



Datum
19 augustus 2021

Pathogenen en medicijnresten in struviet uit communaal afvalwater

Onderzoek voor het rechtsoordeel einde-afvalfase

Ir. Aalke Lida de Jong (AquaMinerals)
Drs. P.P.C. Vriend (Waternet)

Inhoud

Inhoud	3
Voorwoord	5
Samenvatting	6
1 Inleiding	9
1.1 Aanleiding	9
2 Beschrijving RWZI's en het productieproces van struviet	12
2.1 Productie van struviet uit communaal afvalwater	12
2.2 Overzicht onderzochte RWZI's met productie van struviet	13
2.4 Productieproces RWZI Amsterdam West (Waternet)	14
2.5 Productieproces RWZI Apeldoorn (Vallei en Veluwe)	14
2.6 Productieproces RWZI Amersfoort (Vallei en Veluwe)	16
2.7 Productieproces RWZI Land van Cuijk (Aa en Maas)	16
3 Toepassing van struviet	18
4 Analysemethode	21
4.1 Analysepakket	21
4.2 Medicijnen	21
4.3 Pathogenen	22
4.4 Analysemethode en kwaliteitsborging	23
4.4.1 Laboratoria	23
4.5 Analysemethoden	23
4.6 Kwaliteitsborging	24
4.7 Validatie van de gebruikte analyse methodiek	24
4.8 Betrouwbaarheid van gepresenteerde detectielimiet.	26
5 Methode risicobeoordeling	29
5.1 Beschrijving struvietketen	29
5.2 Normen en grenswaarden	29
5.3 Aanpak risicobeoordeling	32
6 Monsternamprocedure en -verslag	34
6.1 Aanpak monsternam	34
6.2 Verslag monsternam eerste ronde	35
6.3 Verslag monsternam tweede ronde	35
6.4 Verslag monsternam derde ronde	35
6.5 Verslag monsternam vierde ronde	35
6.6 Verslag monsternam vijfde ronde	36
7 Analyseresultaten	37
8 Risicobeoordeling	39
8.1 Toetsing pathogenen aan de normen	39
8.2 Triggerwaarden medicijnresten en hormonen	39
8.3 Evaluatie ecotoxiciteit medicijnen in het struvietproduct	40

8.4	Evaluatie ecotoxiciteit medicijnen in de bodem na toepassing struviet	41
8.5	Evaluatie ER Calux	42
8.6	Evaluatie Pathogenen	43
8.6.1	Referentiewaarden voor pathogenen	43
8.7	Dosis-respons berekening	45
9	Discussie analyseresultaten en risicobeoordeling	46
9.1	Discussie analyseresultaten	46
9.1.1	Medicijnen en hormonen	46
9.2	Pathogenen	46
9.3	Seizoenseffecten	47
9.4	Vergelijking analyseresultaten met eerdere metingen en literatuur	48
9.5	Maatregelen om de blootstelling aan pathogenen te beperken	48
9.6	Risico medicijnresten en pathogenen in verschillende toepassingsketens	49
9.7	Conclusie resultaten risicobeoordeling	50
9.8	Onzekerheden	50
10	Aanvullend onderzoek effect opslag op pathogenen	52
10.1	Onderzoeksopzet	52
10.2	Resultaten	53
10.3	Conclusie voor het hoofdrapport	53
11	Conclusies en aanbevelingen	55
11.1	Conclusies	55
11.2	Aanbevelingen	56
11.3	Vervolgonderzoek en monitoring	57
12	Literatuur	58
Bijlage 1	Onderbouwing selectie medicijnresten	61
Bijlage 2	Recovery rates medicijnen Wessling	62
Bijlage 3	Monsternamen instructie struviet	64
Bijlage 4	Berekening PNEC_{soil}	65
Bijlage 5	Monsternamen verslagen	69
Bijlage 6	Analyse certificaten	79
Bijlage 7	Rapport pathogen HAS	80

Voorwoord

Dit onderzoek is uitgevoerd als onderdeel van het traject tot het verkrijgen van een rechtsoordeel voor de einde-afvalstatus voor struviet. Het diende daarnaast voor RIVM als testcase voor het ontwikkelen van de Safe and Sustainable Loops methodiek voor het beoordelen van de risico's van herwonnen stoffen. Dit maakte het onderzoek tot een gezamenlijk proces van vallen en opstaan met veel voortschrijdend inzicht dat veel meer tijd heeft gekost (bijna 5 jaar) dan iemand aan het begin had kunnen vermoeden.

Wij willen Esther van der Grinten en Rob de Jonge van RIVM van harte bedanken voor het intensieve meedenken en vooral de prettige samenwerking gedurende het traject. We hebben enorm veel van jullie geleerd. We bedanken Ruud Schemen die als voorzitter van de EFGF werkgroep Nutriënten veel input heeft geleverd en zaken in gang gezet zoals het aanvullend pathogenenonderzoek. Graag bedanken we ook de overige leden van de begeleidingsgroep waarmee dit proces zijn doorlopen en die aan het resultaat hebben bijgedragen: Herman Walthaus van het Ministerie van IenW, Joke Teeninga en Olaf van Hunnik van RWS Leefomgeving en Job Spijker en Theo Traas van RIVM. Verder bedanken we onze contactpersonen op de verschillende productielocaties voor het aanleveren van informatie en monstermateriaal en het meedenken over de gevonden resultaten: Alex Veldman van Waternet, Bart Verberk van Aa en Maas en Frank Peters van Vallei en Veluwe.

Paul Vriend
Aalke Lida de Jong

19 augustus 2021

Samenvatting

Aanleiding

De waterschappen winnen fosfaat terug uit afvalwater in de vorm van struviet en willen deze grondstof als product op de markt brengen. Daarvoor hebben de waterschappen onderbouwd dat struviet geen afvalstof is. Om meer rechtszekerheid te krijgen heeft Waternet heeft een rechtsoordeel aangevraagd bij Rijkswaterstaat Leefomgeving. Deze heeft RIVM gevraagd om te adviseren over de risico's van medicijnen, hormonen en pathogenen in het struviet. Volgens het RIVM (van der Grinten et al, 2017) zijn er geen aanwijzingen dat gebruik van struviet een verhoogd risico voor het milieu of de volksgezondheid vormt. Echter is deze conclusie gebaseerd op een beperkt aantal meetgegevens, zodat in overleg met alle betrokkenen is besloten om aanvullende metingen te verrichten om de veiligheid van struviet uit communaal afvalwater als meststof en als grondstof voor meststoffen beter te onderbouwen.

Onderzoek

Onderzocht is het struviet van vier rioolwaterzuiveringen met verschillend struviet productietechnieken. Daarnaast is ook handmatig extra gereinigd struviet onderzocht om na te gaan of de onderzochte stoffen in het struvietkristal zitten of erbuiten. Het struviet van deze vier locaties is in vier meetrondes met een tussen-tijd van 3-4 maanden bemonsterd en geanalyseerd.

Het struviet is geanalyseerd op tien representatieve medicijnen als indicator voor de verschillende medicijn-groepen en op twee hormoonstoffen. Voor de pathogenen is gekozen voor de indicatoren die zijn voorgesteld voor de beoordeling van teruggewonnen fosfaten in de EU-meststoffenverordening (Strubias pre-final report, Huijgens et al 2018). Dit (is het toekomstig kader. Daaraan zijn toegevoegd SSRC (sporen van sulfiet reducerende clostridia) als indicator voor overlevingsvormen (sporen, wormeieren, protozoa).

Aan hand van de analyseresultaten is een risicobeoordeling uitgevoerd. Voor medicijnen en hormonen is getoetst of de indicatieve $PNEC_{soil}$ (predicted no-effect concentration) in de bodem wordt overschreden bij gebruik van onverdund struviet. De $PNEC_{soil}$ is de concentratie (bovengrens) waar geen effecten optreden op het bodemleven. De pathogenen zijn getoetst aan de verwachte normen voor struviet in de EU-meststoffenverordening en vergeleken met concentraties in andere meststoffen end achtergrondwaarden.

De HAS Hogeschool heeft in opdracht een aanvullend onderzoek gedaan naar verloop van pathogenen gedurende opslag van struviet.

Resultaten

Alleen in het struviet van RWZI Amsterdam-West (uit slib) zijn indicator medicijnresten aangetroffen in concentraties net boven de detectielimiet (metropolol, ciprofloxacine). De aanwezigheid van hormonen is met de gevoelige ER-Calux methode in alle struviet in zeer lage doses aangetoond. De verschillende locaties laten flinke verschillen zien als het gaat om de pathogenen met grote variaties tussen de meetrondes. Salmonella is niet aangetoond. E.coli en SSRC zijn veelal aanwezig, C.perfringens in mindere mate. Enkele metingen van C.perfringens overschrijden de toekomstige EU-norm voor in eindproducten met teruggewonnen fosfaten. Alleen op RWZI Amersfoort is het struviet vrijwel vrij van pathogenen.

Aan de hand van de aangetroffen concentraties of detectielimiet is voor de medicijnresten en hormonen berekend hoeveel er bij een maximaal toegelaten dosering volgens de Meststoffenwet van onverdund struviet in de bodem terecht kan komen. De berekende concentraties in de bodem van medicijnen en hormonen liggen ruim onder de indicatieve grens (indicatieve $PNEC_{soil}$) waarbij het bodemleven effecten kan ondervinden ook bij toepassing van struviet gedurende 10 opeenvolgende jaren op één locatie.

Door adequate opslag van struviet voor levering kan ervoor gezorgd worden dat deze vrij is van E.coli (niet sporenvormende bacteriën). Om sporenvormende bacteriën te verwijderen (C.perfringens, andere SSRC) is een verhitingsstap nodig.

Zowel de gehalten van SSRC in struviet en de dosering op het land zijn aanzienlijk lager dan van compost. Het gebruik van struviet als meststof leidt niet tot een toename van SSRC in de bodem die hoger is dan de achtergrondwaarde.

Conclusies en aanbevelingen

Medicijnen en hormonen zijn in geen van de beoogde toepassingsketens een probleem. Bij gebruik van onbehandeld struviet geldt dat er aandacht nodig is voor mogelijke pathogenen.

Struviet dat voldoet aan de Strubias criteria voor E.coli en Salmonella kan veilig geleverd worden aan elke toepassingsketen aangezien de grondstof dan voldoet aan de toekomstige norm in de EU meststoffenverordening voor eindproducten met teruggewonnen fosfaten. Door voldoende opslagtijd op de RWZI kunnen, verdergaand dan deze norm, de niet-sporenvormende bacteriën verwijderd worden. De aanwezigheid van sporenvormers zoals C.perfringens is niet problematisch aangezien deze van nature in de bodem voorkomen.

Struviet dat niet voldoet aan deze eisen kan zonder verdere hygiënisatiestap of droogproces waarbij de niet-sporenvormers afsterven, alleen ingezet worden voor de productie van meststoffen voor de professionele markt. De risico's kunnen beheerst worden met gebruikersinstructies en teeltbeperkingen bij toepassing voor voedselgewassen zoals deze ook gelden voor dierlijke mest.

Aanbevolen wordt om nader onderzoek te doen naar verwijdering van E.coli door opslag om de opslagduur te kunnen bekorten en naar het voorkomen van aanwezigheid van C.perfringens met oog op levering van struviet als grondstof voor EU meststoffen. Aangeraden wordt deze norm in Brussel ter discussie te stellen aangezien de rationale ontbreekt. Daarnaast is structurele kwaliteitsbewaking op pathogenen gewenst.

1 Inleiding

1.1 Aanleiding

Met het rioolwater spoelen we ons menselijk afval weg en daarmee ook veel nutriënten. Een van die nutriënten is fosfaat, onmisbare stof die bijdraagt aan alles wat groeit en bloeit. De wereldvoorraad van fosfaat is eindig wat de terugwinning hiervan noodzakelijk maakt. Het fosfaat in het rioolwater vormt in het zuiveringsproces een verbinding met stikstof en magnesium tot struviet (magnesium ammonium fosfaat). Omdat struviet leidt tot schade en slijtage aan de rioolwaterzuiveringsinstallatie door het aankoeken (scaling) en het sterk schurende (abrasief) karakter zijn er steeds meer rioolwaterzuiveringsinstallaties die het struviet gecontroleerd winnen om zo schade te voorkomen (STOWA, 2011).

Struviet is nauwelijks oplosbaar in water, maar lost volledig op in zuur. Bij een lage PH van de bodem is de werking vergelijkbaar met gangbare fosfaatmeststoffen, bij een neutrale en hogere pH lost struviet langzaam op waardoor het als meststof waardevol kan zijn voor grasvelden en gewassen waar een langzame afgifte van een meststof de voorkeur geniet. Struviet kan ook worden toegepast als vervanger van fosfaaterts in de kunstmestindustrie of voor andere toepassingen van fosfaat (STOWA, 2013).

De waterschappen die struviet terugwinnen willen deze grondstof als product op de markt brengen. Rioolwater is in de Europese Unie een afvalstof. Voor grondstoffen gemaakt uit afval geldt dat deze om moeten voldoen aan de vier criteria voor einde-afvalfase uit de Europese Kaderrichtlijn afvalstoffen (KRA – 2008/98/EG) om als product te kunnen verhandelen:

1. de stof of het voorwerp wordt gebruikelijk toegepast voor specifieke doelen (meststof)
2. er is een markt voor of er is vraag naar de stof of het voorwerp (fosfaat)
3. de stof of het voorwerp voldoet aan de technische voorschriften voor de specifieke doelen en aan de voor producten geldende wetgeving en normen
4. het gebruik van de stof of het voorwerp heeft over het geheel genomen geen ongunstige effecten voor het milieu of de menselijke gezondheid.

