

Experimenten krooszuivering

Resultaten van drie jaar kroosexperimenten bij
rwzi Eelde



Door: Adrie Otte

Datum: 20 december 2013

Bioniers
Weg naar Laren 140
7203 HR Zutphen

Experimenten krooszuivering

Resultaten van drie jaar kroosexperimenten bij rwzi Eelde

Door: Adrie Otte

Projectleider: Adrie Otte

Datum: 20 december 2013

Rapportnummer: R002-2012080601-V02

Status: Definitief

Aantal pagina's: 53

Opdrachtgever: Waterschap Noorderzijlvest

Dit document is eigendom van de opdrachtgever en mag door hem worden gebruikt voor het doel waarvoor het is vervaardigd met inachtneming van de rechten die voortvloeien uit de regelgeving op het gebied van het intellectuele eigendom.

De auteursrechten van dit document blijven berusten bij Bioniers. Kwaliteit en verbetering hebben bij Bioniers een hoge prioriteit.

Inhoud

1. Achtergrond	1
1.1 Het project.....	1
1.2 Kroos voor waterzuivering	2
2. Experimenten in de kroosloten.....	3
2.1 Doelen en onderzoeksvragen.....	3
2.2 Opzet van de proefsloten.....	4
2.3 Beheer en onderhoud	7
3. Resultaten en discussie	9
3.1 Temperatuur, zuurstof en pH.....	9
3.2 Effecten van omgevingsvariabelen en kroosdichtheid op de kroosgroei	11
3.2.1 Opmerkingen over de temperatuurmetingen	11
3.2.2 Effecten op de kroosgroei	13
3.2.3 Effecten op droge stofgehalte.....	28
3.3 Effect van bijbelichten in de winter.....	30
3.4 Kroosgroei en nutriëntenverwijdering	30
3.4.1 Totale oogst en afgeleide nutriëntenverwijdering.....	30
3.4.2 Nutriëntgehalten in in- en effluent van de sloten.....	33
3.4.3 Vergelijking opname berekend uit wateranalyses en uit kroosogst.....	35
3.5 Opname van zware metalen	36
3.5.1 Monsternamen en analyse.....	36
3.5.2 Resultaten.....	37
3.6 Observaties in de sloten en bij het oogsten.....	38
3.6.1 Dieren.....	38
3.6.2 Schimmels.....	38
3.6.3 Algen.....	39
3.6.4 Groeiperiode.....	39
3.6.5 Verspreiding na oogsten	39

4.	Conclusies en doorkijk naar full-scale.....	41
4.1	Algemeen	41
4.2	Temperatuur, zuurstof en pH	41
4.3	Effecten van omgevingsvariabelen en kroosdichtheid op de kroosgroei.....	41
4.4	Nutriëntenverwijdering en relatie met KRW.....	42
4.5	Verwijdering van zware metalen	44
4.6	Doorkijk naar een full-scale krooszuivering.....	44
4.6.1	Kweek.....	44
4.6.2	Overwinteren	44
4.6.3	Oogst.....	45
4.6.4	Verwerking.....	45
4.6.5	Monitoren	45
4.6.6	Bypass van afvoerpieken	45
5.	Literatuur	47

1. Achtergrond

1.1 Het project

Ondanks dat de waterkwaliteit in Nederland de afgelopen decennia sterk is verbeterd, kent Nederland nog een forse opgave om aan de vereisten te voldoen die gesteld worden vanuit de Kaderrichtlijn Water (KRW). Hiervoor zijn meerdere maatregelen mogelijk, variërend van natuurvriendelijke oevers, tot het verbeteren van het zuiveringsrendement van rioolwaterzuiveringsinstallaties. Om de zoektocht naar innovatieve en kostenefficiënte maatregelen te stimuleren, heeft het ministerie van EL&I subsidie beschikbaar gesteld vanuit het KRW-Innovatieprogramma. De subsidieverstrekking is uitgevoerd door Agentschap NL

Eén van de innovatie maatregelen waar onderzoek naar werd gedaan is het nazuiveren van effluent met kroos: *Effluentpolishing met kroos*. Het KRW innovatieonderzoek startte in 2009 en liep tot in 2011. Dit onderzoek is uitgevoerd door een consortium bestaande uit Waterschap Noorderzijlvest, advies- en ingenieurbureau Tauw, Bioniers, de Radboud Universiteit Nijmegen en Wageningen UR Livestock Research. Na afloop van het KRW innovatieonderzoek heeft Waterschap Noorderzijlvest besloten het onderzoek in de proefsloten nog voort te zetten tot 2013. Dit onderzoek is uitgevoerd door Waterschap Noorderzijlvest en Bioniers. In 2013 is het onderzoek gestaakt wegens een bezuinigingsoperatie.

Het project *Effluentpolishing met kroos* richtte zich op zowel het kweken van kroos, het zuiveren van effluent als op de toepassingsmogelijkheden van kroos.

Het KRW Innovatieproject bestond uit zes onderdelen:

1. Literatuurstudie (uitgevoerd door Bioniers, [6])
2. Laboratoriumexperimenten (uitgevoerd door Radboud Universiteit Nijmegen, [5])
3. Experimenten in de proefsloten (uitgevoerd door Waterschap Noorderzijlvest, Tauw en Bioniers, [1])
4. Modelleren (uitgevoerd door Tauw)
5. Maken van een ontwerpmodel (uitgevoerd door Bioniers, [7])
6. Onderzoek naar de toepassingsmogelijkheden van het geteelde kroos (uitgevoerd door Wageningen UR Livestock Research, [4])

Van al deze onderdelen zijn separate rapportages verschenen, alsmede een koepelrapport met de hoofdconclusies.

Van het vervolgetraject in de proefsloten in 2012 is aparte rapportage verschenen ([8]).

Dit rapport is een afsluitende rapportage, waarin de resultaten van alle jaren van experimenten in de proefsloten bijeen zijn gebracht en een doorkijk wordt gegeven naar een full-scale

pilotproject. Voor detailinformatie over de deelprojecten uit het KRW innovatieproject wordt verwezen naar de desbetreffende rapportages ([3], [4], [5], [6], [7], [12]).

1.2 Kroos voor waterzuivering

Kroos kan zeer efficiënt nutriënten verwijderen en wordt onder andere in de Verenigde Staten en Australië ingezet als waterzuiveraar in professioneel opgezette kweekvijvers. Het gaat daarbij primair om het verkrijgen van een goede waterkwaliteit. Kroos produceert naast schoon water tevens biomassa en waardevolle eiwitten. Hierdoor heeft kroos potentie om te worden gebruikt als biobrandstof, groenbemester, component in veevoer of grondstof voor de *biobased economy*.

Kroos

De waterplanten die in de volksmond kroos worden genoemd, kennen twee families met de wetenschappelijke namen *Lemnaceae* (eendenkroos) en *Azollaceae* (kroosvarens). Het zijn drijvende waterplanten die doorgaans indicatief zijn voor nutriëntenrijk water. Onder de juiste omstandigheden zijn ze in staat om hun biomassa in 3 tot 5 dagen te verdubbelen waarbij ze voedingsstoffen zoals stikstof en fosfaat direct op nemen uit het water. Binnen de familie van de *Lemnaceae* komen in Nederland komen *Lemna gibba*, *Lemna minor* en *Spirodela polyrhiza* het meest voor. Binnen de familie van de *Azollaceae* is dit *Azolla filiculoides* ([10]).



Lemna gibba



Lemna minor



Spirodela polyrhiza



Azolla filiculoides

2. Experimenten in de kroosloten

2.1 Doelen en onderzoeksvragen

Het doel van het onderzoek in de proefsloten is het ontwikkelen van een systeem voor vergaande verwijdering van N en P uit afvalwater met behulp van kroos. Subdoel van het onderzoek is om neveneffecten van effluentbehandeling met kroos in kaart te brengen. Een voorbeeld hiervan is de vraag in welke mate andere stoffen uit het afvalwater worden verwijderd (zware metalen en organische microverontreinigingen) waardoor de nazuiveringsstap efficiënter gedimensioneerd kan worden.

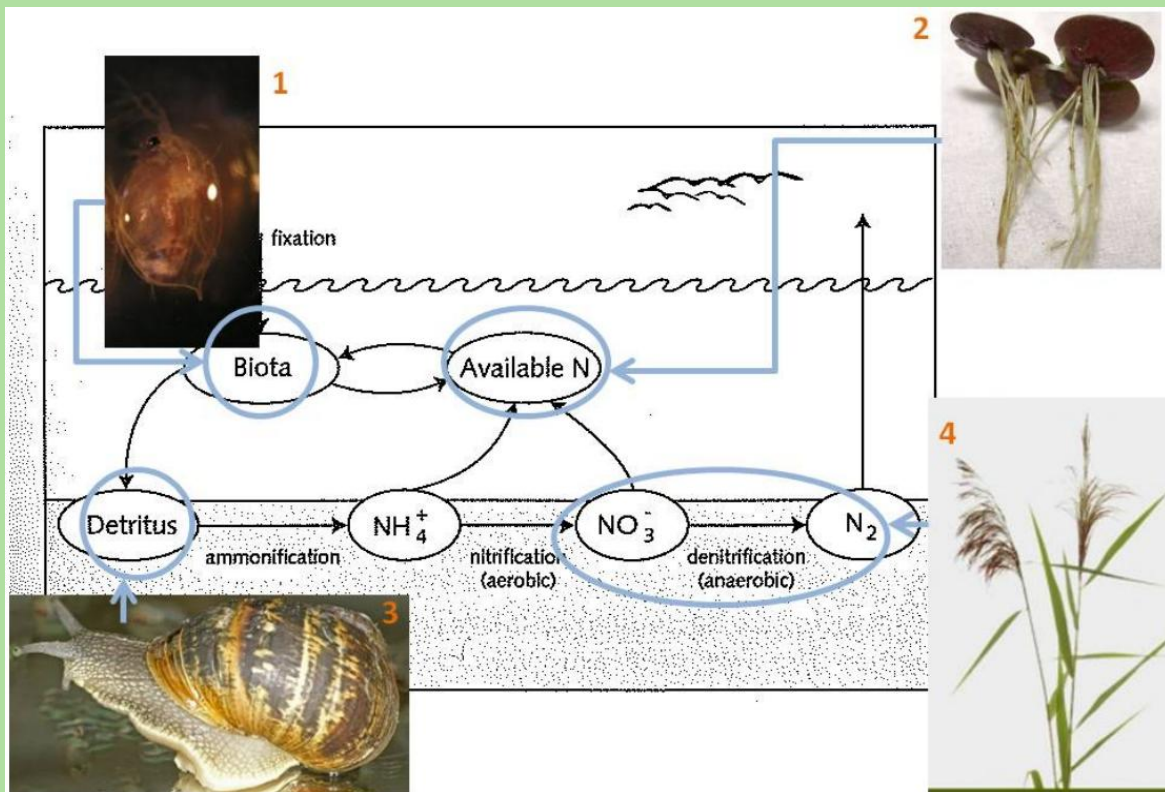
De algemene onderzoeksvraag luidt: *Hoe kan het kweken van kroos in de Nederlandse zuiveringssituatie, als energiezuinige en kostenefficiënte, nageschakelde maatregel voor N en P verwijdering worden ingezet om daarmee een bijdrage te leveren aan een goede ecologische en chemische toestand van het oppervlaktewater in het jaar 2015?*

Bijkomende secundaire vraag was: *Hoe kan kroos als product worden afgezet en welke afzetmogelijkheid levert de meeste baten op?* Op deze secundaire vraag wordt in deze rapportage niet ingegaan, omdat deze reeds is beantwoord in deelrapport 3 van het KRW Innovatieproject ([4]).

In het pilotonderzoek zijn de randvoorwaarden verkend voor het opkweken van kroos op effluent met als subonderzoeksvraag: *Onder welke klimatologische omstandigheden kan kroos duurzaam (zonder toevoeging van energie) worden gekweekt op effluent?*

Natuurlijk nazuiveren

Voor natuurlijke nazuiveringsexperimenten, zoals met behulp van watervlooien, algen, kroos of rietvelden (helofytenfilters) wordt gebruik gemaakt van biologische mechanismen. Vaak zitten er teveel voedingsstoffen (stikstof en fosfor) of zwevende stof in gezuiverd water. Zo'n overschot kan er toe leiden dat het ontvangende oppervlaktewater uit balans raakt en dat de ecologische kwaliteit verslechtert. Om deze belastingen te verkleinen gebruiken we de functies uit de natuur in een nazuiveringssysteem. Onderstaande schematische weergave laat zien dat bepaalde functies kunnen zorgen voor verwijdering van ongewenste delen uit het water.



1. Watervlo. Functie: filteraar (zwevend slib en algen consument). Zet (slib)deeltjes om in gemineraliseerde opgeloste stoffen
2. Kroos. Functie: zet overmaat aan opgelost stikstof en fosfor om in plantaardig materiaal (biomassa)
3. Slak. Functie: Detritus consument (bodem sediment). Zet deeltjes om in gemineraliseerde opgeloste stoffen
4. Riet. Functie: Zet stikstof en fosfor uit bodem en oppervlaktewater om in plantaardig materiaal (biomassa)

2.2 Opzet van de proefsloten

De proefopstelling van het pilotonderzoek ligt bij de rioolwaterzuiveringsinstallatie (rwzi) te Eelde en bestaat uit twee parallelle sloten (zie Figuur 2.1). Een kleine stroom van het effluent wordt opgepompt uit de effluent slingeroot van de rwzi en komt vervolgens in een buffervat. Het te veel aan opgepompt water wordt door een andere opening weer terug gevoerd in het effluent van Eelde. Vanuit het buffervat worden de beide proefsloten continu gevoed.

Sinds mei 2010 zijn diverse experimenten uitgevoerd waarbij met verblijftijden, kroossoorten, licht, temperatuur en oogstfrequenties is gevarieerd. Hierbij stond 2010 in het teken van het proberen en leren, nog niet van het serieus verzamelen van gegevens.

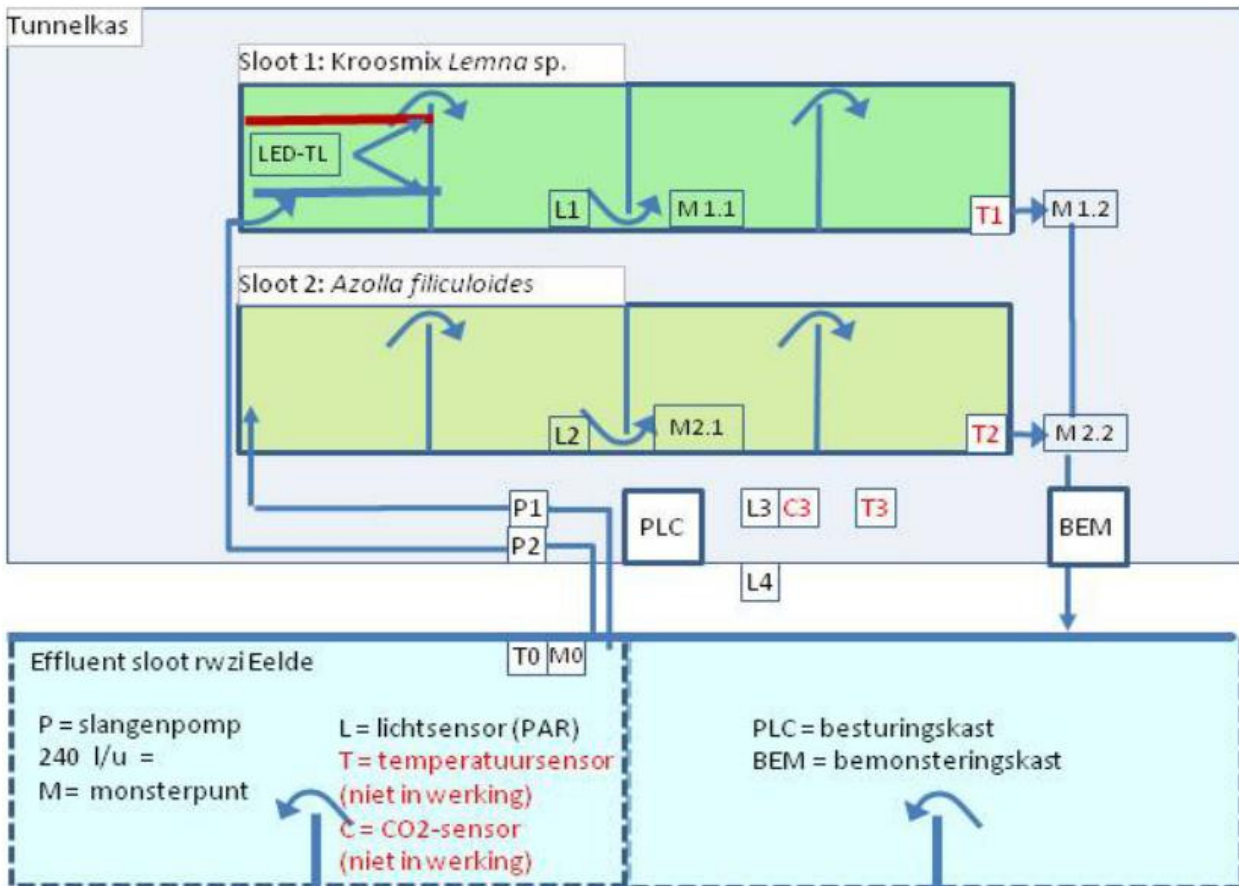


Figuur 2.1. Links: proefsloten direct na aanleg in het voorjaar van 2010. Rechts: de geoptimaliseerde sloten met meetapparatuur en foliekas.

Het water wordt in de sloten gedoseerd middels pompen. Het debiet van deze pompen is instelbaar, zodat getest kan worden bij verschillende verblijftijden van het water in de kroosloten. De proefsloten zijn opgedeeld in vier compartimenten. Dit houdt het kroos per segment van elkaar gescheiden. In de planken die de segmenten gescheiden houden zitten diagonaal tegenover elkaar openingen zodat het water hierdoor een mogelijkheid heeft om door te stromen. Op deze manier wordt een propstroom karakter gegenereerd. Deze segmenten zijn er om te testen of er eventueel ook polishing plaats vindt ([6]).

