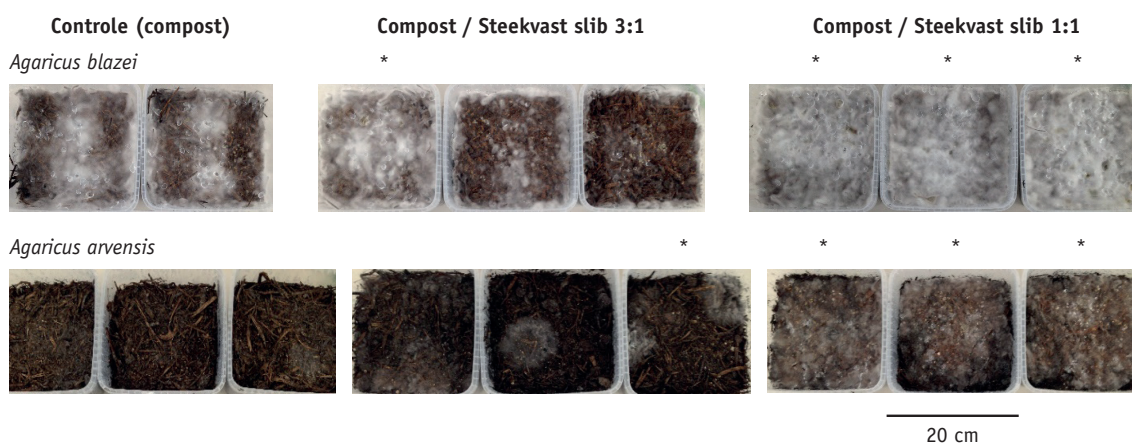
Om een goed composteringsproces op gang te brengen is het allereerst van belang dat er een goede menging van de afzonderlijke delen plaatsvindt. Wanneer dat niet lukt kan het composteringsproces onvolledig verlopen. Op basis van dit eerste experiment kan worden gesteld dat het steekvast slib zich beter laat mengen dan het biogranulaat maar ook bij het steekvast slib verloopt het mengproces moeizaam. Het is dan ook te overwegen om in vervolgentoelagen andere slibsoorten als uitgangsmateriaal te gebruiken, het liefst zonder toegevoegde polymeren omdat gedacht wordt dat deze het mengproces negatief beïnvloeden. Slib uit de borstelcentrifuge (10-20% DS, geen polymeren!, zie hoofdstuk 3) leent zich hier uitstekend voor.

5.3.2.2 ENTEN EN GROEI VAN DE GESELECTEERDE CHAMPIGNONSOORTEN

De substraten met een compost-component hadden een consequent lager vrij ammoniumgehalte in vergelijking met de substraten met champost (Tabel 5.2). Substraten met een laag ammoniumgehalte werden geënt met het broed van *A. arvensis* en *A. blazei*⁹. Normaal gesproken dient als uitgangspunt een vrij ammoniumgehalte < 3 ppm, wat slechts in de controle werd bereikt. Desalniettemin werden de substraten 3 en 5 (beide compost-steekvast slib mengsel) beënt.

De groei en ontwikkeling van beide soorten na 4 weken verschilde aanzienlijk. *A. blazei* ontwikkelde zich veel beter c.q. sneller dan *A. arvensis* en het substraat met veel slib (1:1) deed het beter dan de substraten met minder slibtoevoeging (Figuur 5.4). Na 4 weken was bij *A. arvensis* nog een duidelijke ammoniakgeur waar te nemen, terwijl dit niet het geval was bij de *A. blazei* kweken. Dit duidt er op dat *A. blazei* sterker is en beter tegen (lage concentraties, < 25 ppm) ammonia kan en bovendien dat de stikstof is ingebouwd.

FIGUUR 5.4 OVERZICHT ONTWIKKELING BROED DD. 16 JANUARI 2018 (4 WEKEN NA ENTEN; * = AFGEDEKT MET DEKAARDE)



CONCLUSIE

- Om het composteringsproces goed te laten verlopen is de C/N verhouding van groot belang. In een regulier composteringsproces dient deze idealiter ongeveer 20 á 30 te zijn. De C/N verhouding van de door ons gebruikte substraten is veel lager (zie Tabel 5.3), waardoor er vrij ammonium overblijft. Daardoor konden de champost-substraten niet worden beënt, terwijl juist deze van belang zijn voor onze business case. In eventuele vervollexperimenten is het daarom van belang deze uitgangssituatie te verbeteren. Dat kan door materiaal toe te voegen die er voor kan zorgen dat de juiste C/N verhouding bereikt wordt. Dit betekent in de praktijk de verhouding stro / paardenmest en kippenmest aanpassen.

TABEL 5.3 C/N VERHOUDINGEN AAN HET EINDE VAN HET EXPERIMENT

n=2-3	mg/g DS	C/N verhouding in substraat		
		N	C	C/N
<i>A. blazei</i>	controle	28	311	11,3
	3:1 compost: slib	33	272	8,3
	1:1 compost:slib	34	268	8,0
<i>A. arvensis</i>	3:1 compost: slib	34	278	8,2
	1:1 compost:slib	34	259	7,6

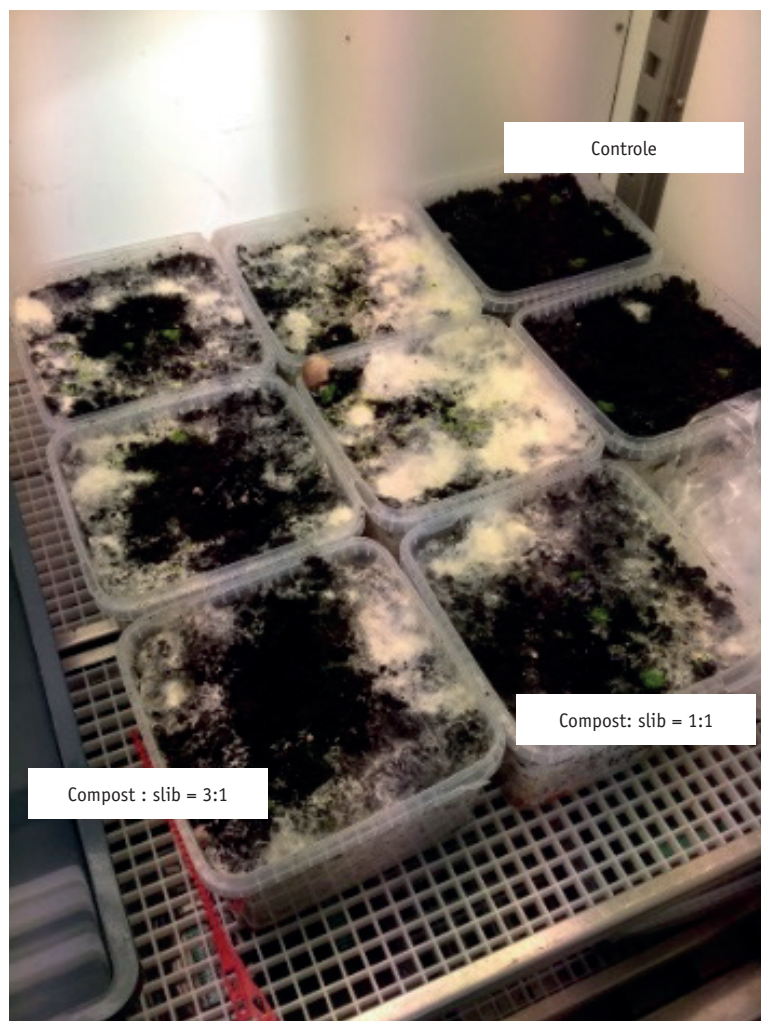
9 Broed afkomstig van Mycelia, Nevele (B)

- Omdat de substraten elkaar sterk beïnvloeden in de fermini kan beter met één type substraat worden gewerkt, die dan zodanig dient te worden gestapeld dat de beluchting goed alle plaatsen van het substraat kan bereiken of dat het mengsel los in de fermini wordt gedaan. Hierdoor is de kans groter dat we een homogeen fermentatieproces krijgen waarbij een substraat met lager vrij ammoniumgehalte ontstaat. Als alternatief zouden we de uitgangssituatie kunnen verbeteren door grootschalig met een fase 1 i.p.v. een fase 2 proces te starten¹⁰, omdat hierdoor de controle op het meng- en composteringsproces veel beter is. In dit geval wordt een mengsel zonder pasteurisatie en conditionering gebruikt.

5.3.2.3 HET INDUCTIEPROCES VOOR KNOPVORMING, GROEI EN OOGST VAN DE 1^E VLUCHT PADDENSTOELEN

Op 18 januari 2018 werden de bakjes gesloten en knopvorming geïnduceerd. Vijf weken hierna werden de eerste uitgroeiende paddenstoelen van *Agaricus blazei* waargenomen (Figuur 5.5), niet van *A. arvensis*. Ook in de controle was nog geen knopvorming waarneembaar. Opvallend was dat de substraten met het grootste aandeel slib (50/50%, zie Figuur 5.5) het best of het snelst tot knopvorming kwamen.

FIGUUR 5.5 OVERZICHT ONTWIKKELING AGARICUS BLAZEI D.D. 20 FEBRUARI 2018 (9 WEKEN NA ENTEN, LINKER 3 BAKJES, COMPOST:SLIB 3:1; MIDDELSTE 3 BAKJES COMPOST:SLIB 1:1, RECHTER 2 BAKJES CONTROLE)



- In de champignonteelt worden 3 fasen van (indoor)compostbereiding onderscheiden: in fase 1 worden de basisingredienten gemengd en gecomposteerd in tunnels bij een temperatuur van meer dan 70°C, waarbij de ammoniak wordt afgevangen, in fase 2 wordt de basiscompost overgebracht naar een nieuwe tunnel met een temperatuur tussen 45-50°C; na 5-6 dagen is de compost gepasteuriseerd en klaar voor gebruik; in fase 3 worden mycelia van de paddenstoelen geënt.

5.3.2.4 OOGST VAN DE VRUCHTLICHAMEN EN ANALYSE VAN SUBSTRAAT EN PADDENSTOELEN

Nadat de vruchtlichamen van de paddenstoelen waren uitgegroeid en hun maximale grootte hadden bereikt werden ze geoogst. Na oogst werd het substraat gescheiden in compost en dekaarde¹¹, waarna nat- en drooggewicht en daarna het organische stofgehalte (gloeirestbepaling) werd bepaald. De paddenstoelen werden gedroogd. Alle monsters werden vervolgens gedestruerd en geanalyseerd op hun gehaltes aan stikstof, fosfaat en zware metalen (ICP, B-ware, Nijmegen).

RESULTATEN

In de Tabellen 5.4 t/m 5.6 en in Figuur 5.6 zijn de resultaten samengevat. In het uitgangsmateriaal waren de concentraties zink en koper in beide substraten (1:1 compost slib en 3:1 compost slib) relatief hoog en boven normwaarde. Concentraties aan andere metalen waren laag en onder de normwaarde (Tabel 5.4). Meest opvallend resultaat is de **cadmiumopname** van de champignonsoorten (Tabel 5.5, 5.6 en Figuur 5.6). Het is heel duidelijk dat vooral *A. blazei* een uiterst effectieve accumulator van cadmium is: tot meer dan 10 mg/kg DS werd aan het substraat onttrokken. Opvallend genoeg werd ook in de controle tot 8 mg/kg DW cadmium aan het substraat onttrokken. Er is weliswaar een positieve relatie tussen de opgenomen hoeveelheid cadmium en het aandeel slib in het substraat, maar de verschillen zijn gering.

TABEL 5.4

DROOGGEWICHT, ORGANISCHE STOFGEHALTE, GEHALTES AAN P EN ZWARE METALEN IN HET SUBSTRAAT BIJ AANVANG VAN HET EXPERIMENT [GEMIDDELDE ± SE; N=2-3; VETGEDRUKTE GETALLEN DUIDEN OP NORMOVERSCHRIJDING]

	1:1 compost:slib	3:1 compost:slib	dekaarde	stortveen
DW%	33,9%	40,4%		
Org. Stof %	34	31,3	53	6,4
P-tot (g/kg DW)	17,9±0,4	12,0±0,6	1,88	1,55
Zn (mg/kg DW)	525±12	345±15	64	47
Cu (mg/kg DW)	195±6	122±4	21	12
Cd (mg/kg DW)	0,7±0,0	0,6±0,1	0,7	0,5
Pb (mg/kg DW)	43,0±3,0	27,0±0,8	20,2	7,9
Ni (mg/kg DW)	11,4±0,3	7,5±0,5	2,25	1,09

Blijkbaar wordt in alle substraten (controle tot 1:1 slib/compost) het cadmium zeer effectief verwijderd. Ook *A. arvensis* accumuleert cadmium maar doet dat in mindere mate: tot 2 mg/kg DW (Tabel 5.6 en Figuur 5.6). Hier is overigens wel een duidelijker verband zichtbaar tussen de opgenomen hoeveelheid cadmium en het aandeel slib.