In 2015 is het struviet in Nederland toegelaten als meststof, echter verliest het hiermee niet automatisch de afvalstatus. Waternet en andere struvietproducenten hebben daarom onderbouwd dat voldaan wordt aan de einde-afvalcriteria. Hiervoor hebben Waternet en anderen een registratie gedaan volgens de Reach verordening. Alle chemische producten die in Europa op de markt gebracht worden dienen geregistreerd te worden en hun risico's in kaart gebracht.

In 2016 heeft Waternet aan RWS Leefomgeving om een rechtsoordeel gevraagd over de einde-afvalstatus van struviet. Dit om de einde-afvalstatus meer rechtszekerheid te geven, ook voor andere struvietproducenten en afnemers. RWS Leefomgeving heeft aan RIVM een advies gevraagd over de risico's.

Volgens het RIVM (van der Grinten et al, 2017) zijn er na bestudering van de literatuur en beschikbare data geen aanwijzingen dat gebruik van struviet een verhoogd risico voor het milieu of de volksgezondheid vormt. RIVM geeft aan dat deze conclusie echter is gebaseerd op zeer weinig meetgegevens, zodat in overleg met alle betrokken partijen (Ministerie van IenW, Rijkswaterstaat, RIVM, Unie van Waterschappen, EFGF, Waternet en AquaMinerals) is besloten om aanvullende metingen te verrichten naar medicijnresten en pathogenen in RWZI struviet. Dit om de conclusie voldoende kracht te geven zodat RWS een goed onderbouwd rechtsoordeel kan afgeven.

Voor de risicobeoordeling is de "Safe and Sustainable Loops" methode toegepast die bij RIVM (Quik et al, 2019) in ontwikkeling is voor de beoordeling van teruggewonnen stoffen. Volgens deze methodiek wordt

systematisch met de stakeholders voor de verschillende milieuaspecten (modules) nagegaan of de risico's voldoende in beeld zijn of dat extra onderzoek nodig is. Deze modules zijn, zonder compleet te zijn:

- medicijnresten;
- pathogenen;
- antibioticaresistente organismen;
- hormonen
- bestrijdingsmiddelen;
- zeer zorgwekkende stoffen;
- nano-materialen;
- microplastics;
- duurzaamheid.

Deze modules worden uitgewerkt met selectiecriteria, die gaandeweg ontwikkeld worden of overgenomen uit bestaande of nieuw ontwikkelde regelgeving. Vastgesteld werd dat voor de beoordeling van struviet aanvullend onderzoek nodig is naar medicijnresten, hormonen en pathogenen. Later zijn daar de PFAS aan toegevoegd vanuit de groep met ZZS. De overige modules, zijn voldoende in beeld gebracht. Zware metalen, bestrijdingsmiddelen en ZZS (m.u.v. PFAS) zijn onderzocht door STOWA (Morgenschweis et al, 2015) en getoetst aan de Meststoffenwet.

1.2 Doel onderzoek

Het doel van dit onderzoek is om met extra meetgegevens ten aanzien van medicijnresten, hormonen en pathogenen de veiligheid van struviet uit communaal afvalwater als meststof en als grondstof voor meststoffen te onderbouwen. Waarmee aantoonbaar wordt voldaan aan de eisen van de Kaderrichtlijn afvalstoffen.

1.3 Aanpak

In Nederland waren bij de start van het onderzoek drie technologieën in gebruik voor de productie van struviet: Airprex, NuReSys en Pearl (Ostara). Deze zijn meegenomen in het onderzoek. Struviet wordt in Nederland gewonnen worden uit vergist slib of uit het centraat van de slibontwatering. Voor de kwaliteit van het struviet en de daarin opgenomen stoffen is niet alleen de bron en de struviet winningstechnologie van belang maar ook de wijze van bewerking, zoals wassen en drogen, en opslag van het product.

Aan het meetplan hebben vier van de zes struviet producerende RWZI's (anno 2018) deelgenomen. Van RWZI Amsterdam-West is zowel gewassen als ongewassen struviet onderzocht op verontreinigingen aan het struvietkristal hangen of zijn opgenomen in het kristal.

Om de seizoensinvloed van medicijngebruik (m.n. antibiotica) zijn volgens plan meetrondes uitgevoerd met een tussentijd van 4 maanden: december 2018, april 2019, juli 2019. Meerdere meetrondes geven ook inzicht in de variatie tussen monsters uit dezelfde installatie. Vanwege de resultaten uit de eerste drie meetrondes is een vierde meetronde uitgevoerd in september 2019. Tijdens het inzamelen zijn de productie-installaties gezien en is gesproken met productiemedewerkers en gevraagd naar bijzonderheden. De PFAS zijn later toegevoegd aan het onderzoek en in januari 2020 gemeten.

Na afronding van de meetrondes is een plan opgesteld voor verdere monitoring en maatregelen in het kader van de kwaliteitsbewaking.

1.4 Leeswijzer

In hoofdstuk 2 is een beschrijving opgenomen van de productie van struviet uit communaal afvalwater. Een eerste generieke beschrijving gevolgd door de productieprocessen van de participanten in dit onderzoek (Aa en Maas, Vallei en Veluwe en Waternet). Hoofdstuk 3 beschrijft de toepassingsketens voor struviet. In hoofdstuk 4 wordt de analyse van de verschillende parameters toegelicht, hun uitvoerders, validatie van de gebruikte methoden en betrouwbaarheid van de meetresultaten. Hoofdstuk 5 geeft een beschrijving van de

risicobeoordeling. In hoofdstuk 6 het monsternameplan en korte rapportage. Hoofdstuk 7 is een opsomming van de belangrijkste analyseresultaten. Hoofdstuk 8 is gewijd aan een evaluatie van de analysemethodes, terwijl in hoofdstuk 9 nader wordt ingegaan op de analyseresultaten en de risico's die naar aanleiding van de resultaten zijn vastgesteld. Hoofdstuk 10 is een samenvatting van aanvullend onderzoek door HAS Hogeschool. Conclusies, aanbevelingen en een monitoringsplan zijn opgenomen in hoofdstuk 11. Hoofdstuk 12 is een literatuuroverzicht. In de bijlagen zijn analyserapporten, monsterverslagen en achtergrondinformatie opgenomen.

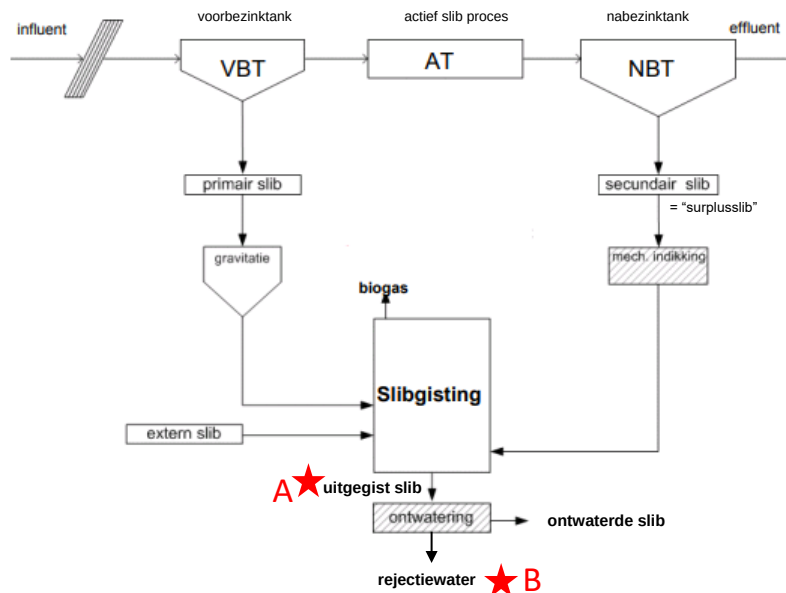
2 Beschrijving RWZI's en het productieproces van struviet

2.1 Productie van struviet uit communaal afvalwater

Struviet wordt geproduceerd op rioolwaterzuiveringen met een biologische fosfaatverwijdering. Bij vergisting van het slib dat overblijft na het zuiveren van het afvalwater kan fosfaat worden in vorm van struviet worden teruggewonnen. In figuur 1 staat aangegeven waar het struviet wordt gewonnen in het zuiveringsproces. A: Rechtstreeks uit het slib na vergisting of B: uit het rejectiewater na ontwatering van het slib na gisting. Om de vorming van struviet te bevorderen wordt magnesium toegevoegd aan het slib of het rejectiewater. De kwaliteit van het gevormde struviet en de daarin aanwezige stoffen is afhankelijk van de slibvergisting.

Vergisting wordt toegepast op communale rioolwaterzuiveringen om het slib te stabiliseren en te hygiëniseren. Meestal wordt het slib mesofiel vergist bij een temperatuur tussen de 30 en 38 °C en een verblijftijd van 20 dagen. Ook kan het slib thermofiel worden vergist bij een temperatuur van 55-65 °C en verblijftijd van 15 – 20 dagen. Omdat secundair slib (surplusslib, spuislib)¹ minder makkelijk vergist dan primair slib² wordt ter bevordering van het gistingsproces het secundair slib soms door middel van het thermische drukhydrolyse proces (TDH) voorbehandeld. Bij thermische drukhydrolyse verblijft het slib 20-40 minuten bij een temperatuur van 155-165 °C bij een druk van 5-9 bar, hierbij sterven pathogenen af. Dit zal ook de afbraak van medicijnresten bevorderen, maar ook in een enkel geval juist terugvorming van conjugaten veroorzaken. Op de meeste locaties wordt het struviet na de aftap uit de reactor gewassen door middel van een struviet wasser.

Figuur 1 Plaatsen voor struvietwinning op een RWZI



De drie technologieën in gebruik voor de productie van struviet voor de locaties in dit onderzoek zijn: Airprex, NuReSys en Pearl (Ostara).

¹ Biologisch slib dat wordt verwijderd uit de actiefslibinstallatie (slib met micro-organismen die organisch materiaal afbreken).

² Slib dat in de voorbezinktank van een waterzuiveringsinstallatie wordt afgescheiden en dat bestaat uit bezinkbare zwevende stoffen. Na de voorbezinktank gaat het afvalwater naar de actiefslibinstallatie.

2.2 Overzicht onderzochte RWZI's met productie van struviet

Tabel 1 Productielocaties struviet

RWZI	Proces	Bronmateriaal	Nabehandeling
Amsterdam West	Airprex	Surplusslib na mesofiele vergisting (A)	Met bedrijfswater gewassen (normale bedrijfsvoering)
Amsterdam West	Airprex	Surplusslib na mesofiele vergisting (A)	Extra gewassen, onzuiverheden handmatig verwijderd
Apeldoorn	NuReSys	Centraat ontwatering surplusslib (B) na TDH-vergisting op deelstroom	Ongewassen
Land van Cuijk	NuReSys	Centraat ontwatering slib na mesofiele vergisting (B)	Met kraanwater gewassen
Amersfoort	Pearl	Centraat ontwatering slib na TDH-vergisting (B)	Ongewassen, gedroogd op 75 °C

In de onderstaande tabel zijn de belangrijkste productiekenmerken opgenomen.

Tabel 2 Kenmerken productie op de onderzochte zuiveringen

RWZI	Amersfoort	Amsterdam	Apeldoorn	Cuijk
Type Slibvergisting	mesofiel	mesofiel	mesofiel	mesofiel
Voeding struvietreactor	rejectiewater	slib	rejectiewater en filtraat	rejectiewater
Systeem	Pearl	Airprex	Nuresys	Nuresys
Magnesiumzout (32 %)	MgCl ₂	MgCl ₂	MgCl ₂	MgCl ₂
Opslag struviet	Big bags	container	Big bags	container
pH correctie	NaOH	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Droging struviet	75 °C (T in)	uitlekken	uitlekken	uitlekken
Voorkomen product	droge parel	natte kristal	droge kristal	droge kristal
Plaats opslag	afgedekt	open lucht	open lucht	open lucht
productie (2019) t/jr	100	400	300	150

2.3 Samenstelling van het onderzochte struviet

Onderstaande tabel is de chemische samenstelling van het onderzochte struviet (indicatief; gehalten variëren). De samenstelling van het struviet van Amsterdam West betreft het bedrijfsmatig gewassen struviet (dus niet handmatig extra gewassen). Het organische koolstofgehalte kan bij grondig wassen onder de 3% gebracht worden.