In de winter van 2010-2011 is een kunnelkas over de proefsloten geplaatst. Hiertoe is besloten nadat het kroos snel afstierf toen de nachten kouder begonnen te worden in september. Middels de kassen, zo was de redenering, kan het groeiseizoen verlengd worden. Bovendien voorkomt de kas bladval en verdunning van het water met neerslag.

In de zomer van 2010 zijn de proefsloten geënt. Sloot 1 is geënt met verschillende soorten kroos zoals Veelwortelig kroos (*Spirodela polyrhiza*), Klein Kroos (*Lemna minor*), en Bultkroos (*Lemna gibba*). Sloot 2 is geënt met kroosvaren (*Azolla filiculoides*). Deze opzet (het eendenkroosmengsel in sloot 1 en kroosvaren in sloot 2) bleef de gehele proefperiode gehandhaafd.



Figuur 2.2. Schematisch overzicht van de proefsloten.

Bij de toevoer, halverwege en aan het einde van beide sloten wordt de waterkwaliteit bemonsterd (Figuur 2.2). Afhankelijk van de gekozen verblijftijden werd de bemonsteringsfrequentie geprogrammeerd. Indien de verblijftijd twee dagen was, werd om de twee dagen een verzamelmonster van de afgelopen 24 uur genomen. Ter controle werd de hoeveelheid koolstofdioxide, licht en temperatuur in de kas gemeten. De hoeveelheid koolstofdioxide is echter niet genoteerd en temperatuurmetingen niet altijd in 2011. Boven de eerste sectie van proefslot 1 is een rij LED-lampen (in het blauwe spectrum) aangebracht. De parameters die geanalyseerd werden zijn geselecteerd op basis van relevantie voor effluent kwaliteit en voor de KRW eisen. Voor het onderzoek naar zware metalen werd een scala aan metalen geanalyseerd.

Bij het oogsten zijn temperatuur, pH en zuurstofconcentratie gemeten van het influent van de sloten en van het water aan het einde van de sloten.

Het kroos is eens of twee maal per week geogst, afhankelijk van de groeisnelheid. Eerst werd in elk vak een klein deel kroos geogst om de dichtheid van het kroos te bepalen. Hiertoe liet de monsternemer het kroos eerst uitlekken, waarna het natgewicht werd bepaald en omgerekend naar natgewicht per m². Vervolgens werd berekend welk deel van het kroos moest worden geogst, uitgaande van de gewenste teruggoogstdichtheid. Wanneer de dichtheid groter

was dan de gewenste maximale dichtheid, werd de oogstfrequentie verhoogd en bij een lage groei werd de oogstfrequentie verlaagd. De terug oogstdichtheden staan vermeld in Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Terugoogstdichtheid (kg uitlekgewicht/m²) per periode in de vier proefvakken in de twee sloten.

Periode		Lemnasloot				Azollasloot			
Van	Tot	1.1	1.2	1.3	1.4	2.1	2.2	2.3	2.4
11-5-2011	10-6-2011	2,00	1,00	1,50	1,50	2,00	1,00	1,50	1,50
14-6-2011	4-10-2011	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
11-10-2011	29-11-2011	4,00	3,00	2,00	1,00	4,00	3,00	2,00	1,00
8-12-2011	19-2-2012	1,00	1,00	0,75	0,50	4,00	3,00	2,00	1,00
3-5-2012	19-10-2012	0,50	0,50	1,00	1,00	0,50	0,50	1,00	1,00
26-10-2012	2-11-2012	0,50	0,50	1,00	1,00	0,50	0,50	0,50	0,50
9-11-2012	13-12-2012	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50

Na het oogsten is het percentage droge stof van het geoogste kroos bepaald.

De verblijftijd van het water in de sloten is instelbaar door het pompdebiet aan te passen. In 2011 (op 11 mei) werd het pompdebiet zodanig ingesteld dat de verblijftijd 1 dag was. Op 24 juni was deze gezakt naar 0,75 dag. Op 18 oktober 2011 was de verblijftijd bijna 2,5 dagen. Van de rest van 2011 en van 2012 zijn geen gegevens bekend. Volgens de operatoren van de proefsloten is, zoals afgesproken, de verblijftijd in sinds oktober 2011 ingesteld op 2 dagen. Bij de berekeningen is uitgegaan van de verblijftijden zoals deze op 18 oktober 2011 zijn gemeten (zie Tabel 2.2).

Tabel 2.2. Verblijftijd van het water (d) per periode.

Verblijftijden (d)	Lemna	Azolla
5-11-2011	1,00	1,00
26-5-2011	0,76	0,76
10-6-2011	0,79	0,80
24-6-2011	0,76	0,75
18-10-2011	2,48	2,35

Voor de analyses van de invloed van temperatuur en lichtinstraling zijn de gegevens van het KNMI, meetstation Eelde gebruikt. Deze metingen zijn gedaan op vliegveld Eelde, dat naast rwzi Eelde ligt.

2.3 Beheer en onderhoud

Afgezien van het oogsten en bijstellen van pompdebieten is onderhoud gepleegd aan de slangen, pompen en bemonsteringsapparatuur. Een enkele keer werd gezien dat de folie

loskwam van de bodem doordat het influentvat wegens verstopping overstroomde en dit is dan hersteld.

In de winter van 2011/2012 zijn de sloten leeggepompt en is sediment van de bodem verwijderd.

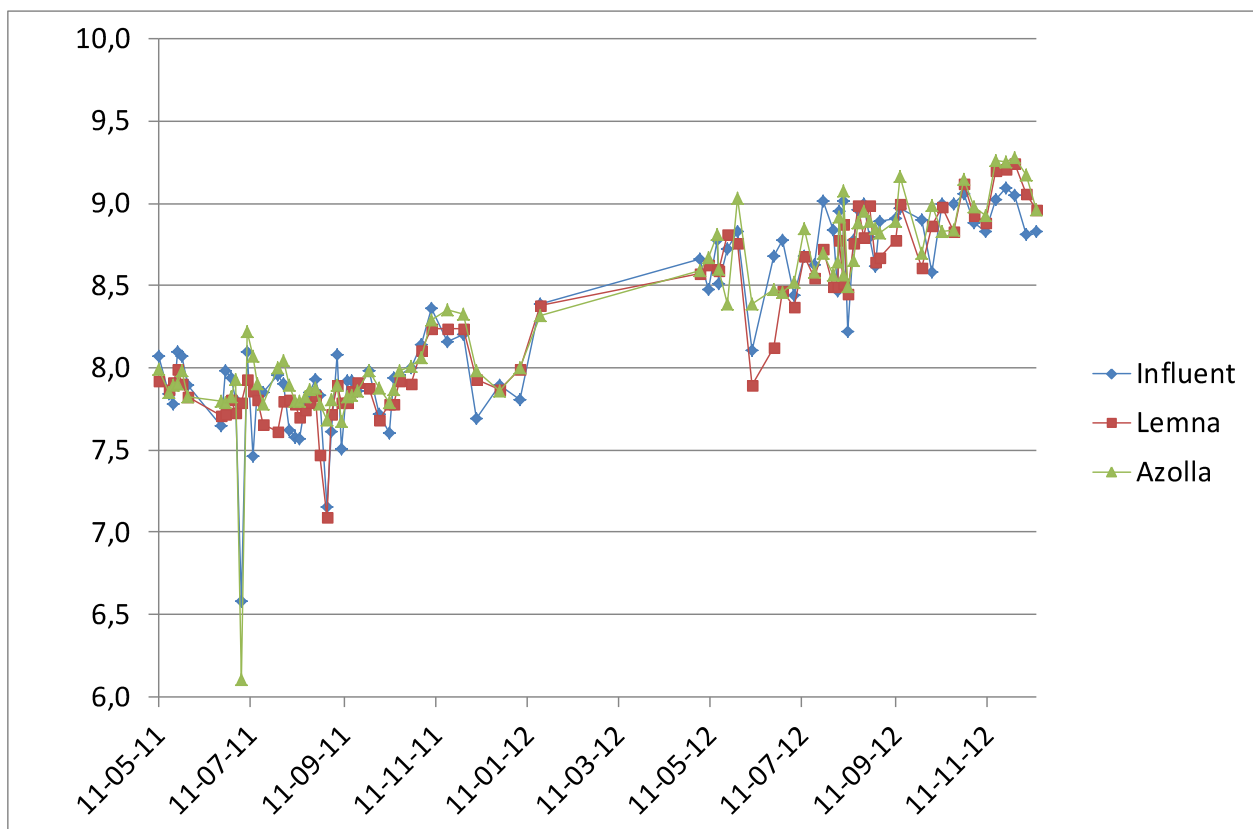
Wanneer schimmelplekken werden geconstateerd in het kroos, werden deze verwijderd om verspreiding van schimmel te voorkomen.

3. Resultaten en discussie

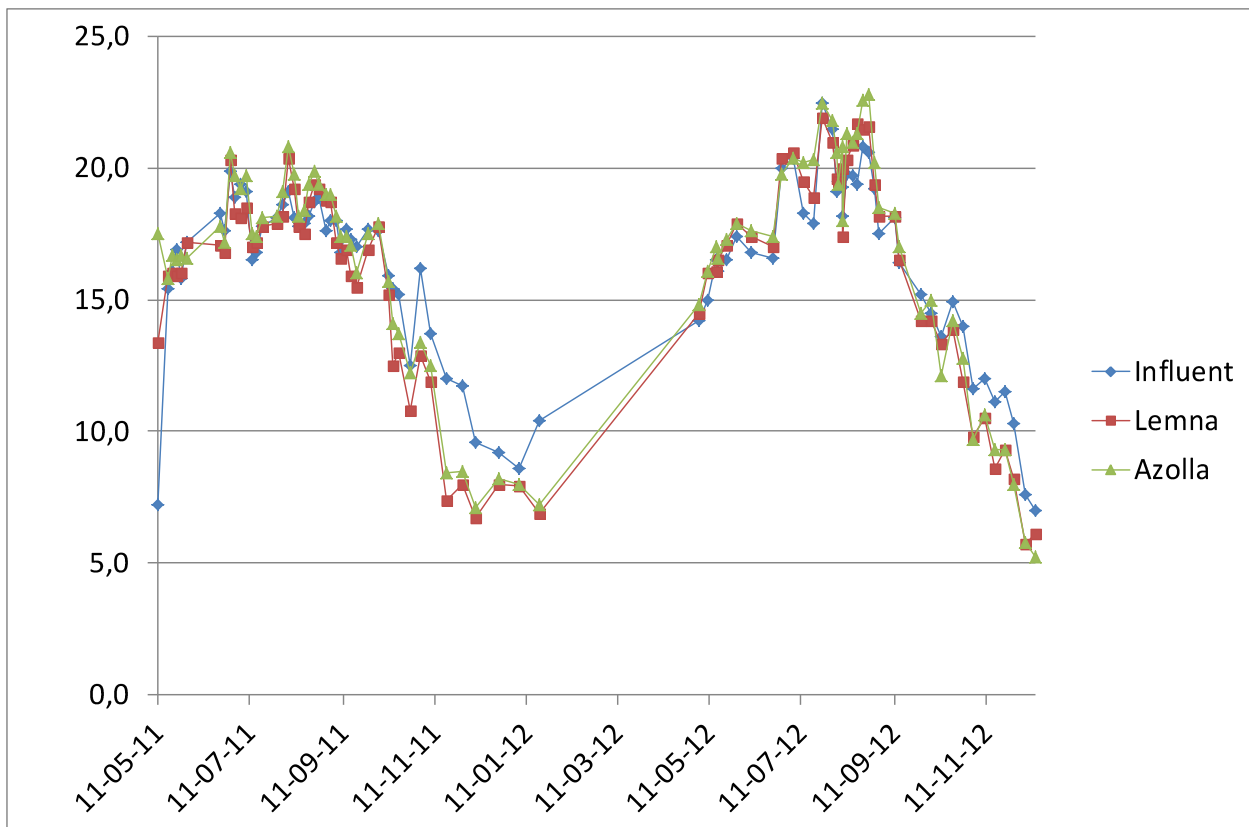
3.1 Temperatuur, zuurstof en pH

Temperatuur, zuurstofconcentratie en pH zijn middels elektroden gemeten in het influent van de sloten en in het water aan het eind van de sloten.

De gemeten pH waarden zijn te zien in Figuur 3.1. De pH verandert niet significant in de sloten. Soms wordt de pH in de sloten wat hoger dan die in het influent, soms wat lager. Opvallend is dat de pH in het influent in 2012 oploopt. In 2011 is de pH gemiddeld 7,8, aan het eind van 2012 is deze gestegen tot meer dan 9. **Conclusie: de krooszuivering heeft geen effect op de pH van het water.**

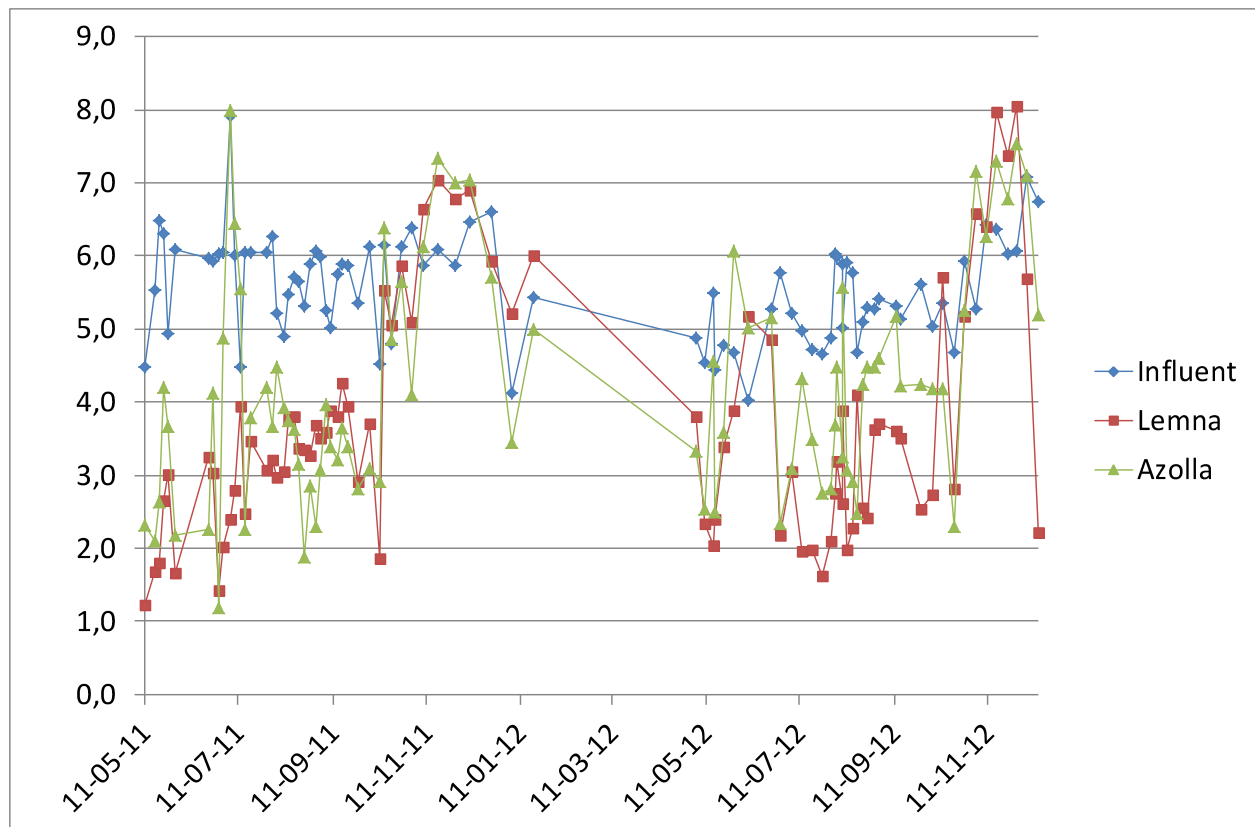


Figuur 3.1. pH in het influent en aan het eind van de sloten.



Figuur 3.2. Temperatuur (°C) van het influent en aan het eind van de sloten.

De temperatuur van het in- en uitgaande water is te zien in Figuur 3.2. Er is duidelijk een seizoenseffect te zien. De temperatuur komt niet onder 5,2°C en boven 22,8°C. De sloten hebben enig effect op de temperatuur. In de winterperiode koelt het water af in de kroosloten, terwijl in de zomer een verwarmend effect is te zien. In de zomer loopt de temperatuur in de kas regelmatig op tot boven de 30°C, terwijl de temperatuur in de winter op bewolkte dagen en in de nacht sterk kan dalen. **Conclusie: het water koelt in de winter af en warmt in de zomer op in de kroosloten.**



Figuur 3.3. Zuurstofconcentratie (mg/l) in het influent en aan het eind van de sloten.

De zuurstofconcentratie is weergegeven in Figuur 3.3. De figuur laat zien dat de zuurstofconcentraties in de sloten meestal dalen. Soms is de zuurstofconcentratie hoger, met name in de winterperioden. Dit zijn perioden dat het kroosdek dun is en er meer zuurstofuitwisseling met de atmosfeer mogelijk is.