Hieruit kan het percentage cadmium worden berekend dat uit het substraat verwijderd is door de paddenstoelen (Tabel 5.5). Hoewel de concentraties in het substraat relatief laag waren en in alle gevallen onder normwaarde, bleken zowel *A. blazei* en *A. arvensis* effectief cadmium uit het substraat te kunnen verwijderen, resp. 25 en 20%.

Daartegenover vertoont het opnamepatroon van **nikkel** het tegenovergestelde beeld: hoewel er slechts lage concentraties in substraat aanwezig zijn, nemen de paddenstoelen nikkel niet of nauwelijks op. Dit geldt voor zowel *A. blazei* als *A. arvensis*. De opname van **lood** vertoont een vergelijkbaar beeld: een 'avoidance reactie' (Tabel 5.5, Figuur 5.6).

11 Dekaaarde wordt in de champignonteelt gebruikt als afdeklaag van de compost na het enten; de laag bestaat uit een mengsel van verschillende soorten turf en schuimaarde (een afvalproduct van de suikerindustrie). De bacteriën die in de dekaarde leven stimuleren het mycelium tot het vormen van de champignons. Zonder deze bacteriën worden er geen champignons gevormd, dus goede dekaarde is van het grootste belang bij de kweek van champignons.

TABEL 5.5

BEREKENDE PERCENTAGE VERWIJDERING VAN METALEN UIT HET SUBSTRAAT BIJ DE VERSCHILLENDE BEHANDELINGEN (N=1-3)

		% verwijderd uit substraat				
		Cd	Zn	Cu	Ni	Pb
<i>A. blazei</i>	1:1 compost/slib	24	1	2	0,16	0,34
	3:1 compost/slib	25	1	2	0,02	0,19
<i>A. arvensis</i>	1:1 compost/slib	20	2	2	0	0,35
	3:1 compost/slib	10	1	2	0	0,24

Voor de metalen **zink en koper** is een ander opnamepatroon te constateren. Het lijkt er op dat beide champignonsoorten zowel zink als koper niet actief opnemen, waarbij vooral *A. arvensis* in staat lijkt de metalen buiten de deur te houden. *A. blazei* vertoont een positieve relatie tussen de koper-opname en het aandeel slib in het substraat, echter niet zodanig dat de concentratie in het substraat significant verlaagd wordt. Het verwijderingspercentage uit het substraat bedraagt niet meer dan 1-2% (Tabel 5.5). Dit geldt eigenlijk voor beide soorten in alle behandelingen: de substraten bevatten vergelijkbaar hoge concentraties aan zink en koper als voor de behandeling en dus is de conclusie dat er weinig of geen 'reiniging' door de paddenstoelen plaats gevonden heeft.

CONCLUSIE

- beide soorten accumuleren cadmium in het vruchtlichaam van de paddenstoel; *A. blazei* neemt het meest effectief cadmium op en kan beschouwd als een echte cadmiumaccumulator; *A. arvensis* doet dat in mindere mate.
- het feit dat er een weinig duidelijke relatie tussen het aandeel slib in het substraat en de cadmiumopname bij *A. blazei* bestaat, kan er op duiden dat ofwel de concentraties te laag zijn om het effect goed te kunnen meten in termen van significante verschillen, ofwel dat er in het fermentatieproces een zodanig slechte menging heeft plaatsgevonden dat het mycelium van de paddenstoel niet 100% heeft kunnen penetreren in het substraat, ofwel dat ook hier sprake is van een lage biobeschikbaarheid van de metalen, waardoor het mycelium niet in staat is ook de metalen uit het organisch complex te mobiliseren en te extraheren.
- zink en koper worden slecht opgenomen en worden niet geaccumuleerd; *A. blazei* lijkt koper wel enigszins actief te stapelen, maar uiteindelijk blijven de concentraties in het substraat hoog en boven de norm. Dit geldt nog sterker voor nikkel en lood, waar het lijkt dat de paddenstoelen deze metalen actief buiten de deur kunnen houden.

5.3.3 ALGEMENE CONCLUSIES

- Beide *Agaricus* soorten kunnen groeien op slib-compost substraten, waarbij *A. blazei* de soort is die het het best doet: deze kan goed tegen lage concentraties laag vrij ammonium en groeit dan op het substraat;
- Beide soorten zijn echte cadmiumaccumulators, die gebruikt kunnen worden bij het reinigen van voornamelijk cadmium verontreinigde bodems of slib; *A. blazei* is daarbij de meest effectieve soort; de opname tot max. 10 mg/kg DS, overeenkomend met een verwijderingspercentage van cadmium aan het substraat van 25% is vergelijkbaar met wat gevonden werd door Stoknes et al. (2017) in digistaten. Zij maten waarden tussen de 2 en 30 mg/kg DW in de eerste vlucht van de paddenstoelen, wat overeenkwam met verwijderingspercentages uit het substraat tot 80%!
- Beide soorten zijn interessant in die gevallen waar het slib hoge concentraties aan het toxische metaal cadmium bevat omdat ze beide de capaciteit hebben om effectief cadmium op te nemen uit het substraat. Voor zink en koperverontreinigingen zijn de soorten

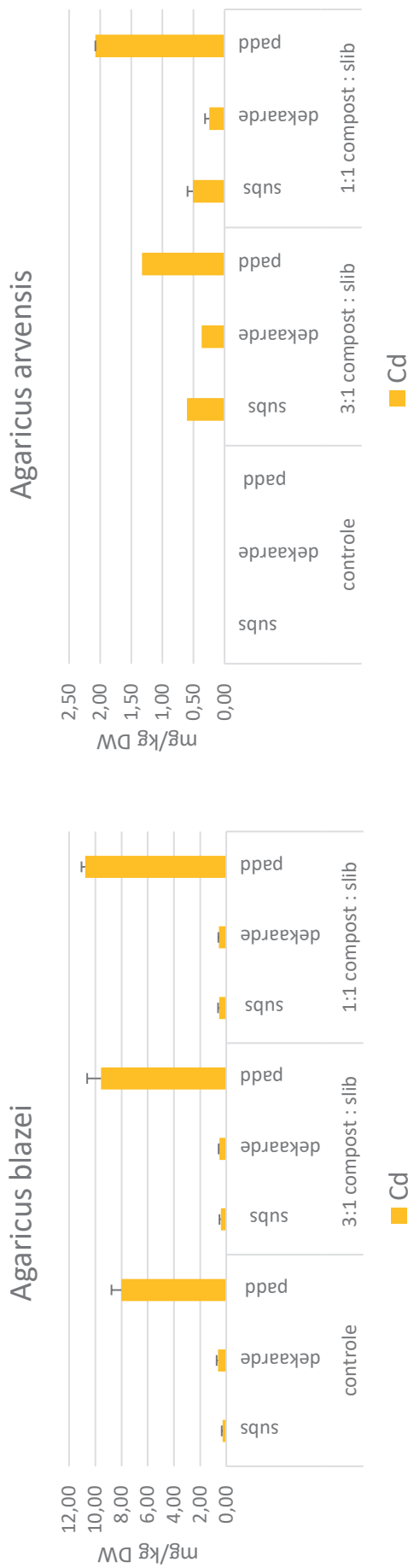
minder geschikt omdat ze deze metalen niet actief accumuleren en daarom de concentraties in het slib niet onder de normwaarde kunnen brengen.

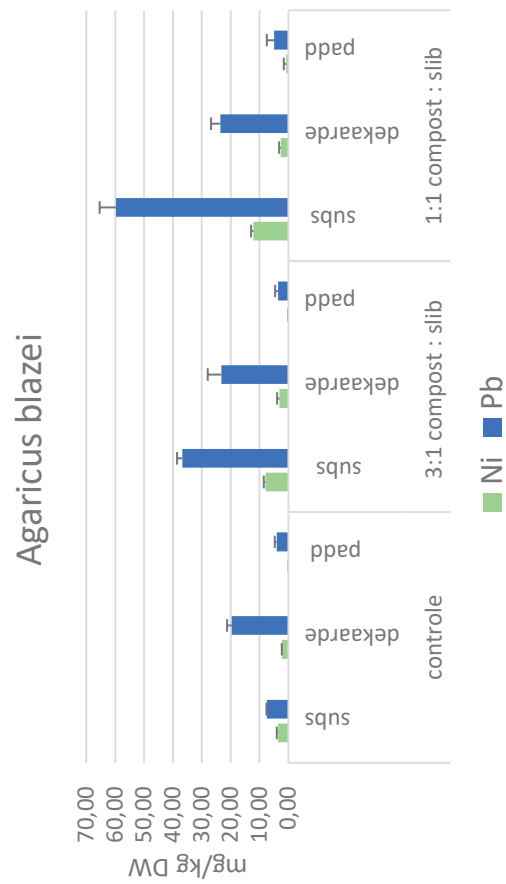
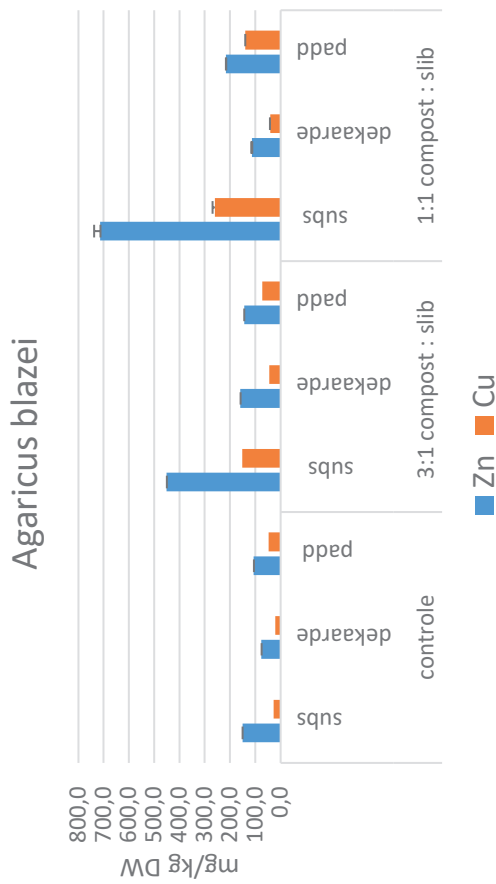
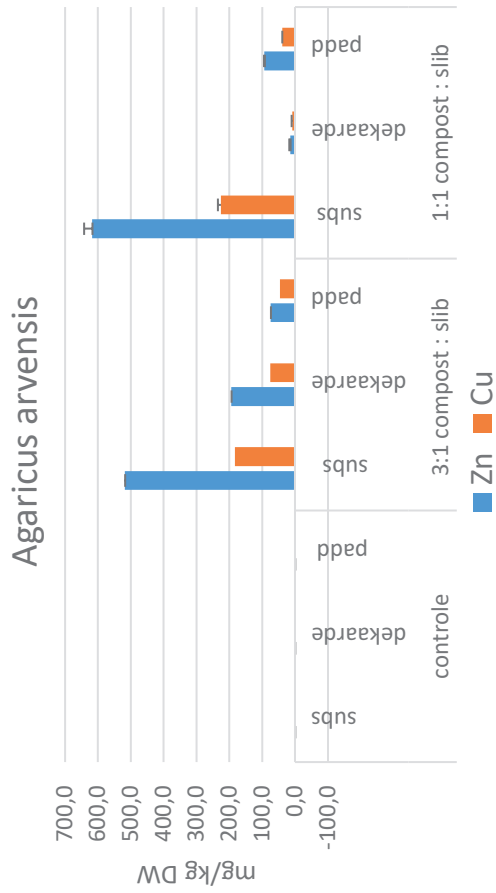
- In tegenstelling tot de meeste hogere plantensoorten, waar de zink- en cadmiumaccumulatie- capaciteit bijna altijd aan elkaar zijn gekoppeld, zijn beide *Agaricus* soorten slechts gespecialiseerd in cadmiumopname maar niet in zink of koper. Dit duidt op een ander opnamemechanisme.
- Het is voor ons doel interessant om te zoeken naar schimmelsoorten die gespecialiseerd zijn in koper- en/of zinkopname. Literatuuronderzoek en navraag bij specialisten op dit gebied (prof. Jan Colpaert, Universiteit Hasselt) leverde op dat dergelijke soorten (nog) niet gevonden zijn.
- Een alternatief voor de verwijdering van metalen met behulp van geselecteerde champignonsoorten is de toepassing van schimmelcelwanden. Deze staan bekend om hun capaciteit om zware metalen te binden als een soort van ionenwisselaar (Baars & Becker, 2012). Er zou geëxperimenteerd kunnen worden om met deze methode zware metalen uit actief slib te verwijderen.

