

## **Fytoremediëring**

### **Experimenteel onderzoek naar het gebruik van planten voor kwaliteitsverbetering van verontreinigde grond en baggerspecie**

**J. Japenga  
L.A. Bouwman  
J. Harmsen  
P.F.A.M. Römken  
C. Draaisma  
A.J. Zweers**

## **Fytoremediëring**

### **Experimenteel onderzoek naar het gebruik van planten voor kwaliteitsverbetering van verontreinigde grond en baggerspecie**

**J. Japenga  
L.A. Bouwman  
J. Harmsen  
P.F.A.M. Römken  
C. Draaisma  
A.J. Zweers**

Gegevens: Fytoremediëring - Experimenteel onderzoek naar het gebruik van planten voor kwaliteitsverbetering van verontreinigde grond en baggerspecie - J. Japenga, L.A. Bouwman, J. Harmsen, P.F.A.M. Römken, C. Draaisma en A.J. Zweers - Wageningen: Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek (Rapporten Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek; deel 31) - 49 p., 4 bijl. - ISBN 90-73270-46-4.

Trefwoorden: baggerspecie, bodemverontreiniging, cadmium, fytoremediëring, PAK, waterbodembodem, zink.

Samenvatting: Het rapport beschrijft de opzet en resultaten van drie multidisciplinaire fytoremediëringsonderzoeken, waarbij tevens is gekeken naar de effecten van de behandelingen op de bodemmicro- en mesofauna. Het eerste betreft een pot- en lysimeteronderzoek naar het verwijderen van zware metalen uit licht verontreinigde zandgrond via gewasopname (gele mosterd, gras en lupine), waarbij de beschikbaarheid van de metalen is verhoogd door aanzuring (citroenzuur) en de toevoeging van een complexvormer (EDGA). Op grond van het onderzoek wordt geconcludeerd, dat fyto-extractie van lage gehalten Cd en Zn door gewassen met een hoge drogestofproductie, ondanks de toevoeging van een complexvormer geen haalbare kaart lijkt, omdat de fytoremediëringduur ook in dat geval nog te lang is en er bovendien een sterk verhoogde kans is op uitspoeling van zware metalen. Aanzuring met citroenzuur heeft geen positief effect. Een tweede onderzoek betreft het beheer en de remediëring van heterogeen met PAK verontreinigde zandgrond door revegetatie (luzerne, gras en een kruidenmengsel). Op grond van de eerste resultaten wordt aanbevolen om dergelijke grond voor inzaai te homogeniseren om een goede wortelontwikkeling te verkrijgen. PAK-afbraak is in de korte duur van het experiment nog niet vastgesteld. Een derde potonderzoek betreft de stimulering van de afbraak van PAK en minerale olie in twee gerijpte baggerspecies (Wemeldinge en Petroleumhaven) gedurende de extensieve fase van landfarming door planten (luzerne en gras). Ook in dit geval is nog geen verdere PAK-afbraak vastgesteld. In beide laatste onderzoeken is tevens gekeken naar de invloed van bemesting. Het onderzoek wordt nog voortgezet.

Projectleiding en uitvoering: dr. J. Japenga, dr. L.A. Bouwman, drs. J. Harmsen, dr.ir. P.F.A.M. Römken en ing. A.J. Zweers zijn verbonden aan Alterra, Research Instituut voor de Groene Ruimte, Postbus 47, NL-6700 AA Wageningen; tel.: 0317 - 474700; fax: 0317 - 419000. Catharina Draaisma was tijdelijk werkzaam voor het project in het kader van een afstudeervak voor het Van Hall Instituut in Leeuwarden. Het onderzoek valt in het LNV/DWK-onderzoeksprogramma 329 (Bodemkwaliteit).

Dankwoord: De leiding van het Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek dankt dr. M.M.A. Ferdinandy (RIZA), prof.dr. P.C. de Rooter (UU/DLO), prof.dr.ir. W.H. Rulkens (WUR) en ing. J. Verheul (NOBIS/SKB) voor de begeleiding van het project.

Het rapport is verkrijgbaar bij de Stichting Kennisontwikkeling en Kennisoverdracht Bodem (SKB) in Gouda (Postbus 420, NL-2800 AK Gouda) à f 40,-.

© 2000. Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek (Postbus 37, 6700 AA Wageningen).

omslag: Ernst van Cleef  
druk: Grafisch Service Centrum van Gils B.V., Wageningen

# Inhoudsopgave

Samenvatting	i
1. Inleiding	1
1.1 Doel en opzet van het onderzoek	1
1.2 Definities	3
1.3 Opzet van het rapport	4
1.4 Vervolg	4
2. Fyto-extractie van licht met cadmium en zink verontreinigde zandgrond uit Budel	5
2.1 Inleiding en proefopzet	5
2.2 Resultaten	8
2.2.1 Samenstelling van het bodemvocht	9
2.2.1.1 De invloed van calcium, pH, ijzer/aluminium en organische stof	9
2.2.1.2 De invloed van citroenzuur en vegetatie	10
2.2.1.3 De invloed van de additie van EDGA	11
2.2.2 Gewasopname in relatie tot de toevoeging van EDGA en de samenstelling van het bodemvocht	16
2.2.3 Effecten van de additie van EDGA op het bodemleven	20
2.2.4 Effecten van de additie van EDGA op uitspoeling	22
2.3 Fyto-extractie van zware metalen praktisch toepasbaar?	25
2.3.1 Samenvatting van de onderzoeksresultaten, toegesneden op Cd en Zn	25
2.3.2 De duur van fyto-remediëring	27
2.3.3 Conclusies	28
3. Fyto-remediëring van met PAK verontreinigde grond uit Maarn	30
3.1 Inleiding en proefopzet	30
3.2 Resultaten en conclusies	30
3.2.1 Gewasontwikkeling en drogestofproductie	30
3.2.2 Wortelontwikkeling	32

4.	Fytotransformatie van PAK en minerale olie in verontreinigde gerijpte baggerspecie	34
4.1	Inleiding en proefopzet	34
4.2	Resultaten en conclusies	35
4.2.1	Gewasproductie	35
4.2.2	Bacteriële biomassa en bacteriële activiteit	35
4.2.3	Aantallen nematoden	37
4.2.4	PAK-beschikbaarheidsmetingen	38
4.2.5	Mate van afbraak van PAK en minerale olie	41
4.2.6	Samenvatting	43
5.	Conclusies en aanbevelingen	44
5.1	Fyto-extractie van zware metalen uit licht verontreinigde grond	44
5.2	Revegetatie en fytostabilisatie van heterogeen met PAK verontreinigde grond	46
5.3	Fytotransformatie en fytostabilisatie van PAK in gerijpte baggerspecie	46
6.	Referenties	48
 Figuren:		
1.	Effecten van citroenzuuradditie op de samenstelling van de bodemvocht-additie op 04/19 en 05/10; gemiddelde waarden per monsterdatum	11
2.	Vergelijking tussen de berekende en de gemeten waarden van de Cd- en Zn-concentraties van het bodemvocht van blanco potten en met citroenzuur behandelde potten, uitgedrukt als logaritmische waarden	12
3.	Verband tussen DOC en [Fe] en [Pb] in het bodemvocht van de potten 2, 4, 5, 7 en 8	13
4.	Het verloop van de EDGA-concentratie (a) en de zinkconcentratie (b) in het bodemvocht in de tijd; [EDGA] gemeten als [DOC]	14
5.	Opname van Pb in relatie tot de concentratie in het bodemvocht	19
6.	Het totaal aantal nematoden uitgezet tegen de EDGA-concentratie in het bodemvocht	21
7.	De invloed van toevoeging van EDGA op de aanwezigheid van macro-elementen en zware metalen in het drainwater van Budel-grond in lysimeters op de Sinderhoeve; maximale waarden	23
8.	De invloed van toevoeging van EDGA op de uitspoeling van DOC, Pb, Cd en Fe, gemeten als concentratie in het drainwater tegen de tijd in lysimeters op de Sinderhoeve	24
9.	Opbrengst van luzerne en gras op met PAK verontreinigde grond uit Maarn in relatie tot bemestingsniveaus; duplo-bepaling	31
10.	Ontwikkeling van een kruidenvegetatie op met PAK vervuilde grond uit Maarn, in afhankelijkheid van het bemestingsniveau	31

11.	“Vluchtgedrag” van wortels in een mini-rhizotron, gevuld met schone en vervuilde grond van de NS-locatie in Maarn	33
12.	Gewasproductie op met PAK verontreinigde baggerspecie uit de haven van Wemeldinge en de Petroleumhaven na verschillende behandeling	36
13.	Beschikbaarheid van PAK in de verschillende potten na verschillende behandeling gemeten met de TENAX-methode	30
14.	Beschikbaarheid van de verschillende ringverbindingen van PAK in de fyto-remediëringspotproeven en op de landfarm Kreekraksluizen	41

#### Tabellen:

1.	Bodemeigenschappen Budel-grond	6
2.	Kunstmestgift per pot	6
3.	Behandelingsschema fyto-extractie zandgrond Budel	7
4.	Binding van metalen aan DOC bij verschillende behandelingen	12
5.	Berekende activiteiten in het bodemvocht van niet met EDGA behandelde potten alsmede de percentages “vrije” zwaremetaalionen ten opzicht van de totale opgeloste concentratie zware metalen	16
6.	Gemiddelde metaalgehalten in de gewassen	17
7.	Aantallen nematoden per 100 g grond in potten met grond uit Budel, begroeid met lupine, waaraan EDGA is toegevoegd	22
8.	Bacterieaantallen in gerijpte baggerspecie, afhankelijk van bemesting, vegetatie en substraattoevoeging	36
9.	Thymidine- en leucine-inbouw in gerijpte baggerspecie, afhankelijk van bemesting, vegetatie en substraattoevoeging	37
10.	Nematodenaantal in gerijpte baggerspecie, afhankelijk van bemesting, vegetatie en substraattoevoeging	38
11.	Snel beschikbare fractie PAK in landfarm Kreekraksluizen in oktober 1999	40
12.	Gemiddelde PAK-gehalten in Petroleumhaven en Wemeldinge-specie bij verschillende behandelingen in najaar 1999	42
13.	Minerale oliegehalten in Petroleumhaven- en Wemeldinge-specie bij verschillende behandelingen in najaar 1999	43

#### Bijlagen:

1.	Meetgegevens bodemvocht (potproef zandgrond uit Budel)	51
2.	Zware metalen in gewasmonsters afkomstig van de potproef met zandgrond uit Budel	56
3.	PAK-gehalten in grond uit Maarn	59
4.	Gerijpte baggerspecie – PAK-gehalten en TENAX-extracties	60



## Samenvatting

Fytoremediëring, dat wil zeggen het gebruik maken van planten bij de sanering en het beheer van verontreinigde terreinen, kan zich in toenemende mate verheugen in de belangstelling van zowel de wetenschappelijke wereld als van beheerders van vervuilde terreinen en beleidsmakers. De reden hiervoor is dat een dergelijke vorm van “groene bodemsanering” goedkoop kan zijn en kan rekenen op een hoge publieke acceptatie.

Ondanks alle belangstelling is voor een aantal vormen van fyto-remediëring de praktische toepasbaarheid en economische haalbaarheid nog niet overtuigend aangetoond. Dit geldt ook voor fyto-extractie van zware metalen. Dit is een methode waarbij zware metalen door de plant aan de verontreinigde grond worden onttrokken, waarna het plantenmateriaal verder wordt verwerkt. Het probleem hierbij is met name de duur van de fyto-extractie. Een saneringsduur van meer dan 5 jaar is voor veel situaties niet acceptabel en vermindert de marktkansen en toepasbaarheid. Dat geldt zeker voor het dichtbevolkte Nederland met zijn hoge grondprijzen.

### **Fyto-extractie van zware metalen**

In de inleiding worden de verschillende soorten fyto-remediëring kort besproken en wordt ingegaan op de opzet van het onderzoek. In hoofdstuk 2 van dit rapport worden de resultaten besproken van experimenten met een licht met cadmium en zink verontreinigde zure zandgrond uit de omgeving van Budel. De grond bevatte circa 2 mg/kg cadmium en circa 200 mg/kg zink. Er is gekozen voor een dergelijke licht verontreinigde, maar nog wel ecologisch riskant geachte grond, omdat hier op grond van literatuurgegevens fyto-extractie een kansrijke optie is (Japenga, 1999). Bij het onderzoek is met name aandacht besteed aan methoden om door verhoging van de biologische beschikbaarheid in de grond de opname door het gewas te verhogen en derhalve de fyto-remediëringsduur te verkorten. Hiertoe werden chemische stoffen (citroenzuur en de complexvormer EDGA) aan de grond toegevoegd. Omdat een dergelijke ingreep onder natuurlijke omstandigheden kan leiden tot ongewenste neveneffecten is ook dit intensief onderzocht. Zo is het effect van de toevoegingen op het bodemleven nagegaan en is onderzocht in hoeverre de toevoegingen kunnen leiden tot risico's van versnelde uitspoeling van zware metalen met daaruit voortvloeiende gevolgen voor de grond- en oppervlaktewaterkwaliteit. Een drietal gewassen is onderzocht: gele mosterd (*Brassica juncea*), gras (*Agrostis capillaris*) en lupine (*Lupinus var.*). Het eerste gewas is gekozen vanwege de aansluiting bij ander onderzoek op het gebied van fyto-remediëring, ook internationaal. Gras is een gewas dat ook buiten het groeiseizoen op het veld blijft en dat eenvoudig kan worden geoogst. Lupine is interessant vanwege het feit dat dit gewas ook op zure grond landbouwkundig goed presteert.



De belangrijkste resultaten van het onderzoek met grond uit Budel zijn de volgende:

1. Toevoeging van EDGA leidt tot een zodanige verhoging van de concentraties van cadmium en zink in het bodemvocht, dat ongeveer de helft van alle aanwezige cadmium en zink in de opgeloste vorm overgaat en dientengevolge in principe biologisch beschikbaar wordt. Deze verhoging van concentraties leidt echter niet tot een even grote verhoging van de gewasopname; wel blijkt het transport in de plant (van wortel naar oogstbare delen) erdoor te worden gestimuleerd. Toevoeging van citroenzuur heeft, vanwege de snelle afbraak in de bodem, nagenoeg geen invloed op de concentratie van cadmium en zink in het bodemvocht en op de opname door het gewas;
2. Bij lysimeterproeven bleek de verhoging van de oplosbaarheid door toevoeging van EDGA een dramatisch effect te hebben op de uitspoeling van zware metalen. Ook indien de resultaten van de lysimeterproeven niet volledig naar een veldsituatie kunnen worden geëxtrapolerd, kan toch worden vastgesteld dat het risico van uitspoeling groot is, aangezien van EDGA bekend is dat de stof niet snel wordt afgebroken;
3. De maximale aangetroffen gehalten in het gewas (op drogestofbasis) zijn circa 60 mg/kg voor cadmium en 1500 mg/kg voor zink, in beide gevallen in gele mosterd. Indien echter wordt gekeken naar de afvoer van zware metalen door het gewas en dus het samenspel van gewasproductie en opnamekarakteristieken, dan blijkt lupine van de onderzochte plantensoorten het beste te functioneren als fyto-remediëringsgewas op de onderzochte zure zandgrond;
4. Wanneer rekening wordt gehouden met de maximale opname en maximale gewasproductie onder optimale condities voor fyto-extractie, voorzover in dit project onderzocht, dan bedraagt de onttrekking per groeiseizoen niet meer dan 2-4% van het totaal in de grond aanwezige zink en cadmium. Dit betekent dat extrapolatie van de potproeven naar een veldsituatie leidt tot de veronderstelling dat het hier bestudeerde scenario leidt tot een fyto-remediëringduur van enige decennia om de concentraties van zink en cadmium terug te brengen tot rond de streefwaarden. Een nauwkeuriger schatting is niet te geven vanwege de onzekerheden over het lineair dan wel het veronderstelde exponentiële gedrag van de gewasopname in de tijd;
5. Fyto-extractie van zink en cadmium in aanwezigheid van EDGA leidt tot effecten op het bodemleven. Terwijl de effecten op bacteriën beperkt zijn geldt dit niet voor (bacterivore en fungivore) nematoden; andere groepen bodemorganismen zijn niet onderzocht. Er kon niet worden vastgesteld of de waargenomen effecten gerelateerd zijn aan de verhoogde concentratie opgeloste zware metalen, aan EDGA-toxiciteit, een hoge zoutconcentratie of anderszins.

Bovengenoemde resultaten leiden tot de conclusie dat fyto-extractie van lage gehalten cadmium en zink door gewassen met een hoge drogestofproductie na toevoeging van complexerende middelen als EDGA op dit moment niet praktisch toepasbaar is. De fyto-remediëringduur is nog te lang en met name de kans op een sterk verhoogde uitspoeling is een belangrijk negatief neveneffect. Voor dergelijke gronden is fyto-extractie onder zure omstandigheden in combinatie met zuurresistente gewassen waarschijnlijk een betere optie.

### **Revegetatie en fytostabilisatie**

In het kader van dit onderzoeksproject is ook aandacht besteed aan de mogelijkheden voor revegetatie en fytostabilisatie van sterk heterogeen vervuilde terreinen. In hoofdstuk 3 van dit rapport zijn de resultaten weergegeven van onderzoek op de vooral met PAK verontreinigde locatie van de Nederlandse Spoorwegen bij Maarn. Met name landbouwkundige aspecten van deze vorm van fyto-remediëring zijn bestudeerd alsmede de respons van wortelgroei op de heterogene verdeling van PAK in de bodem. De effecten van drie verschillende gewassen werden onderzocht: luzerne, gras en een kruidenmengsel. De reden voor deze keuze is het onderzoeken van een diepwortelend gewas (luzerne) met een eigen mechanisme voor stikstofvastlegging, een dichtwortelend gewas (gras) en een natuurlijke vegetatie om soortenrijkdom te creëren.

De belangrijkste voorlopige resultaten van het onderzoek met de grond uit Maarn zijn:

1. Het diepwortelende vlinderbloemige gewas luzerne voldoet goed als stabiliserend gewas op een dergelijke grond. Luzerne reageert positief op bemesting, maar niet zeer sterk. Gras voldoet ook, maar is gevoeliger voor bemesting;
2. De mate waarin het kruidenmengsel tot ontwikkeling komt en de ontstane soortenrijkdom wordt niet significant beïnvloed door het bemestingsregime. Onder alle bestudeerde omstandigheden wordt een bevredigende soortenrijkdom bereikt;
3. In een bewortelingsexperiment met een matrix van licht en zwaar met PAK verontreinigde grond kon worden geconstateerd, dat luzernewortels sterk vervuilde grond wel penetreren, maar dan groeistoornissen vertonen. Dit kan vele oorzaken hebben (toxiciteit zware metalen en PAK, de slechtere fysische structuur van de zwaar vervuilde bodem). Gehomogeniseerde, minder vervuilde grond werd wel goed beworteld. Los van de exacte oorzaak leidt deze waarneming tot de conclusie dat revegetatie en fytostabilisatie volgens dit protocol gediend is met een zekere mate van homogenisering van de bodem, bijvoorbeeld door grondbewerking.

Het onderzoek wordt nog voortgezet, vooral met het oog op de invloed van plantengroei op een eventuele versnelde afbraak van PAK.

### **Fytotransformatie**

In hoofdstuk 4 wordt gerapporteerd over de voorlopige resultaten van onderzoek met gerijpte baggerspecie afkomstig uit experimentele landfarms bij de Kreekraksluizen. Het betreft hier baggerspecies, oorspronkelijk afkomstig uit de Petroleumhaven in Amsterdam en uit de haven van Wemeldinge. De doelstelling van de experimenten is het bestuderen van de effecten van planten op de biologische beschikbaarheid en de afbraaksnelheid van PAK.

Er is bewust uitgegaan van gerijpte baggerspecie waarin de biologische beschikbaarheid van PAK en diens gevolge de afbraaksnelheid laag is. Indien specie met een hoge biologische beschikbaarheid zou zijn gebruikt dan zou elke intensivering, zoals grondbewerking, beplanting, bemesting en temperatuurverhoging leiden tot een versnelling van

de afbraak. Dit is gebleken bij eerder onderzoek. Door nu te kiezen voor een specie met een reeds lage biologische beschikbaarheid is de biologische beschikbaarheid de enige limiterende factor voor verdere afbraak en kan de invloed van planten hierop goed worden bestudeerd. Er is niet op een directe manier aandacht besteed aan de invloed van planten (en bemesting) op de afbraak van PAK. Dit was niet goed mogelijk vanwege de korte duur van de experimenten in combinatie met factoren als de lage afbraaksnelheden, de heterogeniteit van de specie en de analytische spreiding bij de bepaling van PAK. De biologische beschikbaarheid van PAK werd geschat op basis van TENAX-extracties.