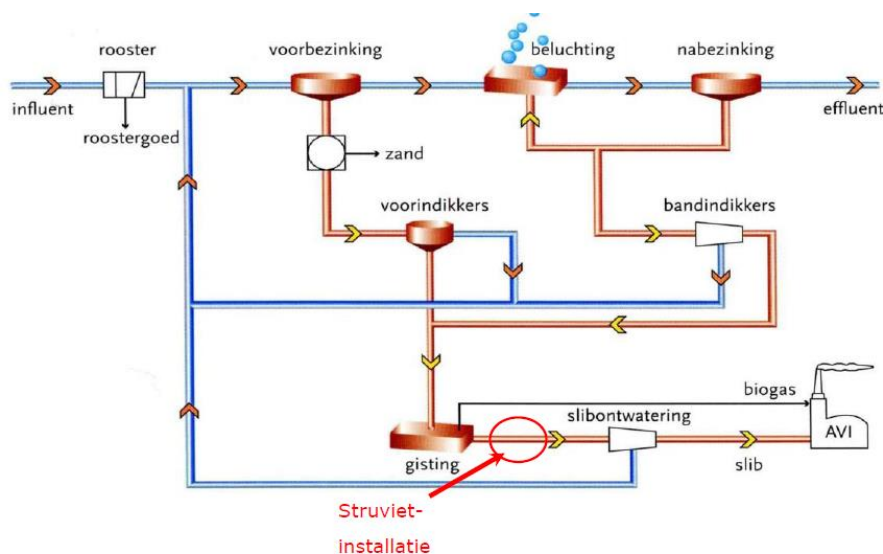
Tabel 3 Chemische samenstelling van struviet

% w/w	Amersfoort	A'dam West	Apeldoorn	Cuijk
P	12-13	9-12	12-13	12-13
Mg	9-10	9-10	9-10	9-10
N	5-6	5-6	5-6	5-6
P ₂ O ₅	28-30	21-27	27-30	27-30
Organische stof	<0,5	5-8	<0,5	<0,5
Organische koolstof	<0,3	2,7-4,4	<0,3	<0,3
Kwarts	<0,1	10,7	<0,1	<0,1
Fe	<0,3	1,1-1,3	<0,3	<0,3

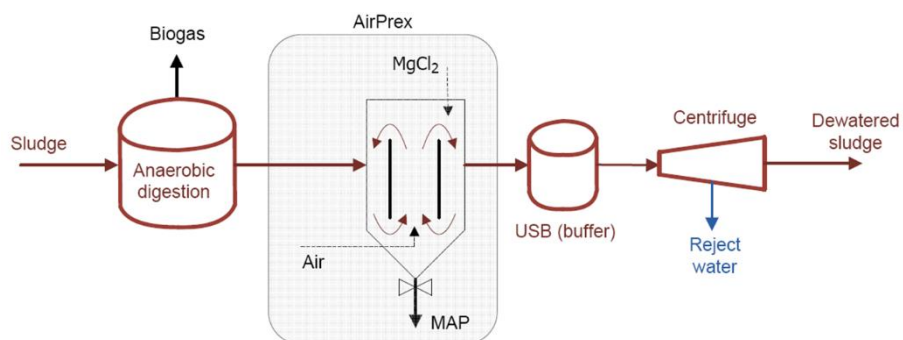
2.4 Productieproces RWZI Amsterdam West (Waternet)

Het struviet wordt gewonnen op de rioolwaterzuiveringsinstallatie RWZI Amsterdam–West volgens het AirPrex® proces. Het (mesofiel) uitgediste riolslib wordt, na een verblijftijd van 18 tot 20 dagen en een temperatuur van 36 °C in de struviet installatie opgenomen onder gelijktijdige toevoeging van magnesium chloride. Tijdens het mengen wordt het slib belucht waardoor CO₂ vrijkomt en het kristallisatieproces in gang wordt gezet. In deze fase wordt struviet gevormd. Het struviet slaat neer en wordt batchgewijs uit de reactor genomen. Na wassing met bedrijfswater (gefilterd effluent) worden de kristallen door een wormschroef naar een gesloten opvangbak (container) getransporteerd. In de container lekt het struviet verder uit. Hieruit worden ook de monsters genomen.

Figuur 2 Zuiveringsproces RWZI Amsterdam West



Figuur 3 Struvietreactor RWZI Amsterdam West



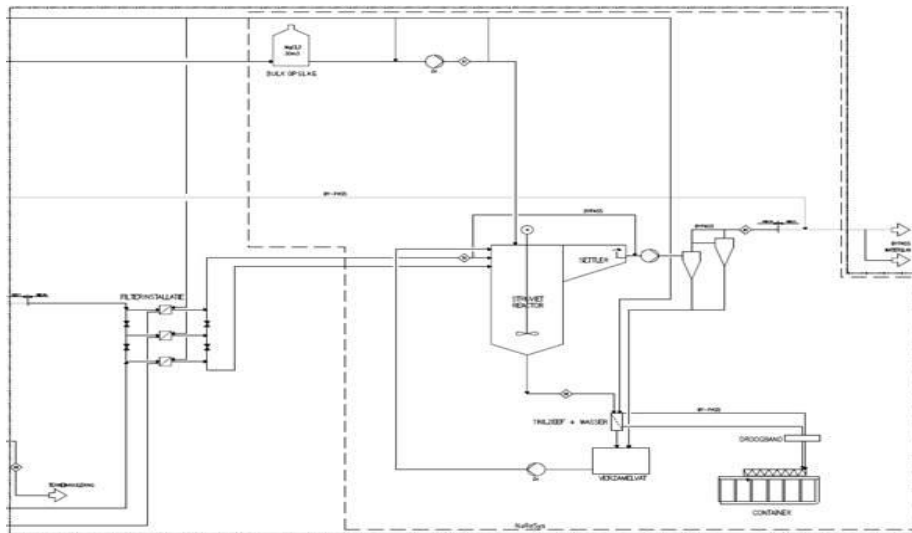
2.5 Productieproces RWZI Apeldoorn (Vallei en Veluwe)

Struviet wordt op de RWZI Apeldoorn gewonnen uit twee bronnen: (1) het fosfaat rijke centraat³ van de slibontwatering na vergisting en (2) het filtraat van de zeefbandpersen, die worden gebruikt voor de indikking van spuislib. Het ingedikte spuislib wordt behandeld in een continue thermische drukhydrolyse proces

³ Het ontwateren van slib gebeurt op een RWZI meest met centrifuges of zeefbandpersen. Centraat ontstaat bij het centrifugeren, filtraat bij het persen met een zeefbandpersen (het slib wordt door een filterdoek geperst, vandaar filtraat).

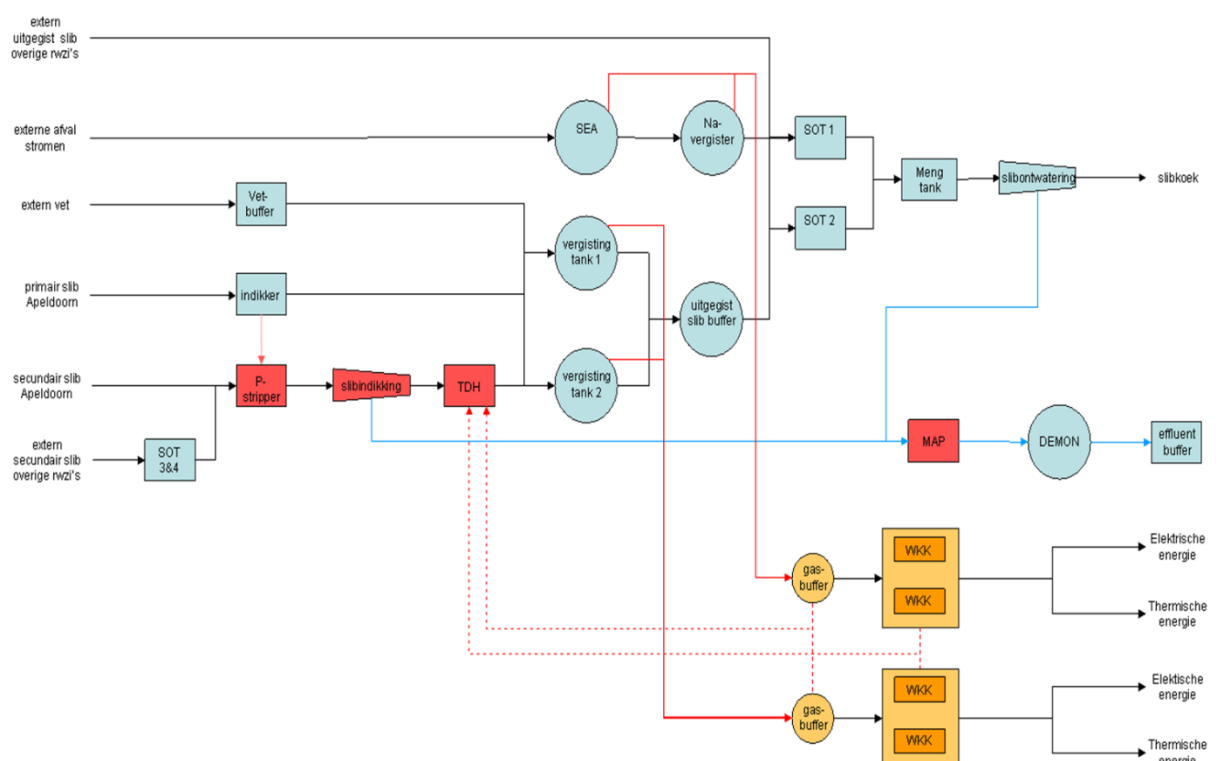
(TDH, type Sustec®) waarbij door middel van hoge temperatuur (145°C) en druk (6 bar) het slib wordt gekraakt en de pathogenen worden afgedood. In Figuur 5 is een overzicht gegeven van de sliblijn op RWZI Apeldoorn met daarbij aangegeven in het rood de TDH en MAP (struvietreactor). De gisting is een mesofiele vergisting met een temperatuur 33 °C en een verblijftijd van 20 dagen. Het centraat en filtraat worden doorlopend behandeld in de NuReSys® struvietreactor (zie Figuur 4).

Figuur 4 Productieproces struviet RWZI Apeldoorn



Door middel van magnesiumchloride dosering wordt met het aanwezige ammonium en fosfaat in het centraat en filtraat struviet gevormd door kristallisatie. Het struviet wordt opgevangen in vier big bags waar het water uitloopt en het product 'aan de lucht' droogt. Het productieniveau ligt momenteel op 300 ton struviet per jaar. De monsters zijn uit de big bags onder de installatie en/of uit de big bags van de voorraad genomen.

Figuur 5 Sliblijn RWZI Apeldoorn

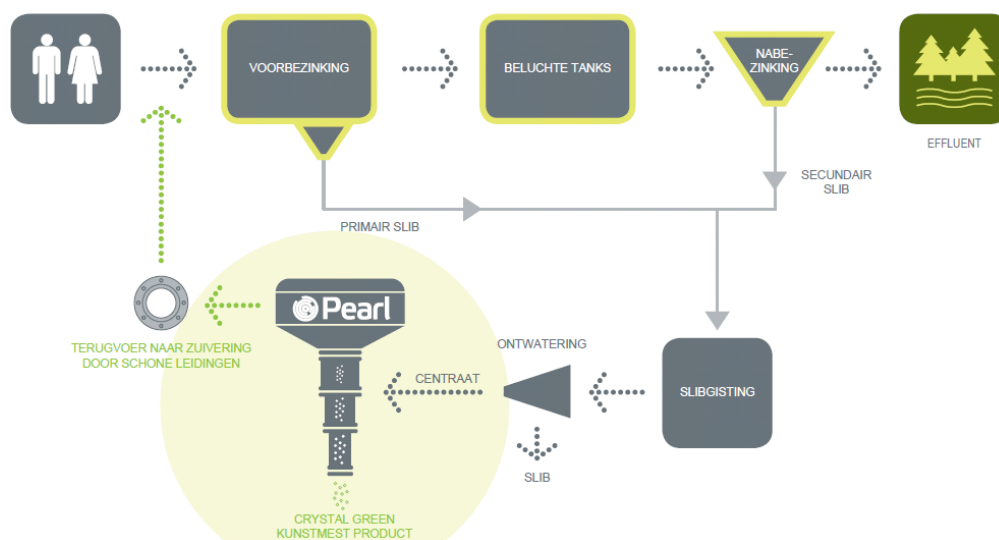


2.6 Productieproces RWZI Amersfoort (Vallei en Veluwe)

Op de RWZI Amersfoort wordt het fosfaat in een Pearl® reactor (technologie van Ostara) teruggewonnen uit het fosfaatrijke centraat van de slibontwatering (zie Figuur 6). Op de RWZI Amersfoort wordt het slib voor de slibvergisting behandeld in een continu thermische drukhydrolyse proces (Lysotherm®, TDH). Bij deze thermische drukhydrolyse verblijft het slib 20-40 minuten bij een temperatuur van gemiddeld 165°C en een druk van 6 bar, hierbij sterven de pathogenen af. De TDH wordt bedreven volgens een retourstoomprincipe, dat wil zeggen dat het slib uit de vergisting deels wordt gevoed aan de TDH en dat het behandelde slib weer wordt toegevoegd aan de invoer van de slibvergisting (mesofiel, 36 °C met een verblijftijd van 16 dagen). Dat wil zeggen dat het slib dat de vergisting verlaat niet voor 100% maar ongeveer voor 40 á 60% met de TDH is behandeld.

De Pearl® reactor is een opstroom fluidized bed reactor waar het centraat doorheen wordt geleid. In de reactor wordt magnesiumchloride gedoseerd en indien nodig natriumhydroxide voor pH-correctie tot pH 8. In de reactor fungeren gekristalliseerde struviet deeltjes als groeikern waarop het gevormde struviet neerslaat. De pellets worden in suspensie gehouden door middel van een recyclestroom.

Figuur 6. Zuivering en struvietreactor RWZI Amersfoort



De inhoud van de reactor wordt met sensoren gemonitord. Zodra er de gewenste hoeveelheid struviet is gevormd wordt deze automatisch geoogst. Het struviet wordt ontwaterd en daarna gedroogd in een fluidized bed droger gedurende 10-15 min op 75°C. Vervolgens wordt het product afgezeefd op de gewenste korrelgroottes en opgeslagen in big bags. Het hele proces is geautomatiseerd. Het productieniveau is ongeveer 100 ton per jaar. De gesloten big bags worden bewaard onder een afdak. De monsters zijn uit deze big bags genomen.