Bij een gesloten kroosdek vindt er geen of veel minder uitwisseling van zuurstof met de atmosfeer plaats, terwijl er wel zuurstofconsumptie door mineralisatie van organisch materiaal en door respiratie van organismen in het water optreedt. De zuurstofconcentratie in de sloten schommelt dan tussen 1 en 4 mg O₂/l. **Conclusie: de zuurstofconcentratie in de kroosloten daalt soms sterk bij een gesloten kroosdek.**

3.2 Effecten van omgevingsvariabelen en kroosdichtheid op de kroosgroei

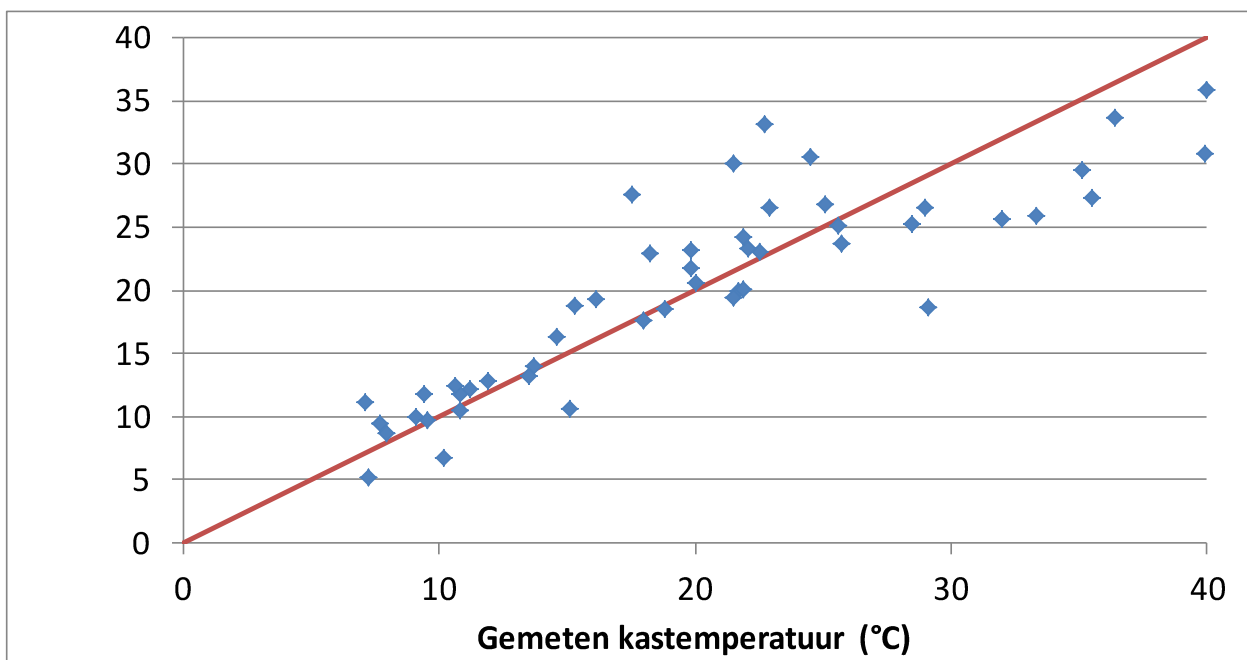
De belangrijkste omgevingsvariabelen zijn temperatuur en lichtinstraling. Daarnaast zijn voor de kroosgroei de terugogstdichtheid en de oogstfrequentie van belang.

3.2.1 Opmerkingen over de temperatuurmetingen

De buitentemperatuur is geen goede maat om te relateren aan de kroosgroei, omdat het kroos geteeld is in een kas. Bij het oogsten is de temperatuur in de kas alleen in 2012 consequent genoteerd zoals deze was op het moment van oogsten. Deze temperatuur is echter ook geen

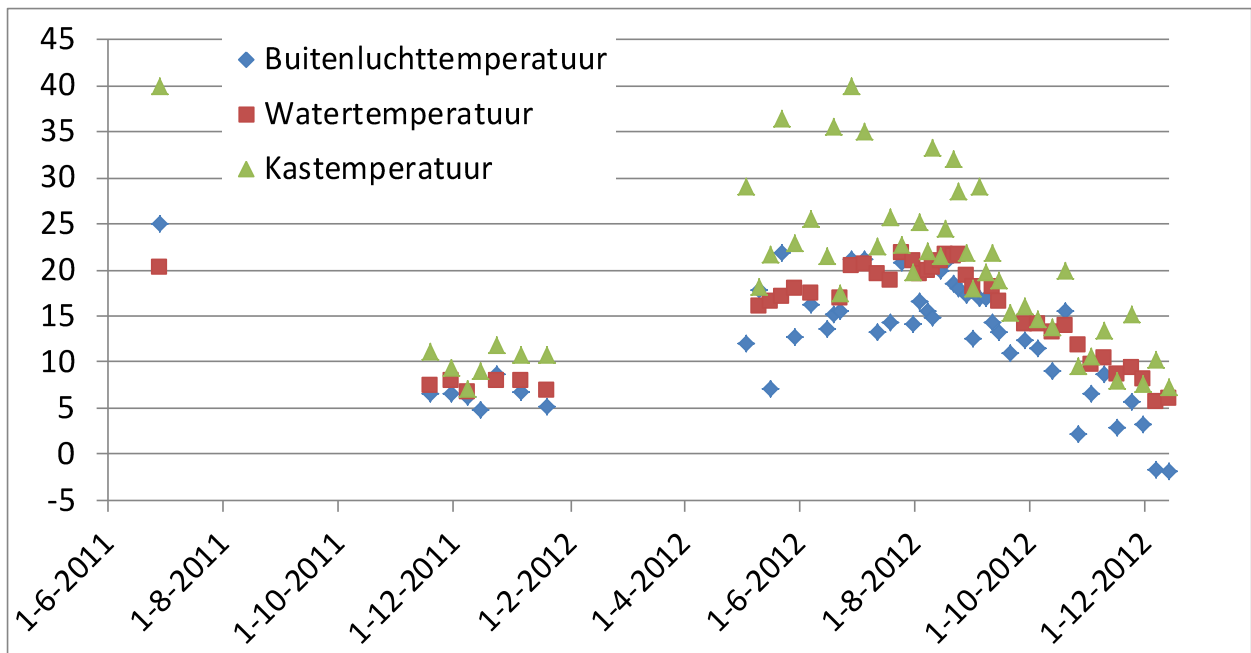
goede maat, omdat gezien is dat de temperatuur sterk varieert tussen dag en nacht en snel sterk oploopt op het moment dat de zon doorbreekt. Bovendien drijven de kroosplanten op het water en is de temperatuur gemeten op een meter hoogte in de kas. Toch kan de kastemperatuur een belangrijke stuurparameter zijn, omdat kroos niet goed groeit bij temperaturen boven 35 à 40 °C ([6]). Er is daarom ingeschat dat de temperatuur van het water een betere variabele is om de groei van kroos aan te relateren, maar er is ook gekeken naar relaties met de kastemperatuur.

Omdat de kastemperatuur niet altijd bekend is, is gekeken of deze te voorspellen is uit de buitentemperatuur en de lichtinstraling. Hiertoe is een lineaire regressieanalyse uitgevoerd met als inputvariabelen de gemiddelde buitentemperatuur over de dag en de lichtinstraling. Er zijn 49 datasets waarop de regressie is uitgevoerd. De r^2 van de regressieanalyse is 0,77 en de significantie F is $3,2 \cdot 10^{-15}$. De kastemperatuur is dus betrouwbaar te voorspellen uit de buitenluchttemperatuur en de instraling. De gemeten en voorspelde kastemperaturen zijn tegen elkaar uitgezet in Figuur 3.4. De lijn geeft de ideale fit weer. Te zien is dat de voorspelling vooral bij hoge temperaturen wat te laag wordt ingeschat.



Figuur 3.4. Gemeten kastemperatuur uitgezet tegen de berekende kastemperatuur (°C).

In Figuur 3.5 zijn de temperaturen van de buitenlucht, van de lucht in de kas en van het water in de sloten weergegeven. De temperatuur van het water vertoont de minste schommelingen en ligt meestal tussen de buiten- en binnentemperatuur.



Figuur 3.5. Gemeten temperaturen van de buitenlucht (gemiddeld over de dag), de lucht in de kas (op moment van oogsten) en het water in de kroosloten (°C).

3.2.2 Effecten op de kroosgroei

De kroosgroei is berekend uit de geogste hoeveelheid als toename van de biomassa in kg droge stof per hectare per dag. Deze kroosgroei is afgezet tegen de watertemperatuur, de temperatuur van de kas, de lichtinstraling, de teruggoogstdichtheid en de concentraties van opgelost stikstof en fosfaat.

De concentraties van stikstof en fosfaat zijn niet altijd gemeten op dezelfde dagen als de oogst plaatsvond. Als dat het geval was, zijn de concentraties lineair geïnterpoleerd tussen de laatste e de eerstvolgende meetdag. Voor de instraling is de gemiddelde dagelijkse instraling genomen over de periode tussen de laatste oogst en de actuele oogst.

Correlaties

Het is mogelijk dat sommige stuurvariabelen onderling gecorreleerd zijn. Zo is de temperatuur waarschijnlijk gecorreleerd aan de instraling. Om te kijken of dat zo is, zijn correlatiematrixen gemaakt (Tabel 3.1 en Tabel 3.2). Een waarde van 0 betekent geen enkele correlatie, een waarde van 1 betekent een volledige positieve correlatie en een waarde van -1 betekent een volledige negatieve correlatie.

De tabellen laten zien dat de watertemperatuur sterk gecorreleerd is met de instraling. Bij *Lemna* is de groei het sterkst gecorreleerd met de watertemperatuur, direct gevolgd door de instraling. Bij *Azolla* is de groei het sterkst gecorreleerd met de instraling, direct gevolgd door de watertemperatuur. Voor beide sloten zijn er verder geen (significante) correlaties tussen stuurparameters en de groei.

Tabel 3.1. Correlatiematrix voor de *Lemna* sloot voor de parameters vak (compartiment in de sloot), temperatuur van het water, instraling, oogstperiode, opgelost stikstof, opgelost fosfaat, teruugogstdichtheid en kroosgroei.

	Vak	Twater	Instraling	Oogstper.	Nopgelost	Poggelost	Dichtheid	Groei
Vak	1							
Twater	0,00	1						
Instraling	0,00	0,81	1					
Oogstper.	0,00	-0,66	-0,52	1				
Nopgelost	-0,17	-0,27	-0,31	0,21	1			
Poggelost	-0,10	0,22	0,22	-0,10	0,35	1		
Dichtheid	-0,05	-0,23	-0,17	0,04	0,20	-0,19	1	
Groei	0,03	0,50	0,46	-0,34	0,09	0,18	-0,12	1

Tabel 3.2. Correlatiematrix voor de *Azolla* sloot sloot voor de parameters vak (compartiment in de sloot), temperatuur van het water, instraling, oogstperiode, opgelost stikstof, opgelost fosfaat, teruugogstdichtheid en kroosgroei.

	Vak	Twater	Instraling	Oogstfreq.	Nopgelost	Poggelost	Dichtheid	Groei
Vak	1							
Twater	0,00	1						
Instraling	0,00	0,81	1					
Oogstfreq.	0,00	-0,66	-0,51	1				
Nopgelost	-0,05	-0,34	-0,29	0,22	1			
Poggelost	-0,01	0,18	0,23	-0,13	0,35	1		
Dichtheid	-0,11	-0,43	-0,34	0,30	0,23	-0,23	1	
Groei	0,07	0,50	0,57	-0,27	-0,04	0,07	-0,24	1

Conclusie: de instraling en de watertemperatuur zijn gerelateerd aan elkaar. De groei van *Lemna* is het sterkst gecorreleerd met de watertemperatuur, gevolgd door de instraling en van *Azolla* met de instraling gevolgd door de watertemperatuur.

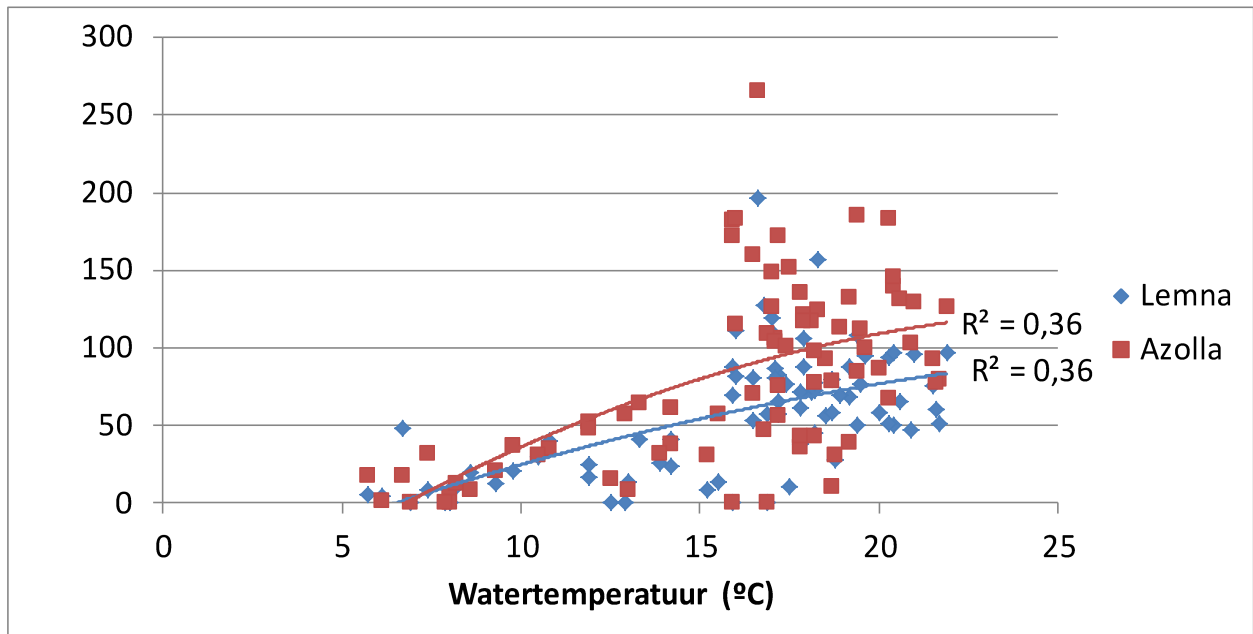
Oogstfrequentie

De oogstfrequentie is steeds aangepast aan de kroosgroei. In het voorjaar is steeds gestart met een frequentie van eens per week oogsten. Als de kroosdichtheid na een week groter werd dan een kroosdichtheid van twee keer de teruugogstdichtheid, werd de oogstfrequentie verkort naar eens per drie of vier dagen (twee keer per week oogsten). In het najaar, als de groei terug liep, werd de frequentie weer verlengd naar 7 dagen. De oogstfrequentie is dus een afgeleide van de kroosgroei, geen stuurparameter. Dit is ook te zien in de correlatiematrices hierboven: de oogstfrequentie is negatief gecorreleerd met de instraling en de temperatuur. Dit betekent dat de tijd tussen twee oogstmomenten toeneemt bij afnemende temperatuur en instraling.

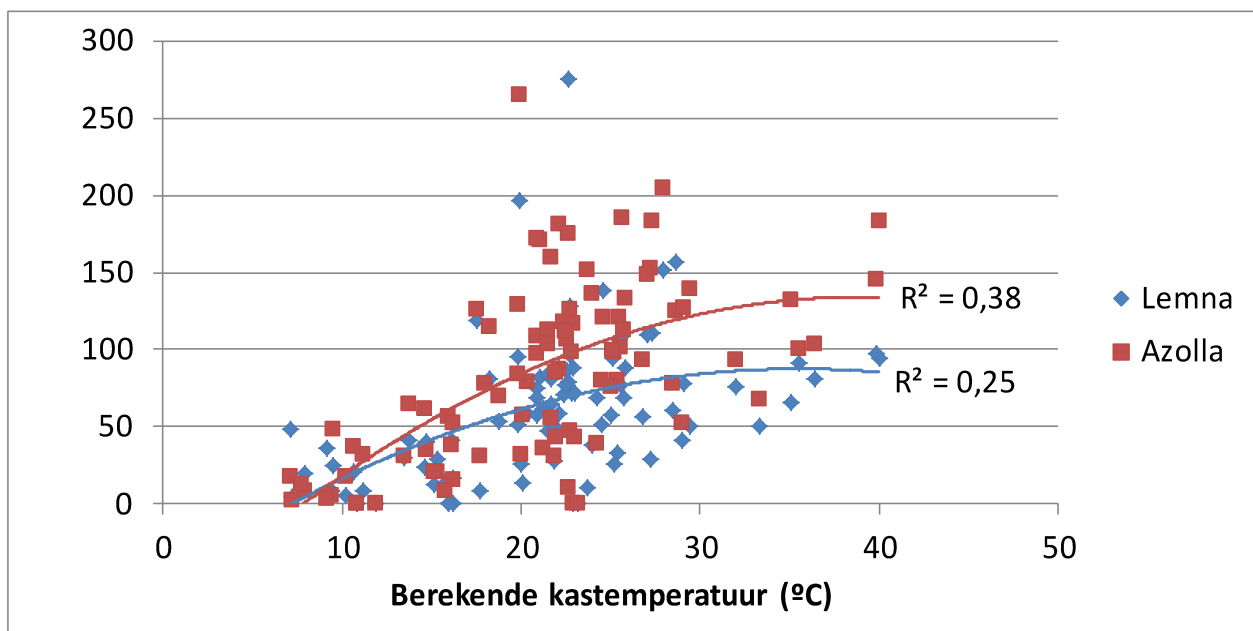
Conclusie: de oogstfrequentie is geen stuurparameter geweest, maar een afgeleide van de kroosgroei.

Temperatuur

In Figuur 3.6 en Figuur 3.7 is de groei uitgezet tegen de watertemperatuur en de kasttemperatuur. Als de kasttemperatuur op een oogstdag niet is gemeten, is de berekende kasttemperatuur (uit buitentemperatuur en instraling) gebruikt.



Figuur 3.6. Groei uitgezet tegen de watertemperatuur.



Figuur 3.7. Groei uitgezet tegen de gemeten of berekende kasttemperatuur.

De grafieken laten zien dat de groei toeneemt met toenemende temperatuur, zowel van het water als van de kas. Voor *Lemna* is er een sterkere correlatie van de groei met de watertemperatuur dan met de kastemperatuur. Voor *Azolla* is de correlatie met beide parameters even groot. Dat is wellicht te verklaren uit het feit dat het blad van *Lemna* altijd in contact is met het water, terwijl *Azolla* plantjes een stukje boven het water uit steken.

De grafieken laten zien dat andere parameters dan de temperatuur een minstens even belangrijke rol spelen bij het sturen van de kroosgroei. Het is lastig om het effect van instraling en van temperatuur van elkaar te onderscheiden, omdat het verloop van de instraling door het jaar heen sterk gecorreleerd is aan die van de temperatuur.

In Tabel 3.3 is te zien wat de gemiddelde waarden van groei, instraling, opgeloste nutriënten en terugoogstdichtheid zijn per watertemperatuurklasse. Duidelijk is te zien dat de watertemperatuur toeneemt met de instraling. De groei van *Lemna* is optimaal als de watertemperatuur boven 16°C komt. *Azolla* groeit bij deze temperaturen ook optimaal. *Azolla* groeit harder dan *Lemna* bij de lagere temperaturen. Onder 10°C groeien beide soorten langzaam.