Naast het onderzoek naar de biologische beschikbaarheid en afbreekbaarheid van PAK is aandacht besteed aan de landbouwkundige “performance” van luzerne en gras onder verschillende bemestingsregimes op de species en is de invloed van gewas in combinatie met het bemestingsregime op het bodemleven gekwantificeerd. Hierbij werd net als in het onderzoek naar fyto-extractie van zware metalen de nadruk gelegd op bacteriën en nematoden.

De belangrijkste resultaten van dit deel van het onderzoek met gerijpte baggerspecie zijn:

1. In Petroleumhaven-specie is sprake van een normale microbiële populatie. Dit in tegenstelling tot baggerspecie uit de haven van Wemeldinge, waarin het aantal bacteriën laag is, mede als gevolg van het grote aantal bacterivore nematoden;
2. Bij het fytotransformatie-experiment met baggerspecie is gekozen voor een zodanige opzet dat er de omstandigheden voor biologische afbraak zo gunstig mogelijk waren. Door deze opzet was de gemeten hoeveelheid biologisch beschikbaar PAK lager dan gemeten werd in de landfarm waarvan de monsters afkomstig waren. Dit wijst erop, dat biologisch beschikbare PAK versneld zijn afgebroken hetwelk kon worden aangetoond door de aanzienlijke afname van het percentage goed afbreekbare lagere PAK (2- en 3-ringen);
3. De lagere biologische beschikbaarheid bij het fytotransformatie-experiment betekent een lager ecologisch risico. Optimalisering van de afbraak leidt tot risicobeheersing, doordat dan minder PAK op zeker moment in biologisch beschikbare vorm aanwezig is in de bodem;
4. Het PAK-gehalte van de grond in de potproeven is tot nu toe niet verder gedaald dan al was waargenomen in de landfarm. Als deze trend zich voortzet, dan heeft begroeiing geen versnelde afbraak van PAK tot gevolg onder de gegeven omstandigheden. De afbraaksnelheid wordt dan bepaald door de snelheid van het biologisch beschikbaar komen;

5. De optimalisering in het experiment heeft geleid tot een versnelde afbraak van minerale olie in Petroleumhaven-specie in vergelijking met de afbraak van minerale olie op de landfarm. In hoeverre begroeiing hiertoe een blijvende bijdrage levert, kon nog niet eenduidig worden vastgesteld.

Teneinde te kunnen constateren of de waargenomen verschillen in biologische beschikbaarheid op termijn ook leiden tot significante verschillen in de afbreekbaarheid van PAK, wordt het onderzoek nog geruime tijd voortgezet.

### **Slotwoord**

Het is niet eenvoudig om op basis van de resultaten van de hier gerapporteerde kortlopende onderzoeken te komen tot “harde” uitspraken over de praktische toepasbaarheid van fytoextractie van zware metalen onder de in dit experiment gekozen omstandigheden nog niet het stadium van praktische toepasbaarheid heeft bereikt. Het door de EU gesubsidieerde project PhytoDec moet hier via een geconcentreerde inzet van gelden en expertise binnen een termijn van vier jaar een meer definitief antwoord op geven. Een versnellende invloed van plantengroei op de afbraak van PAK (en minerale olie) en op de afbraak van PAK kon nog niet worden vastgesteld, gezien de korte looptijd van het project. Het project wordt daarom nog op een laag inspanningsniveau voortgezet, teneinde dergelijke effecten op termijn te kunnen waarnemen, indien zij optreden.



# 1. Inleiding

## 1.1 Doel en opzet van het onderzoek

Eind 1998 zijn door het Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek PGBO gelden ter beschikking gesteld aan AB-DLO<sup>1</sup> om door middel van een veldexperiment (“*praktijkproef fyto-remediëring*”) de mogelijkheden van fyto-remediëring in een aantal praktijksituaties te onderzoeken.

Het doel van het onderzoek was om door een multidisciplinaire aanpak te komen tot een goede afweging van de praktische mogelijkheden van het gebruik van planten bij beheer en sanering van verontreinigde terreinen, vooral ook in relatie tot mogelijke schadelijke neveneffecten voor het milieu (uitspoeling, effecten op het bodemecosysteem, *etc.*). Om deze multidisciplinaire aanpak mogelijk te maken is het onderzoek en met name het laboratoriumonderzoek medegefinancierd door het DWK-onderzoeksprogramma 329 (Bodemkwaliteit) van het Ministerie van LNV.

Het multidisciplinaire karakter van het onderzoek komt vooral tot uiting in de combinatie van het modelleren van biologische beschikbaarheid, bodemchemisch onderzoek, onderzoek naar gewasopname en bodem(micro)biologisch onderzoek. Het onderzoek is uitgevoerd op microcosmos-schaal (potten) en mesocosmos-schaal (lysimeters). Veldgegevens uit ander onderzoek op dezelfde locaties zijn, indien voorhanden, gebruikt bij het verbreden van de interpretatie van projectresultaten.

Drie veelbelovende opties zijn onderzocht:

- (i) *Het verwijderen van zware metalen uit licht verontreinigde bodems via gewasopname.* Met name is hierbij aandacht besteed aan het gebruik van chemische toevoegingen die de biologische beschikbaarheid van zware metalen in de bodem verhogen. Voor het onderzoek is licht met cadmium en zink verontreinigde tuingrond uit de omgeving van Budel gebruikt;
- (ii) *Het onderzoeken van de mogelijkheden tot actief beheer van verontreinigde bodems door revegetatie.* Aan de orde kwamen met name landbouwkundige aspecten van bodems, die zeer heterogeen met PAK en zware metalen zijn verontreinigd. Hiervoor is grond gebruikt, die afkomstig is van een verontreinigde NS-locatie bij Maarn;
- (iii) *Het stimuleren van de afbraak van organische verontreinigingen (PAK) en minerale olie gedurende de extensieve fase van landfarming van baggerspecie.* Hierbij is vooral gekeken naar de mogelijke invloed van vegetatie op de biologische beschikbaarheid van PAK in baggerspecie. Verhoogde biologische beschikbaarheid kan leiden tot versnelde PAK-afbraak; verlaagde biologische beschikbaarheid tot PAK-immobilisatie en het verminderen van ongewenste ecologische effecten. Voor het onderzoek zijn

---

<sup>1</sup> De betreffende onderzoeksgroep is per 1 januari 2000 opgenomen in het fusie-instituut Alterra.

gerijpte baggerspecies (Wemeldinge, Petroleumhaven) uit experimentele landfarms gebruikt.

Naast het onderzoeken van de efficiëntie van fyto-remediëring als methode voor actief bodembeheer en bodemsanering heeft de “*praktijkproef fyto-remediëring*” de volgende neven doelstellingen:

1. Het kwantificeren van *neveneffecten* van maatregelen om de biologische beschikbaarheid te vergroten teneinde opname van zware metalen te verhogen (aanzuren, toevoegen van chelatoren). Ongewenste neveneffecten zijn bijvoorbeeld verhoogde uitspoeling en toxische effecten op bodemorganismen en vegetatie;
2. Het nagaan of *modelleren* van de biologische beschikbaarheid van zware metalen in de bodem op basis van algemene bodemparameters goede aanknopingspunten biedt om de opname door gewassen te voorspellen, ook onder extreme omstandigheden. Extreme omstandigheden zijn met name landbouwkundig extreme omstandigheden, noodzakelijk voor het optimaliseren van de opname van zware metalen;
3. Het nagaan of de *biologische beschikbaarheid van PAK* verandert onder invloed van gewasgroei. Biologische beschikbaarheid wordt gecorreleerd geacht aan de PAK-fractie die onder gestandaardiseerde condities door TENAX wordt geadsorbeerd.

De experimenten zijn uitgevoerd met de volgende bodems en gerijpte baggerspecies:

- fyto-extractie van licht met cadmium en zink verontreinigde grond uit Budel; ([Cd]: 2 mg/kg. [Zn]: 200 mg/kg);
- revegetatie van sterk heterogeen vervuilde grond uit Maarn, waarbij met name is gekeken naar mogelijke fytostabilisatie van PAK;
- fytostabilisatie/fytotransformatie van PAK in twee verontreinigde baggerspecies (Petroleumhaven en Wemeldinge), die reeds gedurende een aantal jaren zijn gerijpt.

Bij aanvang van de werkzaamheden werd in overleg met de begeleidingscommissie besloten, dat de veldproef zou worden vervangen door een proef in lysimeters te Renkum (Sinderhoeve) en een groot aantal potproeven onder gecontroleerde omstandigheden. Hiervoor waren verschillende argumenten aanwezig, zoals het feit dat eerst laat in het seizoen kon worden gestart met het onderzoek en het vermoeden dat toevoeging van chelatoren tot verhoogde uitspoeling zou kunnen leiden bij fyto-extractie van zware metalen. Dit laatste zou bij een veldproef milieutechnisch niet-verantwoorde gevolgen kunnen hebben.

Bij de opzet en uitvoering van het project zijn de volgende probleemhebbers betrokken geweest: de Provincie Noord-Brabant, de Stichting Bodemsanering NS en RIZA.

## 1.2 Definities

Fytoremediëring wordt in de meest brede zin van het woord gedefinieerd als het gebruik maken van planten bij het verwijderen, immobiliseren en anderszins onschadelijk maken van milieuverontreinigingen in grond, sediment, slib en afvalwater. De volgende soorten fytoremediëring kunnen worden onderscheiden:

#### *Fyto-extractie en rhizofiltratie*

Bij deze onderling sterk verwante technieken wordt de verontreinigende stof door de wortelstelsels van planten opgenomen uit de bodem (fyto-extractie) dan wel uit het water (rhizofiltratie). Na accumulatie in de plant wordt de verontreinigende stof met de biomassa afgevoerd en vervolgens nuttig gebruikt (energiegewassen) dan wel verder behandeld als chemisch afval.

#### *Rhizosfeer-bioremediëring en fytotransformatie*

Organische verontreinigingen in bodem, sediment, slib en (afval)water kunnen daar microbiologisch en/of enzymatisch worden afgebroken. Indien deze afbraak in enigerlei vorm versneld wordt door de aanwezigheid van planten is er sprake van fytoremediëring. Vindt de versnelde afbraak in de bodem plaats onder directe invloed van wortels, dan spreekt men van rhizosfeer-bioremediëring. Wordt de verontreinigende stof eerst door de plant opgenomen (fyto-extractie, rhizofiltratie) en daarna in de plant zelf gemetaboliseerd, dan is er sprake van fytotransformatie. Veelal vinden beide processen naast elkaar plaats.

#### *Fytotranspiratie*

In sommige gevallen kan de plant verontreinigingen uit de bodem opnemen (fyto-extractie of rhizofiltratie) en deze vervolgens, al of niet na (bio)chemische omzettingen in de plant (fytotransformatie), als vluchtige stoffen via de bladeren uitscheiden naar de atmosfeer. Voorbeelden van dergelijke stoffen zijn organische verontreinigingen (trichloorethyleen) en metalen/metalloïden die vluchtige verbindingen kunnen vormen (selenium, arseen, kwik).

#### *Fytostabilisatie*

Bij deze techniek draagt vegetatie actief bij aan het immobiliseren van verontreinigende stoffen in de bodem. Immobilisatie betekent, dat de verontreiniging niet wordt verwijderd, maar dat de risico's van ecologische effecten voor langere tijd (of zelfs geheel irreversibel) worden teruggedrongen, veelal door chemische omzettingen en adsorptie aan de vaste fase in de bodem. Fytostabilisatie kan met name ook worden toegepast in combinatie met het toevoegen van chemische immobilisatoren in het kader van een breder opgezet protocol voor actief beheer van verontreinigde bodems.



### **1.3 Opzet van het rapport**

Dit rapport beschrijft de opzet en de resultaten van het onderzoek. De resultaten zijn gerangschikt in drie hoofdstukken, die elk één optie behandelen en waarbij ieder hoofdstuk wordt afgesloten met enkele conclusies voor dat gedeelte. Aan het eind van het rapport worden *conclusies en aanbevelingen voor de praktijk* geformuleerd tegen de achtergrond van eerder gepubliceerde onderzoeksresultaten, met name uit de Verenigde Staten. Dergelijke onderzoeksresultaten zijn onlangs geëvalueerd in een aparte PGBO-publicatie over dit onderwerp (Japenga, 1999).

### **1.4 Vervolg**

Het onderzoek was te kort van duur om definitieve conclusies te kunnen trekken. Het onderzoek naar fyto-remediëring wordt daarom binnen Alterra tot eind 2001 voortgezet in het kader van het eerder genoemde DWK-onderzoeksprogramma 329. Daarnaast zal Alterra tussen 2000 en 2004 het project “PhytoDec” op Europese schaal coördineren. Hierin wordt een beslissingsondersteunend instrument ontwikkeld, dat de vraag naar de praktische haalbaarheid van deze “groene” bodemsaneringmethode op wetenschappelijk verantwoorde en een voor eindgebruikers te gebruiken wijze, zal beantwoorden. Een dergelijke afweging van kosten en (milieu)baten zal met name bepalen welke de plaats zal zijn die fyto-remediëring op termijn zal krijgen binnen het hele scala aan conventionele en innovatieve bodemsaneringmethoden.

## **2. Fyto-extractie van licht met cadmium en zink verontreinigde zandgrond uit Budel**

### **2.1 Inleiding en proefopzet**

Om de efficiëntie van fyto-extractie van zware metalen te toetsen is in een kasproef de opname van zware metalen (Cd, Cu, Pb, Ni en Zn) door drie verschillende gewassen bestudeerd:

gele mosterd - *Brassica juncea*  
gras - *Agrostis capillaris*  
lupine - *Lupinus var.*

De experimenten werden uitgevoerd met een in geringe mate met cadmium en zink (en andere zware metalen) verontreinigde tuingrond, afkomstig uit de omgeving van Budel. De grond is geleidelijk verontreinigd geraakt door langdurige diffuse uitstoot van de zinksmelterij BUDELCO.

Ondanks de niet zeer hoge zink- en cadmiumconcentraties zijn er toch ecologische en gezondheidsrisico's mogelijk, mede gezien het lage lutumgehalte en de lage pH van de zandgrond. Deze factoren leiden tot een relatief hoge biologische beschikbaarheid. Zowel de matige verontreinigingsgraad als de bodemkenmerken zijn gunstig voor fyto-extractie van zware metalen en rechtvaardigen nader onderzoek.

Tijdens de proeven is de biologische beschikbaarheid van de zware metalen in de bodem gevarieerd door de grond te behandelen met verschillende concentraties van een chelator en citroenzuur. De theorie is dat door toevoeging van de chelator (EDGA) de concentraties aan zware metalen in het bodemvocht en de biologisch beschikbare concentratie in de bodem worden verhoogd en daarmee tevens de efficiëntie van opname door het gewas. Tegelijkertijd worden echter ook neveneffecten verwacht, zoals bijvoorbeeld een verhoogde kans op uitspoeling, fyto-toxische respons en destabilisatie van het bodemleven.

De behandeling met citroenzuur is vooral bedoeld voor een verlaging van de pH, waardoor onder andere meer Cd in oplossing gaat en meer biologisch beschikbaar wordt. Citroenzuur zelf is gemakkelijk afbreekbaar.

Een groot aantal analyses is uitgevoerd om de effecten van de toevoeging van chelator en citroenzuur te kwantificeren:

1. Het meten van concentraties zware metalen in het bodemvocht als maat voor de biologische beschikbaarheid en derhalve voor de kans op ecologische effecten; vergelijking van de gevonden waarden met modelberekeningen;

2. Het meten van de gewasopname in relatie tot de berekende en gemeten concentraties in bodem en bodemvocht, waarbij zowel de concentraties in de wortels als in de oogstbare bovengrondse delen werden gemeten;
3. Het meten van de respons van het bodemleven op de toevoeging van de chelator, waarbij overigens de respons op de chelator zelf niet kon worden onderscheiden van die op de door de chelator in oplossing gebrachte metalen; de aandacht was hierbij vooral gericht op microben en nematoden;
4. Het kwantificeren van de uitspoeling in lysimeters en het vergelijken hiervan met de resultaten van concentratiemetingen in de bodemvocht.

In tabel 1 zijn enkele eigenschappen van de gebruikte grond weergegeven.

Tabel 1: Bodemeigenschappen Budel-grond.

pH-KCl	OS <sup>1</sup> %	CaCO <sub>3</sub> %	Pw mg/L	K mg/100g	Mg mg/100g	<2 <sup>2</sup> %	<16 <sup>2</sup> %	<50 <sup>2</sup> %	Cd <sup>3</sup> mg/kg	Zn <sup>3</sup> mg/kg
4.2	3.4	< 0.1	61	5	93	1.4	1.8	6.5	2	200

<sup>1</sup>: OS: organischestofgehalte; <sup>2</sup>: korrelgrootteverdeling fijne fractie (in µm); <sup>3</sup>: bepaald in Koningswater-extract.

In maart 1999 is ongeveer 500 kilo grond van de laag 0-30 cm met de in tabel 1 weergegeven eigenschappen opgehaald uit Budel en gedurende korte tijd opgeslagen (afgedekt) naast de kas. Voorafgaand aan het inzetten van de potten is de grond globaal gehomogeniseerd en in porties van 25 kilo verdeeld. Aan deze porties is kunstmest en kalk toegevoegd voor optimale plantengroei. De hoeveelheid mest verschilt per gewas en is gegeven in tabel 2.

Tabel 2: Kunstmestgift per pot.

Gewas	meststof:		
	KAS gram per pot	K60 gram per pot	koolzure kalk gram per pot
<i>Lupinus var.</i>	2.85	3.2	
<i>Agrostis capillaris</i>	2.85	3.2	1.37
<i>Brassica juncea</i>	2.85	3.2	2.74

Het verschil in de kalkgift is gebaseerd op de zuurtolerantie van de verschillende gewassen, waarbij ervan is uitgegaan de pH zo laag mogelijk te houden, teneinde de opname-efficiëntie van het gewas voor zink en cadmium te verhogen. Uit eerder onderzoek is gebleken dat lupinevariëteiten bij lage tot zeer lage pH en in zeer matig bemeste grond

ontkiemen en groeien. Vandaar dat aan de voor lupine bestemde grond geen kalk is toegediend.

Vervolgens zijn in een kas met gecontroleerde dag- en nachttemperaturen (10 – 18°C) en verlichting, 24 potten geplaatst, elk gevuld met 8 liter grond ( $\pm$  10 kilo veldvochtige grond per pot). De grond was op het moment van inzetten nog veldvochtig en is dus niet van tevoren gedroogd of gezeefd. Iedere pot (30 cm hoog, 25 cm diameter) werd voorzien van 4 zgn. *kunswortels*. Dit zijn holle buisjes voorzien van poriën die door middel van onderdruk vocht aan de bodem kunnen onttrekken. Op deze manier is het mogelijk om gedurende de groei van het gewas de veranderingen in de chemie van het poriewater te monitoren. Twee “wortels” werden op een diepte van 10 cm (gerekend vanaf de bovenkant van het grondoppervlak) en twee op een diepte van 20 cm geplaatst.

In tabel 3 is aangegeven welke verschillende behandelingen met bodemadditieven (ter verhoging van de biologische beschikbaarheid van de zware metalen) zijn gegeven voor elk der vegetaties (braak, lupine, gras, gele mosterd).

*Tabel 3: Behandelingsschema fyto-extractie zandgrond Budel.*

pot nummer	behandeling
1	blanco
2	0,01 M EDGA
3	0,01 M citroenzuur
4	0,005 M EDGA + 0,005 M citroenzuur
5	0,01 M EDGA, twee giften
6	0,01 M citroenzuur, twee giften
7	0,005 M EDGA + 0,005 M citroenzuur, twee giften
8	0,02 M EDGA

#### *Bodemvochtmonsters*

Gedurende de looptijd van de proef (15 maart t/m 20 mei 1999) zijn de potten iedere dag voorzien van water. Op twee tijdstippen (19-04 en 10-05) is daarnaast ook water met daarin opgelost de chelatoren EDGA en/of citroenzuur aan een aantal potten toegevoegd conform het schema, weergegeven in tabel 3. Deze mengsels werden van tevoren in het laboratorium klaargemaakt. Omdat EDGA slecht oplosbaar is in water is hieraan een minimale hoeveelheid NaOH toegevoegd. Om de pH van de potten niet te zeer te verstoren is na het in oplossing brengen van EDGA de pH van de oplossing teruggebracht naar een waarde van rond de pH=4. Deze oplossing is aan alle gewassen toegevoegd.