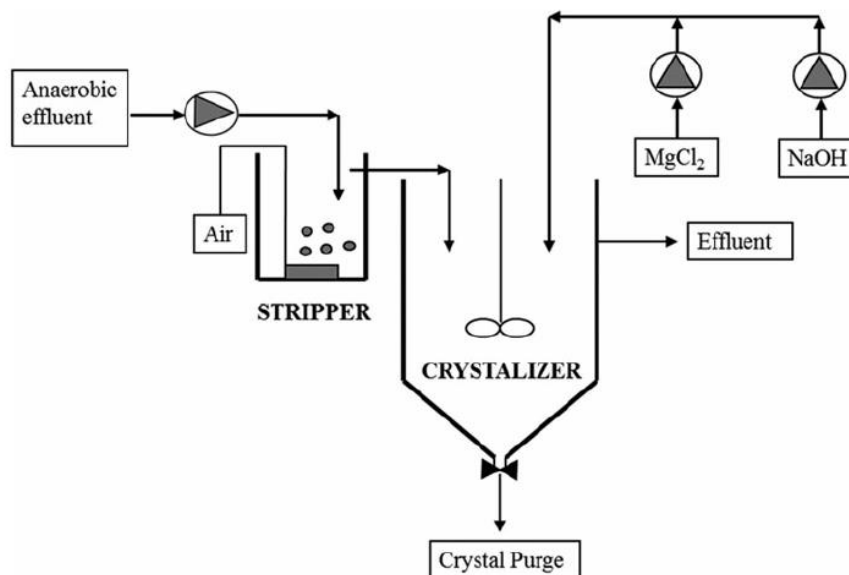
2.7 Productieproces RWZI Land van Cuijk (Aa en Maas)

Struviet wordt op de RWZI Land van Cuijk gewonnen uit het fosfaatrijke centraat van de slibontwatering. Het slib is afkomstig uit een mesofiele vergisting met een verblijftijd van gemiddeld 27 dagen (varieert tussen 20 en 35 dagen) en een temperatuur van gemiddeld 33 °C. Het uitgegiste slib wordt in de slibbuffers opgeslagen en vervolgens ontwaterd met een centrifuge. Het centraat van de ontwatering gaat naar de struviet reactor van NuReSys® (zie Figuur 7).

Als eerste komt het centraat in de stripper waar met behulp van lucht op een pH van 8 wordt gebracht (CO_2 -strippen). Vervolgens stroomt het water naar de struviet reactor waar magnesiumchloride wordt gedoseerd en indien nodig NaOH voor pH-correctie van 8. In deze reactor wordt struviet gevormd. Batchgewijs wordt het struviet geoogst. Dit houdt in dat struviet van onderuit de reactor naar de separator gevoerd wordt. Na bezinking wordt het struviet naar de struviet container geschroefd. In deze schroef wordt het struviet gewassen door kraanwater in tegengestelde richting te spoelen.

In de struviet container wordt het struviet verder ontwaterd doordat water aan de onderkant van de container weg kan stromen. De struviet container is gesloten en staat in het bedrijfsgebouw. De struviet monsters voor het onderzoek zijn rechtstreeks uit de container genomen. Het productieniveau ligt op 150 ton per jaar.

Figuur 7. Struvietreactor RWZI Land van Cuijk



3 Toepassingsketens struviet

Voor de risicobeoordeling is van belang hoe en waar het struviet wordt toegepast. Er zijn een aantal toepassingsketens in beeld. De ketens kunnen onderscheiden worden naar:

1. De toepassing als meststof versus toepassingen waarbij het eindproduct niet op de bodem wordt toegepast. In dit rapport worden specifiek de risico's van toepassing op de bodem geëvalueerd.
2. Het productieproces waarin het struviet of eindproduct al dan niet wordt gehygiëniseerd of gedroogd. Dit is van belang voor de aanwezigheid van pathogenen. In een gehygiëniseerd eindproduct zijn pathogenen afwezig, in een gedroogd eindproduct zullen de niet sporenvormende bacteriën niet overleven, maar kunnen nog sporen of andere overlevingsvormen zoals wormeieren aanwezig zijn.
3. De hoeveelheid struviet in het eindproduct, eventuele risico's nemen af naarmate het struviet sterker verdund wordt toegepast. Dit geldt zowel voor eventueel aanwezige medicijnresten en hormonen als voor pathogenen.
4. Professionele gebruikers versus consumenten. Dit onderscheid is van belang omdat professionele gebruikers geacht kunnen worden Arbo voorschriften ter bescherming tegen pathogenen in acht te nemen.
5. Bij toepassing als meststof: gebruik als voedselgewas (incl. diervoeding) versus niet voedselgewas.

Op basis hiervan worden de volgende ketens onderscheiden. Omdat zoals later in dit rapport zal blijken medicijnresten geen knelpunt zijn is het onderscheid tussen een gehygiëniseerd en een gehygiëniseerd en gedroogd product niet relevant, in beide zijn de pathogenen immers afwezig. Hetzelfde geldt voor het onderscheid tussen een gedroogd en onbehandeld product aangezien het risico van pathogenen niet verdwijnt door verdunning. Voor ketens waarin struviet in het productieproces wordt gehygiëniseerd is het onderscheid tussen toepassing voor voedselgewas of niet voedselgewas en consumentenmarkt of professionele markt niet relevant. De twee niet-meststoffenketens worden in dit rapport verder niet beschouwd.

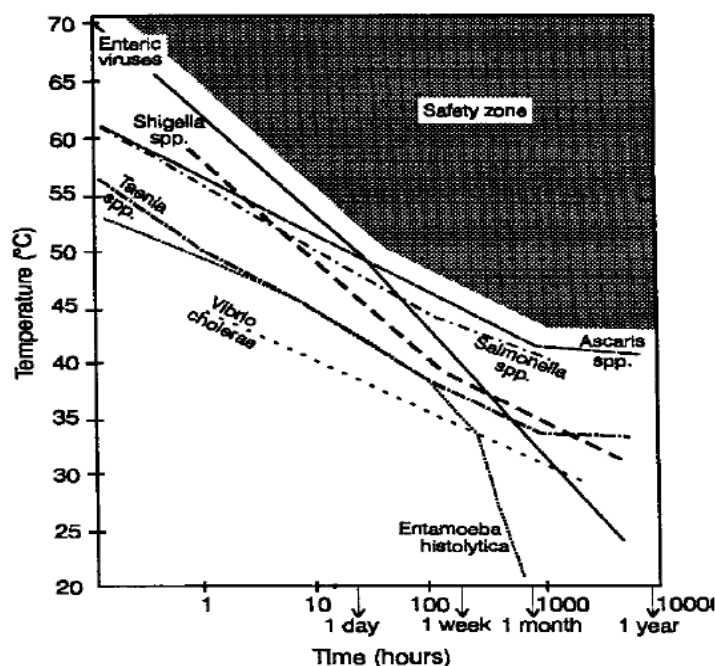
Tabel 4. Struviet in verschillende toepassingsketens

Nr	Beschrijving	Behandeling	Professionele gebruiker	Voedingsgewas
<i>Toepassing als (grondstof voor) meststof</i>				
A	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij in het productieproces hygiëniseratie plaatsvindt. Bijvoorbeeld: gebruik als vervanger voor fosfaatters in een chemisch productieproces (toepassing bij ICL), gebruik in chemisch onbewerkte vorm in korrel- of tabletvormige meststoffen, raffinage tot fosforzuur.	Gehygiëniseerd	n.v.t.	n.v.t.
B	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij in het productieproces hygiëniseratie en verdunning (min factor 10) plaatsvindt.	Verdund en gedroogd	ja/nee	ja/nee
C	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij het eindproduct gedroogd wordt.	Gedroogd	ja/nee	ja/nee
D	Toepassing in (kunst)meststoffen of in pure onbewerkte vorm zonder dat sprake is van een vorm van hygiëniseren of drogen.	Geen	ja/nee	ja/nee
<i>Overige toepassingen (niet beschouwd in dit rapport)</i>				
F	Fosfaatvervanger bij de productie van brandvertragers via een chemisch proces waarbij het struviet wordt gehygiëniseerd.	Gehygiëniseerd	n.v.t.	n.v.t.
G	Onderdeel van een nutriëntenmix voor industriële afvalwaterzuiveringen.	Opgelost in sterk zuur	n.v.t.	n.v.t.

Voor hygiëniseren is uitgegaan van een gelijkwaardig proces aan de gangbare hygiëniseren van compost en dierlijke mest. Dierlijke mest (keten 3) wordt minimaal een uur gehygiëniseerd op 70 °C volgens de voorschriften uit de Europese verordening dierlijke bijproducten (EG 1069/2009).

Carrington (2001) heeft in opdracht van de EU commissie een evaluatie uitgevoerd naar behandelmethoden voor pathogenen reductie in zuiveringslib. Voor de relatie tussen tijd en temperatuur voor het afdoden van pathogenen wordt hierin wordt gerefereerd aan onderstaande figuur van Strauss. In de evaluatie wordt geadviseerd bij de thermische behandeling van slib uit te gaan van een temperatuur van minimaal 80 °C en verblijftijd van 10 minuten. Een struvietverwerkend proces met een temperatuur van minimaal 80 °C en verblijftijd van 10 minuten is op grond van dit advies als gelijkwaardig beschouwd aan hygiëniseren op 70 °C gedurende één uur.

Figuur 8. Afdoding van pathogenen afhankelijk van tijd en temperatuur (figuur uit Liu et al (2018)).



In de levensmiddelen industrie geldt als eis voor sterilisatie de 'botulinum cook', dat is een verhittingsproces dat een zorgt voor een 12D reductie (van 10^{12} naar 10^0 bijvoorbeeld) van sporen van *C.botulinum* (de veroorzaker van botulisme). Anders gezegd: als het besmettingsniveau voor sterilisatie 1 *C.botulinum* per blik is, dan geldt na sterilisatie dat het besmettingsniveau is terug gebracht tot 1 op de 10^{12} blikken. Het gaat dan om een proces 3 minuten op 121°C.

Aanvullende onderbouwing komt van Liu et al (2018). Deze heeft een review uitgevoerd naar pathogenen reductie in organisch afval met verschillende hygiëniseren technieken. In het artikel wordt een normalisatie-vergelijking geïntroduceerd om verschillende tijd-temperatuur regimes te kunnen vergelijken:

$$F = \int 10^{(T-T_{ref})/z} dt$$

Hierin is de parameter z de vereiste temperatuurstijging voor een log10 reductie van de "decimal reduction time", de D-waarde, voor een gegeven pathogeen organisme. De D-waarde is de tijd die onder gegeven omstandigheden nodig is voor een log10 reductie van een micro-organisme. Hierbij geldt $z = 7^\circ\text{C}$ voor *Enterococcus faecalis* en $T_{ref} = 70^\circ\text{C}$.

Bij een temperatuur van 70 °C en 1 uur verblijftijd geldt $F = 60$. Voor een vergelijkbaar effect bij een temperatuur van 60 °C zou de verblijftijd 27 uur dienen te zijn. Bij een temperatuur van 80 °C slechts 2 minuten.

4 Analysemethode

4.1 Analysepakket

4.2 Medicijnen

Uit de ongeveer 200 werkzame stoffen die op de markt aanwezig zijn en in de RWZI terecht kunnen komen is een selectie gemaakt die een representatief beeld geeft van de risico's door medicijnresten in struviet. Hiertoe zijn voor de verschillende geneesmiddelgroepen één (of meerdere) indicator geneesmiddel(en) geselecteerd met relatief het grootste potentiële risico voor de bodem bij toepassing van struviet als meststof. In Bijlage 1 is een notitie opgenomen met de uitgebreide onderbouwing van de selectie.

De selectie bestaat uit:

1. Stoffen die eerder zijn aangetroffen in analyses van RWZI struviet of waarvan in lab proeven met gespikete, of synthetische urine is gebleken dat ze in struviet worden opgenomen.
2. Stoffen die in eerder onderzoek zijn aangewezen als geschikte indicatorstoffen voor het beoordelen van de risico's van het toepassen van struviet of zuiveringsslib in de landbouw.
3. Een selectie uit de stoffen waarvan RIVM (van der Grinten, 2017) heeft aangegeven dat ze op basis van de luierstudie en op basis van concentraties in het effluent in aanmerking komen.

Bij (1) en (2) zijn uitsluitend stoffen meegenomen die in Nederland worden voorgeschreven. Voor stoffen die hier niet worden voorgeschreven of slechts in geringe hoeveelheden is uit dezelfde stofgroep een geschiktere representant gekozen.

Voor de selectie uit de RIVM lijst is geïnventariseerd wat het jaarlijks volume is waarin de stof in Nederland wordt voorgeschreven en is een indicatieve $PNEC_{soil}$ (Predicted No Effect Concentration) berekend als maat voor de ecotoxiciteit in de bodem. Stoffen waarvoor de combinatie van voorgeschreven volume en ecotoxiciteit geen aanleiding geeft tot prioritering zijn niet meegenomen. Bij de beoordeling is als criterium gebruikt: $volume/PNEC > 1.000$. Deze grens is gebaseerd op een indicatieve berekening dat boven deze waarde de concentratie in de bodem door gebruik van struviet de $PNEC_{soil}$ zou kunnen overschrijden⁴. Bij twijfelgevallen is meegewogen in hoeverre de stof wordt afgebroken in de zuivering én of er in de literatuur aanwijzingen zijn voor significante schadelijkheid voor de bodem. Uit de als relevante beoordeelde stoffen is per stofgroep één representant geselecteerd. Hiervoor is de stof gekozen die het hoogste scoort op de combinatie van vracht en ecotoxiciteit.