TABEL 5.6 ORGANISCHE STOFGEHALTE, GEHALTES AAN FOSFAAT EN ZWARE METALEN IN DE TWEE AGARICUS SOORTEN NA KWEEK OP VERSCHILLENDE SLIB-COMPOST MENGSELS [GEMIDDELDE ± SE; N=2-3]

Org. Stof %	Agaricus blazei												Agaricus arvensis											
	controle				3:1 compost : slib				1:1 compost : slib				controle				3:1 compost:slib				1:1 compost:slib			
	Subs	dekaarde	padd		subs	dekaarde	padd		subs	dekaarde	padd		subs	dekaarde	padd		subs	dekaarde	padd		subs	dekaarde	padd	
P-tot (g/kg DW)	41±5	39±11	nd	47±6	41±13	nd	40±14	33±11	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Zn (mg/kg DW)	5,3±0,3	3,6±0,4	11,0±0,1	15,6±1,3	5,0±3,2	11,2±0,5	25,0±1,4	4,2±1,0	11,4±0,8	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cu (mg/kg DW)	150±11	76±2	107±4	451±32	159±59	144±9	714±36	113±33	216±45	144±9	73±6	259±16	41±11	139±31	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cd (mg/kg DW)	27±2	21±2	47±6	152±11	45±25	9,6±1,0	0,6±0,1	0,6±0,1	10,8±0,3	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1
Pb (mg/kg DW)	0,3±0,1	0,6±0,1	8,0±0,8	0,4±0,1	0,5±0,1	3,5±1,1	23,2±4,8	3,5±1,1	5,0±2,6	3,5±1,1	59,7±5,6	23,6±3,2	5,0±2,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ni (mg/kg DW)	7,5±0,5	19,7±1,6	4,0±0,7	36,1±1,8	3,1±0,8	0,1±0,1	12,2±0,8	2,6±0,6	0,8±0,9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	3,6±0,5	2,2±0,1	0,0±0,0	8,0±0,5	3,1±0,8	0,1±0,1	12,2±0,8	2,6±0,6	0,8±0,9	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd

FIGUUR 5.6 GEHALTES AAN ZWARE METALEN IN SUBSTRAAT, DEKAARDE EN PADDENSTOELEEFSEL VAN A. BLAZEI (LINKS) EN A. ARVENSIS (RECHTS) AAN HET EINDE VAN HET EXPERIMENT (N=3; GEMIDDELLEN ± SE)





6

VOORLOPIGE CONCLUSIES TEN AANZIEN VAN PHYTOREMEDIATIE EN TOEPASSING VAN SLIB ALS BODEMSTRUCTUURVERBETERAAR EN AANPASSINGEN IN HET ONDERZOEKSPLAN

6.1 SUBSTRAATKEUZE EN -VOORBEREIDING EN GEBRUIKTE SOORTEN

Uit de eerste experimenten bleek reeds het belang van mengen ten behoeve van het creëren van een geschikt substraat voor de groei van planten of de kweek van champignons. Bij de kweek van champignons betrof het vooral de homogeniteit van het gemengde substraat, bij planten vooral de aeratie van het substraat, waarbij het voorkómen van anaerobe omstandigheden in de rhizosfeer (wortelzone) een cruciale rol speelde. Vandaar dat in vervolgprouven naast het reguliere, PE-houdend slib ook slib uit de borstelcentrifuge werd gebruikt (PE-vrij) omdat dit veel betere menzeigenschappen bleek te bezitten dan het PE-houdende slib. Als 'vulmiddel' werd in deze vervolgprouven brekerzand gebruikt omdat dit minder voedingsstoffen dan het eerder gebruikte duinzand bevat en dus tot minder variatie in resultaten zal leiden, waardoor de verschillen beter te verklaren zijn uit de reactie van de planten op slib. Naast potprouven in de klimaatkamer werden experimenten in de kas uitgevoerd in open kweekbakken, waardoor de doorluchting van het gehele substraat veel beter was met als gevolg dat de vochtigheidsgraad van het slibmengsel lager en min of meer homogeen was. In deze prouven, die functioneerden als een soort modelopstelling, werden slibmengsels in een dikte van ca. 5 cm aangebracht. Vervolgens werden de kweekbakken gevuld met een groot aantal planten waardoor het phytoremediërende effect ook per oppervlakte kon worden bepaald en als zodanig een beeld kan geven van de mogelijkheden bij eventuele opschaling van de proufopzet (zie Figuur 6.1).

FIGUUR 6.1 DE MODELOPSTELLING IN KREEKBAKKEN IN DE KAS (PROEFTUIN, ZWAAGDIJK)



Omdat de geselecteerde metaal-accumulerende soort *Noccaea caerulescens* populatie Durfort niet geschikt bleek om een effectieve fytoremediatie te bewerkstelligen, werden in vervolgprouwen soorten getest die wellicht kansrijker zijn: ofwel soorten die mogelijk beter gedijen op de aangeboden slibmengsels, en dus een hogere groeisnelheid bereiken, of soorten die op deze substraten naar verwachting een hogere metaalopname vertonen. Voor de vervolgprouwen werden de metaaltolerante soorten *Sedum plumbizincicola* en *Noccaea caerulescens* pop. Lellingen getest en daarnaast soorten afkomstig van zoete en zoute, natte, organische bodems: schorrekruid (*Suaeda maritima*, zout milieu), spiesmelde (*Atriplex hastata*, zoet-brak milieu), strandmelde (*Atriplex littoralis*, brak-zout milieu) en schietwilg (*Salix alba*, zoet milieu).

De proefopzet voor de fytoremediatie experimenten met planten is samengevat in Tabel 6.1.

TABEL 6.1 PROEFOPZET PHYTOREMEDIATIE MET PLANTEN

soort	Klimaatkamer		Kas (proeftuin)	
	aanpak	doel	aanpak	doel
<i>Noccaea pop. Durfort</i>	potproef met PE-houdende en PE-vrije slibmengsels	'Proof-of principle'	modelopstelling met PE-houdende en PE-vrije slibmengsels	
<i>Noccaea pop. Lellingen</i>			praktijkschaling	
<i>Sedum plumbizincicola</i>				
<i>Salix alba</i>	potproef met PE-vrije slibmengsels	'Proof-of principle'		
<i>Atriplex hastata/littoralis</i>				
<i>Suaeda maritima</i>				
<i>Sinapis alba (mosterd)</i>		referentie		referentie

In dit onderzoek wordt primair gezocht naar soorten die in staat zijn tot een effectieve fytoremediatie. Gelijktijdig werd uit de eerste experimenten duidelijk dat voor het ontwikkelen van een mogelijke businesscase de biobeschikbaarheid van metalen in substraten met een hoog organisch stofgehalte cruciaal is voor een succesvolle toepassing van fytoremediatie met planten. Daarom werd ook onderzocht welke mogelijkheden er zijn voor een vergroting van de biobeschikbaarheid van metalen. Er zijn een aantal terrestrische wormensoorten bekend die gedijen in metaalverrijkte substraten en het materiaal eten, verteren en verder beschikbaar maken (*Eisenia*, *Dendrobena*). Daarom werd onderzocht of de wormensoort *Dendrobena* ook zuiveringsslib verteert. Uit pilot experimenten bleek dat steekvast slib niet werd gegeten en verteerd door deze wormen, waardoor voorlopig niet verder werd gewerkt om wormen in te zetten voor dit doel. Daarnaast werd onderzocht of de toepassing van arbusculaire ectomycorrhiza (AEM) het opnameoppervlak van het wortelsysteem kan vergroten en daarmee de metaalopname. Samen met Micosat Nederland (Nieuwkoop) werden mogelijkheden onderzocht voor toepassing van mycorrhiza mengsels. Echter, AEM hechten zich slecht aan de wortels van kruisbloemige planten zoals *Noccaea* en ook aan wortels van planten van de ganzevoetfamilie (*Chenopodiaceae*, *Atriplex* soorten: spiesmelde, strandmelde). Aangezien *Noccaea* en wellicht ook de *Atriplex* soorten belangrijke kanshebbers zijn voor dit onderzoek, is toepassing van AEM niet zinvol. Wellicht voor andere soorten is uitbreiding met AEM wel zinnig, maar dienen we eerst te onderzoeken of dergelijke soorten ook voldoende fytoremediatiecapaciteit bezitten.

6.2 AANPASSING ONDERZOEKSPAN

Het feit dat de twee geselecteerde champignonsoorten voornamelijk goede accumulatoren bleken van cadmium, maar niet van zink en koper, betekent dat er geen vervollexperimenten met champignons werden uitgevoerd, omdat de normoverschrijding in het slib voornamelijk koper en zink betreft en niet cadmium. De enige optie om vervollexperimenten met paddenstoelen uit te voeren, is wanneer er soorten gevonden worden die zink en/of koper kunnen accumuleren. Deze soorten zijn vooralsnog niet beschikbaar¹².

12 Dit werd bevestigd door de specialist op het gebied van paddenstoelen en metaalaccumulatie, prof. dr. Jan Colpaert, Universiteit Hasselt (België) [pers. comm.]

7

EXPERIMENTEN MET VERSCHILLENDE PLANTENSOORTEN OP PE-HOUDEND EN PE-VRIJ SLIB

7.1 GROEI EN METAALOPNAME VAN *NOCCAEA CAERULESCENS* POPULATIES EN *SEDUM PLUMBIZINCICOLA* OP PE-HOUDEND EN PE-VRIJ SLIB IN EEN MODELOPSTELLING IN DE KAS

7.1.1 PROEFOPZET

In de proefopzet werden aanpassingen gedaan conform de conclusies zoals verwoord in hoofdstuk 6. Door het gebruik van open kweekbakken ontstond een veel betere aeratie van het substraat en tevens werden een aantal andere soorten getest. Om het effect van de open kweekbakken te vergelijken met de potproeven werd opnieuw *Noccaea* pop. Durfort onderzocht. Daarnaast werd de non-metallicole soort *Noccaea* pop. Lellingen gebruikt en de als hyperaccumulator bekend staande soort *Sedum plumbizincicola*. In dit experiment werd naast PE-houdend slib uit Deventer ook PE-vrij slib uit Nieuwe Wetering, bereid met de borstelcentrifuge gebruikt. In de bakken werden resp. 8 (*Sedum*), 30 (*Noccaea*) en ca. 25 (mosterd) planten als zaailing (*Noccaea*, mosterd) of stek (*Sedum*) ingezet (Tabel 7.1).

TABEL 7.1 PROEFOPZET

	Aantal planten per kweekbak				
	controle*	slib/brekerzand 1:4		slib/brekerzand 1:1	
		borstelslib	Deventer	borstelslib	
Referentie (gele mosterd)	> 25	> 25	> 25	>25	
<i>Noccaea</i> - metallicole populatie Durfort	30	30	30	30	
<i>Noccaea</i> - non-metallicole populatie Lellingen	30	30	30	30	
<i>Sedum plumbizincicola</i>	8	8	8	8	

7.1.2 MATERIAAL EN METHODEN

7.1.2.1 SUBSTRAATVOORBEREIDING

Voor de experimenten werden twee soorten slib gebruikt: a) PE-houdend slib uit de zuivering Deventer (karakteristieken, zie 4.5.2.1; het hier gebruikte slib had een DS% van 25,5) en b) aerob, gestabiliseerd niet uitgegist slib afkomstig uit de AWZI op Nieuwe Wetering (DS < 2%) dat met behulp van de borstelcentrifuge in de zomer van 2018 werd ingedikt en ontwaterd (PE-vrij slib), een DS% bereikte tussen de 12-25 en een organische stof gehalte tussen 25,5 en 39,5% had (zie hoofdstuk 3.4). Het voor dit experiment gebruikte borstelcentrifugeslib had een DS-gehalte van ca. 24%. Deze slibsoorten werden in een metselkuip met een betonmenger

gemengd met brekerzand in een verhouding 1:1 v/v slib/zand en 1:4 v/v slib/zand tot een homogeen substraat was ontstaan. Deze slibmengsels werden gebruikt voor de groei van vier geselecteerde soorten in open kweekbakken (36,5 x 28 x 10 cm, waarvan 4,5 cm gevuld met substraat).

7.1.2.2 VOORBEREIDING PLANTEN

Zaden van *Noccaea* populatie Durfort en Lellingen, verzameld en ter beschikking gesteld door Dr. Henk Schat (Vrije Universiteit, Amsterdam), werden gebruikt voor de experimenten. De zaden werden na kieming 2 maanden op potgrond gekweekt totdat de planten rozetten gevormd hadden. Deze werden vervolgens gernaliseerd gedurende 6 weken bij 4 °C (12 uur licht per dag). Na ca. 2 maanden werd de volgende generatie zaden geoogst, die werden gebruikt voor experimenten. Deze zaden werden op potgrond te kiemen gelegd en de zaailingen werden na ca 2 weken in de kweekbakken gevuld met de verschillende substraten gezet (plantenkas, 20 °C bij 200 µmol.sec-1.m² licht op plantniveau). Dezelfde procedure werd gevolgd voor mosterdzaden, die al reeds na 1 week groot genoeg waren om te worden verspeend.