Op 7 tijdstippen (30-03, 13-04, 20-04, 27-04, 04-05, 11-05, 18-05-1999) zijn bodemvochtmonsters genomen door aan de kunstwortels vacuümbuizen te koppelen. Gemiddeld werd hierdoor per tappunt tussen de 10 en 15 mL bodemvocht aan de grond

onttrokken. De dag voorafgaand aan de bemonstering werden de potten voorzien van voldoende water om de bodem (weer) op veldcapaciteit te brengen. Per pot werden op deze manier per monsterronde 4 onafhankelijke *bodemvochtmonsters* verkregen. Omdat de kunstwortels in feite poreuze buisjes zijn (10 cm lang, 1 à 2 mm dik) met een nominale poriegrootte van 0.4 µm was het niet noodzakelijk de aldus verkregen bodemvochtmonsters nog te filtreren. De bodemvochtmonsters zijn in het laboratorium geanalyseerd. De volgende metingen zijn verricht: pH, EC, totaal opgelost koolstof, anorganisch opgelost koolstof, macro-ionen in oplossing (Al, Fe, K, Na, Mg, Ca, Mn), zware metalen in oplossing (Cd, Zn, Cu, Pb, Ni). Alle ionen in oplossing zijn simultaan gemeten op een ICP.

#### *Gewasmonsters*

In totaal zijn op drie tijdstippen gewasmonsters genomen om de opname van metalen door het gewas te bepalen (14-04, 26-04, 25-05). De gewasmonsters zijn na te zijn gewogen gedurende 3 dagen gedroogd bij 70°C en vervolgens in een contaminantvrije molen gemalen. De gedroogde en gemalen gewasmonsters zijn gedestruerd met geconcentreerd HNO<sub>3</sub> (65%) waarna de gehalten aan zware metalen in het destruaat zijn bepaald met behulp van ICP.

#### *Microbiologische bepalingen*

Na afloop van de proef is tevens een aantal microbiologische bepalingen verricht om een indruk te krijgen van het effect van de grondbehandeling op verschillende soorten micro-organismen in de bodem. Hierbij zijn de bacteriële biomassa en activiteit gemeten. Voorts is de grootte en soortensamenstelling van de nematodenpopulatie geanalyseerd.

#### *Uitspoeling*

In separaat uitgevoerde lysimeterproeven op de Sinderhoeve te Renkum is de uitspoeling gemeten in aanwezigheid van de chelator. De lysimeters konden niet worden gebruikt voor gewasopname-experimenten, aangezien de proeven pas laat in het seizoen konden worden gestart; de lysimeters waren echter wel begroeid. In het drainwater werden zware metalen en opgelost organisch koolstof (DOC) gemeten.

## **2.2 Resultaten**

In bijlage 1 zijn de meetgegevens weergegeven van alle bepalingen die in de bodemvochtmonsters zijn uitgevoerd. In de monsters van 30 maart (niet opgenomen) zijn alleen pH, EC en DOC gemeten.

In bijlage 2 zijn de resultaten van de metingen van de zware metaalgehalten in het gewas weergegeven.

De bodem(micro)biologische basismetgegevens zijn beschikbaar bij Alterra en eerder gerapporteerd in een afstudeerverslag van het Van Hall Instituut in Leeuwarden van de hand van Cathrina Draaisma (verkrijgbaar bij Alterra).

De resultaten worden in de volgende paragrafen besproken.

## 2.2.1 Samenstelling van het bodemvocht

### 2.2.1.1 De invloed van calcium, pH, ijzer/aluminium en organische stof

In het algemeen wordt de concentratie van zware metalen in het bodemvocht sterk beïnvloed door de *pH* en door de *calciumconcentratie* ([Ca]). Voor de elementen Cd, Zn, Ni, Pb en Cu is nagegaan in hoeverre pH en [Ca] sturend zijn voor de gehalten aan zware metalen in het bodemvocht in de potten die niet met EDGA behandeld zijn (potten 1, 3 en 6).

De invloed van *citroenzuur* op de gehalten aan zware metalen in het bodemvocht, varieerde voor de verschillende zware metalen. Voor cadmium en zink waren de concentraties in de met citroenzuur behandelde potten (no. 3 en 6) niet significant verschillend van die in de blanco pot (no. 1) terwijl voor lood, aluminium, ijzer en fosfor wel een duidelijk effect werd waargenomen (figuur 1). Voor koper ten slotte, werd geen eenduidig effect gevonden van citroenzuur op het gehalte in oplossing.

De gehalten aan zink en cadmium in het bodemvocht ([Cd] en [Zn]) worden vrijwel uitsluitend bepaald door pH en [Ca]:

$$\log[Cd] = -3.18 - 0.13 * pH + 0.96 * \log[Ca] \quad R^2 = 0.97 \quad [1]$$

$$\log[Zn] = -1.43 - 0.16 * pH + 0.77 * \log[Ca] \quad R^2 = 0.97 \quad [2]$$

[Cd], [Zn] en [Ca] zijn gegeven in mol L<sup>-1</sup>. Voor beide elementen geldt overigens dat [DOC] niet significant van invloed is.

Voor nikkel werd een vergelijkbaar verband gevonden tussen de concentratie van nikkel in het bodemvocht ([Ni]) en [Ca] en pH waarbij de verklaarde variantie echter beduidend achterbleef bij die van [Cd] en [Zn]:

$$\log[Ni] = -5.03 - 0.15 * pH + 0.47 * \log[Ca] \quad R^2 = 0.47 \quad [3]$$

Voor koper en lood geldt dat [Cu] en [Pb] wel sterk gecorreleerd zijn met [DOC] en het effect van [Ca] niet of zelfs tegengesteld aanwezig is:

$$\log[Cu] = -8.82 + 0.42 * \log[DOC] - 0.14 * pH - 0.71 * \log[Ca] \quad R^2 = 0.31 \quad [4]$$

$$\log[Pb] = -4.05 + 0.31 * \log[DOC] - 0.29 * pH + 0.36 * \log[Fe] \quad R^2 = 0.57 \quad [5]$$

De gevonden resultaten voor lood duiden erop dat de oplosbaarheid van dit element waarschijnlijk wordt beïnvloed door de vorming van colloïdale Fe-DOC-complexen waaraan lood zeer sterk kan binden.

Bij deze beschouwing moet uiteraard rekening gehouden worden met het feit dat in deze studie slechts één bodemtype is onderzocht en dat extrapolatie van de resultaten naar andere bodemtypen derhalve niet zonder meer kan.

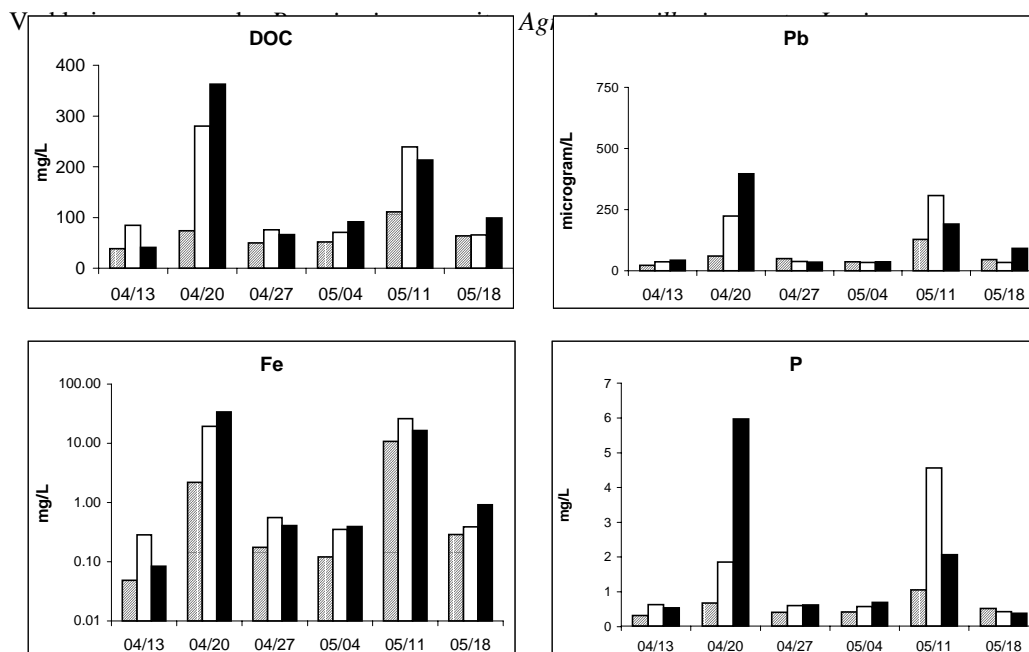
Samenvattend blijkt uit de potproeven met de zandgrond uit Budel, dat de concentratie van zware metalen in het bodemvocht wordt gereguleerd door factoren als pH, de DOC- en de Ca-concentratie, waarbij het relatieve belang van deze parameters afhangt van het onderzochte zware metaal.

### 2.2.1.2 De invloed van citroenzuur en vegetatie

Wanneer de resultaten van de potten 1, 3 en 6 gesplitst worden in die zónder toevoeging van citroenzuur en die mét toevoeging van citroenzuur wordt het volgende geconstateerd:

1. In de potten zonder citroenzuuradditie is de pH in de potten met gras significant hoger dan in zowel de potten met lupine als in de potten met gele mosterd ( $pH_{\text{gras}} = 4.88 \pm 0.29$ ;  $pH_{\text{gele mosterd}} = 4.43 \pm 0.21$ ;  $pH_{\text{lupine}} = 4.43 \pm 0.28$ ). De invloed van de pH op [Zn] en [Cd] in het bodemvocht is hier niet eenduidig. Met name gras heeft dus een duidelijk pH-verhogende werking;
2. Toevoegen van citroenzuur blijkt in een aantal gevallen te leiden tot een verhoging van de pH onmiddellijk na toediening. De gemiddelde pH van het bodemvocht is dan niet meer significant verschillend tussen de gewassen, dit in tegenstelling tot de situatie zonder toevoeging van citroenzuur;
3. Toevoegen van citroenzuur had alleen een duidelijk effect op [Pb] in het bodemvocht. Dit is mogelijk een indirect effect: citroenzuur leidt tot het oplossen van colloïdale Fe-DOC-complexen, waaraan de oplosbaarheid van Pb is gerelateerd; dit effect verdwijnt na afbraak van het citroenzuur. De oplosbaarheid van de voor de grond uit Budel meest relevante zware metalen cadmium en zink kan worden verklaard met de pH en [Ca] (vergelijking [1] en [2]), zoals hiervoor reeds betoogd. Citroenzuur speelt geen rol;
4. Alle effecten van citroenzuur zijn zeer kortdurend (< 1 week). De direct na toediening waargenomen stijging van [DOC], pH, [Pb], [Al], [Fe] en [P] wordt bij de volgende bemonstering (een week later) niet meer geconstateerd. Blijkbaar wordt citroenzuur dermate snel afgebroken in de bodem dat toediening ervan geen langdurig effect heeft.

In figuur 1 zijn enkele resultaten voor de potten 3 en 6 weergegeven, met name de invloed van de toevoeging van citroenzuur op de gehalten aan DOC, lood, ijzer en fosfor in het bodemvocht. Het blijkt duidelijk dat deze gehalten *tijdelijk* toenemen met maxima op 20 april en 11 mei; dat wil zeggen telkens op de dag na de toevoeging van citroenzuur.



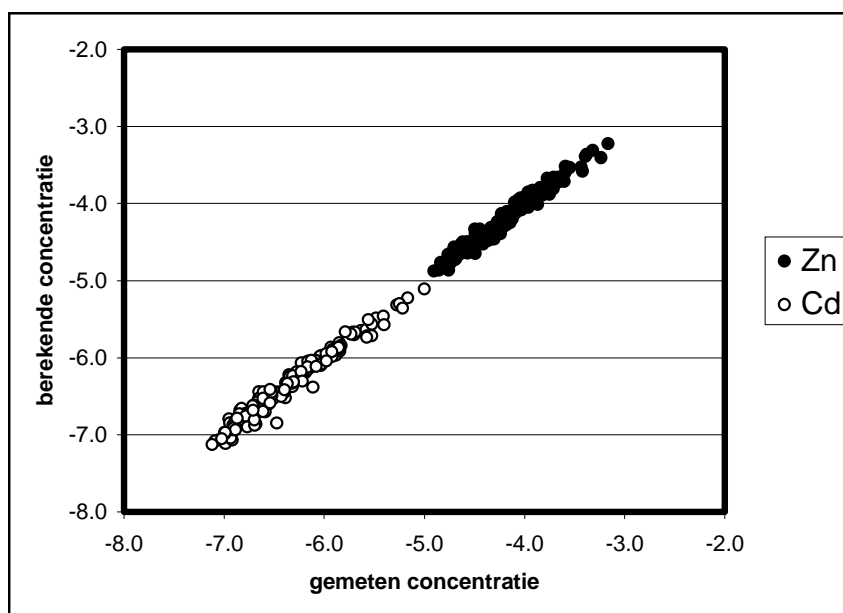
*Figuur 1: Effecten van citroenzuuradditie op de samenstelling van de bodemvochtadditie op 04/19 en 05/10; gemiddelde waarden per monsterdatum.*

In figuur 2 zijn [Cd] en [Zn] in oplossing berekend op basis van respectievelijk vergelijking [1] en [2] en uitgezet tegen de gemeten waarden. Hierbij is voor de verschillende gewassen dezelfde vergelijking per element gebruikt.

Samengevat zijn de effecten van de toediening van citroenzuur op de samenstelling van het bodemvocht als gevolg van snelle afbraak kort van duur en beperken zij zich tot effecten op de pH en op de oplosbaarheid van lood.

### 2.2.1.3 De invloed van de additie van EDGA

In tegenstelling tot citroenzuur heeft EDGA wel een duidelijk en langdurig effect op de concentratie van zware metalen in het bodemvocht. De toevoeging van EDGA leidt tevens, zoals te verwachten was, tot een zeer sterke stijging van [DOC] in oplossing. De gehalten aan DOC nemen toe van 30-50 mg C L<sup>-1</sup> tot meer dan 3000 mg C L<sup>-1</sup>. Ofschoon EDGA als zodanig niet apart gemeten is, is het zeer aannemelijk dat het hoge C-gehalte in oplossing verband houdt met de hoge concentratie EDGA en niet met “normaal” DOC uit de bodem. Indirect is dat aangetoond door te kijken naar de hoeveelheid zware metalen die per mg C in het bodemvocht aanwezig zijn. Voor Pb was dat in de niet met EDGA behandelde



bodems 0.04  $\mu\text{M}$  Pb  $\text{mM}^{-1}$  C terwijl dit in de met EDGA behandelde  
*Figuur 2: Vergelijking tussen de berekende (Ca/pH model, vergelijkingen [1] en [2]) en de gemeten waarden van de Cd- en Zn-concentraties van het bodemvocht van*



*blanco potten en met citroenzuur behandelde potten (potten 1, 3 en 6), uitgedrukt als logaritmische waarden ( $\log [Cd]$ , resp.  $\log [Zn]$ ).*

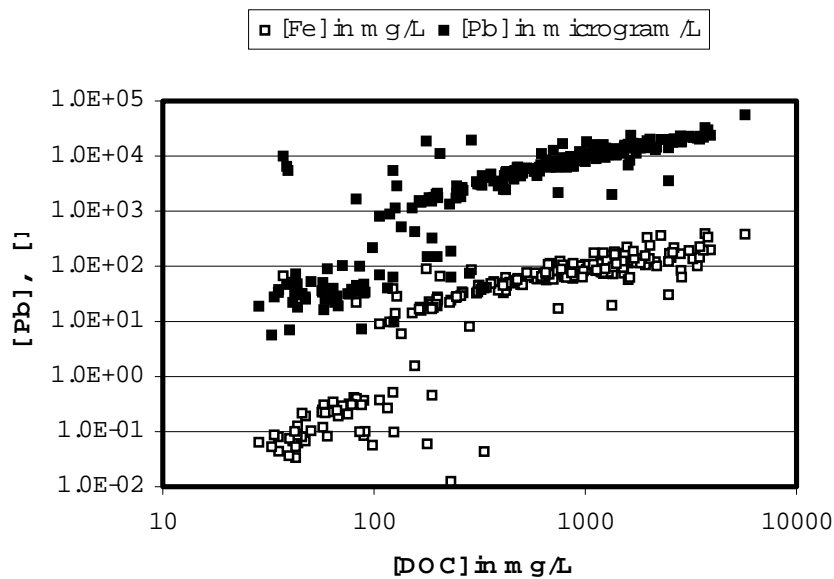
bodems opliep tot  $1.21 \mu\text{M Pb mM}^{-1} \text{C}$  (tabel 4). Gezien het grote verschil tussen beide is het aannemelijk dat dit opgeloste C dus inderdaad EDGA is.

Hoewel de aanwezigheid van EDGA leidt tot een sterke toename van de concentratie van alle zware metalen in het bodemvocht is er wel een verschil tussen het gedrag van Cd enerzijds en de overige elementen anderzijds. Voor de laatste groep geldt dat er een goed verband is tussen de hoeveelheid EDGA in oplossing en de concentratie aan metalen in oplossing. Voor Pb en Fe wordt dit getoond in figuur 3.

*Tabel 4: Binding van metalen aan DOC bij verschillende behandelingen (in  $\mu\text{M}$  metaal per  $\text{mM}$  opgelost C).*

Element	Onbehandeld		EDGA	
	gem	stdev	gem	stdev
Cu	0.04	0.03	0.54	0.14
Pb	0.04	0.03	1.21	0.76
Fe	0.57	0.38	20.6	6.7

De tweepuntenwolken aan de linkerzijde van de figuur vertegenwoordigen de monsters, genomen op 13 april vóór de toevoeging van EDGA. De toevoeging van EDGA leidt zowel voor ijzer als lood tot een sprongsgewijze toename van de concentraties in het bodemvocht, weergegeven door de hoger gelegen puntenwolken midden en rechts in de figuur. Duidelijk blijkt ook dat de “belading” van DOC met Pb en Fe lager is bij de monsters die op 13 april zijn genomen (dus vóór de toevoeging van EDGA). Dit toont eens te meer aan dat de grote toename van [DOC] na toevoeging van EDGA aan EDGA zélf is te danken en niet aan een, direct of indirect, door EDGA veroorzaakt in oplossing gaan van organische stof uit de bodem zelf. Dit wil niet zeggen dat een dergelijk in oplossing gaan van organische stof in het geheel niet optreedt, maar alleen dat het bij de hier beschreven experimenten kwantitatief niet van belang is. Dit alles betekent dat de zware metalen vrijwel uitsluitend *direct* door EDGA gemobiliseerd worden.



Figuur 3: Verband tussen DOC (=EDGA) en [Fe] en [Pb] in het bodemvocht van de potten 2, 4, 5, 7 en 8.

Het effect van het soort vegetatie op de samenstelling van het bodemvocht is in het geval van EDGA-addities minder uitgesproken dan in het geval van de niet-behandelde en met citroenzuur behandelde potten. Voor de pH geldt echter ook bij EDGA-additie nog steeds dat in de potten met gras de hoogste pH wordt gevonden, gevolgd door gele mosterd en lupine (resp. 4.74, 4.52 en 4.42).

Evenals bij de met citroenzuur behandelde potten is nagegaan in hoeverre de gemeten variabelen als pH, [DOC], [Ca] en [Fe] de concentratie van de zware metalen in oplossing bepalen. De beste fit werd verkregen voor de volgende vergelijkingen:

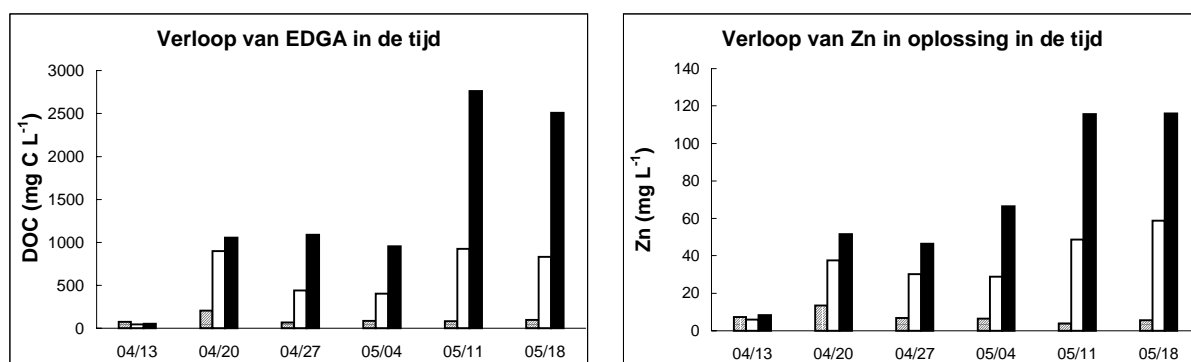
$$\begin{aligned}
 \log[\text{Zn}] &= -0.32 + 0.75 \cdot \log[\text{Fe}] + 0.27 \cdot \log[\text{Ca}] & R^2 &= 0.84 & [6] \\
 \log[\text{Cu}] &= -1.58 - 0.15 \cdot \log[\text{DOC}] + 0.75 \cdot \log[\text{Fe}] & R^2 &= 0.68 & [7] \\
 \log[\text{Cu}] &= -2.49 + 0.59 \cdot \log[\text{Fe}] & R^2 &= 0.65 & [8] \\
 \log[\text{Pb}] &= -1.35 + 1.07 \cdot \log[\text{Fe}] & R^2 &= 0.88 & [9] \\
 \log[\text{Ni}] &= -2.76 + 0.74 \cdot \log[\text{Fe}] - 0.17 \cdot \text{pH} & R^2 &= 0.86 & [10]
 \end{aligned}$$

Voor Cd werd een niet-significant verband gevonden met een duidelijk lagere  $R^2$  van 0.29.