Te zien is dat bij lagere temperaturen de opgelost stikstofconcentratie lager is dan bij hogere temperaturen. Bij opgelost fosfaat is dit net andersom. Meer hierover in de paragrafen over nutriënten.

Tabel 3.3. Gemiddelde waarden van groei, instraling, opgelost N en P en dichtheid per watertemperatuurklasse. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Lemna						
Twater (°C)	Aantal	Gemiddelden				
		Groei (kgds/ha.d)	Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
6 - 8	16	14,1	204	5,4	0,3	1,2
8 - 10	24	12,0	270	5,9	0,2	0,9
10 - 12	16	27,7	451	5,2	0,4	1,6
12 - 14	20	16,1	607	2,6	0,4	1,8
14 - 16	28	34,8	1072	2,9	1,1	1,3
16 - 18	92	76,6	1411	3,5	1,0	1,0
18 - 20	64	74,9	1429	3,6	1,0	0,9
20 - 22	48	70,2	1853	2,0	0,9	0,8

Azolla						
Twater (°C)	Aantal	Gemiddelden				
		Groei (kgds/ha.d)	Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
6 - 8	16	12,3	204	5,7	0,4	2,5
8 - 10	24	14,1	270	5,9	0,3	1,2
10 - 12	16	41,4	451	5,7	0,5	1,5
12 - 14	20	35,5	607	2,9	0,4	1,8
14 - 16	28	77,3	1072	3,9	1,3	1,3
16 - 18	92	106,3	1411	4,0	1,2	1,0
18 - 20	64	90,1	1429	3,3	1,0	0,9
20 - 22	48	113,8	1853	2,1	0,9	0,8

In Tabel 3.4 zijn de gemiddelde waarden van kroosgroei, instraling, opgeloste nutriënten en teruggoogstdichtheid te zien per kasttemperatuurklasse.

Tabel 3.4. Gemiddelde waarden van groei, instraling, opgelost N en P en dichtheid per kasttemperatuurklasse. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Lemna						
Tkas (°C)	Aantal	Gemiddelden				
		Groei (kgds/ha.d)	Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
7 - 10	24	24,5	252	5,5	0,2	1,0
10 - 13	20	5,9	256	5,3	0,4	1,1
13 - 16	32	23,6	648	4,6	1,4	1,3
16 - 20	44	67,4	1120	3,8	1,3	1,3
20 - 25	140	65,7	1346	2,9	0,9	1,0
25 - 30	76	74,9	1753	3,0	1,0	1,0
30 - 35	8	63,2	1691	1,9	0,8	0,8
35 - 40	16	83,7	1687	2,7	1,2	0,8

Azolla						
Tkas	Aantal	Gemiddelden				
		Groei (kgds/ha.d)	Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
7 - 10	24	16,4	252	5,7	0,3	1,5
10 - 13	20	13,9	256	5,4	0,4	2,1
13 - 16	32	37,1	648	4,9	1,5	1,3
16 - 20	44	91,4	1120	4,0	1,4	1,3
20 - 25	140	88,4	1346	3,3	1,0	1,0
25 - 30	76	115,0	1753	3,4	1,1	1,0
30 - 35	8	80,4	1691	1,8	0,9	0,8
35 - 40	16	120,6	1687	3,0	1,1	0,8

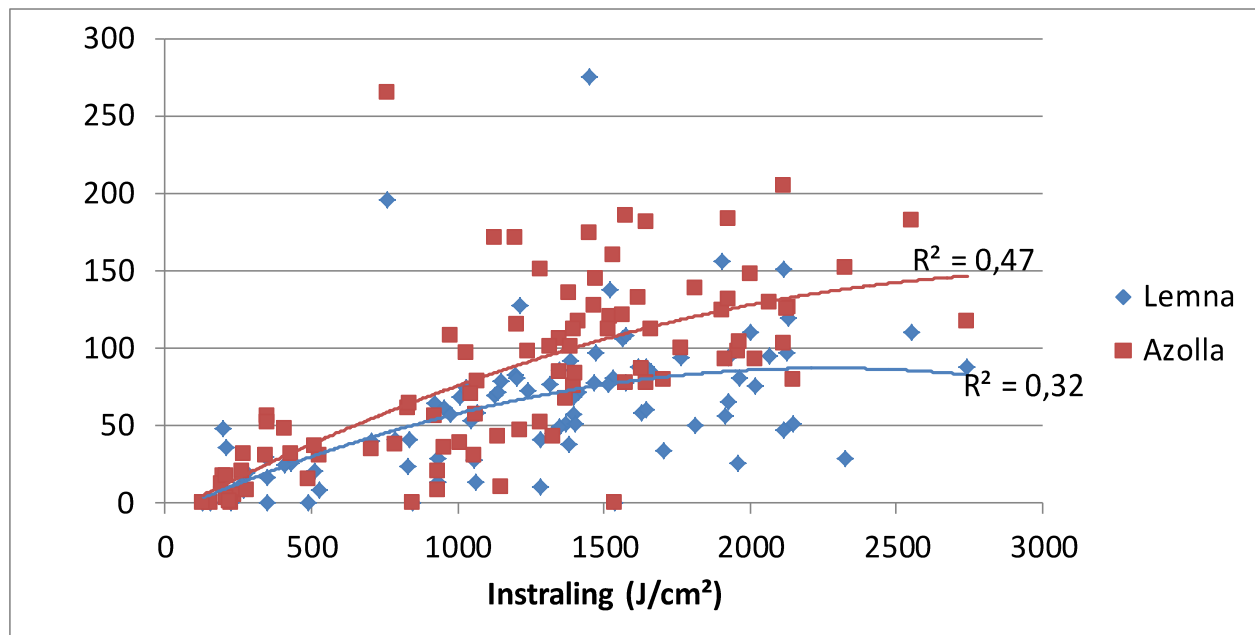
Zowel voor *Lemna* als voor *Azolla* is te zien dat de groei niet geremd wordt door hoge temperaturen tot 40°C. De groei van *Azolla* lijkt zelfs te worden gestimuleerd bij zeer hoge temperaturen. Voor beide soorten geldt dat de groei boven een kasttemperatuur van 16°C geen sterke toename meer laat zien.

Conclusie: de groei van kroos neemt toe met toenemende temperaturen. *Lemna* reageert hierbij meer op de watertemperatuur, *Azolla* op zowel de kasttemperatuur als de watertemperatuur. Er is geen groeiremning bij hoge temperaturen tot de maximaal gemeten waarde van 40°C. Bij kasttemperaturen boven 16°C is er geen sterke stijging in groei met toenende temperaturen.

Instraling

Figuur 3.8 laat de groei zien als gevolg van de dagelijkse lichtinstraling. De groei neemt toe met de instraling. De correlatie met de instraling is hoger dan die met de temperatuur (zowel de

watertemperatuur als de luchttemperatuur), dus dat zou betekenen dat de instraling de belangrijkste sturende factor is van de kroosgroei (mits er geen nutriëntenlimitatie optreedt) tijdens het uitvoeren van de experimenten.



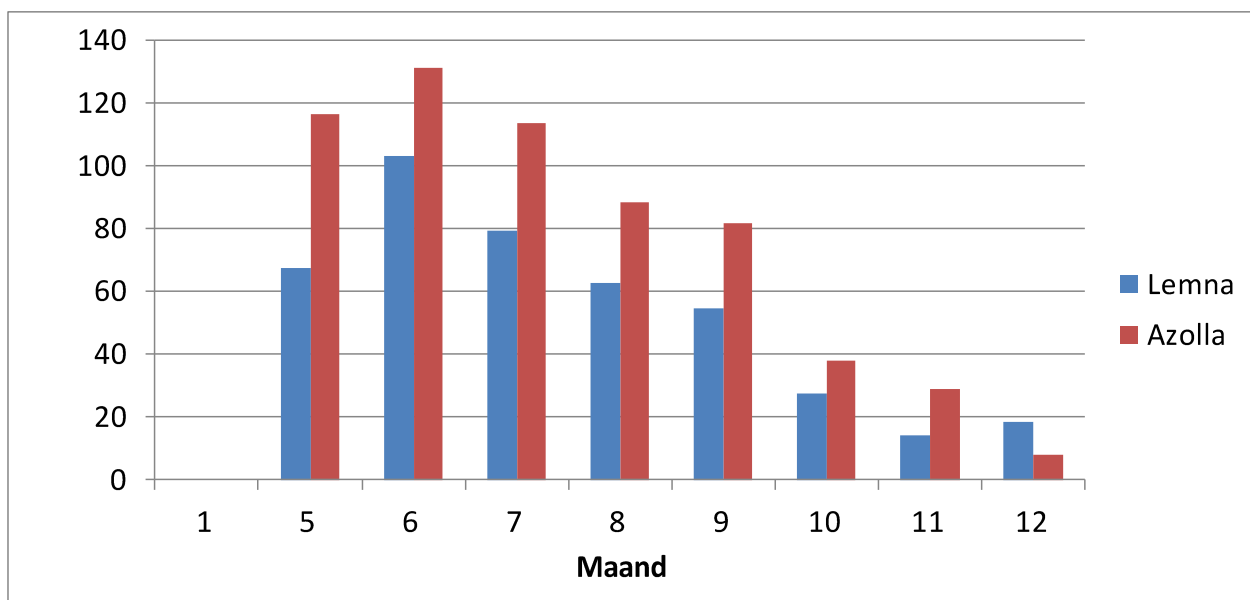
Figuur 3.8. Groei uitgezet tegen de daginstraling (J/cm²).

In Tabel 3.5 zijn de gemiddelde waarden van kroosgroei, watertemperatuur, opgelost N en P en teruggoogstdichtheid te zien per instralingsklasse. Duidelijk te zien is dat de kroosgroei toeneemt met toenemende instraling en ook de watertemperatuur loopt op.

Tabel 3.5. Gemiddelde waarden van groei, watertemperatuur, opgelost N en P en dichtheid per instralingsklasse. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Lemna						
Instraling (J/cm ²)	Aantal	Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Gemiddelden		
				Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
0 - 500	64	15,0	10	4,6	0,3	1,3
500 - 1000	52	46,0	15	4,5	1,2	1,3
1000 - 1500	120	65,0	18	3,4	1,1	1,0
1500 - 2000	84	77,3	19	2,6	1,0	0,9
2000 - 2500	36	86,2	20	2,4	1,2	0,9
2500 - 3000	8	99,4	17	1,8	1,0	1,1

Azolla						
Instraling (J/cm ²)	Aantal	Groei (kg ds/ha.d)	Twater (°C)	Gemiddelden		
				Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
0 - 500	64	21,0	10	4,8	0,4	1,8
500 - 1000	52	58,5	15	4,7	1,2	1,2
1000 - 1500	120	86,2	18	3,6	1,2	1,0
1500 - 2000	84	115,5	19	2,9	1,1	0,9
2000 - 2500	36	129,4	20	2,9	1,4	0,9
2500 - 3000	8	150,2	17	2,7	1,2	1,1



Figuur 3.9. Gemiddelde groei per maand. De gemiddelden zijn berekend over de gehele proefperiode.

Figuur 3.9 laat de gemiddelde groei zien per maand. Voor zowel *Lemna* als *Azolla* is de groei het grootst in juni. In alle maanden is de groei van *Azolla* groter dan die van *Lemna*, met

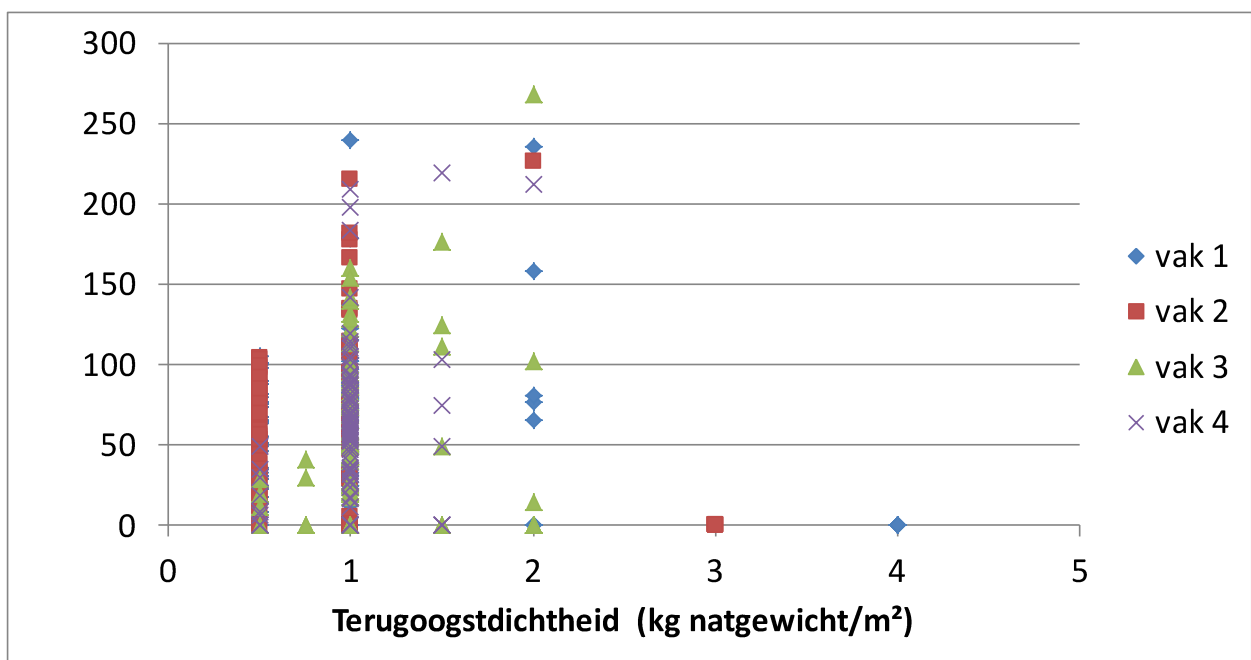
uitzondering van december. Dit is opmerkelijk, omdat *Azolla* over het algemeen beter bestand is tegen koudere en donkere perioden.

Conclusie: er is een sterke correlatie tussen kroosgroei en de lichtinstraling. De groei van *Azolla* en *Lemna* neemt toe bij toenemende instraling. De groei van beide soorten is het grootst in juni.

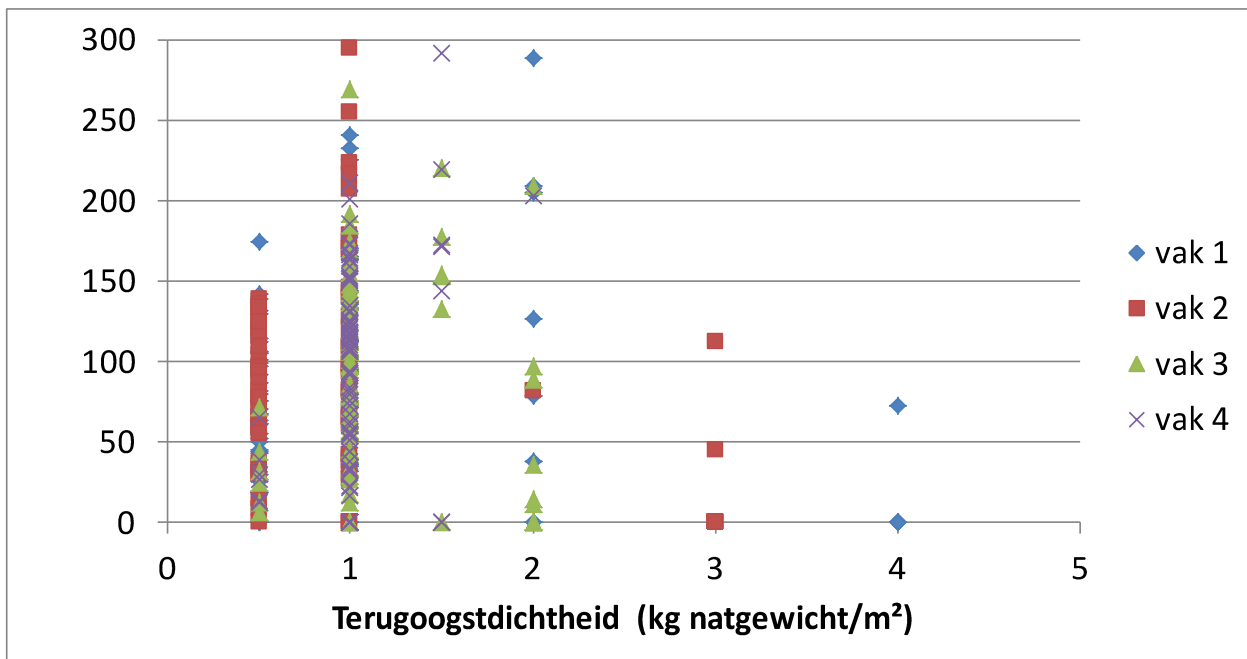
Teruogoogstdichtheid

De dichtheid van het kroosdek is een belangrijke stuurparameter voor de groeisnelheid. Bij een te kleine dichtheid vallen er gaten in het kroosdek en kunnen algen gaan groeien en concurreren met het kroos. Bij een te grote dichtheid gaan de planten over elkaar heen groeien en treedt zelfbeschaduwing op, waardoor de groei wordt geremd. Het is daarom zaak om te zoeken naar de optimale dichtheid voor een zo hoog mogelijke groei.

Figuur 3.10 en Figuur 3.11 laten de groei van *Lemna* en *Azolla* zien bij verschillende teruogoogstdichtheden. Uiteraard spelen temperatuur en instraling een bepalende rol bij de groeisnelheid. Hoge dichtheden van 3 en 4 kg/m² zijn alleen in het najaar gehandhaafd om ervoor te zorgen dat de sloten bij lage groei toch geheel bedekt bleven met kroos. Logischerwijs is de groei bij deze dichtheden dan ook een stuk lager dan bij kleinere dichtheden.



Figuur 3.10. Groei van *Lemna* uitgezet tegen de teruogoogstdichtheid.



Figuur 3.11. Groei van *Azolla* uitgezet tegen de terugoogstdichtheid.