Zaden van *Sedum plumbizincicola* werden verkregen via Dr. Jiashi Peng (彭佳师) en Prof. Ji Ming Gong (龚继明 Universiteit van Sjanghai) en werden voorbehandeld met 20 µM gibberellinezuur en gernaliseerd gedurende 2 weken bij 4 °C en 12 uur licht per dag, vervolgens gezaaid op potgrond. Het kiemingspercentage bleek erg laag (ca. 0,5%), maar de planten die gekiemd waren groeiden voorspoedig en konden via stekken worden vermeerderd.

7.1.2.3 OOGST VAN DE PLANTEN

In het geval van *Sedum* werden de planten in twee tranches ingezet maar wel op hetzelfde tijdstip geoogst, waardoor het mogelijk was de metaalopname te vergelijken van planten die kort (2,5) en lang (5) weken op het substraat hadden gegroeid. Het tijdstip van oogsten van de planten werd bepaald door de groei onder controleomstandigheden: wanneer in de controlebakjes de planten de gehele kweekbak hadden bedekt en de bladeren elkaar neigden te gaan overlappen, werden planten uit alle behandelingen geoogst. Het aantal levende planten werd geteld, versgewicht van de planten en van de bakjes bepaald en vervolgens werden zowel de planten als de substraten gedroogd.

7.1.2.4 ANALYSE VAN SUBSTRAAT EN PLANTENMONSTERS

Van het slib en de verschillende soorten slib/zand mengsels werd vers- en drooggewicht bepaald door de monsters 48 uur te drogen in een stoof bij 70 °C; organisch stofgehalte van droge monsters werd bepaald met behulp van de gloeiverliesmethode door 4 uur te verassen in een oven bij 550 °C. Totaalgehalten aan nutriënten en metalen werden bepaald door middel van destructie (50-100 mg DW gedurende 1 dag in Aqua regia = geconcentreerd HNO₃ en geconcentreerd HCl 1:3), gevolgd door een elementanalyse op een AAS (VU Amsterdam).

Van de bovengrondse delen van het plantenmateriaal (blad en stengel) werden vers- en drooggewicht bepaald; vervolgens werd het droge materiaal gehomogeniseerd in een mortier en gedestruerd (50-100 mg DW gedurende 1 dag in Aqua regia), waarna een elementenanalyse werd uitgevoerd op een AAS (VU Amsterdam). Daaruit konden de metaalverwijderingspercentages worden berekend volgens de methode zoals aangegeven in het kader in paragraaf 4.5.3.2.

7.1.3 RESULTATEN

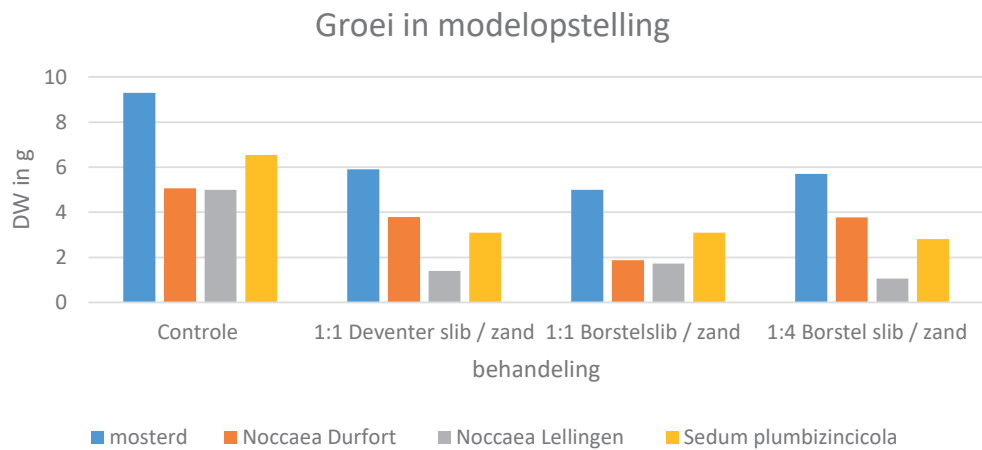
7.1.3.1 GROEI

Er bestond een duidelijk verschil in opbrengst tussen de behandelingen. Voor *Sedum gold* dat de opbrengst onder controleomstandigheden ca. 2 x zo hoog was in vergelijking met de behandelde planten, waarbij de behandeling borstelslib/zand 1:4 de laagste opbrengst had (zie Figuur 7.2). De planten in de controle waren ook veel lichter van kleur in vergelijking met de behandelde planten (zie Figuur 7.1). Dit was vooral het geval bij het mengsel borstelslib / zand 1:4. De donkere, naar rood neigende kleur is – net als eerder geconstateerd bij *Noccaea* - waarschijnlijk het gevolg van toxiciteitsverschijnselen (koper) en/of deficiëntie van macronutriënten (met name fosfaat). Ook bij *Noccaea* was de opbrengst bij alle behandelingen lager dan in de controle (Figuur 7.2, 7.3). Het slechtst deden de planten het op de 1:1 slib/zand substraten. Daar was de opbrengst het laagst en ook waren daar een groot aantal planten dood aan het eind van het experiment (Tabel 7.1). Opvallend was dat vooral *Noccaea* populatie Lellingen slecht groeide op de slibsubstraten, juist ook op het 1:4 mengsel (Figuur 7.2). De referentieplant mosterd had de hoogste opbrengst onder controle omstandigheden maar groeide redelijk tot goed op de andere mengsels.

FIGUUR 7.1 OPBRENGST VAN *SEDUM PLUMBIZINCICOLA* NA RESP. 5 (LINKER DEEL BAKJE, 4 PLANTEN) EN 2,5 WEKEN (RECHTER DEEL BAKJE, 4 PLANTEN) GROEI IN DE VERSCHILLENDE SUBSTRATEN



FIGUUR 7.2 TOTAAL DROOGGEWICHTEN PER KWEEKBAK VAN MOSTERD, NOCCAEA DURFORT, NOCCAEA LELLINGEN EN SEDUM IN DE MODELOPSTELLING NA RESP. 8, 6 EN 6 WEKEN GROEI BIJ VERSCHILLENDE BEHANDELINGEN



TABEL 7.1 AANTAL LEVENDE PLANTEN NA AFLOOP VAN HET EXPERIMENT

	Mosterd	Noccaea Durfort	Noccaea Lellingen	Sedum
Controle	alle	30	30	8
1:1 Deventer slib	alle	26	16	8
1:1 Borstel slib	alle	19	22	8
1:4 Borstel slib	alle	23	10	8

FIGUUR 7.3 OPBRENGST VAN NOCCAEA CAERULESCENS 'LELLINGEN' NA 6 WEKEN GROEI IN DE VERSCHILLENDE SUBSTRATEN



7.1.3.2 METAALOPNAME

De concentraties van de vijf meest voorkomende zware metalen werden bepaald in de substraten die voor het experiment werden gebruikt (Tabel 7.2) en in het gedestrueerde plantenmateriaal (Tabel 7.3). De concentraties in het slib zijn conform de gemeten jaargemiddelden en laten zien dat vooral de concentraties aan zink en koper relatief hoog zijn en boven de toetsingswaarde.

TABEL 7.2
CONCENTRATIES METALEN IN DE VERSCHILLENDE SUBSTRATEN BIJ HET BEGIN VAN DE EXPERIMENTEN
(IN MG/KG DW; *CONTROLE: POTGROND:BREKERZAND 1:1 V/V)

	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Deventer slib (n=6)	1511 ± 240	610 ± 101	1,2 ± 0,4	23,5 ± 4,4	136 ± 24
Borstelcentrifugeslib (n=3)	2251 ± 199	722 ± 164	2,1 ± 0,3	59,2 ± 5,7	178 ± 13
Brekerzand (n=2)	2,1 ± 2,0	0,8 ± 0,4	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,5	0,1 ± 0,0
Duinzand (n=2)	23,1 ± 0,0	1,8 ± 0,3	0,4 ± 0,0	2,2 ± 0,3	6,7 ± 1,0
Controle (n=2)*	78,2 ± 6,7	2,1 ± 0,2	0,2 ± 0,0	0,0 ± 0,0	< 0,1

In de plantenmonsters bleken vooral de concentraties zink verhoogd, ook bij de mosterdplanten (Tabel 7.3). Echter de verschillen waren niet spectaculair en voor metaal-accumulerende soorten als *Noccaea* pop. Lellingen en *Sedum* waren de gemeten concentraties zelfs laag. Voor *Noccaea* pop. Durfort gold dat de concentraties extreem laag waren, waarschijnlijk t.g.v. het eerder geconstateerde gegeven dat de groei op deze substraten slecht was en daarmee de conditie van de planten. In alle gevallen lijkt het er op dat het voor de geselecteerde soorten lastig is om de metalen uit het organisch complex van het slib te mobiliseren. Opvallend was dat de opgenomen concentraties metalen in de controles bij beide *Noccaea* populaties hoog was, soms zelfs hoger dan bij de behandelingen met slib (in geval van Ni en Cd). Dit duidt er op dat de planten potentieel in staat zijn om metalen effectief op te nemen, maar niet uit de slibsubstraten waar het gebonden is aan de organische stof. Bij *Sedum plumbizincicola* werden oude en jonge bladeren geoogst om te zien of er verschil in opnamekarakteristiek bestond en verhoogde opname tijdafhankelijk is. Opvallend genoeg waren het de jonge bladeren die relatief veel lood opnamen, maar dat was in de oude bladeren niet meer terug te vinden. Voor zink gold min of meer het omgekeerde patroon: dat werd vooral in de oude, minder in de jonge bladeren gestapeld.

TABEL 7.3 CONCENTRATIES METALEN IN MOSTERD, NOCCAEA DURFORT, NOCCAEA LELLINGEN EN SEDUM NA RESPECTIEVELIJK 5, 8, 6 EN 6 WEKEN GROEI BIJ VERSCHILLENDE BEHANDELINGEN (IN MG/KG DW; N=4; GEMIDDELDELEN ± SE)

Mosterd										
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb					
Controle	67 ± 0,5	2,8 ± 1,5	0,4 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,8 ± 1,5					
1:1 Deventer slib	611 ± 36	16,7 ± 1,8	0,3 ± 0,1	2,5 ± 0,5	1,3 ± 0,0					
1:1 Borstel slib	579 ± 1	16,8 ± 4,0	0,3 ± 0,1	4,0 ± 1,9	0,6 ± 0,6					
1:4 Borstel slib	641 ± 18	19,5 ± 0,4	0,4 ± 0,4	4,4 ± 1,7	1,9 ± 0,8					
Noccaea populatie Lellingen										
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb					
Controle	737 ± 55	5,4 ± 0,3	11,9 ± 1,3	36,0 ± 4,6	3,2 ± 3,1					
1:1 Deventer slib	1282 ± 58	10,6 ± 0,3	4,5 ± 0,1	2,9 ± 0,2	6,4 ± 0,7					
1:1 Borstel slib	1608 ± 91	7,7 ± 0,4	3,6 ± 0,0	6,1 ± 0,5	3,7 ± 0,6					
1:4 Borstel slib	1163 ± 266	6,4 ± 0,1	2,8 ± 0,1	2,7 ± 0,6	4,3 ± 2,1					
Noccaea populatie Durfort										
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb					
Controle	395 ± 114	5,8 ± 0,7	5,6 ± 0,7	3,7 ± 0,5	2,2 ± 1,0					
1:1 Deventer slib	256 ± 64	18,7 ± 4,4	2,2 ± 1,0	2,2 ± 0,5	6,3 ± 3,2					
1:1 Borstel slib	177 ± 43	7,3 ± 1,6	3,0 ± 0,2	1,6 ± 0,2	2,8 ± 1,3					
1:4 Borstel slib	453 ± 121	6,2 ± 1,1	1,8 ± 0,5	1,0 ± 0,2	1,5 ± 0,6					
Sedum plumbizincicola										
leeftijd blad	Zn		Cu		Cd		Ni		Pb	
	oud	jong	oud	jong	oud	jong	oud	jong	oud	jong
Controle	123 ± 15	98 ± 3	2,3 ± 0,5	2,7 ± 0,0	3,0 ± 0,1	1,3 ± 0,0	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
1:1 Deventer slib	954 ± 195	603 ± 219	10,6 ± 4,9	4,6 ± 0,8	1,2 ± 0,5	1,3 ± 0,1	1,87 ± 1,03	0,43 ± 0,42	0,01 ± 0,00	3,08 ± 3,07
1:1 Borstel slib	1124 ± 7	700 ± 14	4,6 ± 0,1	5,3 ± 0,7	1,4 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,12 ± 0,28	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	5,10 ± 0,25
1:4 Borstel slib	710 ± 48	517 ± 52	3,8 ± 0,2	4,0 ± 0,2	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,1	1,43 ± 0,06	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	3,79 ± 0,27

Uit de gemeten concentraties kan berekend worden wat de percentuele verwijdering van de verschillende metalen is¹³. De resultaten zijn in Tabel 7.4 samengevat. Uit de tabel blijkt dat de verwijderingspercentages buitengewoon laag zijn, bijna in alle gevallen lager dan 1%. De grootste opname betrof meestal cadmium, maar ook daar waren verwijderingspercentages laag.