Niet [DOC] (en dus EDGA) komt in de vergelijkingen 6-10 als belangrijkste variabele naar voren, maar [Fe]. Alhoewel [Fe] en [DOC] sterk log-lineair aan elkaar gerelateerd zijn ( $\log[\text{DOC}] = -5.8 + 1.0 \cdot \log[\text{Fe}]$ ,  $R^2 = 0.8$ ), is de correlatie met [DOC] in plaats van met [Fe] in alle hierboven weergegeven gevallen slechter. Dit komt doordat DOC bestaat uit de som van (veel) EDGA en (relatief weinig) “natuurlijk” opgeloste organische stof; dit laatste

zorgt voor ruis als [DOC] wordt gebruikt als maat voor de hoeveelheid EDGA. IJzer zal in 3-waardige vorm aanwezig zijn en de complexconstante hiervan is vele malen groter dan van de andere ionen. Zowel ijzer als EDGA zullen daarom hoofdzakelijk aanwezig zijn als ijzer-EDGA-complex en de ijzerconcentratie is daarom evenredig aan de EDGA-concentratie. In feite kan dus worden gesteld dat de concentraties [Fe] in bovenstaande formules kunnen worden “gelezen” als concentraties [EDGA].

Uit de vergelijkingen 6-10 blijkt dat de coëfficiënt van de Fe-bijdrage (en dus EDGA-bijdrage) in de meeste gevallen onderling slechts weinig verschilt. Alleen voor de elementen nikkel en zink, die een minder sterke binding met EDGA hebben, werd er additioneel een significant verband met pH of Ca waargenomen (competitie-effect, zie vergelijkingen [6] en [10]).



Onderlinge vergelijking van groepen potten: gearceerd = groep I (potten 1, 3 en 6); wit = groep II (potten 2, 4 en 7); Zwart = groep III (potten 5 en 8).

**Figuur 4:** Het verloop van de EDGA-concentratie (a) en de zinkconcentratie (b) in het bodemvocht in de tijd; [EDGA] gemeten als [DOC].

Vanwege de grote spreiding tussen en binnen de verschillende behandelingen in figuur 4 is een aantal behandelingen gecombineerd om het verloop van [DOC] en de concentraties van zware metalen in het bodemvocht te illustreren. Hierbij zijn respectievelijk de potten 2, 4 en 7 (0.005 en 0.01 EDGA-giften: *groep I*) en de potten 5 en 8 (2× 0.01 gift en 0.02 gift: *groep II*) gecombineerd. Uit de resultaten blijkt dat de dubbele hoeveelheid EDGA resulteert in ruwweg een tweemaal zo hoge DOC-concentratie en in een verdubbeling van de concentratie van de zware metalen Cd, Zn, Pb, Cu en Ni in het bodemvocht. In figuur 4 zijn alleen de effecten voor DOC en Zn gegeven.

Ook blijkt uit figuur 4 dat de concentratie aan EDGA in groep I na de eerste additie weer enigszins afneemt maar dat deze in groep II vrijwel onveranderd hoog blijft. Dit duidt erop dat bij deze hele hoge gehalten aan EDGA in oplossing, adsorptie of opname door de plant niet voldoende is om de concentratie in oplossing significant te doen dalen. Dit heeft weer tot gevolg dat de concentraties van de genoemde metalen gedurende de hele proefperiode hoog blijven. Dit kan enerzijds tot een hoge opname door het gewas leiden maar ook tot een verhoogd risico op uitspoeling onder veldcondities.

Bij het gegeven watergehalte in de pot kan op basis van deze gegevens berekend worden, dat voor cadmium en zink tot 50% van het totaal potentieel beschikbare metaalgehalte (gedefinieerd als de fractie extraheerbaar met 0.43 M HNO<sub>3</sub>) tijdens de addities van EDGA in oplossing gaat.

Om het effect van de additie van EDGA op de speciatie van zware metalen in het bodemvocht te bepalen is voor alle bodemvochtmonsters de verdeling van metalen over de verschillende complexen in oplossing berekend. Hierbij is uitgegaan van de binding van metalen aan de EDGA en HEDGA vorm:



Uit de berekeningen blijkt dat de chemische activiteit van de vrije metaalionen voor o.a. koper in de potten waaraan EDGA werd toegevoegd kort na toediening beduidend lager is dan in de potten zonder EDGA.

Voor elementen die minder sterk aan EDGA binden (zoals cadmium en nikkel) zijn de verschillen tussen de potten minder groot. Als gevolg van de grote spreiding in o.a opgelost EDGA tussen de potten lopen de berekende activiteiten van de metalen nogal uiteen.

In tabel 5 zijn de gemiddelde ionenactiviteiten (een indicatie voor de vrij in het bodemvocht aanwezige zwaremetaalionen) weergegeven voor de potten die niet met EDGA behandeld zijn. Tevens is de procentuele bijdrage van deze “vrije” zwaremetaalionen aan de totale concentratie in oplossing weergegeven.

Uit de tabel blijkt dat met name metalen als Cd, Zn en Ni voor het overgrote deel als vrij metaal in oplossing zijn terwijl voor Pb en Cu het omgekeerde geldt.

Afsluitend kan worden gesteld, dat EDGA de concentraties van zware metalen in het bodemvocht verhoogt en voor de concentraties van Zn, Cu, Pb en Ni de hoeveelheid EDGA de belangrijkste verklarende parameter is. Dit geldt niet voor Cd. Door complexvorming met EDGA kan een groot deel van de in de bodem aanwezige zware metalen in oplossing komen. In tegenstelling tot citroenzuur breekt EDGA niet snel af en heeft gedurende het gehele experiment gezorgd voor verhoogde concentraties aan zware metalen in het bodemvocht.

*Tabel 5: Berekende activiteiten (in mol L<sup>-1</sup>) in het bodemvocht van niet met EDGA behandelde potten alsmede de percentages “vrije” zwaremetaalionen ten opzichte van de totale opgeloste concentratie zware metalen.*

Berekende Metaalactiviteit (log)				
Zn	Cu	Pb	Cd	Ni

Gele mosterd	-4.45 ± 0.43	-8.39 ± 0.76	-7.56 ± 0.79	-6.47 ± 0.49	-7.22 ± 0.33
Gras	-4.77 ± 0.46	-8.43 ± 0.94	-7.76 ± 0.92	-6.77 ± 0.46	-7.32 ± 0.34
Lupine	-4.57 ± 0.39	-8.21 ± 0.81	-7.47 ± 0.78	-6.66 ± 0.49	-7.21 ± 0.24

% vrij metaal t.o.v. de totale concentratie (gemiddeld per gewas)

	Zn	Cu	Pb	Cd	Ni
Gele mosterd	77	17	38	84	89
Gras	66	16	28	79	89
Lupine	77	16	35	85	93

## 2.2.2 Gewasopname in relatie tot de toevoeging van EDGA en de samenstelling van het bodemvocht

In bijlage 2 zijn alle gemeten gehalten aan Cd, Cu, Ni, Pb en Zn in het gewas weergegeven per monsterdatum en per gewas. Ten behoeve van de bespreking van de resultaten is de hoeveelheid gegevens gereduceerd teneinde eenvoudiger een uitspraak te kunnen doen over het effect van EDGA. Daartoe is uitgegaan van een verdeling in *groepen van behandelingen* zoals eerder ook is gedaan voor de bodemvochtsamenstelling (zie tabel 3 en toelichting bij tabel 6). De gehalten na clustering zijn gegeven in tabel 6.

Tabel 6: Gemiddelde metaalgehalten in de gewassen (in mg kg<sup>-1</sup> op drogestofbasis).

GEW AS:	Groep	Cd					Ni				
		oogst 1	oogst 2	oogst 3	wortels	shoot/root	oogst 1	oogst 2	oogst 3	wortels	shoot/root
Brassica juncea	O	7.8	8.5	7	5.3	1.4	1.3	1.3	1	4.9	0.3
	I	8.4	13.8	28.1	4	7.1	0.7	1.1	1.2	6.3	0.2
	II	8.4	13	60.7	3.9	15.6	0.4	1.1	3.4	4.1	0.9
Agrostis capillaris	O	2.1	2.4	2.6	22.8	0.1	1.8	2.7	1	12.2	0.1
	I	2.2	6.2	12.5	8.9	1.5	1.4	1.4	1.8	4.4	0.5
	II	2.3	7.2	11.3	9.2	1.2	1.5	1.2	2.8	2.9	1.2
Lupinus var.	O	7.3	8	7.5	39.6	0.2	1.4	1.5	0.8	4.1	0.2
	I	8.5	13.8	24.3	13.6	1.8	1.6	4.2	1.3	3.1	0.4
	II	7.7	15.7	25.7	10.3	2.5	0.4	0.9	2.4	2.7	0.9

GEW AS: GEW AS:	Groep	Zn					Pb				
		oogst 1	oogst 2	oogst 3	wortels	shoot/root	oogst 1	oogst 2	oogst 3	wortels	shoot/root
Brassica juncea	O	1120	1049	860	513	1.7	1.7	1.9	2.6	66	< 0.1
Brassica juncea	I	1528	1406	252	302	1.5	1.4	8.8	52	111	0.5
	II	1504	1805	1490	483	0.8	1.5	16.7	206.2	88.6	2.4
Agrostis capillaris	O	562	840	708	302	0.8	3.8	4	2.9	42.9	0.1
Agrostis capillaris	I	768	652	213	744	< 0.1	3.2	8.7	29.2	46.5	0.7
	II	774	796	1605	333	0.4	3.1	14.8	65.7	47.4	1.4
Lupinus var.	O	576	815	455	1389	0.2	3.5	3.4	3.1	150.9	< 0.1
Lupinus var.	I	689	343	11	208	0.5	4.5	12	30.4	133.6	0.2
	II	512	644	262	646	0.4	4.1	24.5	59.9	103.8	0.6
	II	4.2	11.7	27.6	66.9	0.4					

Groepen:	0	= potten 1, 3 en 6	-	Geen EDGA toegevoegd
	I	= potten 2, 4 en 7	-	Additie van 0.005 M en 0.01 M EDGA
	II	= potten 5 en 8	-	Additie van $2 \times 0.01$ M en 0.02 M EDGA

Uit de tabel blijkt, dat het toedienen van EDGA resulteerde in een duidelijk verhoogde opname van de elementen Cd, Cu en Pb, althans in de oogstbare delen. Voor Ni geldt dat de opname laag is, in zowel de behandelde als onbehandelde potten. De stijging in de opname van Zn bleef duidelijk achter in vergelijking met die van Cd, Cu en Pb. Het stimulerende effect van EDGA op de opname van zware metalen treedt gedurende langere tijd na toediening op.

De verschillen in de gewasgehalten tussen groep I en groep II zijn in een aantal gevallen significant, met name voor Pb en Zn waarvan in alle gewassen hogere gehalten in groep II werden aangetroffen (voor Zn alleen bij de derde oogst in gele mosterd en gras). Voor Cd, Cu en Ni zijn vrijwel geen significante verschillen tussen groep I en II te zien.

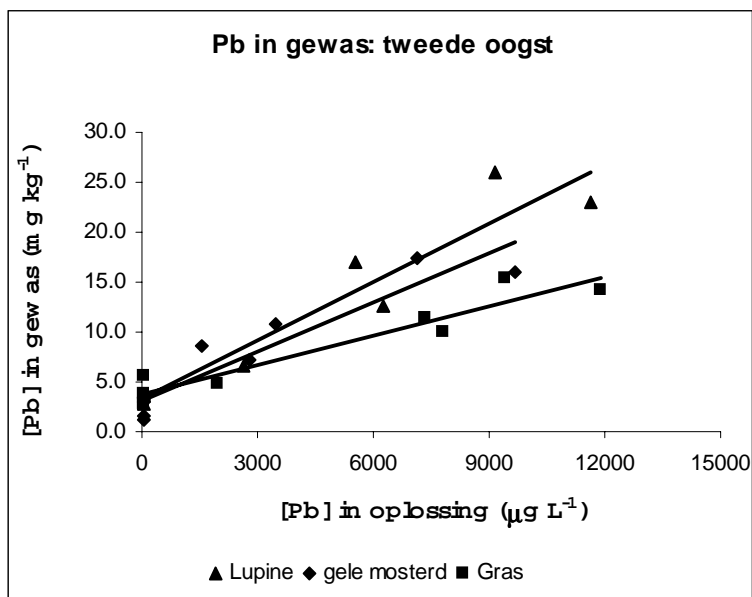
De gehalten in de wortels vertonen een omgekeerd beeld ten opzichte van de gehalten in de bovengrondse delen. In de niet met EDGA behandelde potten zijn de gehalten in de wortel vrijwel altijd hoger dan in de met EDGA behandelde gronden. Met name voor Cd en Zn is dit verschil duidelijk. Het verschil in gedrag tussen Cd en Zn enerzijds en Pb en Cu anderzijds is te verklaren uit een verschil in de affiniteit van deze zware metalen voor organische complexvormers.

Twee processen spelen hierbij waarschijnlijk een rol:

- de adsorptie van metalen aan de wortel gaat voornamelijk via de vrije ionische vorm. Wanneer bij een gegeven pH een groot deel van de metalen in organisch gecomplexeerde vorm in oplossing aanwezig is, zal minder adsorptie aan de wortel optreden dan wanneer een groot deel van het metaal als vrij (positief geladen) ion in oplossing is;
- metalen die in vrije ionische vorm aanwezig zijn of minder sterk aan EDGA gebonden zijn en via actief transport in een cel komen, worden vaak opgeslagen in de wortel zelf om te voorkomen dat ze in de bovengrondse delen komen.

Ook transportprocessen in de plant spelen een rol. Met name Pb en Cu zijn sterk gebonden aan EDGA en kunnen relatief ongehinderd door de membranen getransporteerd worden naar de bovengrondse delen. Dit laatste wordt geïllustreerd door de “shoot/root ratio” die bij Pb en Cu stijgt naarmate er meer EDGA in oplossing is waardoor een groter deel van de metalen in gecomplexeerde vorm aanwezig is. Gezien de hogere metaalopname in de potten die met EDGA behandeld zijn impliceert dit dat planten dus niet alleen in staat zijn vrije metaalionen op te nemen, maar ook organisch gecomplexeerde metalen.

Dat de opname van lood uit de bodem gecorreleerd is met de concentratie in het bodemvocht [Pb] (en in dit geval dus indirect met de concentratie EDGA), is voor Pb geïllustreerd in figuur 5.



Figuur 5: Opname van Pb in relatie tot de concentratie in het bodemvocht.

De drogestofopbrengst bij de eind oogst van de drie geteste gewassen bleek enigszins negatief te worden beïnvloed door de addities van EDGA en citroenzuur. Dit houdt waarschijnlijk verband met een zouteffect dat werd veroorzaakt door de toevoeging van EDGA zelf (natriumionen) en door het als gevolg van de aanwezigheid van EDGA in oplossing gaan van macro-elementen uit de bodemmatrix. Ook een directe toxische respons is mogelijk. De opbrengstverlaging trad met name op bij lupine en in mindere mate bij gele mosterd; bij gras was geen effect op de drogestofopbrengst te constateren. Hierbij zij aangetekend, dat bij gele mosterd toch al sprake was van een lage drogestofopbrengst als gevolg van de pH alsmede van een slecht ontwikkeld wortelstelsel (“root/shoot” = 0.3 tegen 0.6 bij gras en 0.8 bij lupine). Bij lupine werd tevens geconstateerd dat hogere concentraties EDGA dan wel mengsels van EDGA en citroenzuur leidden tot verdere opbrengstvermindering (tot maximaal 50%). De verhouding tussen de opbrengst aan wortels en oogstbare delen bleek weinig door de EDGA-toevoegingen te worden beïnvloed.

De conclusie is, dat toevoeging van EDGA weliswaar leidt tot sterk verhoogde concentraties zware metalen in het bodemvocht (par. 2.2.1.3), maar dat deze slechts gedeeltelijk worden “doorvertaald” in verhoogde gehalten van het gewas. Bij Zn en Ni is zelfs in het geheel geen sprake van een verhoging van totaalgehalten van het gewas. Wel blijkt duidelijk, dat bij gras en lupine de “root-shoot” ratio van de zware metalen wordt verhoogd. Dit geldt niet voor gele mosterd. Toevoeging van EDGA heeft een negatief effect op de gewasgroei, met name bij gele mosterd en lupine.

### 2.2.3 Effecten van de additie van EDGA op het bodemleven

Naast het onderzoek naar de invloed van addities van EDGA en citroenzuur op de biologische beschikbaarheid van zware metalen in licht verontreinigde grond (par. 2.2.1) en opname door het gewas (par. 2.2.2) is ook onderzoek verricht naar ongewenste neveneffecten daarvan. Naast een toenemende kans op uitspoeling (par. 2.2.4) betreft dit vooral effecten op het bodemleven. Indien dergelijke effecten worden waargenomen, zou toepassing van bodemadditieven bij fyto-extractie op veldschaal kunnen leiden tot slecht functionerende bodemprocessen, zoals bijvoorbeeld C-turnover en N-mineralisatie gedurende de fyto-extractie.

*Bacteriën* zijn primair verantwoordelijk voor de belangrijkste processen in de bodem zoals de afbraak van organische stof, mineralisatie, nitrificatie en denitrificatie. Binnen het bodemecosysteem zijn *protozoën* en *nematoden* vervolgens de belangrijkste consumenten van bacteriën; bovendien behoren herbivore nematoden tot de belangrijkste ondergrondse belagers van plantenwortels.

Gedurende het project zijn metingen verricht om het effect te kwantificeren van de additie van EDGA en citroenzuur op de bacteriële biomassa en de bacteriële activiteit. Daarnaast is het effect van deze addities bestudeerd op het aantal nematoden, uitgesplitst naar de belangrijkste trofische niveaus: bacterivoren, fungivoren, herbivoren en omnivoren/predatoren.

Bij het interpreteren van gemeten netto-effecten moet rekening worden gehouden met het feit, dat de effecten direct maar ook indirect kunnen zijn. Indien bijvoorbeeld de addities de plantengroei negatief beïnvloeden (een fytotoxisch effect), worden ook de organismen getroffen die met aantalsvermeerdering reageren op wortelgroei. Wanneer negatieve effecten op de bacteriepopulatie optreden dan neemt ook het voedsel van bacterivore nematoden af. Bovendien kan bijvoorbeeld citroenzuur twee elkaar tegenwerkende effecten hebben op bacteriën. Enerzijds wordt hun leefmilieu aangetast (snelle pH-verandering bijvoorbeeld), anderzijds is citroenzuur een gemakkelijk substraat voor bacteriën.