Omdat de fysisch-chemische eigenschappen bepalend zijn voor de opname in het slib (en het daaruit vrijgekomen centraat) en in het struviet, is geen gebruik gemaakt van brede indicatorstoffen zoals cafeïne die een indicator zijn voor de aanwezigheid van humane invloeden.

De volgende stoffen zijn opgenomen in het analysepakket:

⁴ RWZI A'dam West produceert 6% van het Nederlands zuiveringsslib, totaal 18.700 ton ds. Een medicijnvracht voor heel Nederland van 1.000 ton betekent 60 kg op de RWZI A'dam West. Dit leidt tot een concentratie in RWZI slib van 3,2 mg/kg ds, en in een worst case dat dit zich een factor 2 concentreert in het struviet tot 6,4 mg/kg in het struviet. Bij maximaal toegelaten verbruik is de concentratie in de bodem een factor 6.352 lager in de bodem dan in het struviet (zie §8.2). Dit geeft een concentratie van 1 µg/kg ds in de bodem. Deze concentratie is problematisch als de PNEC groter of gelijk is dan 1 µg/kg. In dat geval geldt dan $volume/PNEC = 1000/>1 = <1.000$

Tabel 5. Lijst indicatoren medicijnresten

Geneesmiddelgroep	Stof
Angstremmer	Oxazepam
Antibiotica: (fluor)chinolonen	Ciprofloxacine
Antibiotica: macroliden	Clarithromycine
Antibiotica: sulfonamide	Sulfamethoxazol
Antibiotica: tetracyclines	Doxycycline
Beta blokkers	Metoprolol
Cholesterolverlagers	Gemfibrozil
Diabetes	Metformine
Hormonen	17- α -Ethinylestradiol, 17- β -Estradiol
Ontstekingsremmers	Diclofenac
Psychofarmaca	Carbamazepine
Pijnstiller	Paracetamol

Naast deze selectie heeft het gekozen laboratorium hun standaard medicijnenpakket geanalyseerd met aanvullend nog ca 100 medicijnen.

4.3 Pathogenen

Op basis van de evaluatie door Van der Grinten et al, (2017) van de beschikbare literatuur is gekozen voor SSRC (sporen van sulfiet reducerende clostridium) als indicator voor de aanwezigheid van protozoa, sporen van bacteriën en wormeieren. Dit type micro-organismen kan overlevingsvormen, zoals sporen, cysten of eieren maken die enkele jaren kunnen overleven.

Daarnaast is geanalyseerd op indicatoren voor de aanwezigheid van pathogene micro-organismen die zijn opgenomen in het conceptadvies van de Strubias werkgroep (Huijgens et al 2018). Deze adviseert de Europese Commissie t.a.v. criteria voor struviet e.a. teruggewonnen fosfaten in de Europese Meststoffenverordening.

Tabel 6. Toekomstige EU-criteria teruggewonnen fosfaten (Strubias advies)

Bacteriën	Escherichia coli of <i>Enterococcaceae</i>
Bacteriën	Clostridium perfringens
Bacteriën	Salmonella
Wormeieren	Viable Ascaris sp. eggs

Met viable Ascaris sp eggs ⁵wordt bedoeld de bevruchte, maar nog niet in embryonaal stadium verkerende eieren. Na raadpleging van het RIVM Zoönosenlab, contact met de afdeling microbiologie van het UMC⁶ en in overleg met Ministerie IenW is besloten de viable Ascaris eggs niet te onderzoeken omdat deze in Nederland niet worden aangetroffen. In Nederland zijn er daarom geen geaccrediteerde laboratoria voor deze parameter. In EU worden Ascaris eieren wel sporadisch gevonden (8 diagnoses in 2010). De verklaring voor de ontbrekende prevalentie in Nederland is:

- Het uitrijdverbod van zuiveringsslib in Nederland en Vlaanderen;
- Dierlijke mest, wat een bron kan zijn, wordt pas na langere tijd over het land verspreid: de mest blijft langere tijd in opslag en rijpt in een hogere temperatuur;
- Dierlijke mest voor huishoudelijk gebruik mag alleen na hygiëniserende op de markt gebracht worden;
- Ascaris Suum in veterinaire vorm, zowel grote als kleine huisdieren, wordt in preventief bestreden.

⁶ PLOS Medicine | DOI: 10.1371/Journal.pmed.1001920 december 3, 2015

Onbedoeld zijn door het lab daarnaast Enterococcaceae en *Listeria monocytogenes* bepaald.

Onderstaande tabel geeft de indeling van de onderzochte pathogenen volgens de taxonomie die voor pathogenen gebruikelijk is:

Tabel 7. Classificatie gemeten indicatoren voor pathogenen

Naam	Klasse	Orde	Familie	Geslacht
<i>Clostridium Perfringens</i>	Clostridia	Clostridiales	Clostridiaceae	<i>Clostridium</i>
<i>Escheria Coli</i>	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	<i>Escherichia</i>
<i>Ascaris L.</i>	Secernentea	Ascaridida	Ascarididae	<i>Ascaris</i>
Enterococcaceae	Bacili	Lactobacillales	Enterococcaceae	
Salmonella	Gammaproteobacteria	Enterobacteriales	Enterobacteriaceae	

4.4 Analysemethode en kwaliteitsborging

4.4.1 Laboratoria

Er zijn weinig laboratoria in staat én bereid om analyses aan struviet te doen. De volgende laboratoria kwamen in aanmerking:

- Het Duitse Lab Wessling heeft de analyses heeft uitgevoerd voor het Ufoplan onderzoek in opdracht van het Duitse Bundesumweltamt (Stenzel et al, 2019) naar medicijnresten in teruggewonnen fosfaten. Dit lab heeft een struvietpakket ontwikkeld met daarin 11 medicijnen. In dit pakket ontbreken o.a. de tetracyclines en zijn twee stoffen opgenomen die in Nederland niet worden voorgeschreven waarvoor dus een andere representant van de stofgroep gezocht moet worden. (Eigen methode, detectielimiet 2,5-100 µ/kg, betrouwbaarheid van de metingen ± 80%).
- KWR heeft in het kader van het Stowa onderzoek ervaring opgedaan met het meten van struviet. KWR is een onderzoekslab, waardoor metingen duur zijn (Eigen methode, detectielimiet 2,5-50 µ/kg).
- Wessling Hongarije heeft ervaring opgedaan met meten aan struviet en meet een zeer breed pakket aan medicijnen tegen lage kosten. Alleen Oxazepam zit niet in het pakket. (EPA standaard 1694:2007 voor medicijnen, vooraf opgeven detectielimiet 10 µ/kg, betrouwbaarheid van de metingen ± 15%. Nb. dit is na validatie lager gebleken, zie 4.7.)
- Eurofins Omegam was bereid struviet te analyseren, maar heeft geen ervaring. Op voorhand was er geen informatie over detectiegrenzen en betrouwbaarheid.

Op grond van kosten en ervaring is gekozen voor Wessling Hongarije. Deze konden geen Oxazepam meten, dit is uitbesteed aan Eurofins Omegam.

Voor pathogenen metingen zijn diverse water- en foodlabs beschikbaar. Het gekozen laboratorium Nutri-Control bleek dit achteraf uit te besteden aan SynLab, het vroegere Alcontrol.

De bio-assay meting wordt uitgevoerd door BioDetectionSystems (BDS), in Nederland toonaangevend voor bio-assays.

4.5 Analysemethoden

De medicijnresten en hormonen zijn door Wessling Hongarije geanalyseerd volgens de EPA standaard 1694:2007 voor medicijnen⁷ met high performance liquid chromatography gecombineerd met tandem mass spectrometry (HPLC/MS/MS). Het lab heeft de struvietmatrix voor de meeste, maar niet alle, stoffen gevalideerd.

⁷ https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/method_1694_2007.pdf

Oxazepam is door Eurofins in behandeling genomen als grondmonsters. Hierbij zijn ze geëxtraheerd met een 3-staps extractie met acetonitriël, MQ en diethylether en vervolgens geanalyseerd met HPLC-MS/MS m.b.v. Jet Stream technologie.

Voor de hormonen is aanvullend op de chemische analyse een ER-Calux bio assay uitgevoerd. De ER-Calux is een maat voor de totale hormoon verstorende (=oestrogene) activiteit van het (afval)water. De activiteit in de assay wordt uitgedrukt als estradiol equivalenten (ng EEQ/l).

De pathogenen zijn geanalyseerd volgens de gangbare methoden voor voedingsmiddelen en diervoeding door het tellen van het aantal kolonievormende eenheden (kve) per gram product met behulp van giet/strijk/spiraalplaten.

4.6 Kwaliteitsborging

Wessling Hongarije is ISO 17025:2018 gecertificeerd. Het Environmental Analytical Laboratory is geaccrediteerd voor de analyses aan medicijnresten door de Hongaarse National Accreditation Authority (NAH)⁸.

Eurofins Omegam is ISO 17025:2005 gecertificeerd door de Raad voor Accreditatie (RvA) voor alle gangbare milieuanalyses onder nummer L053 maar is niet geaccrediteerd voor analyses van medicijnresten.⁹

BDS, eveneens ISO 17025:2005 gecertificeerd en geaccrediteerd voor bio-assay metingen aan estrogeen door de Raad voor Accreditatie (RvA) onder nummer L401¹⁰.

Nutricontrol is eveneens ISO 17025:2005 gecertificeerd en geaccrediteerd voor de gevraagde pathogenen analyses door de Raad voor Accreditatie (RvA) onder nummer L053.¹¹ Het door Nutricontrol ingeschakelde lab SynLab is geaccrediteerd door de RVA onder nummer L106.

4.7 Validatie van de gebruikte analyse methodiek

Medicijnen (Wessling, Eurofins)

Ter validatie heeft Wessling voor het grootste deel van de geanalyseerde stoffen de extractie efficiency bepaald door het struviet te spiken. De extractie efficiency is bepaald bij een concentratie van 0,05 en 0,1 mg/kg (50 en 10 µg/kg). In Bijlage 2 is de lijst opgenomen.

Nog niet voor alle stoffen uit de indicatorlijst is een validatie uitgevoerd. Voor diclofenac, doxycycline, claritromycine, metformine en metoprolol is nog geen validatie beschikbaar. Wel zijn stoffen uit dezelfde ATC-subgroep gevalideerd waarvan vermoed mag worden dat deze vergelijkbaar gedrag vertonen. In onderstaande tabel staan de resultaten van de validatie voor de indicatorstoffen.

De extractie-efficiency bij 0,05 mg/kg (50 µg/kg) is niet bij alle stoffen de door RIVM (Wassenaar, 2017) gewenste 85%, maar is minimaal 74%. Wessling is uitgegaan van een minimaal vereiste extra efficiency van 70% bij de gerapporteerde detectiegrenzen.

⁸ Zie pag 128 van https://hu.wessling-group.com/fileadmin/user_upload/wessling_hu/Akkreditaciok/NAH-1-1398-2015-B2-RO4.pdf

⁹ <https://cdnmedia.eurofins.com/european-west/media/1926639/086-scn-2018-11-21.pdf>

¹⁰ https://www.biodetectionsystems.com/fileadmin/user_upload/_temp_/Accreditation_Certificate_and_L401_scope_BDS_2018-2020_EN.pdf

¹¹ https://www.nutricontrol.nl/globalassets/agrifirm-group/nutricontrol/gallerij-media/rva-scopes/scope-nutricontrol-l053-scn_nl_20190407.pdf

Voor een aantal stoffen zou uitgaande van een gewenste recovery van 85% voor een hogere rapportage gekozen moeten worden dan Wessling heeft gebruikt. 0,05 i.p.v. 0,01 en 0,1 i.p.v. 0,05 mg/kg. Dit uitgaande van lineair extrapoleren vanuit de twee meetpunten bij 0,01 en 0,05 mg/kg, er is immers niet gemeten bij 0,1 mg/kg.

De gebruikte EPA 1694:2007 standaard geeft aan welk recovery percentages bij het spiken acceptabel zijn. Voor de stoffen waarvoor EPA een range heeft opgenomen liggen de recovery percentages (bij 0,05 mg/kg) binnen deze range met uitzondering van gemfibrozil. Gemeten is 130%, de acceptabele range bedraagt 55-108%. Dit betekent dat de betrouwbaarheid van de meting voor gemfibrozil lager dan gewenst is. Een betrouwbare detectiegrens ligt waarschijnlijk aanzienlijk hoger aangezien de EPA-standaard uitgaat van een grens (Minimum Level) van 5 mg/kg, zie tabel 4: recovery rates in 4.7.