De grafieken laten zien dat vanaf een dichtheid van 1,0 kg/m² tot en met 2,0 kg/m² er geen grote verschillen zijn in groeisnelheid. Bij lagere dichtheden dan 1,0 kg/m² is de groei lager, terwijl deze dichtheden in enkele vakken ook in de zomer zijn aangehouden. Van Kempen vond in haar laboratoriumexperimenten dat de kroesgroei optimaal is bij een dichtheid van 0,75 tot 1,0 kg/m² ([5]). De verschillen zouden te maken kunnen hebben met verschillende omstandigheden en wijzen van behandeling. In de praktijk lijkt de groei optimaal te zijn bij een terugoogstdichtheid tussen 1,0 en 2,0 kg natgewicht/m².

Tabel 3.6 laat de gemiddelde waarden van groei, watertemperatuur en opgelost N en P zien bij de verschillende terugoogstdichtheden. Voor wat betreft de instraling en de watertemperatuur zijn dichtheden van 0,75, 3 en 4 kg/m² niet vergelijkbaar met die van 0,5, 1, 1,5 en 2 kg/m². De eerste drie dichtheden werden vooral in het winterhalfjaar aangehouden.

Bij *Lemna* lijkt een dichtheid van 1 tot 2 kg/m² de grootste groei op te leveren. Hoewel de temperatuur bij een dichtheid van 1 kg/m² het hoogst was en de instraling bij 1,5 kg/m², is de groei het hoogst bij een terugoogstdichtheid van 2 kg/m². Het gaat echter hier om 19 metingen tegen 219 bij een dichtheid van 1 kg/m². Voorzichtigheid bij het trekken van conclusies is dan ook geboden.

Bij *Azolla* ligt een duidelijke piek bij 1,5 kg/m², maar hier gaat het maar om 14 metingen. Ook de gemiddelde instraling was bij deze dichtheid het hoogst.

Tabel 3.6. Gemiddelde waarden van groei, watertemperatuur en opgelost N en P per teruggoogstdichtheid. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Lemna						
Dichtheid (kg/m ²)	Aantal	Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Gemiddelden		
				Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)
0,50	91	50,8	15,6	1184	3,0	1,32
0,75	5	14,1	7,4	182	3,8	0,33
1,00	219	66,2	17,1	1315	3,3	0,93
1,50	14	65,0	16,2	1767	1,3	0,67
2,00	19	75,9	13,3	1159	5,2	0,99
3,00	8	0,0	11,5	481	4,8	0,28
4,00	8	0,0	11,5	481	5,8	0,54

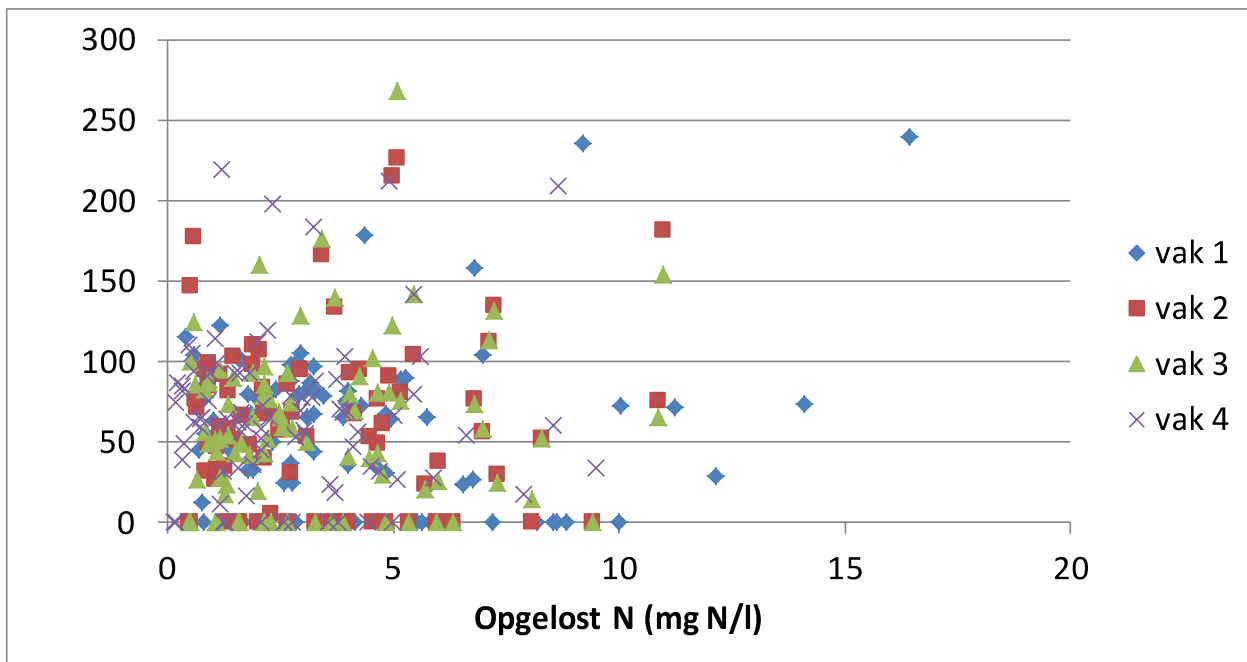
Azolla						
Dichtheid (kg/m ²)	Aantal	Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Gemiddelden		
				Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Popgelost (mg P/l)
0,50	90	71,6	15,9	1213	3,1	1,47
1,00	210	95,2	17,4	1357	3,4	1,02
1,50	14	131,3	14,9	1493	4,2	1,60
2,00	24	74,1	12,5	1060	5,3	0,99
3,00	13	12,1	11,0	436	4,8	0,40
4,00	13	5,6	11,0	436	5,3	0,46

Conclusie: de teruggoogstdichtheid waarbij de maximale absolute groei van biomassa optreedt ligt tussen bij 1,5 kg uitlekgewicht/m², maar dichtheden van 1,0 en 2,0 kg/m² geven een vergelijkbare groei. Dit geldt zowel voor *Lemna* als voor *Azolla*.

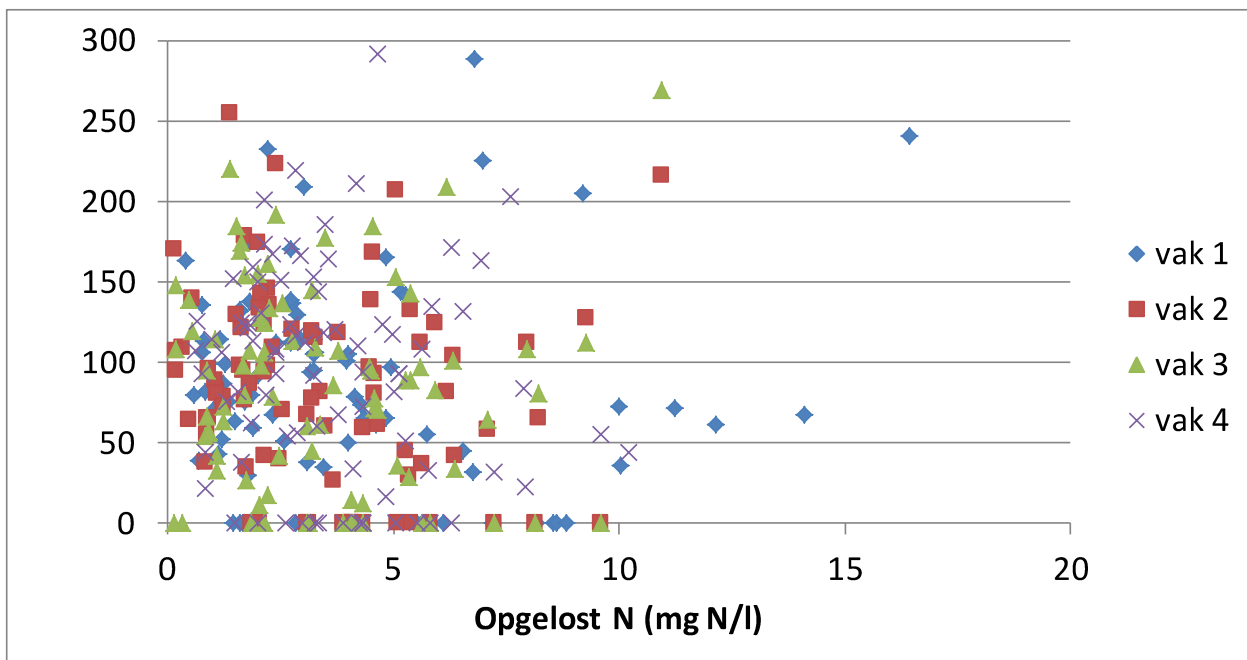
Nutriëntenconcentraties

Opgelost stikstof en fosfaat zijn belangrijke voedingsstoffen voor de planten. Bij lage concentraties kunnen zij limiterend worden voor de groei. Deze limitatieconcentraties zijn zeer laag voor kroos ([6]) en het is niet te verwachten dat nutriënten in rwzi effluent limiterend zullen zijn of worden.

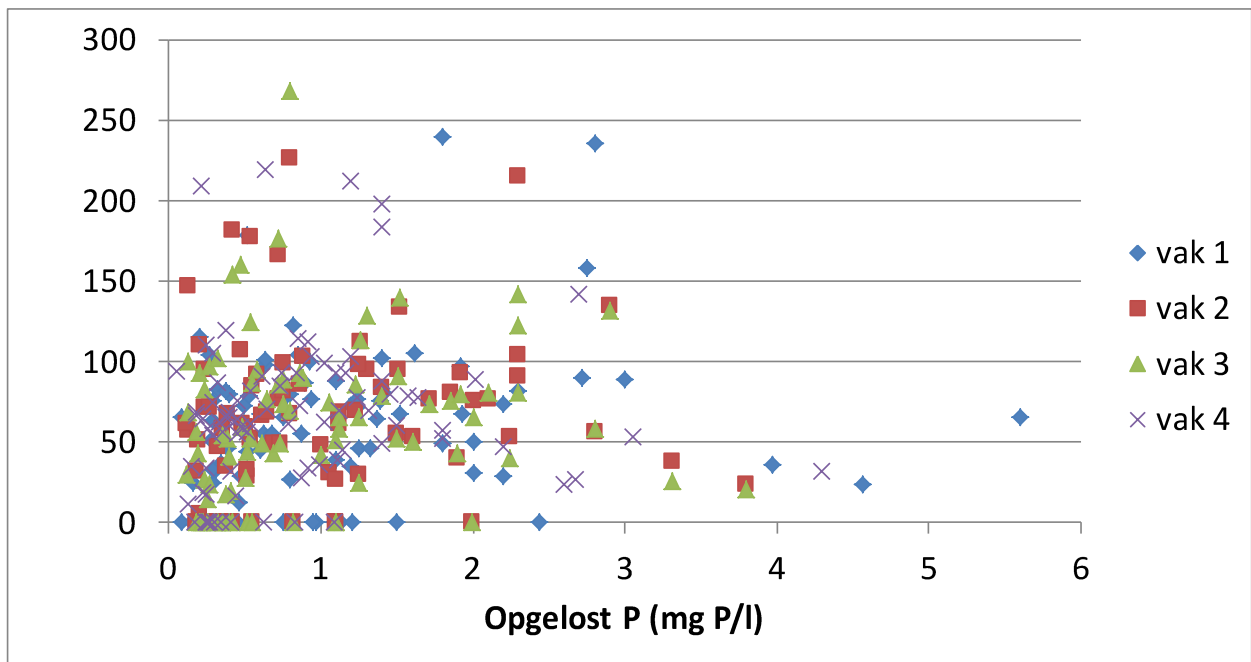
In Figuur 3.12 t/m Figuur 3.15 is de groei uitgezet tegen de concentraties opgelost stikstof en fosfaat in het influent van de sloten (vak 1), halverwege de sloten (vak 2 en 3) en aan het eind van de sloten (vak 4). Zowel bij *Lemna* als bij *Azolla* is er voor opgelost stikstof en opgelost fosfaat geen enkel verband met de groeisnelheid. Dit betekent dat deze nutriënten niet groeilimiterend zijn onder veldomstandigheden.



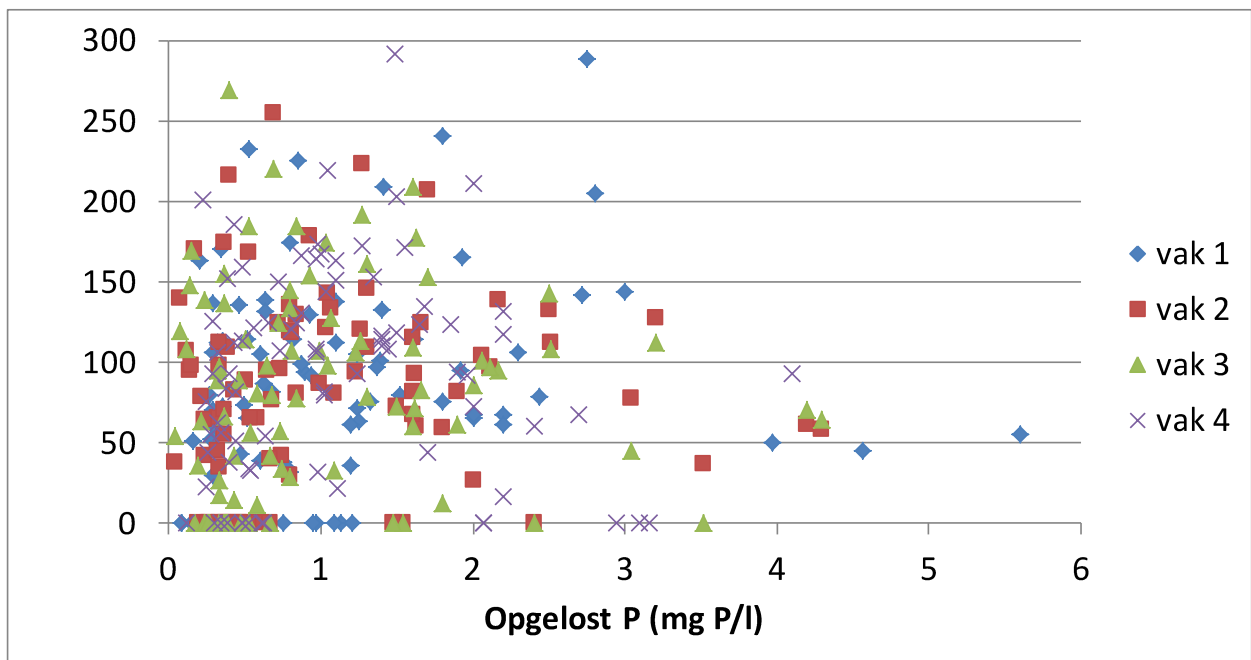
Figuur 3.12. Groei van *Lemna* in de vier compartimenten als functie van de concentratie opgelost stikstof ($\text{NH}_4+\text{NO}_2+\text{NO}_3$).



Figuur 3.13. Groei van *Azolla* in de vier compartimenten als functie van de concentratie opgelost stikstof ($\text{NH}_4+\text{NO}_2+\text{NO}_3$).



Figuur 3.14. Groei van *Lemna* in de vier compartimenten als functie van de concentratie opgelost fosfaat (ortho-fosfaat).



Figuur 3.15. Groei van *Azolla* in de vier compartimenten als functie van de concentratie opgelost fosfaat (ortho-fosfaat).

Tabel 3.3 laat zien dat de stikstofconcentratie lager is bij temperaturen van 12°C en hoger en de fosfaatconcentratie hoger is bij temperaturen van 14°C en hoger. Dit betekent dat de verhouding tussen stikstof en fosfaat in de winter hoger was dan in de zomer. Bij een watertemperatuur lager dan 12°C is de verhouding gemiddeld 18:1 en bij een watertemperatuur hoger dan 14°C is de verhouding 2,9:1. De Redfield-ratio¹ is 7,2:1. Dit

¹ De Redfield-ratio geeft de verhouding tussen stikstof en fosfor aan in levende organismen.

betekent dat er in de zomer een stikstoftekort zou kunnen ontstaan. In de winter is een fosfaattekort niet erg waarschijnlijk vanwege de lage groeisnelheid van het kroos. Bij een stikstoftekort in de zomer is *Azolla* in het voordeel, omdat deze plant in symbiose leeft met een stikstoffixerende bacterie. De laagst gemeten opgelost stikstofconcentratie in de kroosloten is echter 0,61 mg N/l. Bij dergelijke concentraties is de groei nog niet gelimiteerd ([6]).

Tabel 3.7 laat de gemiddelde waarden van kroosgroei, watertemperatuur, instraling, opgelost fosfaat en teruggoogstdichtheid zien per klasse van opgelost stikstof. De tabel laat zien dat er geen groei-limitatie door stikstofgebrek optreedt bij de laagste concentratieklasse. Rekening houdend met het grote verschil in aantal metingen per klasse, is er geen verschil in groei tussen de klassen.

Tabel 3.7. Gemiddelde waarden van groei, watertemperatuur, instraling, opgelost fosfaat en teruggoogstdichtheid per klasse opgelost stikstof. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Lemna						
N opgelost (mg N/l)	Aantal	Gemiddelden				
		Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Instraling (J/cm ²)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
0 - 2	123	57,7	18	1500	0,6	1,0
2 - 4	109	63,2	17	1270	0,9	1,0
4 - 6	68	65,5	16	1138	1,6	1,2
6 - 8	32	59,9	17	1315	1,8	1,3
8 - 10	21	43,8	12	656	0,7	1,9
10 - 12	9	103,8	18	988	1,2	1,0
12 - 14	3	28,5	14	828	2,2	0,5
14 - 16	2	73,7	17	1316	2,2	0,5
16 - 18	1	239,8	17	757	1,8	1,0

Azolla						
N opgelost (mg N/l)	Aantal	Gemiddelden				
		Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Instraling (J/cm ²)	Popgelost (mg P/l)	Dichtheid (kg/m ²)
0 - 2	98	90,7	18	1412	0,6	1,0
2 - 4	114	94,3	17	1441	1,1	1,1
4 - 6	86	68,3	15	1128	1,5	1,4
6 - 8	36	89,2	16	1247	1,8	1,4
8 - 10	21	48,0	11	741	1,1	2,1
10 - 12	9	162,0	18	947	0,9	1,0
12 - 14	3	61,5	14	828	2,2	0,5
14 - 16	2	67,3	17	1316	2,2	0,5
16 - 18	1	241,1	17	757	1,8	1,0

Tabel 3.8 laat de gemiddelde waarden van kroosgroei, watertemperatuur, instraling, opgelost stikstof en terugogstdichtheid zien per klasse van opgelost fosfaat.