Bacteriële metingen zijn verricht aan de potten waarop lupine was ingezaaid (voor de behandelingen, zie tabel 3) met als belangrijkste resultaten:

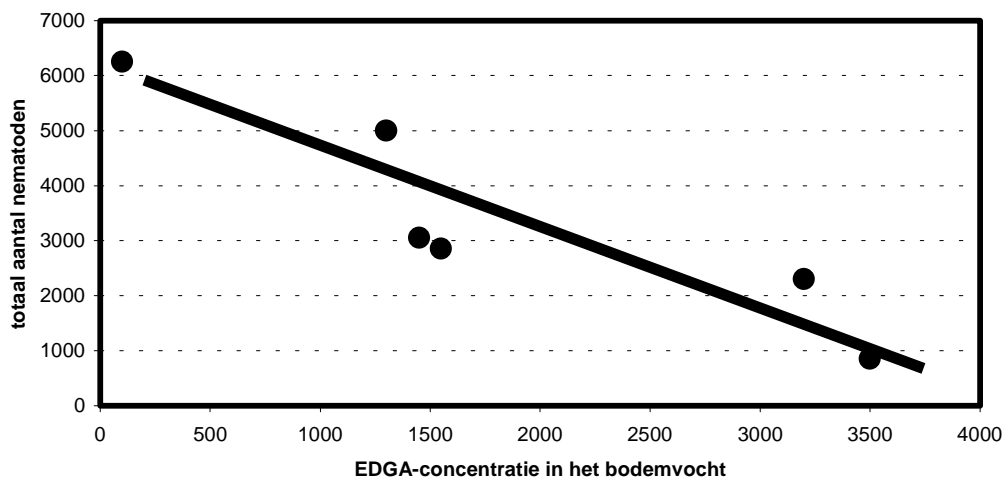
- de *bacteriële biomassa* nam toe van 17  $\mu\text{gC.g}^{-1}$  in de blanco (behandeling 1) tot 29  $\mu\text{gC.g}^{-1}$  in de potten waaraan tweemaal 0,01 M EDGA is toegediend (behandeling 5) en tot 45  $\mu\text{gC.g}^{-1}$  in de potten waaraan tweemaal 0.01 M citroenzuur is toegevoegd (behandeling 6);
- de *bacteriële groei*, gemeten als  $^{14}\text{C}$ -leucine-inbouw, was na addities van citroenzuur en EDGA gemiddeld 20% lager dan in de blanco. Deze methode indiceert met name de eiwitsynthese als groeiindicator;
- de *bacteriële groei*, gemeten als  $^3\text{H}$ -thymidine-inbouw, was na addities van citroenzuur en EDGA gemiddeld 20% hoger dan in de blanco. Deze methode indiceert de celdelingsfrequentie als groeiindicator.



De resultaten zijn zodanig dat in het algemeen niet kan worden gesproken van dramatische effecten van de toevoeging van citroenzuur en EDGA op het bacteriële bodemleven. Wel treden er waarneembare verschuivingen op.

Metingen van nematodenaantallen zijn verricht in potten, die waren begroeid met alle drie gewassen: gras, gele mosterd en lupine. Onder invloed van de gewasgroei waren in eerste instantie de aantallen nematoden sterk toegenomen: van 900 exemplaren per 100 gram veldvochtige grond zonder gewas tot 3000 onder gras, 5000 onder gele mosterd en 6000 onder lupine. Additie van citroenzuur had vervolgens geen of een licht stimulerend effect op de aantallen nematoden.

Het effect van de toevoeging van EDGA verschilde per gewas: bij gras bleef het aantal nematoden vrijwel gelijk, bij lupine en bij gele mosterd nam het aantal nematoden sterk af bij toevoeging van EDGA. De afname verliep min of meer parallel met de toename van de EDGA-concentraties in het bodemvocht (gebaseerd op DOC-metingen, zie par. 2.2.1), zoals blijkt uit figuur 6. Het verband is min of meer lineair.



*Figuur 6: Het totaal aantal nematoden (per 100 gram grond) uitgezet tegen de EDGA-concentratie in het bodemvocht (mg.L<sup>-1</sup>).*

In tabel 7 zijn voor lupine als gewas de behandelingen weergegeven (vergelijk tabel 3), de gemeten EDGA-concentraties, het totaal aantal nematoden en de onderscheiden trofische groepen. Uit de tabel blijkt dat de aanwezigheid van EDGA veel minder effect heeft op herbivore nematoden dan op de andere trofische groepen; bij gras als gewas werd bij EDGA-additie zelfs een toename in het aantal herbivore nematoden geconstateerd.

*Tabel 7: Aantallen nematoden per 100 g grond in potten met grond uit Budel, begroeid met lupine, waaraan EDGA is toegevoegd.*

Behand.	[EDGA]	Nem-T	Nem-bact	Nem-fung	Nem-herb
1	100	6250	5120	710	420
4	1300	5000	4470	270	270
7	1450	3050	2480	80	260
2	1550	2850	2110	150	480
8	3200	2300	1890	60	350
5	3500	850	510	40	300

Verklaring: Behand. = addities conform tabel 3; [EDGA] = concentratie EDGA in mg per liter; Nem-T = totaal aantal nematoden; Nem-bact = aantal bacterivore nematoden; Nem-fung = aantal fungivore nematoden; Nem-herb = aantal herbivore nematoden.

In grote lijnen kan worden vastgesteld dat de toevoeging van EDGA een stimulerend effect heeft op de bacteriële biomassa en de bacteriële celdeling, maar een negatief effect op het aantal nematoden, vooral bacterivore nematoden. Herbivore nematoden blijken weinig te worden beïnvloed. Dit betekent dat ondanks een verhoogd voedselaanbod (bacteriën) aanzienlijk minder bacterivore nematoden tot ontwikkeling komen. Dit is een aanwijzing voor het optreden van (directe of indirecte) negatieve neveneffecten op deze en wellicht sommige andere hogere bodemorganismen. In dit experiment kon niet worden nagegaan of de effecten direct zijn gerelateerd aan de aanwezigheid van EDGA of dat de relatie meer moet worden gezocht in de hogere concentratie zware metalen en andere metalen in het bodemvocht als gevolg van complexering met EDGA. Ook een simpel zouteffect is een mogelijke verklaring.

#### 2.2.4 Effecten van de additie van EDGA op uitspoeling

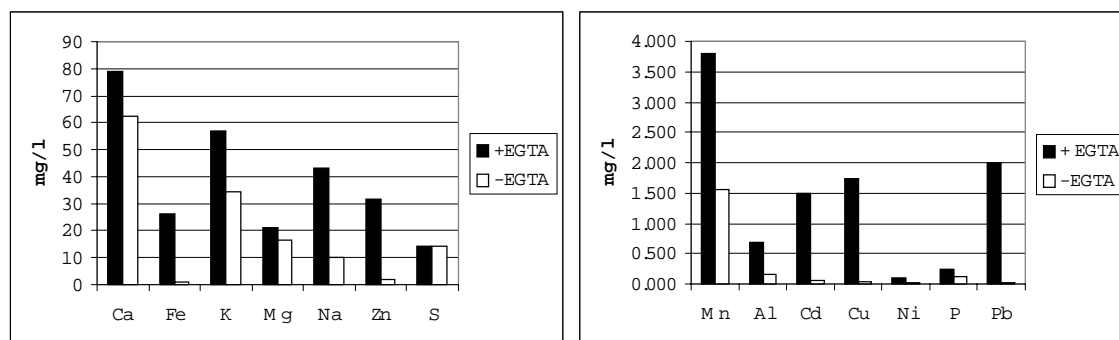
In augustus 1999 is een zestal lysimeters op de Sinderhoeve in Renkum gevuld met een laag van 60 cm grond uit Budel op een onderlaag van schoon zand, voorzien van drains. De grond uit Budel was afkomstig van dezelfde locatie als bij de hiervoor beschreven potexperimenten en betreft eveneens de bovenste 30 cm van de grond.

Vier lysimeters zijn ingezaaid met gras; twee zijn braak gelaten. In oktober zijn hier kortdurende uitspoelingsexperimenten uitgevoerd (14 dagen), waarbij op dag 1 en daarna op dag 7 een oplossing van EDGA werd toegevoegd aan drie lysimeters (een braakliggende en twee begroeide). Elke dag werd beregend (10 mm) en werd uitspoelend water opgevangen en geanalyseerd. Bij aanvang van het experiment was de grond zeer droog zodat het eerste uitspoelende water qua samenstelling sterk leek op de toegevoegde EDGA-oplossing.

Aangezien de resultaten van het experiment niet werden beïnvloed door de begroeiing, die zeer marginaal was vanwege het jaargetijde, volgt hier een aantal resultaten voor de uitspoeling van macro-elementen en zware metalen, waarbij het *gemiddelde* van de blanco's (dus zonder EDGA) is vergeleken met het *gemiddelde* van de lysimeters waaraan

EDGA is toegevoegd (dus begroeid en onbegroeid). De resultaten zijn weergegeven in figuur 7.

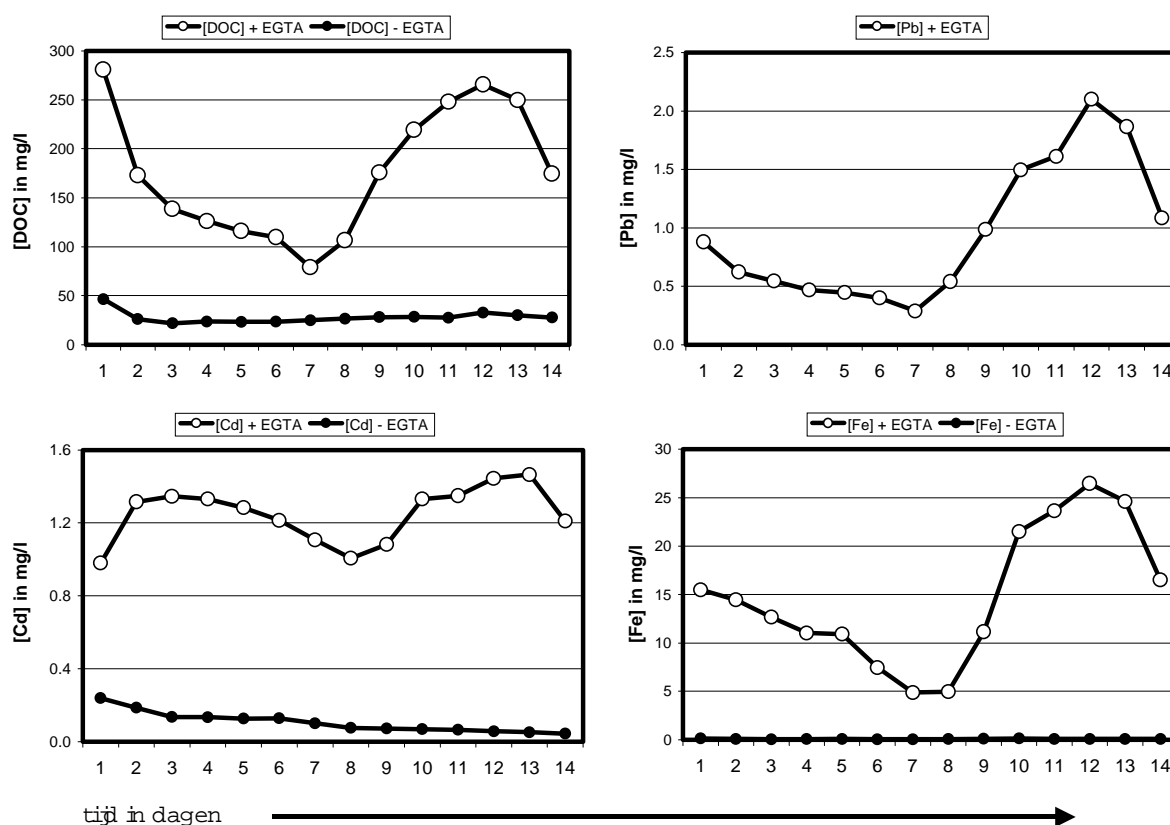
EDGA blijkt de gehele bodemchemie te beïnvloeden en in het algemeen te leiden tot het in oplossing gaan van veel elementen in de bodem.



*Figuur 7: De invloed van toevoeging van EDGA (=EGTA) op de aanwezigheid van macro-elementen en zware metalen in het drainwater van Budel-grond in lysimeters op de Sinderhoeve; maximale waarden.*

Figuur 8 toont de resultaten voor DOC, Cd, Pb en Fe over de gehele periode van 14 dagen. DOC blijkt vooral te bestaan uit uitspoelend EDGA, hoewel EDGA ook invloed lijkt te hebben op het mobiliseren van bodemorganische stof zelf (wellicht via complexering van macro-elementen als calcium). Dit blijkt uit de waargenomen sterk gele kleur van het uitspoelende water. Uit de figuur blijkt tevens dat er sprake is van een drastische toename van de concentraties van alle uitspoelende stoffen met een duidelijk zichtbaar effect van de tweede additie op dag 7.

Uitspoeling lijkt een belangrijk probleem te zijn bij het in de praktijk op veldschaal toepassen van chelatoren bij fyto-remediëring. De proef op de Sinderhoeve toont dit aan, waarbij wel aangetekend moet worden dat het experiment onder extreme omstandigheden is uitgevoerd: excessieve beregening onmiddellijk na toediening van EDGA. Daar staat tegenover, dat bij de potproeven gedurende 12 weken 7 maal het bodemvocht is bemonsterd, waarbij bleek dat de gehalten aan cadmium en zink onveranderd hoog bleven evenals de concentratie DOC (dat weer voornamelijk bestond uit EDGA). Deze opgeloste materialen zijn dus gedurende langere tijd beschikbaar voor uitspoeling. De DOC-concentratie nam in de potproeven enigszins af in de weken na toevoeging van EDGA, hetgeen te maken kan hebben met vastlegging, afbraak, gewasopname of een combinatie



*Figuur 8: De invloed van toevoeging van EDGA (=EGTA) op de uitspoeling van DOC, Pb, Cd en Fe, gemeten als concentratie in het drainwater tegen de tijd in lysimeters op de Sinderhoeve.*

hiervan. Het veronderstellen van een snelle afbraak van EDGA lijkt niet gerechtvaardigd, zodat geconcludeerd moet worden dat ook onder meer normale omstandigheden met verhoogde uitspoeling van zware metalen bij toevoeging van EDGA en van het EDGA zelf rekening moet worden gehouden.

Men kan uitspoeling voorkomen door tijdens fyto-remediëring in combinatie met bodem-additieven een streng waterbeheer toe te passen. Dit levert zeker resultaten, maar enig uitspoelingsrisico blijft bestaan, bijvoorbeeld door preferente stroming in heterogene bodems. Een dergelijk risico is aanvaardbaar bij matig verontreinigde bodems, maar niet bij hogere concentraties zware metalen in de bodem.

## 2.3 Fyto-extractie van zware metalen praktisch toepasbaar?

In paragraaf 2.2 zijn de resultaten besproken van potproeven met licht met cadmium en zink verontreinigde grond uit Budel waarin lupine, gras en gele mosterd onder gecontroleerde omstandigheden werden gekweekt en van lysimeterproeven. De verschillende onderdelen van het onderzoek (bodemchemie, gewasopname en bodem(micro)biologie) werden daarbij belicht.

In deze paragraaf wordt, na een korte samenvatting van de onderzoeksresultaten een beschouwing gegeven over de te verwachten duur van fyto-extractie. Dit laatste is een van de meest heikele punten bij het beoordelen van de levensvatbaarheid van fyto-extractie als “groen” alternatief voor andere vormen van bodemsanering.

Vervolgens worden enige conclusies getrokken en suggesties gedaan voor vervolgonderzoek. Vooraf moet echter worden gesteld dat de “*scope and limitations*” van het onderzoek en met name de korte tijdsduur (één jaar) het niet goed mogelijk maken om eenduidige en goed onderbouwde conclusies te trekken.

Wel heeft dit onderzoek duidelijk aan het licht gebracht welke aspecten nog nader dienen te worden onderzocht en heeft het geleid tot het eerder genoemde project “*PhytoDec*” (par. 1.4), dat als doelstelling heeft om in vier jaar te komen tot een beslissingsondersteunend systeem voor de toepasbaarheid van fyto-remediëring van zware metalen.

### 2.3.1 Samenvatting van de onderzoeksresultaten, toegesneden op Cd en Zn

Het toevoegen van EDGA aan de grond veroorzaakte in de experimenten een toename van de concentraties van Cd en Zn in het bodemvocht met een factor 20-100. Als gevolg van de lage verontreinigingsgraad betekent dit dat in een aantal gevallen meer dan de helft van het totaal in de grond aanwezige Cd in het bodemvocht is opgelost. De additie van EDGA aan de grond leidt, ondanks de ogenschijnlijk verhoogde biologische beschikbaarheid, bij gele mosterd en lupine niet tot een grote toename van de opname van Cd in de plant als geheel, dat wil zeggen in de totaal geproduceerde biomassa (wortels + bovengrondse delen). Hierbij moet worden opgemerkt dat de opname ook zonder EDGA al relatief hoog is vanwege de zuurgraad van de grond. Additie van EDGA resulteert bij lupine in een lichte afname en bij gele mosterd lichte toename van de totaal in de plant geaccumuleerde hoeveelheid Cd, zoals hierna weergegeven:

#### **lupine:**

<i>blanco of citroenzuur:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>1,08 mg/pot</i>
<i>EDGA in diverse doseringen:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,58 mg/pot</i>

#### **gele mosterd:**

<i>blanco of citroenzuur:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,08 mg/pot</i>
<i>EDGA in diverse doseringen:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,21 mg/pot</i>

Indien alleen naar de oogstbare delen wordt gekeken, dan blijkt EDGA ook bij lupine een positieve invloed te hebben. Bij met EDGA behandelde grond komt ruim 60% (lupine) dan wel 94% (gele mosterd) van het opgenomen Cd in de bladeren terecht, bij de blanco's circa 15% (lupine) dan wel 72% (gele mosterd). Netto betekent dit voor de opname in de oogstbare delen:

**lupine:**

<i>blanco of citroenzuur:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,17 mg/pot</i>
<i>EDGA in diverse doseringen:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,34 mg/pot</i>

**gele mosterd:**

<i>blanco of citroenzuur:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,06 mg/pot</i>
<i>EDGA in diverse doseringen:</i>	<i>gemiddeld</i>	<i>0,19 mg/pot</i>

Bij de experimenten met gras werd in principe hetzelfde gevonden. De totale opname was echter veel geringer en er bleek ook in veel belangrijker mate accumulatie in de wortels op te treden, zodat via de oogst zeer weinig Cd kan worden afgevoerd.

De totale onttrekking van Cd door het gewas bleek het grootst in het geval van lupine (0,34 mg/pot, zie hierboven), omdat dit gewas onder de zure omstandigheden de hoogste drogestofopbrengst had in vergelijking tot gele mosterd (zie bijlage 2). De lagere gehalten in de plant werden hierdoor meer dan gecompenseerd. De totale onttrekking is immers het product van concentratie en opbrengst. Dit is ruim 2% van de in de pot aanwezige hoeveelheid Cd (7,8 kg grond met 2 mg/kg).

De reactie van de gewasopname van Zn op het toevoegen van EDGA is ook bestudeerd. De effecten bleken minimaal te zijn en ook het transport naar de oogstbare delen werd nauwelijks beïnvloed. De totale onttrekking van Zn was het grootst in de blanco's (!), behalve bij gras, waar een lichte toename werd geconstateerd na toevoegen van EDGA.

Het toevoegen van citroenzuur had geen noemenswaard stimulerend effect op de opname van Cd en Zn voor de drie geteste gewassen. Afbraak van citroenzuur is klaarblijkelijk te snel en het verzurend effect daardoor nihil. Citroenzuur draagt daardoor niet bij aan verhoging van de biologische beschikbaarheid van de zware metalen.

Behalve naar het verhogen van de efficiëntie van fyto-extractie door het toepassen van additieven die de biologische beschikbaarheid verhogen, is ook aandacht besteed aan mogelijke negatieve effecten op het bodemleven en aan de mogelijkheid van verhoogde uitspoeling van zware metalen en van de stof zelf.

In het algemeen kan worden gesteld dat de toename van de Zn- en Cd-concentratie in het bodemvocht niet leidde tot negatieve effecten op het functioneren van het bacteriële bodemleven. Dergelijke negatieve effecten werden wel waargenomen bij nematoden. Hierbij zij aangetekend, dat de bodem slechts matig verontreinigd was met zware metalen en eventuele effecten evenzeer kunnen worden toegeschreven aan een zouteffect of aan

effecten van macro-elementen die in oplossing zijn gebracht. Ook directe toxiciteit van EDGA is mogelijk.

Toevoeging van EDGA aan de grond verhoogt de kans op uitspoeling van met EDGA complexerende elementen (waaronder zware metalen) in zeer belangrijke mate. Gezien de geringe afbreekbaarheid van EDGA lijkt dit ook voor langere tijd het geval te zijn. EDGA kan de helft van het aanwezige cadmium in oplossing doen gaan. In een veldsituatie zal uitspoeling vooral plaatsvinden in de winterperiode en zorgen voor een daling van het cadmiumgehalte in de bodem met 50%. Dit is veel meer dan door het gewas wordt opgenomen (in ons onderzoek ruim 2%). Zelfs als de uitspoeling met 90% kan worden gereduceerd zal in deze situatie nog meer via uitspoeling verdwijnen dan via gewasopname.