Tabel 8. Recovery rates

Parameter/Compound name	Recovery %		LOQ ¹² (mg/kg)
	0,01 mg/kg	0,05 mg/kg	
17alfa-Etynyl-estradiol	-	108	0,05
17beta Estradiol	-	124	0,05
Carbamazepine	36	87	0,05
Ciprofloxacin	30	81	0,05
Clarithromycin	nb	nb	nb
Diclofenac	nb	nb	nb
Doxycycline	nb	nb	nb
wel: Tetracycline	78	79	0,01
wel: Oxytetracycline	73	74	0,01
Gemfibrozil	-	130	0,05
Metformine	nb	nb	nb
Metoprolol	nb	nb	nb
wel: Atenol	80	72	0,01
wel: Acebutolol	72	90	0,01
wel: Betaxolol	62	82	0,05
wel: Bisoprolol	64	74	0,05
Paracetamol	51	79	0,05
Sulfamethoxazole	27	75	0,05

De stof Oxazepam is geanalyseerd door Eurofins. Deze meting is niet gevalideerd, wel zijn bij de analyse vanwege onbekendheid met de matrix extra kwaliteitscontroles gedaan.

Hormonen (BSD)

De ERa CALUX bio assay is een gevalideerde methode (OECD en ISO). Daarnaast zijn verschillende extractie-methoden gevalideerd. Bij aanvang van dit project is aangegeven dat BDS weinig ervaring had met extractie van struviet. Het struviet is voorbehandeld met zuur waarna een vloeistof-vloeistof schudextractie met ethylacetaat als solvent is gebruikt om estrogenen te extraheren. Struviet is slecht oplosbaar in water en goed oplosbaar in zuur. De extractie efficiëntie van struviet indirect beoordeeld vanwege het ontbreken van referentiemateriaal. Er is geen struviet voorhanden met een bekende estrogene activiteit voor de recovery bepaling. De vloeistof- extractie methode met ethylacetaat als solvent is voor watermonsters wel gevalideerd. De correctheid van de extractie bedraagt 88% en de reproduceerbaarheid >70%.

Pathogenen (NutriControl, respectievelijk SynLab))

De analysemethodes van SynLab zijn gangbaar in de voedingsindustrie en gedocumenteerd volgens internationale normen. Na eventuele warmtebehandeling, wassen resp. vermalen van het struviet wordt het verkregen materiaal op ent materiaal geplaatst en na een kweekperiode beoordeeld volgens de geldende standaarden.

4.8 Betrouwbaarheid van gepresenteerde detectielimiet.

Wessling

Voor de rapportagegrens is Wessling uitgegaan van de limit of quantification (LOQ), dat wil zeggen de grens waarbij een gedetecteerde stof kwantificeerbaar is onder ideale omstandigheden. Dit houdt dus geen rekening met afwijkingen door mensenwerk in het lab.

Er is weinig ervaring in het veld met het meten aan struviet. Ter referentie is in

Tabel 5 aangegeven wat de Minimum Level (ML) is volgens de EPA-standaard voor het bepalen van de betreffende stof in een vaste matrix. De ML is het onderste calibratiepunt van de calibratiecurve, eventueel nog met een factor vermenigvuldigd. De gerapporteerde detectiegrenzen zijn voor zover beschikbaar in dezelfde orde grootte met uitzondering van Gemfibrozil, hier is de ML van de standaard veel hoger dan de detectiegrens, wat verklaart dat de recovery efficiency voor gemfibrozil een afwijkende waarde gaf (zie 4.7)

Er zijn gevalideerde metingen aan struviet verricht in het Ufoplan onderzoek (Stenzel et al, 2019) door Wessling DLD. De rapportagegrenzen liggen tussen de 0,5 en 250 µg/kg, deze zijn opgenomen in kolom 4 van de tabel. De onderste range van rapportagegrenzen ligt deels iets lager dan de voorliggende analyses van Wessling Hongarije.

In kolom 5 van de tabel is vermeld welke rapportagegrenzen door KWR zijn opgegeven, dit zonder validatie. Naar mededeling van KWR komt een detectiegrens van 1 ng/L ongeveer overeen met 1 µg/kg voor vaste stof struviet. Een rapportage-grens van 10 µg/kg werd vóór validatie ook door Wessling opgegeven.

In kolom 6 van de tabel is aangegeven welke LOQ werd gevonden door P Kemacheevakul et al (2012) in analyse van gespikete urine. Deze detectiegrenzen liggen een factor tien hoger.

Tabel 9. Detectielimieten medicijnen en hormonen in struviet

Parameter	LOQ (µg/kg)	ML EPA standaard (µg/kg)	Wessling DLD rapportagegrens (µg/kg)	KWR indicatieve rapportagegrens (ng/l ≈ µg/kg)	Keemachevaku LOQ (ng/l ≈ µg/kg)
17alfa-Etynyl-estradiol	50	nb	<2,5-100	100	
17beta Estriol	50	nb	<2,5-25	100	
Carbamazepine	50	5	<0,5-250	10	177
Ciprofloxacin	50	20	<1-<25	-	
Clarithromycin	nb	5	<2,5-250	-	
Diclofenac	nb	nb	<0,5-100	10	
Doxycycline	nb	20	-	-	
Tetracycline	10	20	-	-	247
Oxytetracycline	10	20	-	-	
Gemfibrozil	50	5.000	-	10	
Metformine	nb	100	-	-	
Metoprolol	nb	nb	<0,5-250	10	Atenol: 101
Paracetamol	50	nb	-	-	
Sulfamethoxazole	50	5	<0,5-50	10	

De detectielimieten uit dit onderzoek zijn voor zover hierover informatie beschikbaar is redelijk in dezelfde range als eerdere analyses aan struviet en in de range die voor de gebruikte methode realistisch is (m.u.v. gemfibrozil).

Eurofins

Eurofins Omegam vermeldt een detectiegrens van 5 µg/kg voor oxazepam. Dit lijkt wat aan de lage kant. Volgens KWR is de rapportagelimit in water 20 ng/l wat overeenkomst met 20 µg/kg in een vaste stof.

BDS

De kwantificatie limit van de ERa CALUX bio assay bedraagt 2,5 pmol 17b-estradiol/l medium. Indien 10 gram struviet wordt geëxtraheerd en het extract wordt opgenomen in 25 µl DMSO, dan is de matrix-specifieke LOQ 0,002 ng 17b-estradiol/g struviet. Ter vergelijking, wanneer 1 gram struviet wordt opgewerkt en

opgenomen in 25 µl DMSO, dan is de LOQ 0,02 ng 17b-estradiol/g struviet.

Voor water geldt een zelfde LOQ: 2,5 pmol 17b-estradiol/l medium. Wordt 1 liter water geëxtraheerd en het extract opgenomen in 25 µl DMSO, dan is de LOQ 0,02 ng 17b-estradiol/l water.

De bio assay specifieke LOQ (2,5 pmol 17b-estradiol/l medium) is een vaststaande limiet. De matrix specifieke LOQ wordt bepaald door de hoeveelheid verwerkt materiaal en het volume aan DMSO waarin het finale extract wordt opgenomen. Daarnaast wordt de LOQ ook bepaald door het percentage DMSO (waarin het finale extract is opgenomen) dat aanwezig is in het blootstellingsmedium.

NutriControl

De beoordeling van de monsters is gedaan volgens gebruikelijke normen en procedures voor de humaan voedsel en diervoeding:

- E.coli wordt gemeten door het maken van een opsomming na een kweek (44°C). Na 18-24 uur is een resultaat beschikbaar met een rapportage limiet <10 kve/g.
- Salmonella wordt bepaald door de norm ISO 6579 resp. AFNOR BIO 12/32 -10/11. Na verrijking wordt vloeistof op een plaat opgebracht en na kweek met MALDI-TOF techniek geïdentificeerd op aan- of afwezigheid per 25 gram.
- SSRC, zijn bepaald met een SynLab interne methode. Er wordt gemeten door het maken van een opsomming na een kweek. Na drie dagen is een resultaat beschikbaar met een rapportage limiet <10 kve/g.
- C.perfringens: Geen informatie verkregen.

Tabel 10. Uitleg detectielimieten

Method detection limit	Concentratie waarbij een stof detecteerbaar is.
Minimumlevel	Concentratie waarbij er kwalificeerbare data uitkomen (bijv. EPA gebruikt factor 3,18 + afronden naar 1,2,5)
Practical Quantitation Limit	Mensenwerk factor: 2-10, common practice is x3
Reporting limit	"Redelijke betrouwbaarheid": een criterium van ± 20% nauwkeurigheid en 20% RSD wordt vaak gebruikt als redelijk voor herhaalde analyses.

5 Methode risicobeoordeling

5.1 Beschrijving struvietketen

Er zijn verschillende ketens voor toepassing van struviet als meststof. Zie ook hoofdstuk 3. De volgende ketens worden beschouwd:

Tabel 11. Struviet in verschillende toepassingsketens

Nr	Beschrijving	Behandeling	Professionele gebruiker	Voedings-gewas
A	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij in het productieproces hygiëniseratie plaatsvindt. Bijvoorbeeld: gebruik als vervanger voor fosfaaterts in een chemisch productieproces (toepassing bij ICL), gebruik in chemisch onbewerkte vorm in korrel- of tabletvormige meststoffen, raffinage tot fosforzuur.	Gehygiëniseerd	n.v.t.	n.v.t.
B	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij in het productieproces hygiëniseratie en verdunning (min factor 10) plaatsvindt.	Verdund en gedroogd	ja/nee	ja/nee
C	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij het eindproduct gedroogd wordt.	Gedroogd	ja/nee	ja/nee
D	Toepassing in (kunst)meststoffen of in pure onbewerkte vorm zonder dat sprake is van een vorm van hygiëniseren of drogen.	Geen	ja/nee	ja/nee

Het eindproduct of onbewerkte struviet wordt toegepast op de bodem. Bij deze toepassing zijn de eindpunten bodem-ecotoxicologie, grondwater en indirecte humane inname via gewassen relevant.

5.2 Normen en grenswaarden

Medicijnen

Voor medicijnresten zijn geen toetswaarden of grenswaarden voorhanden voor aanwezigheid in meststoffen, in de bodem, in het grondwater en voor indirecte humane inname via gewassen.

De ecotoxiciteit in de bodem is het primaire eindpunt voor een risicobeoordeling. Struviet is slecht oplosbaar in water zodat uitspoeling beperkt zal zijn. Pas als er ecotoxiciteit voor de bodem is vastgesteld is een beoordeling van de risico's van indirecte humane inname aan de orde.

Van der Grinten et al (RIVM, 2017) beschrijft een aantal manieren om de risico's te toetsen bij gebrek aan normen en grenswaarden:

1. Signaleringswaarden afleiden op basis van voorkomende, voorspelde of geaccepteerde concentraties in de bodem, eventueel gespecificeerd per stofgroep. Een probleem hierbij is dat er geen of nauwelijks achtergrondmetingen zijn voor medicijnresten in de bodem.
2. Wanneer een stof via struviet in de bodem terecht komt in een concentratie lager dan de detectielimiet voor die stof in bodem, is deze stof niet aantoonbaar aanwezig in bodem. Dit is praktisch goed toetsbaar, maar heeft twee nadelen. Ten eerste houdt het geen rekening met eventuele risico's van lagere concentraties dan de detectielimiet. Ten tweede is de uitkomst afhankelijk van de detectielimiet, die met voortschrijdende stand der techniek steeds beter zal worden.
3. Als de berekende of gemeten waarde van een stof boven de detectielimiet in bodem uit komt, kan bekeken worden of via literatuurgegevens een inschatting van eventuele effecten gemaakt kan worden. Een knelpunt hierbij is dat van lang niet alle stoffen ecotoxiciteitsgegevens beschikbaar zijn.

Lijzen et al (RIVM, 2019) beschrijft een stappenplan en risicobeoordelingskader voor de mogelijke risico's van stoffen en pathogenen in producten voor de casus incontinentiemateriaal. In dit stappenplan wordt gebruik gemaakt van triggerwaarden, dit zijn de concentraties waaronder geen effecten worden verwacht. Wanneer deze waarden worden overschreden zou getoetst moeten worden aan de stofspecifieke risicogrenzen per stof worden getoetst. De volgende triggerwaarden worden gegeven voor medicijnresten:

- Triggerwaarde voor water: 0,01 µg/L. Gebaseerd op de waarde die gebruikt wordt bij de toelating van geneesmiddelen in de EU.
- Triggerwaarde voor slib en mest: 100 µg/kg d.s. Gebaseerd op het verwaarloosbare risico's voor het milieu zoals wordt gebruikt bij de beoordeling bij toelating van diergeneesmiddelen.
- Triggerwaarde voor bodem: 1 µg/kg. Gebaseerd op de evaluatie van waarden voor geneesmiddelen.
- Triggerwaarde voor materialen: 100 µg/kg (20 µg/kg voor hormonen). Gebaseerd op een indicatieve ADI (Acceptabel Daily Intake voor de mens) en een blootstellingsscenario voor voedselcontactmaterialen.

Pathogenen

Voor pathogenen is humane blootstelling van zowel degene die het struviet verwerkt of toepast als de risico's van besmetting van het publiek via voedselgewassen van met struviet bemeste bodem het belangrijkste eindpunt voor een risicobeoordeling.

Er zijn geen geldende normen beschikbaar voor pathogenen in het struviet als meststof. In het Uitvoeringsbesluit Meststoffenwet is wel de eis opgenomen dat pathogenen in teruggewonnen fosfaten overwegend zijn afgedood maar dit is niet nader gekwantificeerd.