Tabel 3.8. Gemiddelde waarden van groei, watertemperatuur, instraling, opgelost stikstof en terugogstdichtheid per klasse opgelost fosfaat. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Lemna						
P opgelost (mg P/l)	Aantal	Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Gemiddelden		
				Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Dichtheid (kg/m ²)
0 - 0,5	123	43,6	15	945	2,9	1,3
0,5 - 1	87	75,4	18	1545	2,5	0,9
1 - 1,5	71	66,9	18	1591	3,2	1,1
1,5 - 2	47	72,8	19	1462	4,4	0,9
2 - 2,5	30	77,5	17	1444	6,0	0,9
2,5 - 3	16	105,8	16	1533	6,4	1,1
3 - 3,5	8	51,4	18	1273	5,0	0,9
3,5 - 4	5	26,7	16	993	5,1	0,7
4 - 4,5	2	31,6	17	1047	4,7	1,0
4,5 - 6	2	44,8	17	990	6,1	0,5

Azolla						
P opgelost (mg P/l)	Aantal	Groei (kgds/ha.d)	Twater (°C)	Gemiddelden		
				Instraling (J/cm ²)	Nopgelost (mg N/l)	Dichtheid (kg/m ²)
0 - 0,5	108	67,4	15	907	3,1	1,5
0,5 - 1	94	92,1	18	1426	3,0	1,0
1 - 1,5	67	110,8	18	1653	3,2	1,1
1,5 - 2	51	101,5	18	1572	4,7	1,1
2 - 2,5	32	80,0	17	1405	5,4	0,9
2,5 - 3	16	132,1	19	1956	6,3	1,2
3 - 3,5	11	72,5	18	1361	5,8	1,0
3,5 - 4	7	28,7	18	1063	5,1	0,7
4 - 4,5	6	69,6	16	959	5,7	0,8
4,5 - 6	2	50,3	17	990	6,1	0,5

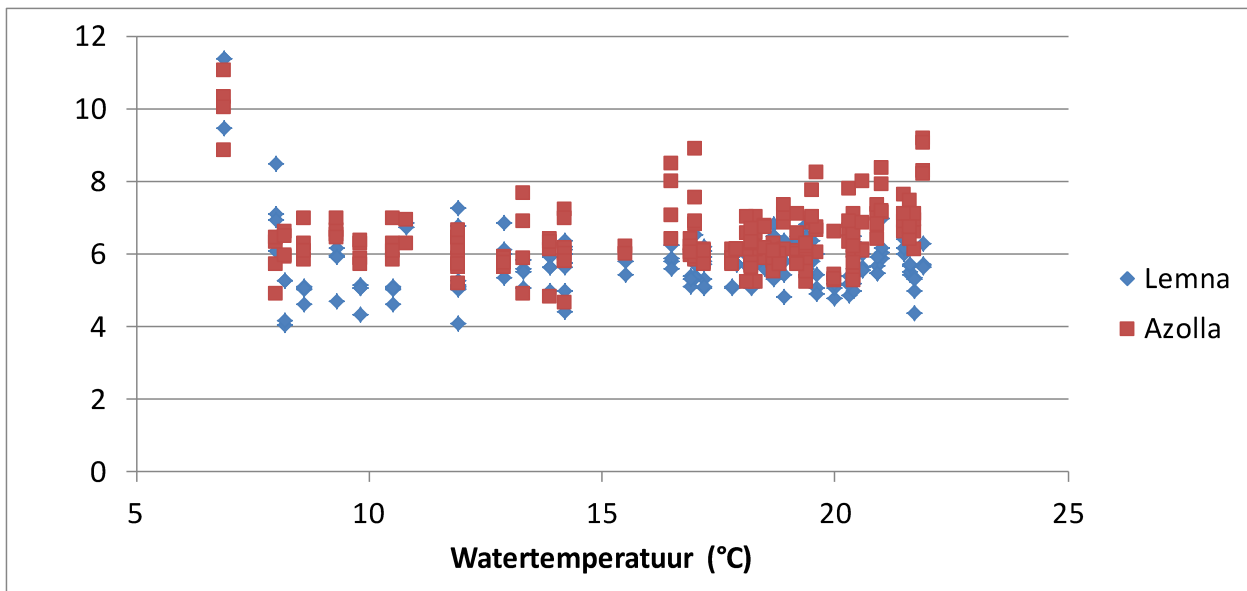
De tabel laat zien dat er geen groeilimitatie door fosfaatgebrek optreedt bij de laagste concentratieklasse. De groei is wel lager, maar de temperatuur van het water en de instraling zijn ook lager. Zoals eerder aangestipt is de concentratie opgelost fosfaat lager in de winter dan in de zomer en dat is de reden van een lagere groei bij de laagste concentratieklasse.

Conclusie: er is in de kroosexperimenten geen groeilimitatie geweest door gebrek aan de nutriënten stikstof en fosfaat. Ook bij de laagst gemeten concentraties waren er geen aanwijzingen voor groeilimitatie.

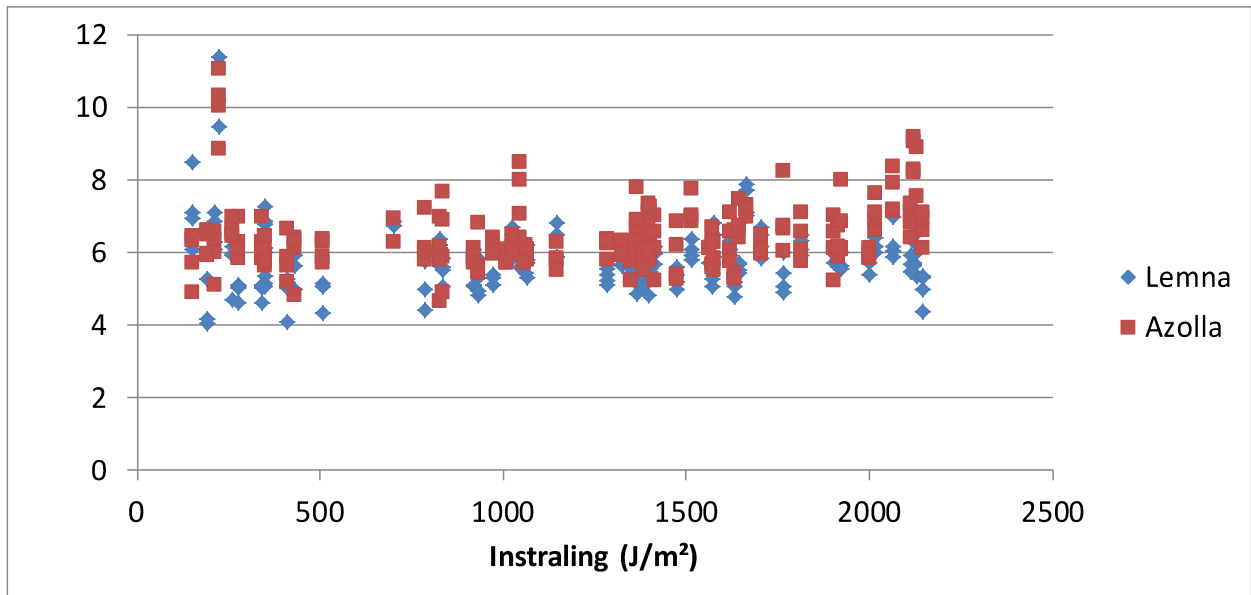
3.2.3 Effecten op droge stofgehalte

Het droge stofgehalte van *Lemna* is gemiddeld 5,8% (minimum 4,0 en maximum 11,4%) en van *Azolla* 6,4% (minimum 4,7 en maximum 11,1%).

In de laboratoriumexperimenten is een verschil gezien in droge stofgehalte tussen groeiexperimenten bij 12°C en bij 18°C, waarbij het droge stofgehalte bij 18°C hoger was dan bij 12°C ([5]). Dit effect is in de proefsloten niet te zien (zie Figuur 3.16). Ook is er geen relatie met de instraling (Figuur 3.17).



Figuur 3.16. Droge stofgehalte van *Lemna* en *Azolla* uitgezet tegen de watertemperatuur.



Figuur 3.17. Droge stofgehalte van *Lemna* en *Azolla* uitgezet tegen de instraling.

In het laboratorium was het droge stofgehalte van *Azolla* bij 12°C lager dan van *Lemna*-soorten en bij 18°C gelijk aan die van *Lemna* soorten. De resultaten in de proefsloten (Tabel 3.9) laten zien dat het droge stofgehalte van beide soorten sterk toeneemt bij de laagste temperaturen. Bij de overige temperaturen (8 tot 22°C) is er geen duidelijke toe- of afname in droge stofgehalten bij oplopende watertemperaturen. De oorzaak hiervan is niet onderzocht.

Tabel 3.9. Gemiddelde waarden van het droge stofgehalte (%) per watertemperatuurklasse. Ook het aantal waarnemingen is weergegeven.

Twater (°C)	Aantal	Gemiddelde Droge stofgehalte (%)	
		Lemna	Azolla
6 - 8	16	10,8	10,1
8 - 10	24	5,5	6,2
10 - 12	16	5,5	6,2
12 - 14	20	5,7	6,0
14 - 16	28	5,7	6,1
16 - 18	92	5,7	6,4
18 - 20	64	5,9	6,2
20 - 22	48	5,6	6,9

Conclusie: het droge stofgehalte van *Azolla* is ongeveer een half procentpunt hoger dan dat van *Lemna*. Bij alle gemeten watertemperaturen is het droge stofgehalte ongeveer hetzelfde, behalve bij temperaturen beneden 8°C. Beneden deze temperatuur waren de droge stofgehalten van zowel *Lemna* als *Azolla* bijna twee keer zo hoog.

3.3 Effect van bijbelichten in de winter

Vak 1 van de *Lemnasloot* is in de maanden oktober tot en met december 2011 bijverlicht met blauw led-licht tot een daglengte van 13 uur. Dit is gedaan om te testen of het groeiseizoen (en dus het zuiveringsseizoen) te verlengen is met bijbelichting.

Belichten met blauw led-licht had echter een negatief effect. Geconstateerd werd dat al snel algengroei optrad en dat het kroos afstierf. Gebruik van blauw licht heeft dit afsterven niet kunnen voorkomen. Omdat blauw licht in de waterkolom doordringt, profiteerden de algen wel van de bijbelichting.

Bijverlichting met rood led-licht is waarschijnlijk zinvoller, omdat rood licht zeer beperkt het water in dringt, waardoor kroos meer van de bijbelichting profiteert.

Conclusie: bijbelichten met blauw led-licht had geen positief effect op de kroosgroei.

3.4 Kroosgroei en nutriëntenverwijdering

3.4.1 Totale oogst en afgeleide nutriëntenverwijdering

In 2011 is in totaal 12,1 ton ds/ha *Lemna* en 18,1 ton ds/ha *Azolla* geoogst. In 2012 was dat respectievelijk 11,1 en 17,0 ton ds/ha.

De gehalten stikstof en fosfor in *Lemna* en *Azolla* variëren afhankelijk van de omstandigheden. Dit is bekend uit de literatuur ([6]) en ook geconstateerd bij de bepalingen in het laboratorium ([5]). De gemeten gehalten van N en P in *Lemna* en *Azolla* staan in Tabel 3.10.

Tabel 3.10. Gemeten gehalten van N en P (in % van droge stof) in *Lemna* en *Azolla* onder verschillende omstandigheden (uit [5] en [6]).

N- en P- gehalten (% van ds)	N			P		
	Min.	Gem.	Max.	Min.	Gem.	Max.
<i>Azolla filiculoides</i>	2,65	3,46	4,62	0,28	0,38	0,52
<i>Lemna gibba</i>	1,74	2,78	3,65	0,20	0,41	0,78
<i>Lemna minor</i>	1,43	3,10	8,74	0,17	0,41	0,83
<i>Spirodela polyrhiza</i>	2,25	2,77	3,99	0,23	0,40	0,97

Onder omstandigheden met een overmaat aan nutriënten in het water nemen de planten meer op dan strikt nodig en onder nutriëntarme omstandigheden teren zij in op hun voorraad totdat een bepaald minimum is bereikt. Als dat minimum is bereikt, vertraagt of stopt de groei. De minimale waarden die in Tabel 3.10 staan zijn gemeten onder omstandigheden dat de planten de nutriënten uit het medium grotendeels hadden opgebruikt en zijn daarom niet representatief voor de omstandigheden in de proefsloten.

Uit de geogste hoeveelheid droge stof en de gemiddelde nutriëntengehaltes uit Tabel 3.10 is de opname van nutriënten (en daarmee de verwijdering) berekend. De resultaten staan in Tabel 3.11. Weergegeven zijn de berekende hoeveelheden op basis van de minimum, de gemiddelde en de maximum gemeten nutriëntengehaltes in het kroos.

Tabel 3.11. Berekende verwijdering van nutriënten uit de proefsloten in kg N of P/ha in de jaren 2011 en 2012.

Nutriëntenverwijdering		N			P		
		Min.	Gem.	Max.	Min.	Gem.	Max.
Lemnasloot	2011	173	349	524	21	50	99
	2012	172	348	522	21	49	99
Azollasloot	2011	479	625	834	50	69	93
	2012	451	588	786	47	65	88

Azolla heeft een hogere berekende stikstof- en fosfaatverwijdering dan *Lemna*. Hierbij moet een kanttekening gemaakt worden. In het laboratorium is geconstateerd dat de in de biomassa opgenomen hoeveelheid stikstof door *Azolla* hoger is dan de verwijderde hoeveelheid uit het groeimedium. De onderzoekster denkt dat dit komt door stikstofvastlegging door de symbiotische, stikstofvastleggende bacterie waarmee *Azolla* samenleeft ([5]). Dit verschijnsel kan ook in de proefsloten plaatsvinden en daarmee zou de hier berekende verwijdering van stikstof door *Azolla* een overschatting zijn.

De verwijdering als percentage van de inkomende vrachten van nutriënten staan in Tabel 3.12. Deze zijn berekend uit de kroosgroei (oogst) en de gemiddelde percentages van nutriënten in de kroosbiomassa uit Tabel 3.10.

Tabel 3.12. Berekende verwijdering van nutriënten aan de hand van de geogste kroosbiomassa.

Nutriëntenverwijdering (%)		N	P
Lemnasloot	2011	31%	22%
	2012	52%	27%
Azollasloot	2011	53%	28%
	2012	85%	35%

Berekend uit de oogst is de verwijdering van nutriënten in 2012 hoger dan in 2011 voor beide soorten. *Azolla* verwijderd iets beter dan *Lemna*, al is dit voor stikstof niet met zekerheid te zeggen, vanwege de symbiose met de stikstoffixeerder. De hogere verwijdering in 2012 heeft te maken met de verblijftijd van het water.

Tabel 3.13 geeft de berekende verwijdering van nutriënten aan de hand van de geogste kroosbiomassa, maar dan bij de verschillende verblijftijden. Om de twee verblijftijden

vergelijkbaar te maken, is uitgegaan van dezelfde periode in het jaar (begin mei – begin september). De verblijftijd van 1 dag was in 2011 en van 2,5 dagen in 2012.

Tabel 3.13. Berekende verwijdering van nutriënten aan de hand van de geogste kroosbiomassa. Vergelijking van verblijftijd van 1 dag en van 2,5 dagen. De berekening is uitgevoerd over identieke perioden (begin mei–begin september). De verblijftijd van 1 dag is gehanteerd in 2011 en die van 2,5 dagen in 2012.

Nutriëntenverwijdering (%)		N	P
Lemnasloot	1,0 d	21%	11%
	2,5 d	64%	38%
Azollasloot	1,0 d	39%	16%
	2,5 d	105%	49%

Het effect van een langere verblijftijd is duidelijk zichtbaar. Een 2,5 keer hogere verblijftijd geeft ongeveer een 2,5 keer hoger verwijderingspercentage. Dit is volgens verwachting. De volledige verwijdering berekend uit de biomassaopbrengst van stikstof door *Azolla* laat zien dat *Azolla* stikstof onttrekt van de symbiont.

Tabel 3.14 laat de berekende gemiddelde nutriëntenverwijdering zien per verblijftijd en periode.

Tabel 3.14. Nutriëntenverwijdering berekend uit de kroosgroei per verblijftijd en per periode.

Verblijftijd (dagen)	Maand	Aantal	N verwijdering (%)		P verwijdering (%)		
			Lemna	Azolla	Lemna	Azolla	
1,0	TOTAAL	30	21%	39%	11%	16%	
	5	4	10%	23%	6%	10%	
	6	8	14%	22%	9%	9%	
	7	9	32%	58%	14%	20%	
	8	9	18%	33%	24%	32%	
2,5	TOTAAL	53	43%	70%	28%	33%	
	1	2	0%	0%	0%	0%	
	5	4	55%	102%	25%	37%	
	6	5	59%	88%	29%	35%	
	7	5	55%	98%	37%	52%	
	8	9	81%	130%	44%	56%	
	9	13	22%	41%	15%	26%	
	10	8	16%	27%	13%	19%	
	11	4	3%	16%	9%	35%	
	12	3	16%	5%	74%	22%	
	zomer			54%	92%	30%	41%
	winter			9%	12%	24%	19%

Hoewel de kroosgroei het hoogst was in juni, is het verwijderingspercentage het hoogst in augustus. Dit heeft te maken met een lagere inkomende vracht aan nutriënten in deze maand.

In de zomer is bij 2,5 dagen verblijftijd de verwijdering van N 54% voor *Lemna* en 92% voor *Azolla* en van P 30% voor *Lemna* en 41% voor *Azolla*.