### **2.3.2 De duur van fyto-remediëring**

Gele mosterd is in principe geschikt voor opname van Cd uit vervuilde grond, zoals eerder is aangetoond door Blaylock (Blaylock *et al.*, 1997). Bij een hogere dosering van EDGA (0.005-0.01 M) en bij een zeer hoge Cd-concentratie van 100 mg/kg grond (via toevoeging van cadmiumcarbonaat aan de grond) bleek in de experimenten van Blaylock de opname door gele mosterd toe te nemen van 250 mg/kg (blanco) tot 2800 mg/kg. Hiervoor dient echter een landbouwkundig geschikte pH van circa 7 te worden toegepast. In onze experimenten onder zure omstandigheden voldeed gele mosterd matig vanwege de lage drogestofopbrengst.

In ons onderzoek blijkt bij lupine en gele mosterd het toevoegen van EDGA tot een concentratie van 0,001 M in de grond te leiden tot een toename van het Cd-gehalte van de oogstbare delen van 7-8 mg/kg tot 25 mg/kg bij lupine en tot 40 mg/kg bij gele mosterd; dit geldt voor de concentratie in de eindoogst. Bij de eerste oogst (een week na EDGA-toediening) is het effect van EDGA een toename van 8-9 mg/kg tot 13-15 mg/kg voor beide gewassen. Deze verdubbeling is ook waargenomen door Blaylock (van 250 naar 500 mg/kg), die gele mosterd liet groeien bij pH = 7-8 op een grond waaraan zeer veel Cd werd toegevoegd (100 mg/kg, als cadmiumcarbonaat) en die eveneens een week na toediening oogstte. Blaylock constateerde tevens dat hogere EDGA-concentraties een positief effect hadden (0,001: factor 2; 0.005; factor 8; 0.01: factor 11). Dit is door ons niet geconstateerd, hetwelk waarschijnlijk is te verklaren door de aanwezige totaalconcentraties in de bodem. In ons geval was 50 maal minder Cd aanwezig en daardoor heeft een lagere EDGA-concentratie waarschijnlijk eenzelfde effect als een hogere. Dit blijkt ook uit het feit dat in ons onderzoek hogere EDGA-toedieningen de Cd-concentratie in het bodemvocht niet verder verhogen.

Vergelijking van de onderzoeksresultaten van ons met die van Blaylock wijzen er ondanks verschillen in proefopzet op, dat bij een bepaalde behandeling telkens een bepaald percentage van het totaal aanwezige Cd wordt verwijderd. De accumulatiefactor is bij Blaylock  $500/100 = 5$  en in ons project  $13/2,5 = 5$ ). Dit betekent dat er dus waarschijnlijk geen lineaire afname van de concentratie in de bodem zal plaatsvinden, maar eerder sprake zal zijn van een exponentieel afnemende onttrekking. Indien een gewas bijvoorbeeld 5%

van het oorspronkelijk aanwezige Cd per jaar kan afvoeren, dan leidt linear gedrag tot volledige clean-up na 20 jaar. Bij exponentieel afnemende onttrekking neemt het gehalte in de grond in 20 jaar slechts af met bijna 65%. Dit betekent tevens dat grond met 100 ppm bij 5% opname pas na 90 jaar op een streefwaarde van 1 ppm is terechtgekomen in plaats van na 20 jaar bij lineaire verwijdering. Nader onderzoek is nodig naar dit “*fading out*” fenomeen, waarvan de details nog onbekend zijn. Dit onderzoek zal in 2000/2001 door Alterra worden uitgevoerd als een der onderdelen van het EU-project PhytoDec. Indien exponentieel afnemende onttrekking kan worden bevestigd, is de fyto-remediëringstijd aanzienlijk langer dan bij lineaire afname wordt verondersteld. Recent nog niet gepubliceerd buitenlands onderzoek wijst erop dat ten aanzien van “*fading out*” mogelijk principiële verschillen bestaan tussen planten met hyperaccumulerende eigenschappen (zoals *Thlaspii caerulescens* voor zink) en een gewas als lupine. Hyperaccumulators nemen actief zware metalen op en zijn mogelijk minder afhankelijk van het aanbod in biologisch beschikbare vorm dan andere gewassen.

### 2.3.3 Conclusies

Doordat het toevoegen van EDGA niet momentaan de opname verhoogt en gedurende langere perioden in de bodem actief blijft (resultaat van dit project en ook elders in de literatuur beschreven) volstaat het om in het begin van het groeiseizoen EDGA toe te voegen en dit daarna niet te herhalen. De plant dient zo lang mogelijk te blijven staan, omdat het erop lijkt dat de opname niet afhankelijk is van het groeistadium van de plant maar van het watertransport naar en in de plant; er treedt accumulatie op van zowel Cd als (waarschijnlijk) EDGA. Ook een volgroeide plant neemt nog water op. Stimulering van “water-turnover” van het gewas kan dan een optie zijn.

Toevoeging van EDGA aan de grond leidt in het geval van de zure zandgrond uit Budel tot een drastische toename van de Cd-concentratie van het bodemvocht (van circa 0.05 mg/l tot circa 5 mg/l), die echter niet wordt vertaald in een daarmee vergelijkbare toename van de totale gewasopname. Integendeel. Dit wijst erop dat EDGA de opname door de wortels eerder enigszins belemmert dan bevordert of dat adsorptie aan de wortels in aanwezigheid van EDGA minder effectief is (vergelijk par. 2.2.2). Wel blijkt EDGA een positieve invloed te hebben op het transport van Cd van de wortels naar de oogstbare delen (in het geval van lupine en gele mosterd).

Naast toevoegen van EDGA kan ook aanzuren de opname-efficiëntie verhogen. Door aanzuren wordt de “vrije” concentratie Cd in het bodemvocht verhoogd, waardoor de opname wordt versneld, zoals in eerder onderzoek veelvuldig is aangetoond. EDGA bevordert vervolgens het doorstromen naar de bovengrondse delen. Bij aanzuren zou op licht verontreinigde gronden wellicht met een lagere dosering van EDGA kunnen worden volstaan, waardoor zouteffecten kunnen worden gereduceerd en uitspoelingsrisico's kunnen worden verminderd. Aanzuren zou dan bijvoorbeeld met zwavel kunnen geschieden. Citroenzuur is hiervoor ongeschikt gebleken. Deze methode (dus inclusief aanzuren) is alleen toepasbaar voor lupine, een gewas dat in staat is om op zure grond te groeien. Het



gebruik van zwavel is overigens ook, vooralsnog succesvol, getest in Budel-grond. Definitieve resultaten worden medio 2000 verwacht.

### **3. Fytoremediëring van met PAK verontreinigde grond uit Maarn**

#### **3.1 Inleiding en proefopzet**

De verontreiniging op het NS-terrein langs de snelweg bij Maarn, is ontstaan door industriële activiteiten ter plaatse en door het storten van verontreinigde grond afkomstig van een groot aantal voormalige industrieterreinen, werkplaatsen, *etc.* elders. Daaronder met name fabrieken voor de verwerking van zware olieproducten (asfalt, cokes), defensie terreinen en terreinen van de NS zelf. In totaal betreft het 25.000 m<sup>3</sup> verontreinigde grond verspreid over 40 hectare. Door de oorsprong is de verontreiniging zeer heterogeen over het terrein verdeeld en zijn PAK vanuit milieubeschermingsoogpunt veruit de belangrijkste verontreinigingen.

Het terrein werd “random” bemonsterd (14 plaatsen) en de gehalten aan PAK werden bepaald in deelmonsters. Gehalten varieerden tussen 0.2 mg PAK<sub>VROM</sub>/kg drogestof (dat is “schone grond”) en 93 mg PAK<sub>VROM</sub>/kg drogestof. Individuele resultaten zijn weergegeven in bijlage 3. Interessant is de waarneming dat het “patroon” van de PAK, dat is de onderlinge verhouding tussen diverse individuele PAK, vrijwel hetzelfde is voor de verschillende monsters, maar bij een verschil in totaal-concentratie van een factor 500. Dit wijst op dezelfde bron of op een vergelijkbare mate waarin natuurlijke afbraak heeft plaatsgehad.

Uit de verkregen monsters werd één mengmonster bereid, waarmee 20 potten (inhoud elk 7.8 kg) werden gevuld. Uit het mengmonster werden vijf deelmonsters getrokken, waarin PAK werden bepaald teneinde de homogeniteit vast te stellen. Gehaltes varieerden van 22 en 29 mg/kg (gemiddeld 26 mg/kg), zodat kan worden geconcludeerd dat een redelijke mate van homogeniteit is bereikt (zie bijlage 3). Elke met grond gevulde pot werd bemest met een basisdosis K en P (0.9 gram K60 en 2.7 gram TSP) en met 3 trappen N: 0.2, 0.8 en 1.2 gram KAS. De potten met de hoogste N-bemesting werden in de loop van het groeiseizoen in totaal 7 maal bijbemest met Steiners voedingsoplossing (84 mg N, 31 mg P en 140 mg K). De potten werden ingezaaid met luzerne, gras en een kruidenmengsel, vooral bestaande uit grassen en vlinderbloemigen.

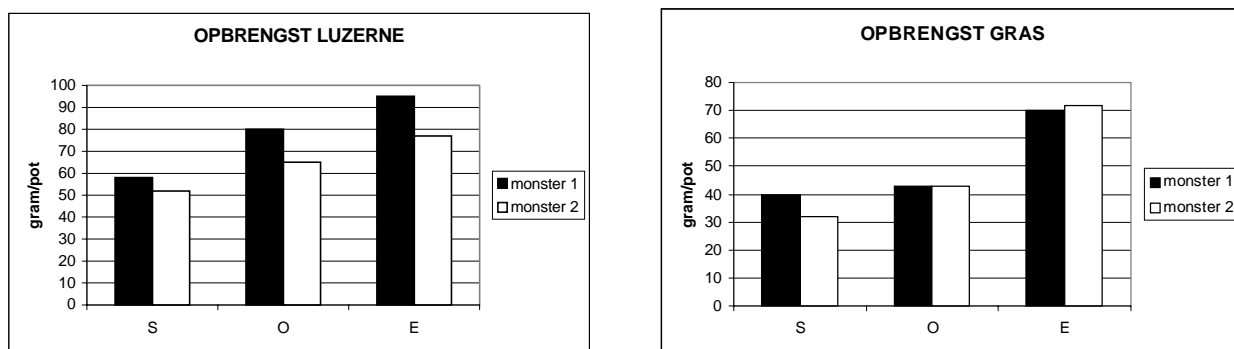
#### **3.2 Resultaten en conclusies**

##### **3.2.1 Gewasontwikkeling en drogestofproductie**

Bij luzerne en gras werd de drogestofproductie onder de verschillende omstandigheden gevolgd; bij het kruidenmengsel de kwalitatieve ontwikkeling van de vegetatie.

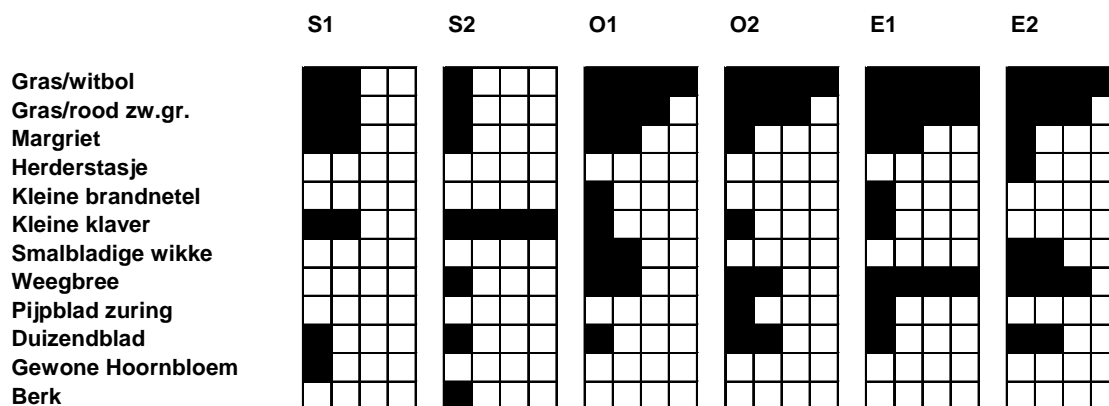
De *drogestofproductie van luzerne en gras* is weergegeven in figuur 9, waarbij onderscheid is gemaakt tussen suboptimale (S: 0,2 gram KAS per pot), optimale (O: 0.8 gram KAS per pot) en excessieve N-bemesting (E: 1.2 gram KAS per pot), zoals hiervoor is beschreven.

Uit de figuur blijkt dat luzerne minder gevoelig is voor het N-bemestingsniveau dan gras. Dit is niet verwonderlijk gezien het feit dat luzerne in staat is om zelf stikstof uit de lucht te binden.



Verklaring: S = 0,2 gram KAS per pot; O = 0,8 gram KAS per pot; E = 1,2 gram KAS per pot.

Figuur 9: Opbrengst van luzerne en gras op met PAK verontreinigde grond uit Maarn in relatie tot bemestingsniveau; duplo-bepaling.



Verklaring: S = 0,2 gram KAS per pot; O = 0,8 gram KAS per pot; E = 1,2 gram KAS per pot.

Figuur 10: Ontwikkeling van een kruidenvegetatie op met PAK vervuilde grond uit Maarn, in afhankelijkheid van het bemestingsniveau.

In figuur 10 wordt een overzicht gegeven van de mate waarin de verschillende species in het kruidenmengsel tot ontwikkeling zijn gekomen bij de verschillende N-bemestingsregimes. De mate van zwartkleuring (1-4 vakken) is een maat voor de frequentie van de aangegeven species. Geen duidelijk effect van bemesting op de soortenrijkdom kon worden vastgesteld. Enige dominantie van kleine klaver (S), de grassen “witbol” en “klein zwenkgras” (O en E) en weegbree (E) kon echter wel worden geconstateerd.

Samenvattend kan worden geconcludeerd dat het diepwortelende stikstofbindende vlinderbloemige gewas luzerne een goede gewasgroei laat zien op de vervuilde grond hetwelk wordt gestimuleerd door N-bemesting. Een kruidenvegetatie slaat goed aan en bij suboptimale N-bemesting ontwikkelt met name een vlinderbloemige als “kleine klaver” zich goed.

### 3.2.2 Wortelontwikkeling

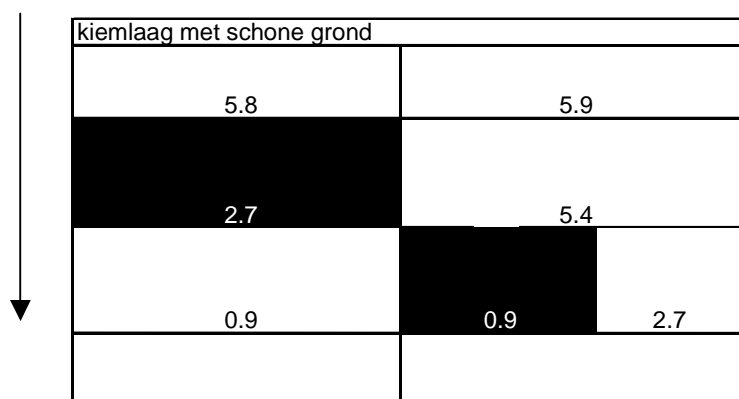
Met de “Maarn-grond” werd ook een experiment uitgevoerd, waarin werd nagegaan in hoeverre bij de niet-extreem hoge PAK-gehalten van circa 25 mg/kg toch nog “vluchtgedrag” van de wortels optreedt. Hiermee wordt bedoeld in welke mate de plantenwortels tijdens de groei lokale zones met vervuilde grond ontwijken. Dit vluchtgedrag hoeft niet alleen te worden veroorzaakt door vervuilende stoffen, maar kan ook het gevolg zijn van een slechtere bodemstructuur of een verschil in bodemvruchtbaarheid van de meer vervuilde grond.

Informatie hierover is van groot belang om na te gaan of fyto-remediëring kan werken op niet-gehomogeniseerde grond (zoals de Maarn-grond) of dat eerst moet worden gehomogeniseerd. Treedt vluchtgedrag op, dan is de invloed van plantengroei op lokale, sterk vervuilde zones naar verwachting gering.

Om dit “vluchtgedrag” te onderzoeken werden drie mini-rhizotrons (50x50x10 cm) gevuld met een matrix van “schone” (2.5 mg PAK<sub>EPA</sub>/kg), matig vervuilde (11 mg PAK<sub>EPA</sub>/kg) en sterk vervuilde (64 mg PAK<sub>EPA</sub>/kg) Maarn-grond. De drie soorten grond waren tevoren bemest met 250 mg K60, 780 mg TSP en 220 mg KAS per kg grond.

Na enige weken werden de mini-rhizotrons ontmanteld en werd de wortelmasse voor luzerne bepaald in alle “zones”. Deze wortelopbrengsten zijn weergegeven in figuur 11 voor één van de drie mini-rhizotrons met zwaar vervuilde “zwarte zones” en schone “witte zones”. Wortelopbrengsten zijn weergegeven als milligrammen drogestof per cm<sup>3</sup> droge grond.

Uit de figuur blijkt, dat de worteldichtheden aanzienlijk lager zijn in verontreinigde zones en dat er geen herstel optreedt in onderliggende lagen. Hieruit blijkt dat wortels de vervuilde grond wel penetreren, maar vervolgens groeistoornissen vertonen. Dit betekent dat bij praktische toepassing van vegetatie voor fyto-stabilisatie of versnelde afbraak van PAK in de Maarn-grond vooraf enige vorm van homogenisering dient te worden toegepast om vluchtgedrag te voorkomen.  
diepte (totale diepte 50 cm)



*Figuur 11: “Vluchtgedrag” van wortels in een mini-rhizotron, gevuld met schone en vervuilde grond van de NS-locatie in Maarn; de getallen geven de gemeten wortelmassa weer, uitgedrukt in milligram drogestof per cm<sup>3</sup> droge grond. De vervuilde grond is in zwart weergegeven (bij 64 mg PAK<sub>EPA</sub>/kg).*

Om daadwerkelijk eventuele versnelde afbraak van PAK onder invloed van planten te kunnen constateren zullen de potten met grond uit Maarn nog 1-2 jaar worden bewaard en zal plantengroei in stand worden gehouden. Het nu reeds “slachten” van de potten en het uitvoeren van PAK-analyses zal naar verwachting zeer zeker geen resultaat opleveren waaruit conclusies kunnen worden getrokken. Ten eerste is PAK-afbraak een langzaam proces en bovendien is de grond in de potten niet zeer homogeen. Dit gevoegd bij de foutenmarge in de analytische PAK-bepaling zelf, leidt tot de conclusie dat geen interpreteerbare resultaten kunnen worden verwacht op dit moment.

Uit de tot nu toe uitgevoerde experimenten kan worden geconcludeerd dat in lokale zones met de sterkst verontreinigde grond de wortelgroei wordt geremd. Niet is vastgesteld of dit een verontreinigingseffect of een bodemstructureffect is. Voor succesvolle fytostabilisatie van de Maarn-grond maakt dit in elk geval homogenisering van de grond vooraf noodzakelijk. Over de afbraak van PAK kan gezien de verwachte traagheid van dit proces nog geen uitspraak worden gedaan; om hierin te voorzien wordt het experiment nog geruime tijd voortgezet en aan monitoring onderworpen.

## 4. Fytotransformatie van PAK en minerale olie in verontreinigde gerijpte baggerspecie

### 4.1 Inleiding en proefopzet

In 1995 zijn bij de Kreekraksluizen experimentele landfarms ingericht om de natuurlijke afbraak van minerale olie en PAK te bestuderen in rijpende baggerspecie uit de Petroleumhaven in Amsterdam en uit de haven van Wemeldinge. Uit deze landfarms zijn in juni 1999 monsters getrokken om onder gecontroleerde omstandigheden een potproef te kunnen uitvoeren teneinde de effecten van verschillende gewassen en verschillende bemestingsregimes op de afbraak van PAK te bestuderen.

Deze baggerspecies zijn eerder reeds uitgebreid onderzocht bij Alterra (voorheen SC-DLO). Zo zijn ze onderworpen aan intensieve landfarming en daarnaast aan extensieve landfarming en kasfarming, waarbij ook de milieurisico's nader zijn onderzocht (SC-DLO, 1997; Harmsen *et al.*, 2000). Voor Petroleumhaven-specie is nagegaan of toepassing van schimmels kon leiden tot een versnelde afbraak (Harmsen *et al.*, 1998).