TABEL 7.4 BEREKENDE VERWIJDERINGSPERCENTAGES IN MOSTERD, NOCCAEA DURFORT, NOCCAEA LELLINGEN EN SEDUM NA RESPECTIEVELIJK 5, 8, 6 EN 6 WEKEN GROEI BIJ VERSCHILLENDE BEHANDELINGEN

	Sedum			Noccaea Lellingen			Noccaea Durfort			Mosterd		
	1:1 Deventer	1:1 Borstel	1:4 Borstel	1:1 Deventer	1:1 Borstel	1:4 Borstel	1:1 Deventer	1:1 Borstel	1:4 Borstel	1:1 Deventer	1:1 Borstel	1:4 Borstel
Zn	0,31	0,24	0,22	0,23	0,22	0,16	0,12	0,03	0,22	0,44	0,23	0,49
Cu	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,00	0,00	0,03	0,02	0,02
Cd	0,63	0,36	0,17	1,03	0,53	0,06	1,29	0,47	0,46	0,27	0,13	0,16
Ni	0,03	0,01	0,00	0,03	0,03	0,00	0,07	0,01	0,01	0,12	0,06	0,06
Pb	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,00	0,03	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01

13 Zie par. 4.5.3.2 voor berekeningswijze en daarbij gemaakte aannames

7.1.4 CONCLUSIE/DISCUSSIE

Ondanks het feit dat de aangeboden substraten veel beter geaereerd waren, bleef de groei van alle onderzochte soorten achter in vergelijking met de groei onder controleomstandigheden. De *Noccaea* populaties deden het beide slecht, getuige ook het aantal overgebleven levende planten na afloop van het experiment. Hoewel de *Sedum* planten allemaal overleefden, bleef ook hier de groei achter. De metaalaccumulatie was in bijna alle gevallen laag, waarbij het opvallend was dat de opname onder controleomstandigheden vaak net zo hoog of hoger was dan in de verontreinigde slibsubstraten. Dat gold vooral voor cadmium. *Noccaea* pop. Lellingen deed het weliswaar beter dan de populatie Durfort en hier was vooral de opname van zink relatief hoog. Echter, doordat de planten slechts langzaam groeiden en weinig biomassa produceren is het uiteindelijke verwijderingspercentage toch laag (tot max. 1%). Koper blijft in alle gevallen een problematisch element. Het werkt toxisch voor soorten als *Noccaea* en waarschijnlijk ook voor *Sedum* en de verwijderingspercentages van koper waren extreem laag. Illustratief hiervoor was dat de referentieplant mosterd de hoogste gehalten aan koper in de bovengrondse delen vertoonde.

Daar geen van de soorten een hoge groeisnelheid vertoonde en daarnaast ook nog eens slecht groeiden op de aangeboden substraatmengsels betekent automatisch dat het phyto-remedierend effect laag is. Groei en biomassaproductie gaan immers hand in hand met de opname. Voor de kritische parameters zink en koper geldt dat zink nog wel redelijk wordt opgenomen maar koper niet. Uit deze experimenten moeten we dan ook concluderen dat geen van deze, als hyperaccumulators bekende staande soorten in aanmerking komt voor phyto-remediatie van slib.

7.2 GROEI EN METAALOPNAME VAN KANSRIJKE SOORTEN VAN NATTE, ORGANISCHE STANDPLAATSEN EN NOCCAEA CAERULESCENS POPULATIES OP PE-VRIJ SLIB

7.2.1 INLEIDING

Aangezien uit het eerste potexperiment en het aansluitende experiment met open kweekbakken bleek dat soorten van minerale, voornamelijk droge bodems slecht gedijen op organische, natte substraten zoals slib of slibmengsels, werden in dit experiment een aantal soorten getest, die natuurlijkerwijs groeien op natte, organische bodems. Soorten uit pioniergemeenschappen in kweldermilieus (zoals *Atriplex* soorten uit brakke (*A. hastata*) of zoute, slikkige bodems met een laag zuurstofgehalte (*A. littoralis* en *Suaeda*). Daarnaast werd ook de snelgroeiende boomsoort *Salix alba* (schietswilg) getest (takken/bladscheuten); deze soort staat weliswaar niet bekend als specifieke metaalaccumulator maar heeft wel een zekere accumulatiecapaciteit en groeit snel op organische bodems. Als vergelijking werd opnieuw de als metaalaccumulerende soort bekende staande soort *Noccaea* (populaties Durfort en Lellingen) gebruikt en als referentiesoort mosterd (*Sinapis alba*).

UITVOERING

Vruchten van *Suaeda* en *Atriplex* werden verzameld op Texel (de Slufter), waarvan na droging de omhulsels werden verwijderd, zodat de zaden konden worden geoogst. Vervolgens werden de zaden in potten gevuld met potgrond één week gevernaliseerd (4°C in een koelkast met licht), waarna ze in de klimaatkamer werden gezet ter ontkieming. Takken van *Salix alba* werden verzameld in de Duursche Waarden langs de IJssel en direct in de slibmengsels gezet om wortelvorming te induceren. Zaden van de *Noccaea* populaties en mosterd werden ook op potgrond gekiemd. Zaailingen werden na één tot enkele weken verspeend naar 1 liter potten,

die waren gevuld met een mengsel van potgrond en zand (1:1 v/v, controle) of PE-vrij slib gemengd met brekerzand (1:1 v/v) (enkele planten per pot). Groeiregime: klimaatkamer, 20 bij 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{sec}^{-1}\cdot\text{m}^2$ licht op plantniveau.

TABEL 7.5 PROEFPOPZET IN 1 LITER POTTEN (AANTAL POTTEN PER SOORT EN BEHANDELING)

Soort	Controle	borstelslib/zand 1:1
<i>Noccaea</i> pop. Durfort (metallicool)	5	5
<i>Noccaea</i> pop. Lellingen (non-metallicool)	5	5
<i>Suaeda</i> maritima	5	5
<i>Atriplex</i> hastata	5	5
<i>Salix</i> alba	5	5
<i>Sinapis</i> alba (gele mosterd, referentie)	5	5

7.2.2 RESULTATEN

7.2.2.1 GROEI

De groeisnelheid en de biomassa-productie van de soorten verschilde sterk, zowel tussen de soorten als tussen de controlebehandeling en de kweek op slibsubstraat (Tabel 7.6). Opvallend was dat beide *Noccaea* soorten het beter deden op de slibsubstraten in vergelijking met de controlebehandeling. De referentieplant mosterd vertoonde een soortgelijke respons als eerder gemeten: een dubbel zo hoge groeisnelheid onder controleomstandigheden in vergelijking met de behandeling op slibsubstraat. *Suaeda* had een lage groeisnelheid en een zeer lage biomassa-productie. De planten kwamen al binnen 3 weken in bloei, wat er op duidt dat de planten zich niet thuisvoelen op het substraat. Voor deze zoutminnende soort is dat ongetwijfeld het gebrek aan zout (NaCl). De *Atriplex* soorten deden het verrassend goed, waarbij vooral *A. littoralis* een hoge groeisnelheid en biomassa-productie bereikte. Voor *Salix* werden geen groei-metingen uitgevoerd omdat gewerkt werd met houtige stekken waaraan zich bladeren ontwikkelden en dus geen representatieve groei-metingen konden worden uitgevoerd.

TABEL 7.6 GROEI VAN GESELECTEERDE SOORTEN NA RESP. 4 (ATRIPLEX SOORTEN, SUAEDA, MOSTERD) EN 5 (NOCCAEA POPULATIES) WEKEN GROEI ONDER CONTROLEOMSTANDIGHEDEN EN OP SLIBSUBSTRATEN (CONTROLE = POTGROND :BREKERZAND 1:1 V/V; SLIBSUBSTRAAT = POTGROND : PE VRIJ SLIB UIT BORSTELCENTRIFUGE 1:1 V/V). [GEGEVENS IN MG DW; N=5; GEMIDDELDE \pm SE; ND = NIET BEPAALD]

	controle	slib:brekerzand 1:1
<i>Atriplex littoralis</i>	425 \pm 139	871 \pm 270
<i>Atriplex hastata</i>	122	386 \pm 50
<i>Suaeda maritima</i>	nd	23 \pm 8
<i>Salix alba</i>	nd	nd
<i>Noccaea</i> Durfort	105 \pm 46	269 \pm 65
<i>Noccaea</i> Lellingen	233 \pm 65	384 \pm 48
Mosterd	1445 \pm 240	729 \pm 199

7.2.2.2 METAALOPNAME

De metaalopname van de *Noccaea* populaties was groter of gelijk onder controleomstandigheden in vergelijking met de slibbehandeling (Tabel 7.7). Dit was vooral opvallend bij de *Noccaea* populatie Lellingen en duidt er opnieuw op dat de planten in potentie een hoge metaalopnamecapaciteit hebben maar het klaarblijkelijk niet uit het slib kunnen extraheren. Hoewel de *Atriplex* soorten goed gedijden op het slibsubstraat was de metaalopname buitengewoon laag. Dit gold ook voor *Suaeda* maar dat is hoogstwaarschijnlijk het gevolg van het feit dat de planten slecht groeiden op het slibsubstraat. Bladeren van de schietwilg (*Salix alba*)

werden tweemaal geoogst, na 5 en 14 weken om te zien of er een positieve relatie bestond tussen de tijd en de metaalopname. Dit bleek niet het geval: de metaalconcentraties van de oudere bladeren waren lager dan van de jongere (Tabel 7.7).

Op basis van de metaalopname door de planten en de gemeten concentraties in het substraat kan het metaalverwijde-ringspercentage worden berekend¹⁴ (Tabel 7.8). Vergelijkbaar met de lage metaalopname zijn ook de verwijderingspercentages navenant laag en bijna allemaal onder de 1%. Uitzondering hierop waren opvallend genoeg *Noccaea* populatie Lellingen en mosterd gekweekt onder controle-omstandigheden, voornamelijk voor zink en cadmium (Tabel 7.8).

TABEL 7.7 GEHALTES AAN ZWARE METALEN IN DE BOVENGRONDSE DELEN (STENGEL EN BLAD) VAN GESELECTEERDE SOORTEN NA CA. 5 WEKEN (NOCCAEA DURFORT EN LELLINGEN), 4 WEKEN (ATRIPLEX EN SUAEDA), SALIX RESP. 5 (*) EN 14 (**) WEKEN) GROEI ONDER CONTROLEOMSTANDIGHEDEN (POTGROND/BREKERZAND 1:1 V/V) EN IN SUBSTRATEN BESTAANDE UIT BORSTELCENTRIFUGESLIB EN BREKERZAND (1:1, V/V) [GEGEVENS IN MG/KG DW; GEMIDDELDEN ± SE, N=5;ND = NIET BEPAALD]

	Controle ¹⁵					Borstelslib/brekerzand 1:1 (v:v)				
	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Mosterd	68 ± 6	6,6 ± 0,3	1,0 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	297 ± 31	9,2 ± 1,0	0,8 ± 0,1	0	0
Noccaea Lellingen	1232 ± 218	6,7 ± 0,8	6,2 ± 0,9	20,7 ± 5,1	2,4 ± 1,0	327 ± 24	6,5 ± 1,7	1,5 ± 0,2	0,6 ± 0,4	4,2 ± 0,9
Noccaea Durfort	186 ± 37	5,5 ± 0,6	1,6 ± 0,1	0,9 ± 0,7	2,5 ± 1,5	136 ± 15	5,6 ± 0,7	1,3 ± 0,1	0	2,9 ± 0,7
Salix alba*	175 ± 22	8,0 ± 0,5	3,4 ± 0,4	0,2 ± 0,1	0,0 ± 0,0	406 ± 45	15,2 ± 0,2	3,7 ± 0,3	0,2 ± 0,2	0
Salix alba**	nd	nd	nd	nd	nd	234 ± 34	12,6 ± 0,8	2,0 ± 0,1	0	1,2 ± 1,1
Atriplex hastata	57	7,5	0,7	0,0	0,0	58 ± 8,6	11,5 ± 0,5	0,6 ± 0,0	0	1,1 ± 0,6
Atriplex littoralis	46 ± 0,1	6,7 ± 0,3	0,8 ± 0,1	0,0	0,0	133 ± 13	15,0 ± 0,7	0,6 ± 0,1	0	0,3 ± 0,3
Suaeda maritima	nd	nd	nd	nd	nd	77 ± 12	12,7 ± 2,6	1,1 ± 0,2	0	0