Struviet en andere teruggewonnen fosfaten zullen opgenomen worden in de EU-meststoffenverordening. In het conceptadvies van de Strubias werkgroep t.a.v. criteria voor struviet e.a. teruggewonnen fosfaten in de Europese Meststoffenverordening worden criteria voorgesteld voor indicatoren voor de aanwezigheid van pathogenen (Huijgens et al, 2018). Zie Tabel 12. Deze normen zijn o.a. gebaseerd op de Franse normen voor organische meststoffen (NFU 44-095). Opvallend is de lage norm van 100 kve/g voor *C.perfringens*. Volgens Warenwetbesluit Bereiding en behandeling van levensmiddelen geldt voor eet- en drinkwaren dat deze maximaal 100.000 kve/g aan *C.perfringens* mogen bevatten, een factor 1.000 meer.

Tabel 12. Toekomstige EU-normen teruggewonnen fosfaten (Strubias advies)

Parameter	Voorgestelde norm
<i>Escherichia coli</i> or <i>Enterococcaceae</i>	<1000 CFU/g (fresh)
<i>Clostridium perfringens</i>	<100 CFU/g (fresh)
<i>Salmonella</i>	no presence of in 25 g
Viable <i>Ascaris</i> sp. eggs	no presence of in 25 g

De verwachting is dat de teruggewonnen fosfaten in de nieuwe EU-meststoffenverordening wordt opgenomen voordat deze medio 2022 van kracht wordt. Vanaf dat moment zal struviet, dat aan deze eisen, voldoet na het verkrijgen van een CE-markering automatische de afvalstatus verliezen en in heel Europa verhandeld mogen worden.

De voorgestelde eisen aan struviet in de EU Meststoffenverordening zijn in de lijn met de EU-eisen voor organische meststoffen. Voor organische meststoffen geldt een norm van <1.000 cfu/g voor *E.coli* óf voor *Enterococcaceae* en de eis dat geen *salmonella* aanwezig zijn in een monster van 25 g.

Voor zuiveringsslib geldt een oude EU norm (86 / 278 / EEG) dat slib "moet zijn behandeld langs biologische, chemische of thermische weg, door langdurige opslag of volgens enig ander geschikt procedé, om

de vergistbaarheid en de hygiënische bezwaren van het gebruik ervan aanzienlijk te verminderen". Dit is niet nader gekwantificeerd.

Een voorstel voor een EU norm van <500 cfu/g aan E.coli voor zuiveringsslib heeft het in 2000 niet gehaald. Een onderzoek van de Europese Commissie (DG Environment) uit 2001 (Carrington, 2001) stelt een norm voor van E.coli <1000 cfu/g en C. perfringens spores <3.000 cfu/g plus toepassingsbeperkingen voor zuiveringsslib dat is behandeld volgens gangbare methoden (waaronder mesofiele vergisting). Deze methoden dienen de hoeveelheid pathogenen te reduceren met een 2logfactor te meten aan de E.coli.

Voor zuiveringsslib dat is behandeld met geavanceerde hygiëniseringsmaatregelen (o.a. worden in het voorstel genoemd: thermofiele vergisting, composteren en drogen) zouden geen beperkingen hoeven gelden. De effectiviteit van deze methoden zou vastgesteld moeten worden met een 4log reductie van toegevoegde Salmonella en de vernietiging van viable Ascaris eggs. Desgevraagd (GMB Opheusden) wordt een dergelijk product (Tradiphos) geanalyseerd volgens een z.g. ANFOR-analyse¹³. Salmonella en Ascaris worden beiden niet aangetroffen.

In de EU-landen worden verschillende nationale normen gehanteerd voor pathogenen in zuiveringsslib. Zie onderstaande tabel overgenomen uit Hudcová (2018). De norm van 1.000 cfu/g voor E.coli (of Enterococci) is veelgebruikt. Deze geldt overigens ook in de Verenigde Staten. Een norm voor de afwezigheid van Salmonella wordt in elk land gehanteerd, echter varieert de norm van afwezig in één gram tot afwezig in 50 gram. Verder gelden er normen voor Helminths eggs variërend van niet aanwezig (meest) tot 3/10 gram. Onder de Helminths eggs vallen de Ascaris eggs die volgens het Strubias voorstel (Huijgens et al 2018) niet in struviet aanwezig zouden mogen zijn.

De hoeveelheden waarin zuiveringsslib wordt opgebracht zijn in de ordegrrootte van tientallen tonnen per hectare (met een droge stofgehalte van ca 30%). Bij struviet gaat het om hoeveelheden van enkele honderden kg per hectare. Dat is honderd keer minder waardoor gebruik van dezelfde norm voor struviet als voor zuiveringsslib een fors lager rest risico inhoudt. Opgemerkt wordt dat in Nederland zuiveringsslib zelden of niet als meststof wordt ingezet omdat dit in het algemeen niet voldoet aan de Nederlandse normen voor zware metalen.

Tabel 13. Normen voor maximale concentraties van pathogenen in zuiveringsslib (Hudcová, 2018)

State	Salmonella sp.	Other pathogens
EC (2000a) ^a	no occurrence in 50 g	Escherichia coli <500 cfu/g
EC (2001) advies		Escherichia coli <1000 cfu/g C. Perfringens spores <3.000 cfu/g
Bulgaria	no occurrence in 20 g	Escherichia coli <100 MPN/g Clostridium perfringens <300 MPN/g Helminths eggs and larvae, 1unit/kg DM
Czech Republic ^b	no occurrence in 50 g	Escherichia coli or Enterococci <10 ³ cfu/g (4 samples from 5) <5.10 ³ cfu/g (1 sample from 5)
Sludge category I ^{d,e}	no occurrence in 1 g of DM	Thermotolerant coliforms <10 ³ cfu/g DM Enterococci <10 ³ cfu/g DM
Sludge category II ^{d,e}	not determined	Thermotolerant coliforms 10 ³ –10 ⁶ cfu/g DM Enterococci 10 ³ –10 ⁶ cfu/g DM
Denmark ^d	no occurrence	Faecal streptococci <100/g
Finland	no occurrence in 25 g	Escherichia coli <1000 cfu, <100 cfu in greenhouse cultivation, where the consumed part is in contact with the substrate

¹³ Analyse door SADEF.

France	8 MPN/10 g DM	Enterovirus <3 MPCN/10 g DM Helminths eggs <3/10 g DM
Italy	1000 MPN/g DM	
Lithuania		Escherichia coli ≤ 1000 cfu/g Clostridium perfringens ≤ 100 000 cfu/g Helminths eggs and larvae, 0 units/kg Enterobacteria, 0 cfu/g
Luxembourg		Enterococci – 100/g Helminths eggs cannot be contagious.
Poland	no occurrence in 100 g	
Portugal	no occurrence in 50 g	Escherichia coli <1000 cfu/g
Austria (Carinthia) ^f	no occurrence in 1 g	Enterococci <10 ³ /g no Helminths eggs
Austria (Lower Austria)	no occurrence in 1 g	Escherichia coli <100 cfu no Helminths eggs
Austria (Steiermark)	no occurrence in 1 g	Enterococci <10 ³ /g
Slovakia		Thermotolerant coliforms <2×10 ⁶ cfu/g DM Faecal streptococci <2×10 ⁶ cfu/g DM

DM– dry matter; CFU– colony forming unit; MPN– most probable number; MPCN– most probable cytopathic number

- a) Proposed but withdrawn (European Commission, 2000a)
- b) The number of tested samples is 5
- c) These criteria can be used in the interim period until December 31, 2019
- d) Sludge category I – sludge which can be generally applied to land used for agriculture respecting the other provisions of the Decree
- e) Sludge category II – sludge which can be applied to agricultural land used for industrial crop cultivation or land used for conventional crop cultivation in the autumn; land where sludge category II was applied cannot be used for growing field vegetables, potatoes and intensive orchard cultivation for at least three years after the application
- f) For treated sludge only

5.3 Aanpak risicobeoordeling

Bij de risicobeoordeling is in eerste instanties uitgegaan van de directe toepassing van puur onbehandeld struviet als meststof. Dit is de meest kritische toepassing. Voor zover er risico's zijn gevonden is gekeken of deze ook aanwezig zijn bij de minder kritische ketens.

Medicijnen

Voor de risicobeoordeling is een aanpak gevolgd die aansluit bij het eerdere RIVM advies t.a.v. medicijnresten en pathogenen in struviet (Van der Grinten, 2017) en het stappenplan dat RIVM heeft ontwikkeld voor de risicobeoordeling voor de mogelijke risico's van stoffen en pathogenen in producten (Lijzen et al).

Als eerste stap is gekeken of de gemeten concentraties van medicijnresten, respectievelijk de detectiegrenzen, onder de PNEC_{soil} (Predicted No Effect Concentration) liggen. De PNEC_{soil} is de concentratie waarbij geen effecten optreden voor bodemorganismen. Zo ja kan gesteld worden dat het struviet veilig is in gebruik, zo nee wordt verder gegaan met stap 2.

Stap twee is toetsing aan triggerwaardes in de bodem. Hiervoor is uitgaande van de in het struviet gemeten concentraties van medicijnresten, respectievelijk de detectiegrenzen, berekend wat de concentraties in de bodem zijn bij toepassing van struviet. Daarbij is uitgegaan van de maximale dosering die in Nederland is toegelaten volgens de meststoffenregelgeving. Als de berekende concentratie in de bodem lager is dan de triggerwaarde is gebruik waarschijnlijk veilig. Stoffen met een hoge ecotoxiciteit kunnen ook beneden de triggerwaarde schadelijk zijn voor bodemorganismen. Omdat voor alle indicator stoffen een indicatieve PNEC_{soil} beschikbaar is, is daarom voor alle stoffen stap 3 gevolgd.

In stap drie is per stof is berekend of de concentratie in de bodem boven de indicatieve PNEC_{soil} uitkomt uitgaande van de gevonden concentratie in het struviet. Omdat er weinig experimentele PNEC_{soil} beschikbaar zijn (en deze ook nog bodemtype afhankelijk zijn) zijn de indicatieve PNEC_{soil} berekend uit de PNEC

voor water. Daarom zijn het indicatieve waarden. In Bijlage 4 is de berekening opgenomen. Bij de berekening is uitgegaan van de Guidance bij de Biocidal Products Regulation (ECHA, 2017).

Pathogenen

De uitkomsten van de pathogenen analyse worden getoetst aan de toekomstige eisen voor struviet in de Europese meststoffenverordening voor *E.coli*, *Salmonella* en *C.perfringens*. Aangezien de *Ascaris* eggs als indicator voor *Helminths* eggs niet zijn meegenomen in de analyses zal niet op deze parameter getoetst kunnen worden. Voor de gemeten SSRC is geen norm beschikbaar om aan te toetsen; het is een indicator voor pathogenen en vooral een indicator voor de werking van het zuiveringsproces.

Voor pathogenen is het in principe zo dat iedere pathogene bacterie een bepaalde kans geeft op besmetting en daarna op ziek worden. Er is voor pathogenen dus geen grenswaarde aan te geven die elk risico uitsluit. Ook wanneer er voldaan wordt aan de normen voor indicatoren voor pathogenen is er altijd een (maatschappelijk geaccepteerd) restrisico aanwezig.

De *E.coli*, *Salmonella* en *C.perfringens* zijn pathogenen die onderdeel maken van de spijsvertering (*Salmonella* alleen veterinair), waardoor deze kunnen leiden tot ziektes. Daarbij wordt opgemerkt dat *Salmonella* en *Ascaris* al in kleine hoeveelheden kunnen leiden tot besmetting en *E.coli* en *C.perfringens* pas in grotere hoeveelheden. Volgens het Warenwetbesluit Bereiding en behandeling van levensmiddelen geldt voor eten en drinkwaren dat deze maximaal 100.000 kve/g aan *C.perfringens* mogen bevatten, een factor 1.000 meer dan de beoogde norm voor EU meststoffen.

Met dosis respons relaties kan een indicatie gegeven kunnen worden van het risico voor de werknemer of gebruiker bij het verwerken en toepassen van struviet. Lastig hierbij is dat *E.coli* en SSRC bestaan uit een mix van niet-pathogene (niet ziekteverwekkende) (merendeel) en pathogene vormen waarvan de verhouding niet bekend is. Bovendien zijn de SSRC mede gekozen als indicator voor wormeieren en protozoa waarvoor deze benadering geen inzicht oplevert in de risico's. Met wat er aan informatie beschikbaar is zal gekeken worden of deze aanpak zinvolle informatie oplevert.

Om de risico's van SSRC te evalueren zal daarom ook gekeken worden naar de aanwezigheid van SSRC in dierlijke mest, compost en zuiveringsslib als referentie.

Voor een beoordeling van de risico's van besmetting via voedselgewassen zijn de SSRC de belangrijkste indicator. Bacteriën waaronder *E. coli* en *Salmonella* overleven enkele dagen. Sporenvormende bacteriën, protozoa en wormeieren - waarvoor de SSRC (inclusief *C.perfringens*) als indicator fungeren - overleven maanden tot jaren. (Zie onderstaande tabel overgenomen uit Morgenschweiss 2015).

Tabel 14. Overleving humane ziekteverwerkers in water

Soort micro-organisme	Overleving
Bacteriën	Enkele dagen
Sporenvormende bacteriën	Enkele maanden tot jaren
Virussen	Enkele dagen tot maanden
Protozoa (als cystes worden gevormd)	Enkele jaren
Wormeieren	Enkele jaren

Een belangrijke kanttekening bij de SSRC als indicator is dat in een aantal studies is gebleken dat behandeling van zuiveringsslib met basische stoffen (NaOH) er toe kan leiden dat het gehalte aan SSRC sterk toeneemt. Martín-Díaz et al (2016) heeft het mechanisme hierachter onderzocht en constateert dat dit veroorzaakt wordt door hergroei (en niet bijv. sporenvormig). Op basis hiervan constateert hij dat SSRC mogelijk minder geschikt zijn als indicator voor protozoa en wormeieren die immers niet hergroeien. Dit effect kan ook optreden in struviet dat geproduceerd wordt onder basische omstandigheden.