De snelle eerste fase van afbraak was in 1999 achter de rug en op dit moment treedt in de landfarms bij de Kreekraksluizen een langzame verdere afbraak van PAK en minerale olie op als gevolg van het trage biologisch beschikbaar komen van deze verontreinigingen. De vraag is nu of onder invloed van plantengroei en/of bemesting PAK meer en sneller biologisch beschikbaar worden; versneld biologisch beschikbaar komen wordt dan geacht direct gerelateerd te zijn aan versnelde afbraak.

Om dit te onderzoeken werd gerijpte baggerspecie, afkomstig uit de Petroleumhaven in Amsterdam (P) en de haven van Wemeldinge (W) overgebracht in twee series van 18 potten (circa 8 kg per pot). De species zijn afkomstig van de zogenaamde “onbewerkte velden”, waar vegetatie heeft bijgedragen aan de rijping. De onderste laag van de specie is bemonsterd, omdat hier de afbraak het minst ver was gevorderd. In 20 van de 36 potten werden “kunstwortels” voor het bemonsteren van het bodemvocht aangebracht (zie 2.1).

In de potten werd een drietraps-bemestingsregime (S = suboptimaal, O = optimaal en E = excessief) aangebracht, vergelijkbaar met hetgeen is toegepast in de hiervoor beschreven proeven met Maarn-grond (hoofdstuk 3). Ook werden luzerne en gras (*Agrostis capillaris*) ingezaaid. Daarnaast werden potten zonder begroeiing geïnstalleerd (alleen S en O). Aan één behandeling met O-bemesting werd extra organisch substraat toegevoegd. De bedoeling hiervan is na te gaan of een eventuele versnelde afbraak van PAK in aanwezigheid van plantengroei veroorzaakt wordt door fysische dan wel microbiologische effecten van de wortelgroei. Fysische stimulering omvat effecten, zoals het verbreken van bodemaggregaten en betere diffusie van zuurstof door extra wortelgangen. Bij microbiologische stimulering wordt met name gedacht aan de invloed van wortellexudaten en organische gewasresten op het functioneren van bacteriepopulaties. De toevoeging van

organisch substraat is bedoeld om wortellexudaten, *etc.* te imiteren. Treedt hierbij een vergelijkbare versnelde afbraak op als in de begroeide potten dan wijst dit op microbiologische effecten. De hoeveelheid toegevoegd organisch substraat (glucose + glycine) komt overeen met circa 3000 kg C/hectare. Deze is in de loop van de proef portie-gewijs toegediend.

Nadat de proef circa 2,5 maand had gelopen werden de volgende bepalingen uitgevoerd:

- de gewasproductie bij de verschillende behandelingen;
- de bacteriële biomassa en de bacteriële activiteit;
- aantallen nematoden;
- PAK-beschikbaarheid volgens de TENAX-methode (Cornelissen et al., 1997). De snel biologisch beschikbare fractie werd gemeten door gedurende 6 uur TENAX in contact te brengen met de baggerspecie. Deze 6 uur is conform de laatste ontwikkelingen bij RIZA (Van Noort, 1999; persoonlijke mededeling); De TENAX-methode is voor de beide onderzochte species een goede voorspeller van hetgeen in één jaar op een landfarm kan worden afgebroken (Harmsen en Ferdinandy, 1999);
- gehalten aan PAK en minerale olie.

Dezelfde metingen zijn ook uitgevoerd bij een parallel lopend onderzoek op de landfarm Kreekraksluizen (De Poorter *et al.*, 2000). De resultaten zijn in deze rapportage aangeduid als “veldproef”.

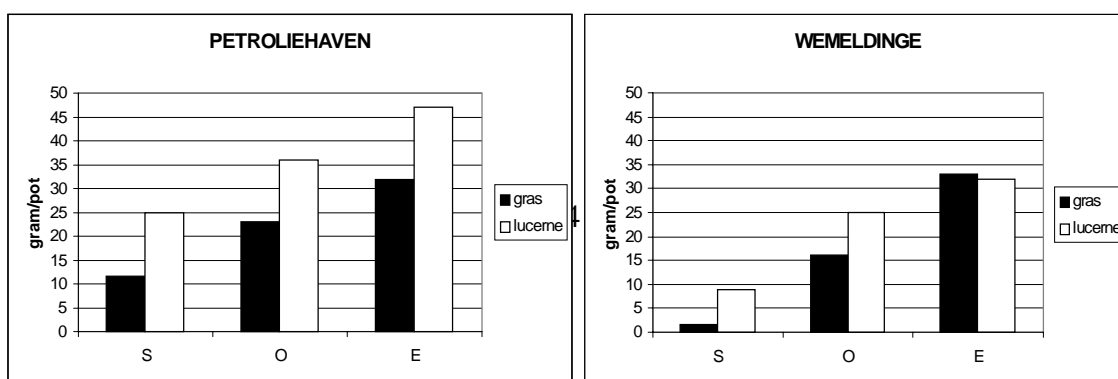
## 4.2 Resultaten en conclusies

### 4.2.1 Gewasproductie

Uit figuur 12 blijkt, dat bemesting zoals verwacht een groot effect heeft op de gewasproductie. Het effect is sterker bij gras dan bij luzerne en treedt in sterkere mate op bij baggerspecie uit de haven van Wemeldinge dan bij baggerspecie uit de Petroleumhaven. Het verschil, ook bij optimale bemesting, tussen Wemeldinge en Petroleumhaven kan worden verklaard uit het verschil in bodemstructuur: Petroleumhaven-specie heeft zich reeds ontwikkeld tot een goed gestructureerde grond. De “bodem”structuur in Wemeldinge is duidelijk zwakker, wat mede wordt veroorzaakt door het sterk afgerond zijn van minerale delen (SC-DLO, 1997). Het zout, oorspronkelijk aanwezig in de Wemeldinge-specie, was in 1999 volledig uitgespoeld.

### 4.2.2 Bacteriële biomassa en bacteriële activiteit

In tabel 8 zijn de aantallen bacteriën weergegeven, die zijn aangetroffen in potten, die een verschillende behandeling hebben ondergaan (begroeiing, bemesting). Er blijkt o.a. uit, dat het aantal bacteriën in de gerijpte baggerspecie uit de Petroleumhaven sterk toeneemt



Verklaring: S = suboptimale bemesting: 0,2 gram KAS per pot; O = optimale bemesting: 0,8 gram KAS per pot; E = excessieve bemesting: 1,2 gram KAS per pot.

*Figuur 12: Gewasproductie op met PAK verontreinigde baggerspecie uit de haven van Wemeldinge en de Petroleumhaven na verschillende behandeling.*

bij elk der behandelingen (bemesting, begroeiing met luzerne en gras, toevoegen van glucose/glycine). Dit contrasteert met het geringe effect van begroeiing en bemesting in het geval van gerijpte Wemeldinge-specie; alleen de toevoeging van organisch substraat (glucose/glycine) sorteert hier enig effect.

In het algemeen lijkt het erop dat de invloed van plantengroei op bacterieaantallen minimaal of nihil is en dat verandering van bemestingsregime en/of toevoeging van organisch substraat een veel groter effect heeft. Eerder onderzoek toonde hetzelfde aan voor de afbraak van olieresiduen uit Schoonebeek (contractonderzoek NAM): effecten van bemesting op de afbraak waren veel groter dan effecten van gewasgroei (in dat geval: gras).

Uit tabel 8 blijkt eveneens dat het aantal bacteriën in de begroeide veldproef (De Poorter *et al.*, 2000) van dezelfde orde van grootte is als de bacterieaantallen in de potten die excessief zijn bemest.

*Tabel 8: Bacterieaantallen (aantal per g grond  $\times 10^9$ ) in gerijpte baggerspecie, afhankelijk van bemesting, vegetatie en substraattoevoeging*

	Potproef					Veldproef
	S(braak)	O(braak)	O(+ substraat)	E(gras)	E(luzerne)	
Petroleumhaven	0.20	0.94	1.47	0.95	0.76	0.51
Wemeldinge	0.16	0.15	0.36	0.20	0.18	0.17

De bacteriële activiteit, gemeten als inbouw van  $^3\text{H}$ -thymidine en  $^{14}\text{C}$ -leucine bij verschillende behandelingen, is weergegeven in tabel 9. Thymidine is gelieerd aan DNA en geeft een indicatie voor het aantal cellen dat in een bepaalde periode is geproduceerd; leucine is een indicatie voor de mate van eiwitsynthese en is dus gerelateerd aan de groei van de bacteriën. Er blijkt, dat de bacteriële activiteit in het geval van baggerspecie uit de



Petroleumhaven nauwelijks wordt verhoogd door begroeiing of bemesting (behalve leucine-inbouw bij toevoegen organisch substraat). De activiteit is zelfs lager dan in de veldproef. In het geval van Wemeldinge-specie is er een duidelijk effect voor wat betreft leucine-inbouw bij elke behandeling; ook hier sorteert het toedienen van organisch substraat het grootste effect. Bij deze baggerspecie zijn de gemeten waarden in de veldproef van dezelfde orde van grootte.

*Tabel 9: Thymidine- en leucine-inbouw in gerijpte baggerspecie, afhankelijk van bemesting, vegetatie en substraattoevoeging.*

	Potproef					Veldproef
	S(braak)	O(braak)	O(+ substraat)	E(gras)	E(luzerne)	
Thymidine-inbouw ( $\mu\text{gC.g.h}^{-1}$ )						
Petroleumhaven	0.39	0.27	0.25	0.32	0.24	0.59
Wemeldinge	0.18	0.32	0.28	0.34	0.47	0.24
Leucine-inbouw ( $\mu\text{gC.g.h}^{-1}$ )						
Petroleumhaven	0.56	0.52	0.75	0.47	0.49	1.32
Wemeldinge	0.37	0.39	1.32	0.77	0.43	0.57

#### 4.2.3 Aantallen nematoden

In tabel 10 worden de aantallen nematoden voor de verschillende behandelingen weergegeven. Onderscheid is gemaakt naar de trofische positie van de nematoden in het bodemvoedselweb. Het aantal nematoden en de verdeling over de trofische soorten is een indicatie voor het functioneren van het bodemleven in de periode voorafgaand aan de nematodentelling. Bijvoorbeeld het aantal bacterivoren (bacterie-etters) zegt iets over de bacteriële activiteit. De hiervoor besproken thymidine-/leucine-inbouw is meer te beschouwen als een momentopname.

In Petroleumhaven-specie vindt bij toename van bemesting en bij substraattoevoeging een toename plaats van alle typen nematoden. De aantallen zijn van dezelfde orde van grootte als die welke zijn gemeten bij de veldproef: Petroleumhaven-specie is vergelijkbaar met een normale grond.

*Tabel 10: Nematodenaantallen (aantal per 100 g veldvochtige grond) in gerijpte baggerspecie, afhankelijk van bemesting, vegetatie en substraattoevoeging.*

	Potproef					Veldproef
	S(braak)	O(braak)	O(+ substraat)	E(gras)	E(luzerne)	
Petroleumhaven						

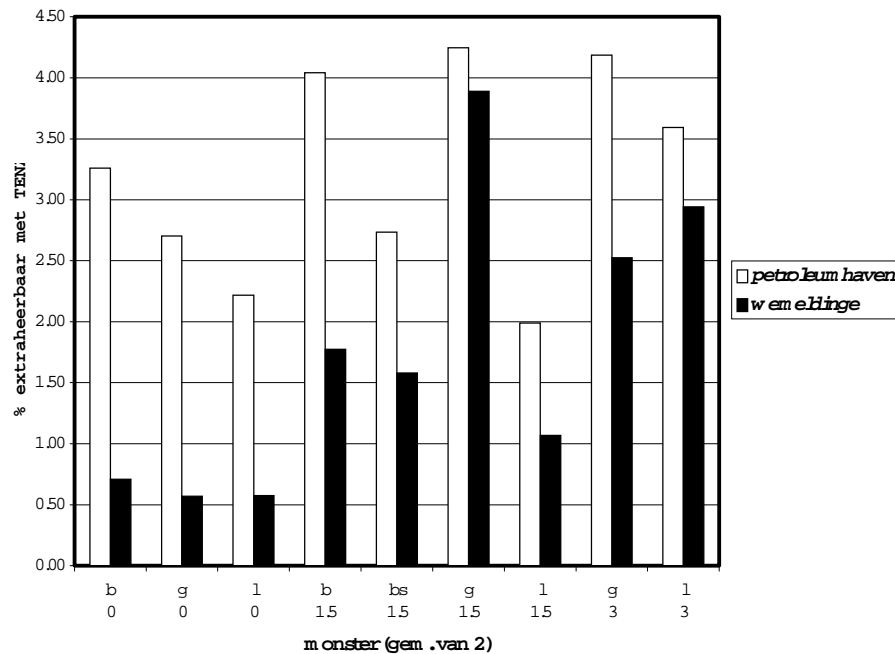
Fungivoren	89	329	493	49	134	7-190
Bacterivoren	288	914	1919	222	404	300-1000
Herbivoren	36	71	70	1268	51	0-800
Totaal	413	1313	2614	1539	589	Ca. 1500
Wemeldinge						
Fungivoren	26	46	61	58	145	6-22
Bacterivoren	644	727	4980	1538	1822	125-1000
Herbivoren	56	77	60	167	71	0-3000
Totaal	726	850	5101	1763	2038	1800-3300

Opvallend bij Wemeldinge-specie is de sterke respons van bacterivore nematoden op bemesting en begroeiing. De toename van bacterivoren ten gevolge van manipulaties lijkt sterker gecorreleerd met bacteriële activiteit (Wemeldinge) dan met de aantallen (Petroleumhaven). De toename van het aantal fungivoren in de Petroleumhaven-species als gevolg van meer intensieve bemesting en substraatadditie is indicatief voor de grotere rol van schimmels in deze specie en hun rol in de afbraak van organische stof, vergeleken met Wemeldinge-specie; dit lijkt in overeenstemming met de verder voortgeschreden rijping en structuurvorming van de Petroleumhaven-specie. In veldmonsters worden in de bewortelde zones grote aantallen herbivoren aangetroffen. De grond uit de potten was afkomstig uit een diepere niet-bewortelde laag van de landfarm. De herbivoren hebben zich hierin nog moeten ontwikkelen.

#### 4.2.4 PAK-beschikbaarheidsmetingen

De beschikbaarheid van PAK is gemeten in monsters genomen op 27 september 1999. Een volledig overzicht van de metingen wordt gegeven in bijlage 4. In figuur 13 is de invloed weergegeven van de combinatie bemestingsniveau en vegetatie op de beschikbaarheid van PAK. In deze figuur is het extractierendement van TENAX weergegeven als percentage van totaal PAK-gehalte gemeten aan hetzelfde monster; dit extractierendement is een indicatie voor de biologische beschikbaarheid.

Uit dit experiment komen geen systematische verschillen in beschikbaarheid van PAK tussen de verschillende vegetaties en bemestingsniveaus naar voren. Dat geldt zowel voor Petroleumhaven als voor Wemeldinge. Ter vergelijking zijn in tabel 11 de beschikbaarheden van PAK weergegeven zoals ze gemeten zijn in monsters genomen op 8 oktober 1999 op de landfarm Kreekraksluizen (veldproef).



Verklaring gebruikte letteraanduidingen: b = braak; bs = braak + organisch substraat; g = gras; l = luzerne; 0 = geen minerale mest; 1,5 = 1,5 maal bemestingsadvies N; 3 = 3 maal bemestingsadvies N; bemestingsadvies: K60 (75 mg K/kg grond); TSP (39 mg P/kg grond); KAS (30 mg N/kg grond).

*Figuur 13: Beschikbaarheid van PAK (%) in de verschillende potten na verschillende behandeling gemeten met de TENAX-methode (gemiddelde van twee metingen).*

Bij vergelijking van de cijfers van tabel 11 en figuur 13 valt op dat de beschikbaarheid van de PAK in de potten veel kleiner is dan de landfarm, met uitzondering van de bewerkte Wemeldinge-specie, waarin ze van dezelfde orde van grootte zijn. Dit verschil tussen het potexperiment en de veldproef moet worden gezocht in versnelde afbraak in de potten of immobilisatie als gevolg van vastlegging in organische stof.

Hierover kan het volgende worden opgemerkt:

1. In de potproeven zijn de condities voor afbraak optimaal, in vergelijking met de landfarm. Bij de start van het experiment zijn de monsters immers gemengd (in feite een zeer intensieve “grond”bewerking) en het experiment heeft plaatsgevonden in een kas waardoor ook de temperatuur hoog was (optimale biologische activiteit). Het biologisch beschikbaar komen in de potten kan dan leiden tot versnelde afbraak, waarbij de afbraak het grootst zal zijn bij 2- en 3-ringen;

Tabel 11: Snel beschikbare fractie PAK in de landfarm Kreekraksluizen in oktober 1999.

Monster		Snel beschikbaar PAK (%)
Petroleumhaven	Bewerkt	8.8
	Bewerkt	10
	Begroeid bovenlaag	6.4
	Begroeid bovenlaag	22
	Begroeid onderlaag	8.1
	Begroeid onderlaag	12
Wemeldinge	Bewerkt	2.6
	Bewerkt	1.5
	Begroeid bovenlaag	4.4
	Begroeid bovenlaag	14
	Begroeid onderlaag	20
	Begroeid onderlaag	18

Bewerkt = ontwatering in intensieve fase is gestimuleerd door bewerking (1994-1997). Begroeid = idem door begroeiing.

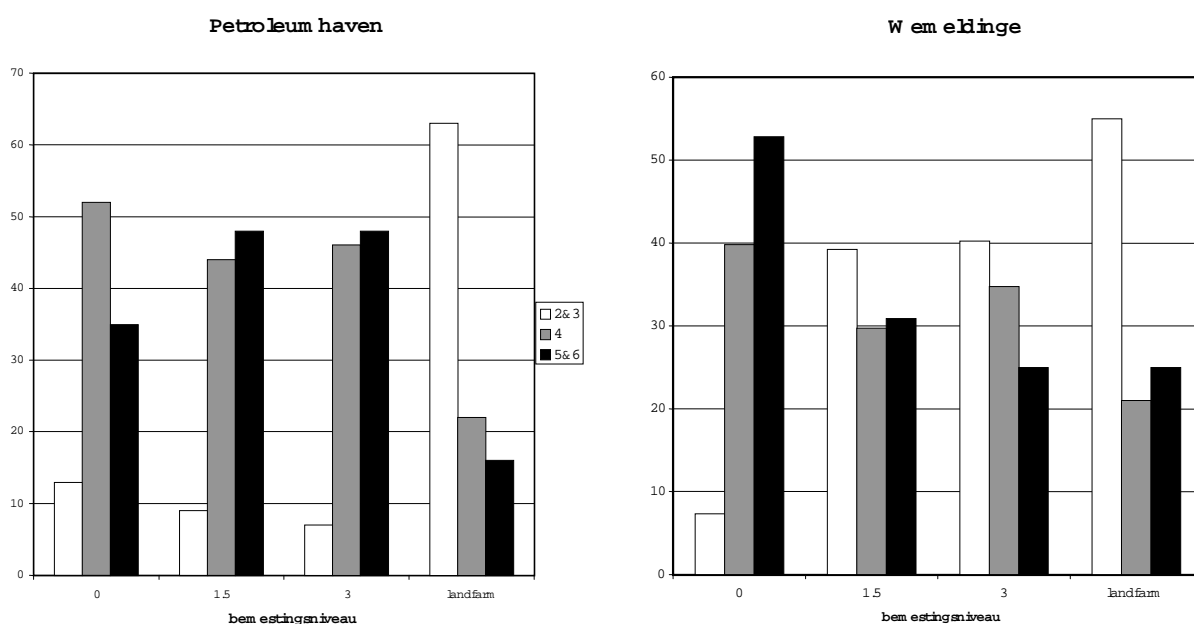
2. Naast het verdwijnen via afbraak kan ook immobilisatie van PAK een rol spelen. De grotere activiteit in de begroeiende potten leidt tot vorming en verandering van de organische stof. Hierbij kunnen PAK versterkt worden vastgelegd. Effecten van immobilisatie zullen het eerst zichtbaar zijn bij de sterk absorberende 5- en 6-ringen en dan dus resulteren in een relatief laag gehalte aan 5- en 6-ringen.

Om dit na te gaan zijn de resultaten in figuur 14 zodanig weergegeven, dat onderscheid is gemaakt tussen verschillende groepen verbindingen, namelijk 2- en 3-ringen, 4-ringen en 5- en 6-ringen.