TABEL 7.8 BEREKENDE VERWIJDERINGSPERCENTAGES IN DE GESELECTEERDE SOORTEN

Slibsubstraat	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Atriplex littoralis	0,1	0	0,3	0	0
Atriplex hastata	0	0	0,1	0	0
Suaeda maritima	0	0	0	0	0
Noccaea Durfort	0	0	0,2	0	0
Noccaea Lellingen	0,1	0	0,3	0	0
Mosterd	0,1	0	0,3	0	0

Controle	Zn	Cu	Cd	Ni	Pb
Atriplex littoralis	0,0	0,0	0,2	-	-
Atriplex hastata	0,0	0,0	0,0	-	-
Suaeda maritima	-	-	-	-	-
Noccaea Durfort	0,3	0,3	0,8	-	-
Noccaea Lellingen	3,6	0,7	7,0	-	-
Mosterd	1,3	4,4	7,0	-	-

14 Zie par. 4.5.3.2 voor berekeningswijze en daarbij gemaakte aannames

15 Ter controle werd tevens het metaalgehalte in brekerzand bepaald. Gehaltes waren als volgt: Zn 2,1; Cu 0,8; Cd 0,4; Ni 0,6; Pb 0,1 mg/kg DW

7.2.3 CONCLUSIE EN DISCUSSIE

Groei en metaalopname door de geselecteerde soorten - inclusief de soorten van natte, organische bodems - op de verschillende slibmengsels toonde aan dat bij geen van de onderzochte soorten sprake was van een dermate hoge opname van de kritische metalen (zink, koper, evt. cadmium) dat gesproken kan worden van effectieve fytoremediatie. Ondanks het feit dat een aantal soorten zich goed kunnen handhaven op het slibsubstraat gaat dit niet gepaard met een hoge metaalopname. Dat is niet zo verwonderlijk gezien het feit dat het slib relatief lage totaal- en beschikbare concentraties aan metalen bevat en de soorten van natte, organische bodems (*Atriplex*, *Suaeda*, *Salix*) geen hinder ondervinden van de lage biobeschikbare metaalconcentraties. Om de fytoremedierende werking van de geselecteerde soorten daadwerkelijk te testen lijkt het daarom noodzakelijk om eerst de aan het organisch complex gebonden metalen biobeschikbaar te maken en daarna te bezien welke soorten in staat zijn te groeien en metalen op te nemen. Een van de mogelijkheden om de biobeschikbaarheid te vergroten is om het slib aan te bieden aan geselecteerde, op metaalverrijkte substraten gedurende terrestrische wormensoorten zoals *Dendrobena* of *Eisenia* (Ireland 1975, Udovic & Lestan, 2007, Li et al. 2010; Slizovskiy & Kelsey, 2010; Mostafaii et al., 2016). Wormen eten en verteren de organische stof in het aangeboden substraat en hebben de eigenschap de microbiële activiteit te vergroten, waardoor organische componenten verder worden afgebroken en daarmee de metalen vrijkomen (Lavelle et al., 1995; Edwards & Bohlen, 1996). Ook kunnen wormen zelf aanzienlijke hoeveelheden metalen in hun lichaam opslaan (Li et al., 2010). Een pilot experiment met *Dendrobena* wormen toonde echter aan dat deze soort het slib sec niet opeet en verteert en daarmee dus niet in staat is de gewenste activiteit teweeg te brengen, dat wil zeggen metalen beschikbaar te maken.

Een andere mogelijkheid is de toepassing van de geïnduceerde fytoremediatie, waarbij een chelator (zoals bijv. EDTA) aan het substraat wordt toegevoegd die de metalen in oplossing brengt waarna ze kunnen worden opgenomen door de plant. Daar is in dit onderzoek niet mee geëxperimenteerd, maar bij toepassing van deze methode is het van belang de concentratie van de gekozen chelator nauwkeurig te kiezen om te voorkomen dat gemobiliseerde metaal-ionen niet worden opgenomen maar uitspoelen en in het percolaatvocht terecht komen. Dit is een buitengewoon lastig proces omdat niet duidelijk is hoeveel metalen de planten precies op zullen nemen en dus is de concentratie chelator lastig te bepalen (Römken et al., 2002; Nowack et al., 2006; Cornu et al., 2017).

8

CONCLUSIES EN DISCUSSIE

PHYTOREMEDIATIE

Dit onderzoek geeft inzicht in de mogelijkheden die fytoremediatie biedt voor het reinigen van zuiveringsslib van zware metalen om het vervolgens te kunnen hergebruiken als organische meststof c.q. bodemverbeteraar in de landbouw. De algemene conclusie moet zijn dat geen van de onderzochte hogere plantensoorten noch de geselecteerde champignons een goed perspectief bieden voor deze toepassing. Groei en metaalopname door de geselecteerde soorten op de verschillende slibmengsels toonde aan dat bij geen van de onderzochte soorten sprake was van een dermate hoge opname van de kritische metalen (zink, koper) dat gesproken kan worden van fytoremediatie.

Voor een effectieve fytoremediatie waarbij een groot volume aan substraat moet worden gereinigd dient voldaan te worden aan een drietal sleutelfactoren: de capaciteit om effectief metalen op te nemen uit het substraat, de groeisnelheid en de productie van voldoende biomassa. Aan al deze drie factoren dient in zekere zin gelijktijdig voldaan te worden om potentieel een succesvolle fytoremediatie tot stand te brengen. Soorten die aan al deze voorwaarden voldoen zijn zeldzaam: ofwel hebben planten een hoge capaciteit om metalen te accumuleren maar dan een lage groeisnelheid en dito biomassa-productie (bijv. *Noccaea*, *Sedum*), of soorten hebben een hoge groeisnelheid en biomassa-productie maar dan een lage metaalaccumulatiecapaciteit (bijv. zonnebloem, mosterd). De voor dit onderzoek geselecteerde plantensoorten hebben een potentieel hoge metaalaccumulatiecapaciteit (Zn, Cd) maar een lage groeisnelheid, gekoppeld aan een lage biomassa-productie, terwijl de champignonsoorten wel een hoge groeisnelheid (turnover) combineren met een hoge metaalopnamecapaciteit, maar niet de juiste zware metalen extraheren (cadmium i.p.v. koper en zink).

In Tabel 8.1 zijn de gegevens van dit onderzoek voor deze sleutelfactoren samengevat en - voor zover mogelijk - vergeleken met andere onderzoeksgegevens. De gegevens in de tabel illustreren de complexiteit van effectieve fytoremediatie: niet primair de metaalaccumulatiecapaciteit zelf, maar de mogelijkheden tot groei op de aangeboden substraten plus de biobeschikbaarheid van metalen, zijn doorslaggevend voor het succes van fytoremediatie. Als voorbeeld hiervoor kunnen de *Noccaea* populaties worden gebruikt: *Noccaea* Durfort heeft in potentie een heel hoge metaalopnamecapaciteit (voornamelijk Zn en Cd: tot 22.000 mg Zn/kg DW) maar de groeisnelheid en biomassa-productie zijn erg laag en op de slibsubstraten is de metaalopname ook laag (Tabel 8.1). *Noccaea* Lellingen daarentegen heeft een hogere groeisnelheid maar een veel lagere potentie voor hoge metaal-opname (max. 5000 mg/kg DW Zn) en ook bij deze soort geldt dat de op slib bereikte maximumconcentraties ver achter blijven bij de potentie. Van de soorten afkomstig van natte, organische bodems (*Salix*, *Atriplex* en *Suaeda*) zou verwacht mogen worden dat ze goed groeien op het substraat en, ondanks het feit dat ze naar verwachting geen hoge metaalaccumulatiecapaciteit bezitten, door een hoge groeisnelheid netto toch veel metalen in de bladeren en stengels kunnen stapelen, mits dit beschikbaar is natuurlijk. *Atriplex littoralis* en in mindere mate ook *A. hastata* en *Salix alba*

gedijden inderdaad goed op de slibsubstraten, maar de metaalaccumulatie was dermate laag dat dit voorsnog netto weinig soelaas biedt voor een effectieve fytoremediatie.

Paddenstoelen, zoals de gebruikte *Agaricus* soorten, kunnen metalen gemakkelijker mobiliseren en opnemen, echter er zijn geen voorbeelden bekend van soorten die de kritische metalen koper en zink effectief kunnen accumuleren. In zijn algemeenheid is koper een probleem omdat er geen voorbeelden bekend zijn, noch van planten noch paddenstoelen die koper kunnen accumuleren.

TABEL 8.1 VERGELIJKING VAN DE RELATIEVE GROEISNELHEID (RGR), BIOMASSAPRODUCTIE EN METAALOPNAME CAPACITEIT VAN DE GESELECTEERDE CHAMPIGNON- EN PLANTENSOORTEN, GEKWEKT OP SLIBSUBSTRAAT, ONDER NATUURLIJKE GROEIOMSTANDIGHEDEN EN BEHANDELD MET EEN CHELATOR OM METALEN BESCHIKBAAR TE MAKEN (RGR, RELATIVE GROWTH RATE IN MG.MG-1 DW.WEEK-1; BIOMASSAPRODUCTIE ALS MAXIMUM DROOGGEWICHTPRODUCTIE PER PLANT (MG); METAALOPNAME ALS MAXIMALE OPNAME IN MG / KG DW)

	Locatie/ Behandeling	RGR*	Biomassaprod	Metaalopname		
				Zn	Cu	Cd
Planten op slibsubstraat						
Noccaea Lellinggen (boerenkers)	slib	2,7	384	1600	10	4,5
Noccaea Durfort (boerenkers)	slib	1,7	269	470	33	0,9
Atriplex littoralis (strandmelde)	slib	8,6	1693	96	13,4	0,4
Atriplex hastata (spiesmelde)	slib	7,0	386	58	11,5	0,6
Sedum plumbizincicola	slib	1,6	386	1124	10,6	1,4
Suaeda maritima (schorrekruid)	slib	4,3	23	77	12,7	1,1
Salix alba (schiefwilg)	slib	nd	nd	406	15	3,7
Sinapis alba (gele mosterd)	slib	8,8	2600	67	2,8	0,4
Champignonsoorten						
Agaricus blazei (amandelchampignon)	compost-slib	2,8		94	39	2,1
Agaricus arvensis (akker- of anijschampignon)	compost-slib	3,7		216	139	10,8
Planten op natuurlijke standplaats						
Noccaea Durfort (1)	bodem			9.000-22.000	< 30	60-100
Noccaea Lellinggen (2)	bodem			3.000-5.000	< 30	40-50
Salix alba (schiefwilg) (3)	bodem			500		
Sedum plumbizincicola (4)			500 g/m ²	6279		9,2
Sinapis alba (gele mosterd)	potgrond	7-10	260	90	8,3	0,8
Planten gekweekt met chelator						
Brassica juncea (Indian mosterd) (5)	met.verontr .bodem		10.000	200		11,0
Brassica juncea (Indian mosterd) (5)	met.verontr. + EDTA		5.800	400		18,0
Zonnebloem (6)	met.verontr .bodem		1020	328	14,1	1,3
Zonnebloem (6)	met.verontr. + EDTA		1050	381	38,8	1,6

* RGR als $(\ln DW2 - \ln DW1) / t2 - t1$; (1,2) Assuncao et al., 2003; (3) van Dokkum & Bijl, 1999; (4) Zhuang et al., 2007; (5) Di Guo et al., 2019; (6) Cornu et al., 2017.