Conclusie: in de *Lemna*-sloot is tijdens de proefperiode in 2011 tussen 173 en 524 kg N/ha verwijderd (31%) en in 2012 tussen 172 en 348 kg N/ha (52%). De verwijdering van fosfaat was in 2011 tussen 21 en 99 kg P/ha (22%) en in 2012 tussen 49 en 99 kg P/ha (27%). In de *Azolla*-sloot is tijdens de proefperiode in 2011 tussen 479 en 625 kg N/ha (53%) verwijderd en in 2012 tussen 451 en 786 kg N/ha (85%). De verwijdering van fosfaat was in 2011 tussen 50 en 93 kg P/ha (28%) en in 2012 tussen 47 en 88 kg P/ha (35%). De verwijdering van stikstof door *Azolla* is mogelijk overschat doordat deze soort in symbiose leeft met een stikstoffixerende bacterie. Het verwijderingsrendement was in 2012 hoger dan in 2011, omdat de verblijftijd van het water in de sloten in 2012 hoger was dan in 2011. Bij een verblijftijd van 2,5 dagen werd in de *Lemn*sloot gemiddeld over het jaar 43% van het stikstof verwijderd en bijna 28% van het fosfaat. In de *Azoll*sloot werd een derde van het fosfaat verwijderd bij een verblijftijd van 2,5 dagen. In de zomermaanden werd 54% van het stikstof en 30% van het fosfaat verwijderd door *Lemna* en 41% van het fosfaat door *Azolla*.

3.4.2 Nutriëntengehalten in in- en effluent van de sloten

Verwijdering berekend uit nutriëntengehalten in in- en effluent van de sloten

Nutriëntengehalten zijn gemeten in het influent van de sloten, in het water halverwege de sloten en in het water dat de sloten uit gaat. In Tabel 3.15 zijn de gemiddelde concentraties in in- en effluent weergegeven.

Tabel 3.15. Gemiddelde concentraties van nutriënten in in- en effluent van de kroosloten.

	Lemna			Azolla		
	In mg/l	Uit mg/l	Verwijdering %	In mg/l	Uit mg/l	Verwijdering %
2011+2012						
N-totaal	5,57	4,09	27%	5,57	5,05	9%
NH4	2,75	1,42	48%	2,75	1,61	41%
NO2+NO3	1,59	1,57	2%	1,59	2,24	-41%
N opgelost	4,34	2,99	31%	4,34	3,86	11%
P-totaal	1,15	0,83	28%	1,15	0,99	14%
Ortho-P	1,09	0,86	21%	1,09	1,05	4%
2011						
N-totaal	5,95	4,52	24%	5,95	5,62	5%
NH4	2,30	1,01	56%	2,30	1,19	48%
NO2+NO3	2,42	2,38	2%	2,42	3,22	-33%
N opgelost	4,72	3,39	28%	4,72	4,42	6%
P-totaal	0,84	0,49	42%	0,84	0,67	20%
Ortho-P	0,80	0,50	37%	0,80	0,71	11%
2012						
N-totaal	5,19	3,59	31%	5,19	4,38	16%
NH4	3,30	1,90	42%	3,30	2,10	36%
NO2+NO3	0,60	0,63	-4%	0,60	1,11	-85%
N opgelost	3,91	2,53	35%	3,91	3,21	18%
P-totaal	1,46	1,22	16%	1,46	1,35	7%
Ortho-P	1,36	1,28	6%	1,36	1,43	-5%

Gemiddeld over de twee jaren wordt 28% van de totaal stikstof en 29% van de totaal-fosfor uit de *Lemnas*loot verwijderd volgens de metingen in het water. In de *Azollas*loot zijn deze percentages respectievelijk 9% en 13%.

In beide sloten is een sterke afname van de ammoniumconcentratie te zien en een toename of zeer lage afname van nitriet+nitraat. Dit is ook gezien bij de analyses van het metalenonderzoek (paragraaf 3.5.2). De totale hoeveelheid opgelost stikstof (ammonium+nitriet+nitraat) neemt wel af. Dit geeft aan dat er, behalve opname door de kroosplanten ook nitrificatie plaatsvindt. Dit verklaart ook gedeeltelijk de afname van de zuurstofconcentraties in de sloten (zie Figuur 3.3). De kroosloten zijn derhalve effectieve verwijderaars van ammonium. Dit is ook geconstateerd in het onderzoek van Van Kempen et al. ([5]).

Conclusie: volgens de wateranalyses wordt 28% van de totaal stikstof en 29% van de totaal-fosfor uit de *Lemnas*loot verwijderd volgens de metingen in het water. In de *Azollas*loot zijn deze percentages respectievelijk 9% en 13%. Deze percentages zijn gemiddeld behaald over ongeveer driekwart jaar. Voor de KRW geldt een norm over het zomerhalfjaar, waarin de

verwijderingspercentages hoger zijn. Beide sloten zijn effectieve verwijderaars van ammonium. Ammonium wordt opgenomen door de planten en door bacteriën omgezet in nitraat.

3.4.3 Vergelijking opname berekend uit wateranalyses en uit kroosogst

De gemeten nutriëntenverwijdering is, zoals weergegeven in voorgaande paragrafen, te berekenen uit de oogst en uit de analyses van het water in de sloten. In Tabel 3.16 zijn de resultaten van beide berekeningsmethoden weergegeven. Tabel 3.17 laat de resultaten zien van de berekeningen bij de twee gehanteerde verblijftijden.

Tabel 3.16. Berekende nutriëntenverwijdering uit oogst en uit wateranalyses.

Nutriëntenverwijdering	Berekend uit:	N		P	
		oogst	water	oogst	water
Lemnasloot	2011	31%	24%	22%	37%
	2012	52%	30%	27%	10%
Azollasloot	2011	53%	5%	28%	11%
	2012	85%	15%	35%	-1%

Tabel 3.17. Berekende nutriëntenverwijdering uit oogst en uit wateranalyses bij de twee gehanteerde verblijftijden. De berekening is uitgevoerd over identieke perioden (begin mei-begin september). De verblijftijd van 1 dag is gehanteerd in 2011 en die van 2,5 dagen in 2012.

Nutriëntenverwijdering (%)	Verbl. tijd	N		P	
		oogst	water	oogst	water
Lemnasloot	1,0 d	21%	41%	11%	44%
	2,5 d	64%	34%	38%	23%
Azollasloot	1,0 d	39%	7%	16%	10%
	2,5 d	105%	14%	49%	8%

Te zien is dat de resultaten nogal afwijken van elkaar. In de *Azollasloot* wordt in 2012 geen verwijdering gemeten in het water, terwijl de geoogste *Azolla* ongeveer 35% van het fosfaat opgenomen zou moeten hebben. Ook laten de wateranalyses een vermindering van de verwijdering zien bij een langere verblijftijd. Dit strookt niet met de theorie en ook niet met de berekende verwijdering uit de biomassaogst. Hierdoor lijken de wateranalyses niet representatief. Achteraf is het echter moeilijk in te bepalen waar de discrepanties precies vandaan komen. Vooralsnog lijkt de berekende opname door de geoogste biomassa het meest betrouwbaar.

Bij het metalenonderzoek (zie paragraaf 3.5.2) zijn watermonsters genomen. Dit waren steekmonsters op verschillende plekken in de sloten. In Tabel 3.18 zijn de afnames van stikstof en fosfaat weergegeven berekend uit de reguliere monsternames van het water, uit het metalenonderzoek en uit de kroosgroei. Deze berekeningen zijn alle van de datum van

monsternamen van het metalenonderzoek (begin oktober 2011) en zouden dus goed vergelijkbaar met elkaar moeten zijn.

Tabel 3.18. Vergelijking van de afnames van stikstof en fosfaat berekend uit de afname van nutriënten in het water (7 oktober 2011), uit de metingen bij het metalenonderzoek (5 oktober 2011) en uit de biomassatoename (4 oktober 2011).

Afnames in de sloten	Lemna			Azolla		
	Water-analyses	Metalen-onderzoek	Biomassa-toename	Water-analyses	Metalen-onderzoek	Biomassa-toename
Totaal-stikstof	43%	77%	39%	23%	59%	29%
Totaal-fosfor	24%	78%	58%	15%	74%	18%

De opname van nutriënten is volgens de metingen van het metalenonderzoek veel hoger dan berekend uit de reguliere bemonstering van het water en berekend uit de kroosgroei. Deze nutriëntenmonsters zijn genomen met een steekmonster op een dag.

In de berekening volgens de wateranalyses zijn zodanig ingesteld dat een mengmonster wordt genomen die zo goed mogelijk is afgestemd op de verblijftijd van het water. In perioden van kroosgroei komt het echter regelmatig voor dat de gemeten nutriëntenconcentratie in het bemonsterde water uit het eind van de sloot hoger zijn dan die afkomstig uit het begin van de sloot. Dit is alleen mogelijk als er een piek in concentraties door de sloot stroomt die wel wordt opgepikt door de eindbemonstering en niet door de beginbemonstering. Dat is echter alleen mogelijk als de bemonstering niet goed is afgestemd op de verblijftijd in de sloten en daarmee zijn de waterbemonsteringen niet representatief voor wat er in de sloten gebeurt. Hier is dus sprake van een meetfout. Deze conclusie wordt ondersteund door de constatering dat een toename van de verblijftijd volgens de berekeningen uit de wateranalyses een afname van het zuiveringsrendement oplevert (zie Tabel 3.17) en door de berekende verwijdering van -1% P-verwijdering in de Azollasloot (zie Tabel 3.16). Aangezien er geen P wordt toegevoegd aan de sloten (anders dan met het influent), maar alleen verwijderd met de biomassa, kan het rendement niet negatief of 0 zijn.

Conclusie: de berekende nutriëntenverwijdering uit de wateranalyses, uit het metalenonderzoek en uit de geoogste biomassa vertonen grote verschillen. De berekende verwijdering uit de wateranalyses lijkt niet betrouwbaar.

3.5 Opname van zware metalen

3.5.1 Monsternamen en analyse

In oktober 2011 is een metalenonderzoek uitgevoerd waarbij de gehalten metalen in kroos en in het water van de sloten. Voor uitgebreide beschrijving van de resultaten wordt verwezen naar het deelrapport over de laboratoriumexperimenten ([5]). De belangrijkste resultaten worden hier herhaald.

De monsters werden genomen op 5 oktober 2011 op de 10 locaties. Monsterlocatie 0 is het influent van de sloten (het effluent van de rwzi).

De nutriëntengehalten en concentraties van metalen werden bepaald in de genomen monsters.

3.5.2 Resultaten

Concentraties in het water

De gradiënten P en N in de sloten lieten zien dat er in de *Lemna* sloot tussen punt 0 en punt 10 een reductie was van 78 % en 77 % respectievelijk. Voor de *Azolla* sloot gold dat de reductie van P en N respectievelijk 74 % en 59 % waren. Wat opvalt, is dat er in beide sloten een afname was van ammonium tot wel 95 %, iets wat ook in de reguliere watermetingen in de sloten is geconstateerd.

Omdat de opzet binnen het project er in eerste instantie op gericht was om de op effluent gekweekte biomassa in te zetten als veevoer, werd ervoor gekozen de kwaliteit van het effluent te vergelijken met de normen voor drinkwater ([13]) omdat deze zeer streng zijn. Wanneer de gemeten concentraties worden vergeleken met de drinkwaternormen, dan bevatte het effluent van de rwzi te veel ijzer, mangaan, boor en koper. In de *Lemnas* sloot was daarnaast de concentratie kwik in het instromende water te hoog. Voor veruit de meeste elementen en ionen gold dat de concentraties in het effluent van de sloten veel lager waren dan de concentraties in het influent. Voor een aantal elementen was de afname tussen meetpunt 0 en meetpunt 1 direct heel groot. Mogelijk speelt de bezinking van deeltjes hierin een rol. In beide sloten was er een aanzienlijke gradiënt in de concentraties ijzer, mangaan, aluminium, kobalt, kwik en lood.

In de *Lemnas* sloot namen daarnaast de concentraties chroom en gallium aanzienlijk af, terwijl in de *Azollas* sloot vooral de concentraties boor, koper, arseen en selenium werden gereduceerd. Hoewel de concentraties van de meeste van deze spoorelementen in het influent al laag waren, werden zij waarschijnlijk wel door de planten opgenomen.

Concentraties in de planten

De gehalten van een groot aantal stoffen in de biomassa van het kroos is bepaald. Hiermee werd inzicht verschaft in welke stoffen zich ophopen in de biomassa.

Voor de meeste elementen gold dat de interne concentratie in de biomassa de gradiënt in de proefsloot volgden. Dit wijst op een directe relatie tussen de concentratie in de biomassa en die in het effluent, iets wat ook bekend is uit de literatuur ([1]).

Omdat de relatieve beschikbaarheid van nutriënten over het algemeen grotere veranderingen laat zien bij een langere verblijftijd van het water, betekent dit dat bij de accumulatie van bepaalde elementen de verblijftijd van het water van invloed kan zijn. Behalve van de verblijftijd van het water met de daartoe behorende relatieve of absolute concentraties, zal

echter ook de verblijftijd van de planten een belangrijke rol spelen, waarbij geldt dat hoe langer de planten worden blootgesteld, des te meer ze zullen opslaan in hun biomassa. Vooral wanneer de planten om een of andere reden geremd worden in hun groei kan dit voor problemen zorgen omdat dan geen verdunning meer optreedt van het element door de toename van de biomassa.

Ten aanzien van de afzetmogelijkheden voor kroos tot veevoer staan lood, kwik, arseen en cadmium als ongewenste stoffen aangemerkt. Uit normtoetsingen (drinkwaternormen) van concentraties van deze stoffen in kroos blijkt dat alleen kwik overschrijdend is. Voor de meeste elementen bestaat er een directe relatie tussen de concentratie in de biomassa en die in het effluent.

Kwik geeft vooralsnog de grootste tegenstrijdige doelen. Hogere concentraties van kwik in het water (primaire doel) zijn ongewenst maar voor het veevoer zitten er in het kroos zelf al hoge concentraties. Qua waterzuiveringscapaciteit van metalen presteert in deze ene observatie al met al *Lemna* het beste.

Conclusies: de reductie van nutriënten (stikstof en fosfaat) in het effluent was aanzienlijk in beide sloten. De reductie van stikstof was in de *Lemnas*loot hoger dan in de *Azollas*loot. Het influent van beide sloten bevatte, vergeleken met de drinkwaternormen, te veel ijzer, mangaan, boor en koper. In de *Lemna* sloot was daarnaast de concentratie kwik in het influent te hoog. De concentraties van de meeste stoffen waren in het effluent van de sloten veel lager dan in het influent. Voor de meeste elementen bestond er een directe relatie tussen de concentratie in het water en in de biomassa.

3.6 Observaties in de sloten en bij het oogsten

3.6.1 Dieren

Regelmatig zijn op of in het kroosdek insecten waargenomen. Meestal ging dit om torretjes van onbekende soorten. Er zijn geen vraateffecten door insecten op het kroos waargenomen.

In het water onder het kroosdek zijn regelmatig watervlooien waargenomen. Deze leefden waarschijnlijk van kleine deeltjes dood organisch materiaal, omdat zij waargenomen werden in perioden zonder algengroei in de sloten.

Soms werden kikkers en dikkopjes gezien. Deze werden dan verwijderd.

3.6.2 Schimmels

Soms ontstonden er schimmelplekken in de *Azolla*-planten. Dit was met name het geval tijdens koude en donkere perioden (november en december 2011, half december 2012), maar ook soms in de zomer. Waarschijnlijk zijn de schimmelplekken in de zomer veroorzaakt door een (te) hoge dichtheid aan *Azolla*, waardoor er zich meer vocht ophoopt tussen het groen.

Wanneer schimmel werd geconstateerd werd dit verwijderd om besmetting en verdere verspreiding te voorkomen. Deze aanpak was altijd succesvol.

3.6.3 Algen

Wanneer er open plekken in het kroosdek ontstonden doordat het kroos afstierf of wanneer de verspreiding na oogsten niet goed egaal was gebeurd, ontstond soms een bloei van draadalgen. Als deze gingen groeien in de wintermaanden, overwoekerde deze met name *Lemna*. Deze algen werden zoveel mogelijk uit de sloten verwijderd.

In het bijbelichtingsexperiment met blauw led-licht, profiteerden deze draadalgen sterker van de bijbelichting dan *Lemna*. Na verloop van tijd was *Lemna* nagenoeg verdwenen en zat het vak vol met draadalgen.

3.6.4 Groeiperiode

In de winter van 2011/2012 is de laatste oogst geweest op 15 december. Daarna was de groei gestopt. In de winter van 2012/2013 was de laatste oogst op 13 december. *Azolla* heeft de winter overleefd, waardoor de productie in 2013 snel opgestart had kunnen worden bij voortgang van de proef. Een deel van de planten had last van schimmel, maar deze werden verwijderd. *Lemna* is grotendeels naar de bodem gezakt en overwoekerd door draadalgen.

In 2011 zijn de productie en monsternames gestart op 11 mei in in 2012 op 26 april.

3.6.5 Verspreiding na oogsten

Na het oogsten werden de overgebleven kroosplanten zo goed mogelijk over het wateroppervlak verdeeld om een gesloten kroosdek te creëren en zo optimaal mogelijke omstandigheden voor het kroos om verder te groeien zonder dat de planten zichzelf overwoekerden. In de *Lemnas*loot ging dit goed, maar in de *Azollas*loot leverde dit soms problemen op. De overgebleven planten haakten soms met de wortels zodanig in elkaar dat zij moeilijk uit elkaar te halen waren zonder de planten te beschadigen. Uiteindelijk heeft het ontstaan van (kleine) gaten in het kroosdek geen problemen opgeleverd doordat bijvoorbeeld algen de overhand namen.

4. Conclusies en doorkijk naar full-scale

4.1 Algemeen

De proef heeft laten zien dat zowel *Lemna* als *Azolla* geschikt zijn om effluent van rwzi's gedeeltelijk te ontdoen van nutriënten. *Azolla* heeft als voordeel dat deze soort beter koudere omstandigheden kan overleven, maar heeft als nadeel dat deze minder stikstof verwijdert doordat de plant in symbiose leeft met een stikstoffixerende bacterie. Ook is *Azolla* gevoelig voor infecties met schimmel. Deze schimmel is echter onder controle te houden door de aangetaste planten te verwijderen.

4.2 Temperatuur, zuurstof en pH

De krooszuivering heeft geen effect op de pH van het water. Het water koelt in de winter af en warmt in de zomer op in de kroosloten. De zuurstofconcentratie in de kroosloten daalt soms sterk bij een gesloten kroosdek tot een minimum van iets meer dan 1 mg O₂/l.