De volgende conclusies kunnen hieruit worden getrokken:

1. In de veldmonsters, rechtstreeks afkomstig van Kreekraksluizen, leidt het beschikbaar komen van PAK niet onmiddellijk tot afbraak: het waargenomen aandeel van de 2- en 3-ringen in de beschikbare fractie is groot. In het potexperiment is met name voor de Petroleumhaven-monsters het aandeel van de 2- en 3-ringen in de beschikbare fractie zeer klein. Dit duidt op het verdwijnen van beschikbaar PAK door afbraak in het potexperiment. Bij immobilisatie zou het aandeel van de 2- en 3-ringen immers groter zijn geworden;
2. De uitkomst van potproeven met Wemeldinge-specie zijn het meest vergelijkbaar met de bewerkte veldsituatie op de landfarm. Op de landfarm waren de condities voor afbraak in deze variant het meest gunstig, hetwelk leidde tot een relatief kleine biologisch beschikbare fractie. In de potten is de biologisch beschikbare fractie van dezelfde orde van grootte. In de Wemeldinge-specie is in het geval van de niet-bemeste potten het aandeel van de 2- en 3-ringen erg laag, hetwelk overeenkomt met de potten

met Petroleumhaven-specie. PAK-afbrekende bacteriën zijn hier vermoedelijk in ruime mate aanwezig. In de bemeste potten is het verschil met de veldmonsters echter minder groot. In deze potten is wel sprake van een hogere bacteriële activiteit, wat echter niet heeft geleid tot een groter aantal bacteriën wellicht mede door het grote aantal bacterivoren (toename graasdruk). De PAK-afbrekende micro-organismen zijn hierdoor kennelijk onvoldoende tot ontwikkeling gekomen, waardoor de beschikbare PAK minder snel is afgebroken.



Figuur 14: Beschikbaarheid (% van totaal beschikbaar) van de verschillende ringverbindingen van PAK in de fyto-remediëringspotproeven en op de landfarm Kreekraksluizen (bemonstering najaar 1999).

#### 4.2.5 Mate van afbraak van PAK en minerale olie

##### Afbraak van PAK

In bijlage 4 zijn de PAK-gehalten van de individuele potten weergegeven. Bij de uitwerking konden geen duidelijke verschillen worden geconstateerd tussen de verschillende behandelingen en bovendien is het aantal monsters hier te klein voor. In tabel 12 zijn dan ook de gehalten van alle behandelingen van de beide species samengenomen. In deze tabel zijn tevens de gehalten weergegeven zoals ze in oktober 1999 werden gevonden voor de landfarm op Kreekraksluizen. In de bewerkte optie waren hier de omstandigheden voor afbraak het meest gunstig. De geringste afbraak en het hierbij behorende hogere PAK-

gehalte kon worden verwacht in de onderlaag van de begroeide landfarm (Harmsen *et al.*, 2000).

Tabel 12: Gemiddelde PAK-gehalten in Petroleumhaven en Wemeldinge-specie bij verschillende behandelingen in najaar 1999 (mg/kg d.s.).

	Petroleumhaven		Wemeldinge	
	gemiddeld	s-dev	gemiddeld	s-dev
Potproef september 1999 (n=18)	24.4	6.1	24.9	6.0
Veldproef oktober 1999 (n=5)				
Bewerkt	19.4	4.4	15.7	5.1
Begroeid bovenlaag	24.1	5.4	23.7	3.3
Begroeid onderlaag	25.1	5.3	34.9	5.9

Uit tabel 12 blijkt dat de verschillende behandelingen bij de potproeven tot nu toe niet hebben geleid tot een extra verlaging van het PAK-gehalte ten opzichte van de veldproef. De periode van 4 maanden is waarschijnlijk echter te kort voor het waarnemen van significante verschillen. Daarom worden in het voorjaar van 2000 de potten nogmaals bemonsterd en geanalyseerd. Als het beeld dan nog hetzelfde is, kan worden geconcludeerd dat beworteling geen invloed heeft op de snelheid van afbraak. De afbraaksnelheid wordt dan bepaald door de snelheid van het biologisch beschikbaar komen. Dit is bij deze bodemonsters een diffusieproces. De PAK-moleculen moeten diffunderen van een voor micro-organismen niet bereikbare plaats naar een voor hen wel bereikbare plaats. Desondanks mag worden aangenomen dat de beworteling een positief effect heeft op de structuur, waardoor minder of geen zuurstoflimitatie kan gaan optreden.

#### *Afbraak van minerale olie*

In dezelfde monsters zijn minerale oliegehalten gemeten (tabel 13). Opvallend is dat voor de Petroleumhaven het minerale oliegehalte in de potten aanzienlijk lager is dan in monsters direct afkomstig van de landfarm. Voor Wemeldinge is het gehalte iets hoger, maar het niveau ligt bij aanvang van het experiment al dicht bij de aantoonbaarheidsgrens (achtergrondniveau); de absolute hoeveelheid in Petroleumhaven-specie is veel hoger.

Bij een gehalte als in de Petroleumhaven-specie kan worden verwacht dat minerale olie nog steeds aanwezig is als separate fractie. Uit tabel 13 kan worden geconcludeerd dat het inzetten van fyto-remediëring voor Petroleumhaven-specie heeft geleid tot het beter beschikbaar komen van minerale olie, die vervolgens kon worden afgebroken onder de gecreëerde optimale condities. Het lijkt derhalve aannemelijk dat vegetatie de beschikbaarheid van minerale olie kan verbeteren, doordat nieuwe contactvlakken worden

gecreëerd door de beworteling. Of dit ook werkelijk het geval is zal moeten blijken bij een volgende bemonstering van de potten.

*Tabel 13: Minerale oliegehalten in Petroleumhaven- en Wemeldinge-specie bij verschillende behandelingen in najaar 1999.*

	Petroleumhaven		Wemeldinge	
	gemiddeld	s-dev	gemiddeld	s-dev
Potproef september 1999 (n=18)	1847	269	527	64
Veldproef oktober 1999 (n=5)				
Bewerkt	3435	475	246	33
Begroeid bovenlaag	3012	205	337	42
Begroeid onderlaag	3702	919	512	74

#### **4.2.6 Samenvatting**

In Petroleumhaven-specie is sprake van een normale microbiële populatie. Dit in tegenstelling tot Wemeldinge-specie. Het aantal bacteriën is hier laag, waaraan ook het grote aantal bacterivoren bijdraagt. Er is nog tijd nodig voor de ontwikkeling van een stabiele populatie. Aangezien bij het fytoremediëringsexperiment met baggerspecie is gekozen voor een zodanige opzet dat er de omstandigheden voor biologische afbraak zo gunstig mogelijk waren, was de gemeten hoeveelheid biologisch beschikbaar PAK lager dan die welke werd waargenomen in de landfarm waarvan de monsters afkomstig waren.

Beschikbare PAK zijn versneld afgebroken wat kon worden aangetoond doordat het percentage goed afbreekbare 2- en 3-ringen bij de beschikbaarheidsmeting aanzienlijk lager was. Lage biologische beschikbaarheid leidt ook tot geringere ecologische risico's.

Het PAK-gehalte in de potproeven is tot nu toe niet verder gedaald dan in de landfarm. Als deze trend zich voortzet, dan heeft begroeiing geen versnelde afbraak van de nog aanwezige hoeveelheid tot gevolg. De afbraaksnelheid wordt dan bepaald door de snelheid van het beschikbaar komen (diffusielimitatie).

De optimalisering in het experiment heeft geleid tot een versnelde afbraak van de minerale olie in Petroleumhaven-specie in vergelijking met de afbraak van minerale olie op de landfarm. In hoeverre begroeiing hieraan een bijdrage heeft geleverd, kon nog niet worden vastgesteld.

## 5. Conclusies en aanbevelingen

Op dit moment is de praktische toepasbaarheid van de verschillende vormen van fyto-remediëring nog beperkt. Echter, ook indien door onderzoeksinspanningen grote efficiëntiewinst kan worden geboekt, dan nóg blijven er natuurlijke barrières bestaan, die de mogelijkheden van de methode intrinsiek beperken. Dit is uitvoerig besproken in de publicatie *Fyto-remediëring – klaar voor gebruik in Nederland?* (Japenga, 1999).

In deze publicatie wordt ingegaan op de toekomstmogelijkheden in Nederland van de verschillende vormen van fyto-remediëring. Hierbij is de huidige stand van zaken in het internationaal wetenschappelijk onderzoek geconfronteerd met een aantal specifieke kenmerken van de bodemverontreiniging in ons land. Als belangrijkste conclusie komt hierin naar voren dat sommige vormen van fyto-remediëring op korte termijn zeker mogelijkheden bieden maar dan wel voor een beperkt scala van toepassingen.

De verontreinigde gebieden, die daarin als kansrijk worden bestempeld voor toepassing van fyto-remediëring zijn:

- uiterwaarden;
- gebieden waar in het verleden een belangrijke diffuse input van verontreinigende stoffen heeft plaatsgehad (bijvoorbeeld de Kempen);
- gebieden met intensieve landbouw die een natuurbestemming hebben gekregen, bijvoorbeeld in het kader van de EHS (Ecologische Hoofd Structuur);
- verontreinigde baggerspecie (in depots, landfarms).

De in het hier gerapporteerde onderzoek bestudeerde gebieden vallen alle in een van de hierboven genoemde categorieën. Op grond hiervan kunnen de volgende beleidsrelevante gevolgtrekkingen worden gemaakt.

### 5.1 Fyto-extractie van zware metalen uit licht verontreinigde grond

Door toevoeging van complexvormers is het mogelijk de concentratie van metalen in oplossing drastisch te verhogen. Dit kan, afhankelijk van het zware metaal, leiden tot een enigermate verhoogde opname door planten. De complexvormer moet dan wel gedurende het hele groeiseizoen actief zijn, waardoor goed afbreekbare complexvormers als citroenzuur niet bruikbaar zijn.



Twee beperkingen dringen zich echter op:

1. Aangezien de toegenomen oplosbaarheid van cadmium en zink in het bodemvocht zich niet evenredig doorvertaalt in een hogere gewasopname, blijft de te verwachten minimale saneringsperiode in de orde van grootte van 20-50 jaar, ook bij toepassing van complexvormers. Dit betekent dat praktische toepassing volgens deze benadering momenteel niet mogelijk is;
2. Een tweede dilemma vormt de verhoogde kans op de uitspoeling van opgeloste metalen. Bij toepassing van een niet-afbreekbare complexvormer kan bij de gebruikte grond uit Budel in het volgende winterseizoen tot 50% van het aanwezige metaal uitspoelen. Dit is uit het oogpunt van milieubescherming volstrekt onacceptabel.

Het is dan ook belangrijk op zoek te gaan naar een alternatief voor complexvormers, namelijk aanzuring van de bodem als middel om de biologische beschikbaarheid van zware metalen te verhogen. Langzame aanzuring (bijvoorbeeld door middel van additie van elementair zwavel of ammoniumzouten) verdient hierbij de voorkeur. Op dit moment wordt bij Alterra een experiment met zwavel uitgevoerd met als fyto-remediëringsgewas het zuurresistente gewas lupine. De resultaten zullen medio 2000 ter beschikking komen. Daarnaast wordt binnen het eerder genoemde EU-project PhytoDec vergelijkbaar onderzoek gedaan naar de mogelijkheid van toepassing van deze verzuringsbenadering bij zwaarder verontreinigde grond (onderzoek in Baskenland).

In breder verband kan onderzoek naar verbeterde fyto-remediëringsgewassen (breedspectrum hyperaccumulators met een hoge drogestofopbrengst, GMO's) op langere termijn ervoor zorgen dat fyto-extractie van zware metalen praktisch toepasbaar wordt. Dit vereist een brede wetenschappelijke aanpak, die in gang is gezet.

Een andere route voor de verwijdering van zware metalen (koper, cadmium) loopt via het versralen van landbouwgrond ten behoeve van natuurontwikkeling tezamen met fosfaat. Koper, maar vooral cadmium zijn zodanig in landbouwgrond geaccumuleerd (via bemesting), dat bij verzuring in het kader van natuurontwikkeling de norm voor het bovenste grondwater dreigt te worden overschreden (Römkens *et al.*, 1998). Synergie tussen het verwijderen van fosfaat en zware metalen leidt tot kostenverlaging, terwijl de gewassen (die niet zeer sterk belast zullen zijn met zware metalen) nog economische waarde kunnen hebben.

Ook al is het goed mogelijk dat in de komende jaren grote stappen worden gezet om de efficiëntie van fyto-extractie van zware metalen te verhogen dan nog blijft de toepasbaarheid beperkt tot:

- gebieden met een relatief laag verontreinigingsniveau (geringe normoverschrijding);
- arealen waarvoor de grondprijs geen allesoverheersende rol speelt.

De hierboven genoemde categorieën vallen hier in principe onder; voor andere toepassingsgebieden blijft naar het nu lijkt de fyto-remediëringduur, ook bij verregaande optimalisering, veel te lang.

## **5.2 Revegetatie en fyto-stabilisatie van heterogeen met PAK verontreinigde grond**

Uit de resultaten van het onderzoek met heterogeen met PAK verontreinigde grond uit Maarn blijkt dat revegetatie van dergelijke gronden met verschillende soorten planten goed mogelijk is. Vlinderbloemigen verdienen de voorkeur, omdat dan aan de bemesting van het terrein minder voorwaarden behoeven te worden gesteld. Dit leidt tot een kostenbesparing.

Fyto-stabilisatie van PAK en zware metalen dan wel versnelde afbraak van PAK (fyto-transformatie of rhizosfeer-bioremediëring) kon in dit onderzoek (nog) niet worden aangetoond. Om het verdere verloop te kunnen volgen, worden de experimenten nog geruime tijd voortgezet.

In het onderzoek werd aannemelijk gemaakt dat voor een efficiënte beworteling en een goed functionerende plantengroei, een grondbewerking voorafgaand aan beplanting noodzakelijk is teneinde de homogeniteit van de bodem te verhogen. Aanbevolen wordt om voor dergelijke verontreinigde terreinen de oplossing te zoeken in een scenario van actief bodembeheer dat is gebaseerd op een combinatie van (i) het toevoegen van immobiliserende stoffen aan de bodem, (ii) grondbewerking en bemesting en (iii) begroeiing, indien mogelijk met planten die economisch nut hebben (bijvoorbeeld energiegewassen).

## **5.3 Fyto-transformatie en fyto-stabilisatie van PAK in gerijpte baggerspecie**

In het uitgevoerde experiment met gerijpte baggerspecie waarbij de beschikbaarheid van PAK de beperkende factor was heeft beplanting gedurende het experiment met de duur van een jaar niet geleid tot een versnelde afbraak van PAK. Het experiment zal nog worden voortgezet om over een langere periode te kunnen waarnemen. Wel is waargenomen dat door optimalisering van het afbraakproces, waarbij beplanting een van de factoren is, de afbraak van de biologisch beschikbare fractie van PAK versneld plaats kan vinden. Hierdoor zullen de ecologische risico's gerelateerd aan de opslag van gerijpte baggerspecie zeker afnemen. Vooral nog lijkt de snelheid van afbraak een diffusie-gelimiteerd proces te zijn.

Ondanks het onzekere effect van vegetatie op de afbraak van PAK wordt fyto-remediëring in feite al toegepast bij de reiniging van baggerspecie. Het reeds vermelde onderzoek bij de Kreekraksluizen is hier een voorbeeld van. Ook wordt fyto-remediëring toegepast op de EUROJOLE-locatie in de Wieringermeer (Boels *et al.*, 1999). Hier wordt de reiniging

van baggerspecie gecombineerd met de teelt van biomassa in de vorm van wilgen, derhalve een combinatie van bodemreiniging en nuttig landgebruik, namelijk energieteelt. Tot nu toe bewezen effecten van begroeiing zijn (i) het positieve effect op de ontwatering van baggerspecie, (ii) de mogelijkheid van levering van een nuttig product (energie, natuurwaarde) en (iii) de positieve uitstraling.

Het onderzoek naar het gebruik van (energie)gewassen op gerijpte baggerspecie zal ook de komende jaren worden voortgezet in veldsituaties (landfarms, *etc.*).

## 6. Referenties

*Overzichtsartikelen, waarin zowel de praktische uitvoering als de plantenfysiologische aspecten en de bodemchemische aspecten van fytoremediëring aan de orde komen:*

Cunningham, S.D., T.A. Anderson, A.P. Schwab, F.C. Hsu, 1996. *Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants*. *Advances in Agronomy* 56: 55-114

Japenga, J., 1999. *Fytoremediëring – klaar voor gebruik in Nederland?* Rapporten Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek, deel 24 – ISBN 90-73270-39-1), Wageningen

Salt, D.E., R.D. Smith, I. Raskin, 1998. *Phytoremediation*. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 49: 643-668

Schnoor, J.L., 1998. *Phytoremediation*. Technology Evaluation Report GWRTAC. Report nr. TE-98-01 (1997/98).

*Artikelen, waarin onderzoek is beschreven, waarvan gebruik is gemaakt bij de interpretatie van de onderzoeksresultaten:*

Blaylock, M.J., D.E. Salt, S. Dushenkow, O. Zakharova, C. Gussman, Y. Kapulnik, B.D. Ensley, I. Raskin, 1997. *Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil applied chelating agents*. *Environ. Sci. Technol.* 31: 860-865

Boels, D., J. Harmsen, A. van der Toorn, J.J.H. van den Akker, R. Kampf, G. D. Vermeulen, J.J. van der Waarde, J.E. Dijkhuis. W. Ma, R. Duijn, 1999. *Kwaliteitsverbetering van baggerspecie op basis van extensieve biorestauratie in combinatie met energieteelt*. Rapport NOBIS 96-1-02, Gouda

Cornelisse, G., P.C.M. van Noort en A.J. Govers, 1997. *Desorption kinetics of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls: sediment extraction with TENAX and effects on contacttime and solute hydrophobicity*. *Env. Tox. Chem.*, 16: 7 (1351-1357)

Harmsen, J., A. van den Toorn, D. Riedstra, J.A.N.M. Heersche, W.A. Traag, T. Zuidema, H.J.M. op den Camp, A. Pol, L.J.L.D. van Griensven, J.P.G. Gerrits en L.A. van der Kooij, 1998. *Biodegradatie van microverontreinigingen met schimmeltechnologie*. NOBIS-rapport 96-1-08, Gouda

Harmsen, J. & M. Ferdinandy, 1999. Measured bioavailability as a tool for managing clean-up and risks on landfarms. A. Leeson and B.C. Alleman (eds), *Bioremediation technologies for polycyclic aromatic hydrocarbon compounds*, 57-62. Battelle Press

Harmsen, J., A van den Toorn, O.M. van Dijk-Hooyer, H.J.J. Wieggers en A.J. Zweers, 2000. *Haalbare productkwaliteit en restrisico's bij extensieve landfarming van baggerspecie*. Alterra-rapport 44

Poorter, L. de, J. Harmsen en M. Ferdinandy (in voorbereiding). *Landfarmingsonderzoek Kreekraksluizen*. RIZA-AKWA-rapport

Römkens, P.F.A.M. and W. Salomons, 1998. *Cd, Cu and Zn solubility in arable and forest soils: consequences of land use changes for metal mobility and risk assessment*. Soil Science, 163(11): 859-871

SC-DLO, 1997. *Intensieve landfarming van verontreinigde baggerspecie*. POSW-rapportage deel 32, RIZA rapport 97.071, Lelystad.



## **Bijlage 1: Meetgegevens bodemvocht (potproef zandgrond uit Budel)**

De gegevens zijn ten eerste gesorteerd op oplopende bemonsteringsdatum, gevolgd door sorteren naar gewassoort (*Brassica juncea*, *Agrostis capiullaris*, *Lupinus var.*) en uiteindelijk naar wél (potten 2, 4, 5, 7 en 8, code '1' onder kop behandeling) of géén addities van EDGA (1, 3, 6, code '0' onder behandeling).

**Bijlage 1: Meetgegevens bodemvocht (potproef zandgrond uit Budel) (vervolg)**



**Bijlage 1: Meetgegevens bodemvocht (potproef zandgrond uit Budel) (vervolg)**

**Bijlage 1: Meetgegevens bodemvocht (potproef zandgrond uit Budel) (vervolg)**

**Bijlage 1: Meetgegevens bodemvocht (potproef zandgrond uit Budel) (vervolg)**

**Bijlage 2: Zware metalen in gewasmonsters afkomstig van de potproef met zand-  
grond uit Budel**

**Bijlage 2: Zware metalen in gewasmonsters afkomstig van de potproef met zand-  
grond uit Budel (vervolg)**

**Bijlage 2: Zware metalen in gewasmonsters afkomstig van de potproef met zand-  
grond uit Budel (vervolg)**

### **Bijlage 3: Pak-gehalten in grond uit Maarn**

## **Bijlage 4: Gerijpte baggerspecie – PAK-gehalten en TENAX-extracties**



**Bijlage 4: Gerijpte baggerspecie – PAK-gehalten en TENAX-extracties (vervolg)**