De *biobeschikbaarheid* van metalen speelt bij fytoremediatie een cruciale rol: het voor de landbouw belangrijke hoge gehalte aan organische stof in het slib is nu juist ook het probleem omdat de metalen stevig aan het organisch complex gebonden zijn en daarom door hogere planten lastig te mobiliseren en dus op te nemen. Om met behulp van fytoremediatie een businesscase te ontwikkelen voor het reinigen van zuiveringsslib van zware metalen dient dan ook primair voldaan te worden aan de eis de in slib aanwezige metalen biobeschikbaar te maken. Hiertoe zijn een aantal mogelijkheden:

1. Door gebruik te maken van de mechanismen die de plant zelf heeft om metalen biobeschikbaar te maken, bestaande uit het uitscheiden van protonen of exudaten in de rhizosfeer, waardoor metalen gemakkelijker in oplossing komen en opgenomen kunnen worden. Dit mechanisme lijkt voor ons doel echter nauwelijks van belang: hyperaccumulerende soorten komen bijna allemaal op minerale bodems voor en hebben dientengevolge dit mechanisme niet ontwikkeld, anderzijds worden door pH verlaging voornamelijk micronutriënten als ijzer en mangaan in oplossing gebracht (Römheld & Marschner, 1991; Marschner, 1995) en tenslotte is het de vraag of pH-verlaging of andere manieren van metaalmobilisering in de rhizosfeer afdoende zijn om grote hoeveelheden slib te kunnen reinigen, omdat het effect vaak in de rhizosfeer (wortelzone) plaatsvindt en dus zeer lokaal is.
2. Toepassing van de geïnduceerde fytoremediatie methode, waarbij metalen geforceerd beschikbaar worden gemaakt met behulp van een chelator zoals EDTA. Hierbij worden veelal sterk biomassaproducerende, maar metaal-intolerante soorten gebruikt, zoals zonnebloem en 'indian musterd' (*Brassica juncea*), die na opname van de metaal-chelator meestal afsterven en worden afgevoerd. Er zijn veel studies met deze soorten uitgevoerd, bijna altijd op droge, metaalverrijkte bodems en gebruik makend van EDTA als chelator. De resultaten van deze studies zijn echter niet eenduidig: ofwel is de opname van zink, koper en cadmium inderdaad verhoogd maar minder spectaculair dan verwacht, vaak wordt het gecheleerde metaal in de wortel opgeslagen (bij bv. zonnebloem, Cornu et al. (2017) en het succes hangt sterk af van het tijdstip van inzet van de planten, dat wil zeggen het maximum effect wordt bereikt met planten met een grote biomassa. Bovendien is een juiste toepassing van deze methode ingewikkeld en niet zonder gevaar; onderzoek toont aan dat het buitengewoon lastig is gebleken om de concentratie van de gekozen chelator zodanig te bepalen dat alle gemobiliseerde metalen volledig opgenomen worden door de plant (o.a. Römkens et al., 2002; Cornu et al., 2017) met als gevolg dat het niet opgenomen aandeel aan gemobiliseerde metalen in het percolaat-vocht of grondwater terecht komt (o.a. Nowack et al., 2006), wat natuurlijk nog schadelijker is dan de immobiele metalen in de organische stof. Dit geldt vooral wanneer deze methode wordt toegepast in bodems. In het geval wordt gewerkt met slibsubstraten is het in principe mogelijk om een modelsysteem te ontwikkelen waarin het percolaatvocht wordt opgevangen en geanalyseerd op de aanwezigheid van metalen, echter het probleem van de juiste dosering blijft en de vaak toegepaste soorten (zonnebloem, 'indian' mosterd) lijken minder geschikt voor natte organische substraten zoals slib. In een dergelijk systeem dienen dan soorten te worden gebruikt die bewezen hebben goed te gedijen op slibsubstraten en tevens een hoge groeisnelheid c.q. biomassa productie hebben om voldoende metalen af te kunnen voeren. *Atriplex* soorten en wellicht ook mosterd, wilg of populier zouden daarvoor ingezet kunnen worden.
3. Door het substraat voor te bewerken met mengsels van terrestrische wormen. Er zijn een aantal soorten bekend die goed gedijen op metaalverrijkte bodems of substraten (bijv. *Dendrobena*, *Eisenia*, Li et al., 2010). Wormen eten en verteren de organische stof in het substraat,

waarbij tevens de microbiële activiteit in de bodem en daarmee de biobeschikbaarheid van metalen vergroot wordt (Lavelle et al., 1995; Szymur et al., 2011; Leveque et al., 2014). In een pilot-experiment voorafgaand aan dit onderzoek met *Dendrobena* wormen bleek echter dat deze wormen het slib *sec* niet verteren, waardoor dit hier niet verder is onderzocht. Echter, dat is wellicht wel het geval met gecomposteerd of gefermenteerd slib (zie hoofdstuk 8). Een aansluitend experiment zou dan kunnen zijn om gecomposteerd of gefermenteerd materiaal aan genoemde terrestrische wormensoorten aan te bieden en te onderzoeken of daarmee de microbiële activiteit en de beschikbaarheid van metalen toeneemt. Omdat met deze methode ook de organische stof (deels) wordt afgebroken lijkt deze aanpak echter alleen zinvol wanneer het wordt uitgevoerd in het veld als voorbewerking om metaal-accumulerende planten op te kweken. Vanwege de relatief lage concentraties aan metalen kan deze methode wellicht ook direct worden ingezet, waarbij wordt onderzocht in welke mate de wormen de metalen accumuleren.

4. Een beproefde methode om metaalopname door planten te verbeteren is de zgn. bio-augmentatie (Lebeau et al., 2008). Hierbij wordt het effectieve opnameoppervlak van het wortelsysteem van de plant vergroot door de bodem of het substraat te enten met arbusculaire ectomycorrhiza, waardoor de opname van metalen vergroot kan worden (Sanders et al., 1977; Kaldorf et al., 1999). Dit is zinvol bij die soorten waar de mycorrhiza zich kunnen hechten aan het wortelsysteem, wat waarschijnlijk wel het geval is bij een soort als schietwilg (*Salix*), maar niet bij *Noccaea* of *Atriplex* omdat bekend is dat mycorrhiza zich slecht aan het wortelstelsel van planten van de kruisbloemige (*Cruciferae*) en ganzevoetfamilie (*Chenopodiaceae*) hechten (WUR, 2007). Overigens is het ook bekend dat een verhoogde metaalopname door gemycorrhizeerde planten niet automatisch betekent dat er ook een fytoremediërend effect vanuit gaat, omdat het metaal vaak in de ondergrondse delen (schimmel of wortel) wordt gestapeld.

Concluderend kan gesteld worden dat fytoremediatie alleen zinvol kan worden toegepast voor het reinigen van zuiveringsslib wanneer metalen ook daadwerkelijk beschikbaar zijn voor de plant. De resultaten duiden er op dat juist de biobeschikbaarheid van metalen in zuiveringsslib erg laag is en dat deze dient te worden verhoogd om effectief fytoremediatie toe te passen. Verhoging van de biobeschikbaarheid kan worden bewerkstelligd door voorbehandeling met geselecteerde wormensoorten of door het geforceerd mobiliseren van metaal-ionen met behulp van een chelator zoals EDTA. Soorten die in aanmerking komen voor deze toepassing zijn *Atriplex* soorten, wilg, populier en wellicht mosterd. De beperking van al deze methoden is echter dat koper slecht of niet verwijderd kan worden.

NIEUW PERSPECTIEF VANUIT DE LANDBOUW

Deze studie geeft ook nieuwe inzichten in de mogelijkheden om slib voor landbouwkundig gebruik toe te passen. Een andere visie op hergebruik van slib in de landbouw heeft enerzijds te maken met het feit dat de kwaliteit van slib de afgelopen decennia sterk is verbeterd voor wat betreft de verontreiniging met toxische zware metalen (chromium, cadmium, lood), anderzijds zijn er nieuwe landbouwkundige en maatschappelijke inzichten en ontwikkelingen die de herintroductie van slib naderbij brengen: het toenemend belang van organische stof en de toevoeging van sporenelementen aan de bodem en het hergebruik van waardevolle grondstoffen (circulaire economie). Veel partijen zijn het er dan ook over eens dat de uiteindelijke bestemming van slib (een grootschalige afvoerstroam) in de landbouw ligt. Sluiten van regionale kringlopen zorgt daarmee voor efficiënt gebruik van grondstoffen, geen onnodige CO₂ uitstoot door transport en verbranding van slib en een nuttig hergebruik van organische stof,

dat hard nodig is om de bodemkwaliteit op peil te houden. Dit brengt een aantal onderzoekers en beleidsmakers er toe een appél te doen op de wetgeving (SSD, UBM) om het gebruik van biomassa reststromen die sporenelementen en organische meststof bevatten aan te moedigen (Hemel & Klijn, 2017) of aan te passen en uit te breiden naar ander dan landbouwkundig gebruik, zoals voor groenvoorziening, recultivering, boomkwekerijen of bosbouw en slib en slibproducten een End-of-Waste status te geven door ze uit de Kaderrichtlijn afvalstoffen en de Richtlijn Industriële Emissies te halen (IJerman et al., 2014). In de gedachte van de Transitieagenda's zou dit bij kunnen dragen aan de perceptie van zuiveringsslib als een grondstof in plaats van als 'afval' en een prikkel kunnen vormen voor het verder verbeteren van de kwaliteit van gerecycled slib.

Desalniettemin blijft het probleem voor het hergebruik van slib in de landbouw vooral dat het zit ingeklemd tussen verschillende, soms tegenstrijdige maatschappelijke en politieke doelen: het toenemend belang van hergebruik van grondstoffen, hernieuwbare energie, emissiereductie, gezondheid en milieu, tegenover markttechnische aspecten, gerelateerd aan de Nederlandse wetgeving die gebaseerd is op de hoeveelheid fosfaat en stikstof. Actueel bepalen de geldende fosfaatgebruiksnormen feitelijk de slechte marktpositie voor slib dat zich kenmerkt door een hoog gehalte aan fosfaat, waardoor het zich moet positioneren als organische fosfaatmeststof en niet als bodemverbeteraar. Omdat de toegestane fosfaatgift door toepassing van dierlijke mest al opgevuld wordt en er nu reeds geld wordt toegegeven om runder- of varkensmest af te kunnen zetten, is het verwerven van een marktpositie voor slib vanuit dit oogpunt niet eenvoudig. De afzet naar andere EU landen zou vanuit dit oogpunt eenvoudiger zijn maar export is nog een lastige weg vanwege de afvalstatus van slib.

VERSCHUIVING VAN PROBLEEMVELDEN

In meer algemene zin doet zich de vraag voor in welke mate de concentraties aan zware metalen in zuiveringsslib nog steeds een groot of reeel probleem vormen. De slibkwaliteit is de laatste decennia sterk verbeterd (vooral voor wat betreft het gehalte aan toxische zware metalen als cadmium, lood en chroom, CBS Statline 2019) en hoewel er nog steeds (lichte) overschrijdingen van de gehalten aan koper en zink zijn, is de mate van accumulatie van deze elementen in landbouwgronden bij toepassing van slib gelijk of zelfs lager dan bij het gebruik van dierlijke meststoffen. Voor andere metalen is de accumulatie in de bodem verwaarloosbaar. Landbouwkundige experts trekken hieruit de conclusie dat de belasting van de bodem met zware metalen acceptabel is bij toepassing van het huidige slib als fosfaatmeststof in een gift van 700 kg DS/ha (Regelink, 2016; Regelink et al., 2017). De belasting van landbouwgronden met koper en zink leidt weliswaar tot een toename in uitspoeling van deze metalen naar grond- en oppervlaktewater, wat op zichzelf een knelpunt kan vormen, maar ook hiervoor geldt dat dat in dezelfde mate gebeurt bij toepassing van slib of dierlijke mest. Door Regelink (2016) werd berekend dat de belasting van de bodem na 50 jaar (gift 700 kg DS/ha) ca. 4 mg Cu/l poriewater bedraagt, wat 15% lager is dan een vergelijkbare gift van reguliere mest. Het is bekend dat langdurig gebruik van zuiveringsslib niet leidt tot overschrijding van de landbouwkundige advieswaarden en brengt geen risico's met zich mee voor de gewaskwaliteit (Regelink et al., 2017). Ook in Europees verband wordt meer ruimte voorgesteld voor met name koper en zink in de nieuwe normstelling (ontwerpnormen nieuwe Meststoffenverordening, EC, 2016). Van een heel andere orde grootte is de discussie rondom de daadwerkelijke beschikbaarheid en belasting met metalen; er worden vraagtekens geplaatst bij de rekenmethode voor de risico's verbonden aan zware metalen door uit te gaan van totaalgehalten i.p.v. de reactiviteit van metalen (Römken & Rietstra,

2008; Regelink et al. 2017), wat volgens deze onderzoekers een veel beter beeld geeft over de werkelijke milieurisico's.

En tenslotte doet zich de vraag voor of de wetgeving, gebaseerd op de belasting met zware metalen niet reeds lang is ingehaald door het feit dat een groot aantal andere stoffen de aandacht vragen omdat velen van mening zijn dat ze – in vergelijking met zware metalen – potentieel veel meer risico's met zich meebrengen: organische microverontreinigingen, microplastics en nanodeeltjes worden inmiddels als veel belangrijker ervaren als milieurisico dan zware metalen. Dergelijke verontreinigingen lijken de herintroductie van zuiveringsslib inmiddels meer te hinderen dan de normstellende metalen.