4.3 Effecten van omgevingsvariabelen en kroosdichtheid op de kroosgroei

De instraling en de watertemperatuur zijn gerelateerd aan elkaar. De groei van *Lemna* is het sterkst gecorreleerd met de watertemperatuur, gevolgd door de instraling en van *Azolla* met de instraling gevolgd door de watertemperatuur. Er is geen groeiremming bij hoge temperaturen tot de maximaal gemeten kastemperatuur van 40°C. Bij kastemperaturen boven 16°C is er geen sterke stijging in groei met toenende temperaturen.

Er is een sterke correlatie tussen kroosgroei en de lichtinstraling. De groei van *Azolla* en *Lemna* neemt toe bij toenemende instraling.

De teruugogstdichtheid waarbij de maximale absolute groei van biomassa optreedt ligt tussen 1 en 2 kg uitlekgewicht/m². Dit geldt zowel voor *Lemna* als voor *Azolla*.

In het voor- en najaar, wanneer de groei relatief laag is, dient het kroos eens per week te worden geoogst. In de zomer (mei – augustus) is twee keer oogsten per week gewenst voor een optimale groei en daarmee verwijdering van nutriënten.

Er is in de kroosexperimenten geen groeilimitatie geweest door gebrek aan de nutriënten stikstof en fosfaat. Ook bij de laagst gemeten concentraties waren er geen aanwijzingen voor groeilimitatie.

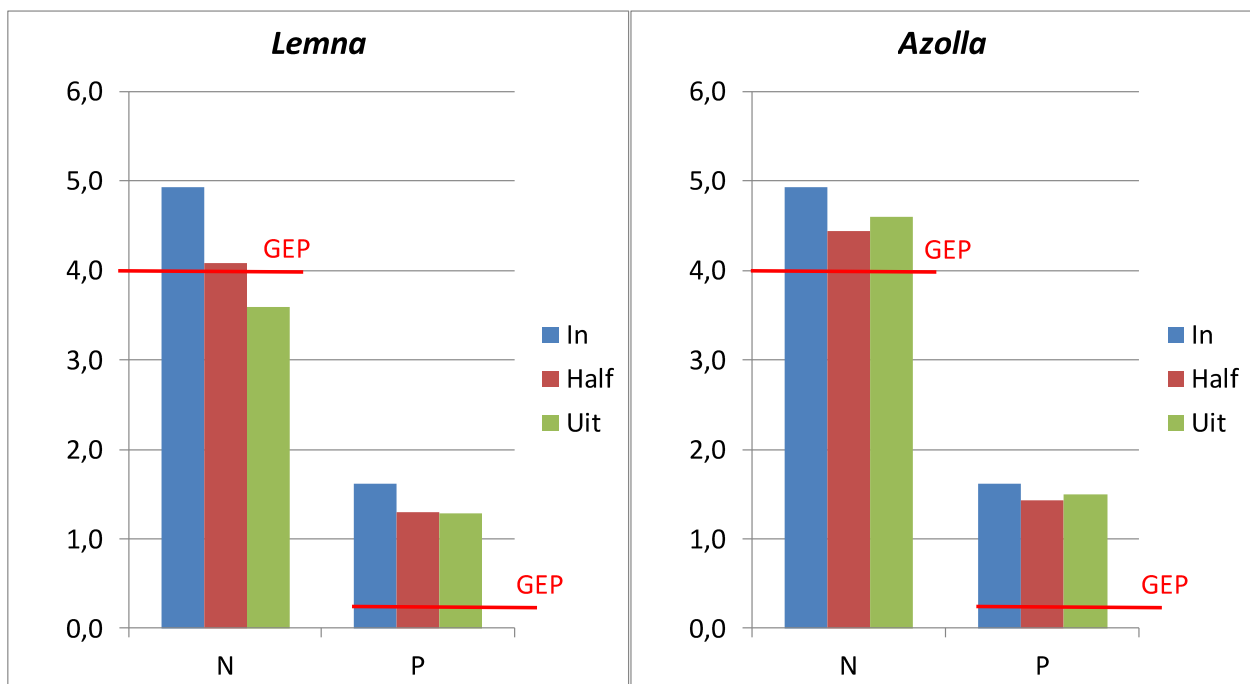
Het droge stofgehalte van *Azolla* is ongeveer een half procentpunt hoger dan dat van *Lemna*. Bij alle gemeten watertemperaturen is het droge stofgehalte ongeveer hetzelfde, behalve bij

temperaturen beneden 8°C. Beneden deze tempertuur waren de droge stofgehalten van zowel *Lemna* als *Azolla* bijna twee keer zo hoog.

Bijbelichten met blauw led-licht had geen positief effect op de kroesgroei.

4.4 Nutriëntenverwijdering en relatie met KRW

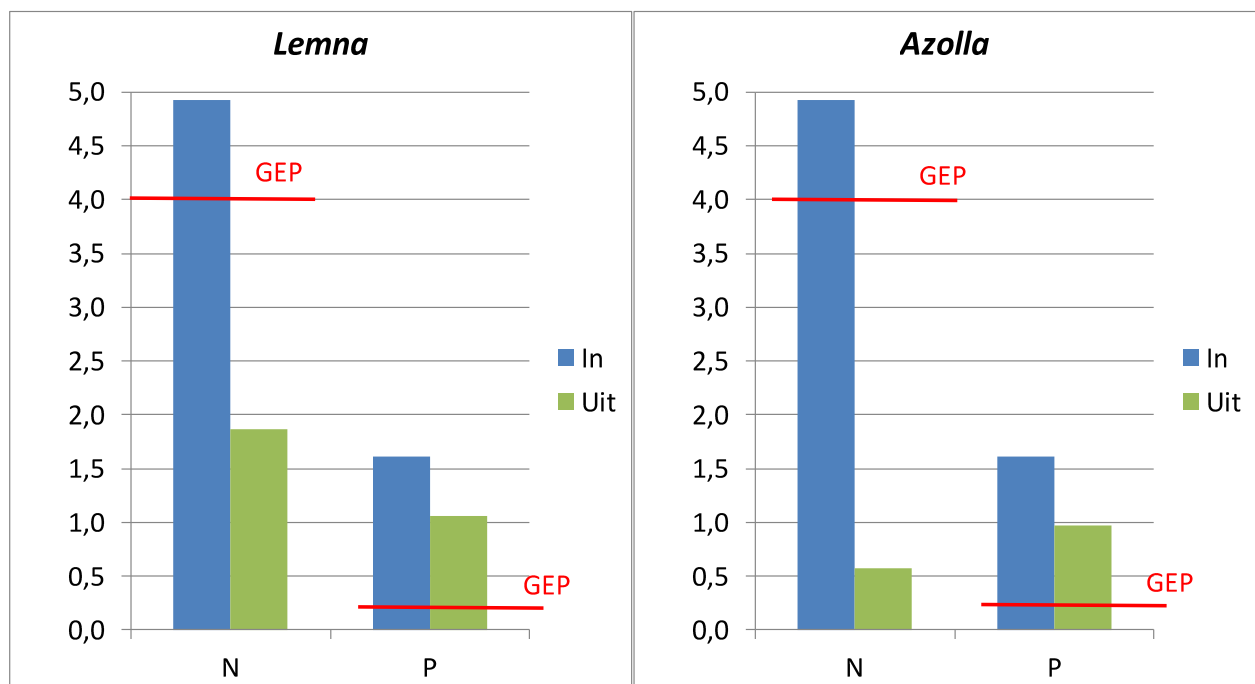
In de *Lemna*-sloot is tijdens de proefperiode in 2011 tussen 173 en 524 kg N/ha verwijderd (31%) en in 2012 tussen 172 en 348 kg N/ha (52%). De verwijdering van fosfaat was in 2011 tussen 21 en 99 kg P/ha (22%) en in 2012 tussen 49 en 99 kg P/ha (27%). In de *Azolla*-sloot is tijdens de proefperiode in 2011 tussen 479 en 625 kg N/ha (53%) verwijderd en in 2012 tussen 451 en 786 kg N/ha (85%). De verwijdering van fosfaat, berekend uit de biomassa-toename, was in 2011 tussen 50 en 93 kg P/ha (28%) en in 2012 tussen 47 en 88 kg P/ha (35%). De verwijdering van stikstof door *Azolla* is mogelijk overschat doordat deze soort in symbiose leeft met een stikstoffixerende bacterie. Het verwijderingsrendement was in 2012 hoger dan in 2011, omdat de verblijftijd van het water in de sloten in 2012 hoger was dan in 2011. Bij een verblijftijd van 2,5 dagen werd in de *Lemna*-sloot gemiddeld over het jaar 43% van het stikstof verwijderd en bijna 28% van het fosfaat. In de *Azolla*-sloot werd een derde van het fosfaat verwijderd bij een verblijftijd van 2,5 dagen. In de zomermaanden werd 54% van het stikstof en 30% van het fosfaat verwijderd door *Lemna* en 41% van het fosfaat door *Azolla*. In Figuur 4.1 zijn de in- en uitgaande concentraties en de concentraties halverwege de sloten van totaal stikstof en totaal fosfor weergegeven tijdens de zomerperiode bij een verblijftijd van 2,5 dagen. Tevens zijn de GEP-normen weergegeven van het ontvangende oppervlaktewater.



Figuur 4.1. In- en uitgaande concentraties van totaal stikstof en totaal fosfor in de *Lemna*- en *Azolla*-sloot berekend uit de metingen in het water.

Omrekenen naar ingaande en uitgaande concentraties en vergelijking met de KRW-normen levert Figuur 4.2 op. Deze waarden zijn berekend uit de metingen in de zomermaanden en geven dus de zomergemiddelde situatie weer. De waarden zijn weergegeven bij een verblijftijd van 2,5 dagen. De weergegeven ingaande concentratie is de zomergemiddelde gemeten concentratie tijdens de periode dat de sloten in de zomermaanden een verblijftijd van 2,5 dagen hadden. De uitgaande concentratie is berekend uit de zomergemiddelde groeisnelheid bij 2,5 dagen verblijftijd. De weergegeven GEP waarden zijn de waarden voor het ontvangende oppervlaktewater.

Te zien is dat in de zomer stikstof tot ruim onder de GEP-norm wordt verwijderd, maar totaal fosfor niet.



Figuur 4.2. In- en uitgaande concentraties van totaal stikstof en totaal fosfor in de *Lemna*- en de *Azolla*sloot berekend uit de opname door de planten.

Volgens de wateranalyses wordt 28% van de totaal stikstof en 29% van de totaal-fosfor uit de *Lemna*sloot verwijderd volgens de metingen in het water. In de *Azolla*sloot zijn deze percentages respectievelijk 9% en 13%. Beide sloten zijn effectieve verwijderaars van ammonium. Ammonium wordt opgenomen door de planten en door bacteriën omgezet in nitraat.

De berekende nutriëntenverwijdering uit de wateranalyses, uit het metalenonderzoek en uit de geoogste biomassa vertonen grote verschillen. De berekende verwijdering uit de wateranalyses lijkt niet betrouwbaar.

Met de krooszuivering is het mogelijk om met een verblijftijd van 2,5 dagen ruim onder de GEP-norm voor stikstof te komen. Fosfaat wordt niet ver genoeg verwijderd om de norm te behalen.

4.5 Verwijdering van zware metalen

Het influent van beide sloten bevatte, vergeleken met de drinkwaternormen, te veel ijzer, mangaan, boor en koper. In de *Lemna* sloot was daarnaast de concentratie kwik in het influent te hoog. Voor veruit de meeste elementen en ionen gold dat de concentraties in het effluent van de sloten veel lager waren dan de concentraties in het influent. Voor de meeste elementen bestond er een directe relatie tussen de concentratie in de biomassa en die in het water. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de accumulatie van verschillende elementen afhangt van de verblijftijd van het effluent. Daarnaast zal ook de verblijftijd van de planten een belangrijke rol spelen, waarbij geldt dat hoe langer de planten worden blootgesteld, des te meer ze zullen opslaan in hun biomassa.

4.6 Doorkijk naar een full-scale krooszuivering

De proef laat zien dat het goed mogelijk is om met kroos nutriënten en zware metalen te verwijderen uit effluent van rwzi's. Dit kan zonder toevoeging van extra energie gedurende de zomermaanden en een deel van de wintermaanden. Voor de opschaling naar een full-scale krooszuivering moeten nog een paar praktische hobbels worden genomen.

4.6.1 Kweek

In zowel 2011 als 2012 is relatief laat begonnen met het opstarten van de kroossloten. Gezien de groeicurves, moet het mogelijk zijn om in april of mei te beginnen met kweken en oogsten. Met een goede overwintering kunnen de sloten eerder worden geënt met planten, zodat de kweek eerder op gang komt. De krooszuivering kan dan het hele zomerseizoen (april-september) werken. Er moet dan in april een batch kroos klaar zijn om de proefsloten mee te enten om deze zo snel mogelijk vol te hebben.

4.6.2 Overwinteren

Zoals aangestipt in paragraaf 4.6.1 is het van belang om zoveel mogelijk kroos de winter door te helpen om de sloten vroeg in het voorjaar te kunnen enten. In de winter van 2012/2013 is het gelukt om *Azolla* de winter door groen te houden door het kroosdek gesloten, maar niet te dik te houden en schimmelplekken te verwijderen. *Lemna* zakte naar de bodem tijdens de donkere en koude periode. Het is wellicht mogelijk om een deel van de *Lemna*-planten de winter door te helpen door deze te houden in een verwarmde en bijbelichte kas. Van daaruit kan dan in maart de sloten worden geënt. De krooszuivering kan dan het gehele zomerseizoen (april-september) werken. Het is gelukt om *Azolla* in de kas de winter te laten overleven. Voor *Lemna* is een winteropslag nodig in een verwarmde, goed geïsoleerde ruimte ([2]). Hierbij moet gezorgd worden dat de temperatuur niet onder de 8 graden komt. Berekeningen ([2]) wijzen uit dat bij een goede isolatie maar weinig bijverwarmen nodig is.

4.6.3 Oogst

De oogst is in de proefsloten met de hand gebeurd. Er is geen automatisch oogststelsel ontwikkeld. Bij een grootschalige kweek is een automatisch oogststelsel wel noodzakelijk. Voor de ontwikkeling kan een technische opleiding worden benaderd en vervolgens een marktpartij die de machines op de markt brengt. Er zijn al enkele technieken in het buitenland ontwikkeld voor kroos oogst of voor kroosverwijdering uit oppervlaktewater ([2]), maar deze zijn niet allemaal geschikt voor het kweken van kroos in sloten. Deze technieken zijn systemen met transportbanden (eventueel op een boot), vegen van het wateroppervlak en zuigen van het wateroppervlak. Een optimalisatie (zowel technisch als financieel) van een of meer van deze technieken is nodig om ze geschikt te maken voor commerciële kweek van kroos.

4.6.4 Verwerking

Bij een grootschalig systeem dient in voor- en najaar eens per week en in de zomer twee keer per week te worden geoogst. De oogst dient direct te worden afgevoerd voor verwerking om rotting en daarmee waardeverlies te voorkomen. Bij extraheren van de eiwitten uit het kroos kan het kroos nat verwerkt worden. Eventueel kan het tijdelijk worden opgeslagen in een koelcel. Er dienen duidelijke afspraken gemaakt te worden met de afnemer om het kroos zo snel mogelijk verwerkt te hebben.

Momenteel is er een partij (ABCkroos) die werkt aan een proeffabriek voor de extractie van eiwitten uit kroos. Hiermee komt een complete keten van kweek tot en met afzet in zicht.

4.6.5 Monitoren

Monitoring van zowel de oogst als de kwaliteit van in- en effluent is belangrijk om de prestaties van de krooszuivering te kunnen volgen. Zoals uit deze rapportage blijkt, valt het niet mee om een goede inschatting te krijgen van de werkelijke prestaties. Er dient een compromis gevonden te worden tussen betrouwbaarheid van de monitoringsresultaten en de -kosten. Hier ligt nog ruimte voor experimenteren en het dichterbij elkaar brengen van berekende verwijdering uit de metingen van de geoogste biomassa en de metingen van de waterkwaliteit.

4.6.6 Bypass van afvoerpieken

Hoge afvoerpieken bij regenval of dooi dient bij voorkeur niet door de kroossloten geleid te worden. Bij hoge afvoerpieken treedt vaak verdunning van het effluent op, terwijl het debiet toeneemt. Bij dooi daalt de temperatuur van het water soms sterk en dit kan ervoor zorgen dat het kroos niet meer wil groeien. Het is dan ook aan te raden om hoge afvoerpieken in ieder geval gedeeltelijk direct te lozen en niet via de kroossloten te leiden. Een bypassstelsel zoals getest is bij rwzi Garmerwolde zou hiervoor geschikt kunnen zijn ([2]).

5. Literatuur

- [1]. Bennicelli, R., Z. Stepniewska, A. Banach, K. Szajnocha, and J. Ostrowski (2004). The ability of *Azolla caroliniana* to remove heavy metals (Hg(II), Cr(III), Cr(VI)) from municipal waste water. *Chemosphere* 55: 141-146.
- [2]. Chiquito, J. (2012). Afstudeerverslag opschaling krooszuivering.
- [3]. Hoorn van Dullemen, M. Van (2012). Effluentpolishing met kroos. Deelrapport 4: Pilotstudie.
- [4]. Hoving, I.E. & G. Holshof (2012). Effluentpolishing met kroos. Deelrapport 3: Kroos als product.
- [5]. Kempen, M.M.L. van, M.J.J.M. Verhofstad & A.J.P. Smolders (2012). Effluentpolishing met kroos. Deelrapport 2: Laboratoriumexperimenten.
- [6]. Otte, A. (2010). Effluentpolishing met kroos. Deelrapport 1: literatuurstudie.
- [7]. Otte, A. (2012a). Effluentpolishing met kroos. Deelrapport 6: ontwerpmodel.
- [8]. Otte, A. (2012b). Jaarrapportage kroosexperiment 2012. Bioniers, 1 december 2012.
- [9]. www.ru.nl/fnwi/gi/
- [10]. STOWA (1992). Ontstaan en bestrijden van deklagen van kroos. 1. Literatuur. STOWA rapport 92-09.
- [11]. Tischner R. (2000). Nitrate uptake and reduction in higher and lower plants. *Plant, cell and environment* 23: 1005-1024
- [12]. Vreede, B. De (2012). Effluentpolishing met kroos. Deelrapport 7: koepelrapport gebaseerd op informatie uit alle deelrapporten.
- [13]. <http://wetten.overheid.nl/BWBR0028642/>.