9

REFERENTIES

- AbfklärV (2015). AbfklärV: Klärschlammverordnung. <https://www.bmu.de/themen/wasser-abfall-boden/abfallwirtschaft/abfallarten-abfallstroeme/klaerschlamm/>
- Aequator Groen & Ruimte (2018). Bodem en water, de basis. Mogelijkheden voor verbetering. Presentatie onderzoek BLGG.
- Assuncao, A.G.L, Bookum, W.L. ten, Nelissen, H.J.M., Vooijs, R., Schat, H. & W.H.O. Ernst (2003). Differential metal-specific tolerance and accumulation patterns among *Thlaspi caerulescens* populations originating from different soil types. *New Phytol* 159: 411-419.
- Baars, J.J.P. & P.M. Becker (2012). Celwanden van champignons kunnen van alles binden. Plant Research International, Wageningen. Rapport nr. 2012-1.
- Bulk, van den, J. & M. van Boldrik (2018). Slibontwatering met borstelcentrifuge. STOWA rapport 2018-35.
- CBS (2017). CBS Statline, www.statline.cbs.nl
- CBS (2019). CBS Statline: zuivering van stedelijk afvalwater; per provincie en stroomgebieddistrict.
- Chardon, W.J. & O. Oenema (2013). Verkenning mogelijke schaarste aan micronutriënten in het voedselsysteem. Alterra, Wageningen. Rapport nr. 2413.
- Conijn, J.G. & J.P. Lesschen (2015) Soil organic matter in the Netherlands, Alterra rapport nr. 2663
- Cornu, J.Y., Dépernet, C., Garnier, C., Lenoble, V., Braud, A. & T. Lebeau (2017). How do low doses of desferrioxamine B and EDTA affect the phytoextraction of metals in sunflower? *Sci. Total Environm.* 592, 535-545.
- Deltares (2018). Zware metalen in dierlijke mest in 2017. Project nr. 11202236-002.
- Demirbaş, A. (2001). Heavy metal bioaccumulation by mushrooms from artificially fortified soils. *Food Chemistry* 74, 293-301.
- Deng, L., Li, Z., Wang J., Liu, H., Li, N., Wu, L., Hu, P., Luo, Y. & P. Christie (2016). Long-term field phytoextraction of zinc/cadmium contaminated soil by *Sedum plumbizincicola* under different agronomic strategies. *International Journal of Phytoremediation*, 18:2, 134-140.
- Di Guo, Ali, A., Chunyan Ren, Juan Du, Ronghua Li, Altaf Hussain Lahori, Ran Xiao, Ziyang Zhang, Zengqiang Zhang (2019). EDTA and organic acids assisted phytoextraction of Cd and Zn from a smelter contaminated soil by potherb mustard (*Brassica juncea*, Coss) and evaluation of its bioindicators. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 167, 396-403.
- Dokkum, van H.P. & M. Bijl (1999). Schatting van de emissie van zink uit bladeren naar het oppervlaktewater en naar rioolstelsels in Nederland. TNO Rapport nr. 30396.

- Edwards C.A., & P. J. Bohlen (1996). Biology and ecology of earthworms. Third edition. Biology and ecology of earthworms. Vol. 3, 3rd edition. Springer.
- EEG (1986). EU richtlijn voor gebruik van zuiveringsslib (SSD, 86/278, 1986).
- Ent, van der, A., A.J.M. Baker, R.D. Reeves, A.J. Pollard & H. Schat (2013). Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant Soil* 362: 319–334.
- Eurofins Agro (2016). <http://eurofins-agro.com/nl-nl/expertise/bemesting/meststoffen>
- Europese Commissie (2010). http://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/part_iii_report.pdf
- European Commissie (2012). Occurrence and levels of selected compounds in European sewage sludge examples. JRC Scientific and Policy reports.
- European Commissie (2016). COM(2016)157/F1 -Voorstel voor een verordening van het Europees Parlement en de Raad tot vaststelling van voorschriften inzake het op de markt aanbieden van bemestingsproducten met een CE-markering en tot wijziging van de Verordeningen (EG) nr. 1069/2009 en (EG) nr. 1107/2009.
- Eurostat (2018). <https://ec.europa.eu/eurostat/data/database>
- García, M.A., Alonso, J. & M.J. Melgar (2005). *Agaricus macrosporus* as a potential bioremediation agent for substrates contaminated with heavy metals. *J. Chem. Technology and Biotechnology* 80 (3), 325-330.
- Haan J. de (2017). Handboek bodem en bemesting, publicatie van Commissie Advies Bemesting Vollegrondsgroenteteelt (CABV).
- Hemel, S. & N. Klijn (2017). Bodem in zicht. Duurzaam en circulair beheer van de Nederlandse bodemkwaliteit. Dutch Biorefinery Cluster, Wageningen (www.dutchbiorefinerycluster.nl)
- Huang, H., Li, T., Gupta, D.K., He, Z., Yang, X-e, Ni, B. & M. Li (2012). Heavy metal phytoextraction by *Sedum alfredii* is affected by continual clipping and phosphorus fertilization amendment. *J. Environ. Sci.* 24:376-386.
- Ireland, M. P. (1975). The effect of the earthworm *Dendrobaena rubida* on the solubility of lead, zinc and calcium in heavy metal contaminated soil in Wales. *J. Soil Sci.* 26, 1058–1069.
- Jacobs, A., Drouet, T., Sterckeman, T. & N. Nausicaa (2017). Phytoremediation of urban soils contaminated with trace metals using *Noccaea caerulea*: comparing non-metallicolous populations to the metallicolous ‘Ganges’ in field trials. *Environ Sci Pollut Res* DOI 10.1007/s11356-017-8504-9.
- Kaldorf, M., Kuhn, A. J., Schröder, W. H., Hildebrandt, U. & H. Bothe (1999). Selective element deposits in maize colonized by a heavy metal tolerance conferring arbuscular mycorrhizal fungus. *J. Plant Physiol.* 154, 718–728.
- Kay S.H., M.C.Th. Scholten & C.T. Bowmer (1988): Mobility of soil contaminants in an ecosystem of trees growing on dredged material - The Broekpolder (Rotterdam, The Netherlands). TNO-MT Report R88/488.
- Kocik, A., M. Truchan, & A. Rozen (2007). Application of willows (*Salix viminalis*) and earthworms (*Eisenia fetida*) in sewage sludge treatment. *Eur. J. Soil Biol.* 43.
- Koeijer, T.J., de & H.H. Luesink (2017). Dieraantallen, mestproductie, mestmarkt en kosten mestafzet, Wageningen. WUR rapport nr. 2017-002.

- Lake, D.L., Kirk, P.W.W. and J.N. Lester (1989). Heavy metals solids association in sewage sludges. *Water Research* 23: 285-291.
- Lavelle, P., Lattaud, C., Trigo, D. & I. Barois (1995). Mutualism and biodiversity in soils. *Plant Soil* 170, 23-33 (1995).
- Lebeau, T., Braud, A. & K. Jézéquel (2008). Performance of bioaugmentation-assisted phyto-extraction applied to metal contaminated soils: A review. *Environ. Pollut.* 153, 497-522.
- Lester, J. (1983). Significance and behaviour of heavy metals in waste water treatment processes; 1. Sewage treatment and effluent discharge. *The Science of the Total Environment* 30: 1-44.
- Leveque, T., Capowiez, Y., Schreck, E., Tiantian, X., Foucault, Y. & C. Dumat (2014) Earthworm bioturbation influences the phytoavailability of metals released by particles in cultivated soils. *Environ. Pollut.* 191, 199-206.
- Li, L., Xu, Z., Wu, J. & G. Tian (2010). Bioaccumulation of heavy metals in the earthworm *Eisenia fetida* in relation to bioavailable metal concentrations in pig manure. *Bioresource Technology* 101, 3430-3436.
- Maas, R. van der, van Bon, J. & S. Mommers (2016). Fosfaatarme champost. WUR, project BO-21.05-001-002. Power Point presentatie.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed. Acad. Press, London.
- Milieu Ltd, WRc & WPA (2008). Environmental, economic and social impacts of the use of sewage sludge on land. Final report. Part III: Overview report. European Commission, DG Environment. http://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/part_iii_report.pdf
- Mostafaii, G.R., Aseman, E., Asgharnia, H., Akbari, H., Iranshahi, L. & H. Sayyaf (2016). Efficiency of the earthworm *Eisenia fetida* under the effect of organic matter for bioremediation of soils contaminated with cadmium and chromium. *Braz. J. of Chem. Eng.* 33(4).
- Nutrinorm (2018). De samenstelling van organische meststoffen. <https://www.nutrinorm.nl/nl-nl/Paginas/Organische-meststoffen-De-samenstelling-van-organische-meststoffen.aspx#XFmjGlXKiUl>
- Regelink, I. (2016). Kansen voor de afzet van slib in de landbouw? Platform Afvalwater Energie en Grondstoffen (11 okt. 2016). Wageningen Environmental Research (Alterra) Sludge2Soil
- Regelink I., P. Ehlert & P. Römkens (2017). Perspectieven voor de afzet van (fosfaatverarmd) zuiverings-slib naar de landbouw. WUR rapport nr. 2819.
- Rijksoverheid (2005). Uitvoeringsbesluit meststoffenwet (UBM).
- Ringoot, D., B. Reitsma & R. Neef (2014). Thermische hydrolyse als de motor voor centrale slibverwerking. H2O-online.
- Römheld, V. & H. Marschner (1991). Function of micronutrients in plants. In: J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman and R.M. Welch (eds.) *Micronutrients in Agriculture*. 2nd ed., 1991. Soil Sci. Soc. Am., Madison Wi. USA. pp. 297-328.
- Römkens, P.F.A.M., Bouwman, L., Japenga, J. & C. Draaisma (2002). Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils. *Environ. Pollution* 116, 109-121.
- Römkens, P.F.A.M. & R.P.J.J. Rietstra (2008). Zware metalen en nutriënten in dierlijke mest in 2008. Alterra rapport nr. 1729, Wageningen.

- Salt, D.E., R.D. Smith & I. Raskin (1998). Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49:643–68.
- Sanders, E. E., Tinker, P. B., Black, R. L. B. & S.M. Palmerley (1977). The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte. *New Phytologist*, 78, 257-268.
- Sizmur, T. & M.E. Hodson (2009). Do earthworms impact metal mobility and availability in soil? – A review. *Environ. Pollution* 157, 1981–1989.
- Slizovskiy, I. B. & J.W. Kelsey (2010). Soil sterilization affects aging-related sequestration and bioavailability of p, p'-DDE and anthracene to earthworms. *Env. Poll.* 158, 3285-3289.
- Stoknes, K., F. Scholwin, A. Jasinska, E. Wojciechowska, M. Mleczek & A. Hanc (2017). Cadmium mobility in a circular food-to-waste to-food system and the use of a cultivated mushroom (*Agaricus subrufescens*) as a remediation agent. *Proceedings Sardinia 2017 / Sixteenth International Waste Management and Landfill Symposium 2-6 October 2017. S. Margherita di Pula, Cagliari, Italy.*
- TCB (1989). Advies ontwerp-besluit gebruik en kwaliteit overige organische meststoffen. Technische Commissie Bodembescherming TCB A89/02.
- TCB (1991). Advies ontwerp-besluit gebruik en kwaliteit overige organische meststoffen. Technische Commissie Bodembescherming TCB A90/04.
- Transitieagenda's Circulaire Economie (2018). Transitieagenda Biomassa en Voedsel.
- Udovic, M. & D. Lestan (2007). The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation. *Environ. Pollution* 148, 663–668.
- UvW (1980). Richtlijn voor de afzet van vloeibaar zuiveringsslib ten behoeve van gebruik op bouw- en grasland. Unie van Waterschappen
- UvW (1985). Richtlijn voor de afzet van vloeibaar zuiveringsslib ten behoeve van gebruik op bouw- en grasland. Unie van Waterschappen.
- Vermeulen, G.D., Huijsmans, J.F.M., Harmsen, J. & C. Sonneveld (2004). *Wilgenteelt op baggerspecie; energiewinning uit afval en biomassa. Agrotechnology & Food Innovations, Wageningen. ISBN 90-6754-831-6.*
- White, P.J. (2001). Phytoremediation assisted by microorganisms. *Trends in Plant Science* 6-11: 502.
- WUR (2007). Effect van arbusculaire mycorrhiza schimmels op de groei en ontwikkeling van ui en wilde verwanten van ui. WUR e-depot nr. 2998.
- Ijzerman, J., M. Mulder, A. Brinkmann & S. van Miltenburg (2014). *Perspectieven en knelpunten van zuiveringsslib voor bodemkundig gebruik. STOWA rapport nr. 35.*
- Zhuang, P., Yang, Q.W., Wang, H.B. & W. S. Shu (2007). Phytoextraction of heavy metals by eight plant species in the field. *Water Air Soil Pollut.* 184, 35–242.