6 Monsternameprocedure en -verslag

6.1 Aanpak monstername

De monsters worden met oog op de uniformiteit genomen door één monsternemer volgens een monsternameprotocol. Aandachtpunten zijn de grootte van de steekproef en de representativiteit.

Het doel is om een monster te nemen dat representatief is voor de productie in dat seizoen (4 maanden). De partij waaruit het monster wordt genomen moet groot genoeg zijn. Het struviet wordt opgeslagen in een container van 10-12 ton of big bag van ca 1,5 ton/ ca 1000l). Bij een jaarproductie van 300 ton is een volle container een halve maandproductie en voldoende representatief voor bemonstering. In het geval van de big bags zullen meerdere big bags bemonsterd worden zodat de productie gedurende een halve maand in het monster aanwezig is.

Bij de monstername is gebruik gemaakt van de monstername instructies in Bijlage 3. Het monsternameprotocol is gebaseerd op de publiek toegankelijke set van richtlijnen en protocollen van de Vlaamse overheid voor monstername en analyse van einde-afvalstoffen t.b.v. recycling:

1. Afvalstoffen - grondstoffen Algemene richtlijnen monsterneming
2. Afvalstoffen - grondstoffen Monsternemingstechnieken vaste materialen

Het protocol is vertaald naar een monstername instructie en een monsternameformulier.

De kwaliteit van het struviet bovenin een container is beter dan onderin omdat aanhangend water en evt. slibrest snel naar beneden uitzakt. De monsters dienen daarom op verschillende hoogtes te worden genomen. Het struviet dat in big bags wordt opgeslagen is droog en homogeen van kwaliteit zodat een greep bovenuit de big bags representatief is.

In de uitvoering van de monsterneming is een monster samengesteld uit meerdere big bags of verschillende lagen uit een container genomen met een klepgutsboor of afwijkend van het protocol met een scheplepel. Het verzamelde materiaal is in een rvs-emmer verzameld, gehomogeniseerd en daarna verdeeld over verpakkingseenheden die naar de verschillende laboratoria verzonden zijn.

Het gewassen monster van RWZI Amsterdam West (Airprex) is verkregen door ongewassen struviet van meerdere productiedagen te verzamelen en te reinigen en te ontdoen van andere bestanddelen dan struviet. Deze monsters zijn gewassen met leidingwater en gedroogd door afdruipe (natuurlijke droging). Daarna is het verzameld materiaal over verpakkingseenheden verdeeld.



Figuur 9. Monstername uit big bags



Figuur 10. Monstername uit container

6.2 Verslag monstername eerste ronde

De eerste ronde is op 5 december 2018 uitgevoerd volgens het protocol. Van de monstername is geen registratie gemaakt maar achteraf mondeling toelichting gegeven. De monsters zijn in een emmer opgevangen, gehomogeniseerd en daarna in de transportverpakking over gebracht.

Het blijkt dat de monstername in de meer gesloten containers (RWZI Amsterdam West en RWZI Land van Cuijk) geen eenvoudige opgave is. Deze containers zijn niet benaderbaar met een boor zonder de productie te staken. Een representatief monster is niet mogelijk; er is meerdere keren (onder andere hoeken) geschept/geprikt. Niet geregistreerd is of de monsters op RWZI Amersfoort uit de big bagsvoorraad en/of uit de verse productie is genomen. Volgens de monsternemer waren er verder geen bijzondere situaties, zijn er geen bijzondere productieomstandigheden gerapporteerd en zijn de monsters door de monsternemer zelf afgeleverd bij de Nederlandse laboratoria. Het monster dat was bestemd voor Wessling Hongarije is gekoeld verzonden. Na ontvangst in Budapest is het monster gekoeld opgeslagen tot het moment van analyse.

6.3 Verslag monstername tweede ronde

De tweede ronde heeft plaatsgevonden eind maart 2019. Van deze monstername is wel een gedocumenteerde rapportage beschikbaar. Deze is opgenomen in bijlage 5. Ook zijn foto's gemaakt. Het monster met gewassen product is door de projectleider RWZI Amsterdam West genomen en gewassen in een kolom met upstream demi-water, net zoals het eerste monster. Daarna handpicked op verontreinigingen en gedroogd op 40 °C in een droogstoof.

Op de foto's is duidelijk te zien dat de containers (RWZI Amsterdam West en RWZI Land van Cuijk) matig toegankelijk zijn: het monstername luik is ook het ontvangtpunt na de productie.

6.4 Verslag monstername derde ronde

De derde ronde is uitgevoerd in eind juli 2019. Om een betere spreiding te krijgen van de productie-monsters is aan RWZI Amsterdam West en aan RWZI Land van Cuijk gevraagd elke dag een monster te nemen. Op die manier is een monster verkregen dat over meerdere dagen is samengesteld. Niet gedocumenteerd is over hoeveel dagen er bemonsterd is. RWZI Apeldoorn en RWZI Amersfoort hebben opslag in big bags die beter en eenvoudiger toegankelijk zijn. Ook daar is over een periode van 20 werkdagen een monster verzameld. Niet geregistreerd is hoeveel big bags op Amersfoort en Apeldoorn zijn bemonsterd en of de monsters op Amersfoort uit de big bagsvoorraad en/of uit de verse productie is genomen. Er is een scheplepel gebruikt ipv gutsboor.

6.5 Verslag monstername vierde ronde

In de eerste drie rondes was de C.perfringens niet gemeten en de uitkomsten van de derde ronde maakten het pathogenen beeld lastig te interpreteren. Daarom is besloten een vierde ronde te doen voor de pathogenen en meteen een verificatie uit te voeren of de productiewijze en installaties correct zijn beschreven. Deze meetronde vond plaats medio september 2019. De verslagen zijn opgenomen in bijlage 5.

Op RWZI Amersfoort is gedurende vijf dagen vers struviet verzameld en als mengmonster klaargezet. Ook op RWZI Amsterdam West is over een periode van 5 dagen struviet direct uit de productie opgevangen en klaargezet. Het extra gewassen monster is als eerder beschreven bereid.

Het product in de container van RWZI Land van Cuijk is opgeschept door het luik in de container door de bovenste 15 centimeter te verwijderen en in oppervlakte van een groter vak op een paar plaatsen een

schep te nemen. Het struviet van RWZI Amersfoort is uit een vijftal big bags (5 dagen productie) uit de opslag bemonsterd.

De genomen monsters zijn gehomogeniseerd in een emmer en daarna in een glazen monsterpot gedaan en afgesloten. De emmer is telkenmale schoongeveegd en gespoeld. Droging tijdens het autorijden.

6.6 Verslag monstername vijfde ronde

Deze ronde is uitgevoerd in de eerste week januari 2020 ten behoeve van de PFAS analyses. Bemonsterd zijn de RWZI Amsterdam West (zonder extra wassing) uit de container (met lepel i.p.v. gutsboor) en RWZI Apeldoorn en RWZI Amersfoort uit de voorraad big bags die op beide locaties onder een afdak lagen opgeslagen. Wederom is bemonsterd via grepen uit een vijftal big bags. Een monsternameverslag is niet beschikbaar.

7 Analyseresultaten

In Bijlage 6 zijn de analysecertificaten opgenomen. Onderstaande tabellen geven een overzicht van de analyseresultaten.

Tabel 15. Resultaten chemische bepalingen medicijnresten (mg/kg)

	Monsterronde	17alfa-Ethinylestradiol	17beta-Estriol	Carbamazepine	Ciprofloxacin	Clarithromycine	Diclofenac	Doxycycline	Gemfibrozil	Metoprolol	Oxazepam	Paracetamol	Sulfamethoxazole
A'dam West extra wassing	1			<0,01	<0,01		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,005	<0,01	<0,01
	2	<0,05	<0,05	<0,05	0,05				<0,05	0,02	<0,005	<0,05	<0,05
	3	<0,05	<0,05	<0,05	0,07	<0,01	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05
A'dam West	1			<0,01	0,03		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,005	<0,01	<0,01
	2	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05				<0,05	<0,01	<0,005	<0,05	<0,05
	3	<0,05	<0,05	<0,05	0,06	<0,01	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05
Amersfoort	1			<0,01	<0,01		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,005	<0,01	<0,01
	2	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05				<0,05	<0,01	<0,005	<0,05	<0,05
	3	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05
Apeldoorn	1			<0,01	<0,01		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,005	<0,01	<0,01
	2	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05				<0,05	<0,01	<0,005	<0,05	<0,05
	3	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05
Land van Cuijk	1			<0,01	<0,01		<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,005	<0,01	<0,01
	2	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05				<0,05	<0,01	<0,005	<0,05	<0,05
	3	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05		<0,05	<0,05

Nb. Metformine is niet bepaald.

Tabel 16. Resultaten bio-assay hormonen

	Monsterronde	17b-Estradiol (ng EEQ/g)
A'dam West extra wassing	1	0,037
	2	0,095
	3	0,024
A'dam West	1	0,076
	2	0,088
	3	0,033
Amersfoort	1	0,024
	2	0,022
	3	0,023
Apeldoorn	1	0,005
	2	0,008
	3	0,079
Land van Cuijk	1	0,037
	2	0,012
	3	0,016

Tabel 17. Resultaten analyses pathogenen

		Ronde	E.coli	Salmonella	C.perfringens	SSRC	Enterobacteria ceae	Listeria mono- cytogenes
	Eenheid		KVE/g	/25g	n.v.t.	KVE/g	KVE/g	/25g
	Strubias advies norm ¹⁴		<1.000	na	<100	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Amersfoort	Mengmonster big bags voorraad. Droog	1	<10	na			<10	na
	Mengmonster 15 big bags voorraad. Droog	2	<10	na		<10	<10	na
	Mengmonster 5 big bags voorraad. Droog	3	20	na		<10	20	na
	Mengmonster 5 big bags voorraad. Droog, geurloos	4	<10	na	<10	70		
Apeldoorn	Mengmonsters big bags	1	<10	na			<10	na
	Mengmonster 10 big bags voorraad. Droog	2	<10	na		330	<10	
	Mengmonster 5 dagen verse productie. Vochtig	3	10	na		>10.000	220	na
	Mengmonster 5 dagen verse productie. Vochtig slibgeur.	4	60*	na	260	610		
Land van Cuijk	Mengmonster uit container.	1	1.000	na			6.100	na
	Mengmonster container meerdere grepen. Droog	2	460	na		900	2.500	na
	Mengmonster container meerdere grepen. Droog	3	10	na		>10.000	20	na
	Mengmonster volle container 3 wkn oud (productie lag stil), vrij droog, weinig geur	4	<10	na	<10	<10		
Amsterdam West	Mengmonster uit container.	1	60	na			>100.000	na
	Mengmonster 10 grepen uit container. Droog	2	<10	na		530	>100.000	na
	Mengmonster 5 dagen verse productie. Vochtig	3	850	na		300	>100.000	na
	Mengmonster 5 dagen vers/nat	4	3.400 ⁽¹⁾	na	<10	470		
Amsterdam West extra gewassen	Droog	1	<10	na			<10	na
	Droog	2	<10	na		90	<10	na
	Mengmonster 5 dagen vers daarna gewassen. Gedroogd.	3	<10	na		80	12.000	na
	Mengmonster 5 dagen vers daarna gewassen. Gedroogd.	4	<10	na	<10	<10		

na = niet aangetoond

(1) Afwijking bedrijfsvoering waardoor verblijftijd slib in de slibgisting gehalveerd met als gevolg veel hogere gehalten aan E.coli in het slib waaruit het struviet wordt gewonnen,

Tabel 18. Resultaten PFAS

Indicator	Eenheid	A'dam West	Amersfoort	Apeldoorn
Monsterronde nr.		5	5	5
som PFOA*	µg/kg ds	0,1	0,1	0,1
som PFOS*	µg/kg ds	0,1	0,1	0,1

*) bovengrens van de som, individuele waarden gemeten PFAS en PFOS verbindingen <0,1

¹⁴ Strubias, pre-final report, Huijgens et al 2018

8 Risicobeoordeling

8.1 Toetsing pathogenen aan de normen

De gemeten waarden voor salmonella voldoen aan de beoogde normen voor pathogenen in teruggewonnen fosfaten in de EU Meststoffenverordening. De norm voor E.coli wordt ook is 9 van de 10 analyses gehaald. Eén meting voor E.coli in het struviet van RWZI Land van Cuijk ligt precies op de norm van 1.000 kve/g in RWZI Amsterdam West is in de vierde meetronde een uitschieter van 3.400 kve/g aangetroffen. De C.perfringens zijn alleen in de laatste meetronde bepaald. Hier voldeden 4 van de 5 onderzochte zuiveringen. Het struviet van RWZI Apeldoorn kwam ruimschoots boven de norm uit met 260 kve/g.

De viable Ascaris eggs zijn zoals eerder vermeld niet onderzocht vanwege hun lage prevalentie in Nederland en omdat er geen geaccrediteerd microbiologie lab is dat deze meet.

Tabel 19. Toetsing toekomstige EU normen voor pathogenen

Parameter	Voorgestelde norm	n	Min	Max	Gem
Escherichia coli	<1000 CFU/g (fresh)	20	<10	1.000	<69
Clostridium perfringens	<100 CFU/g (fresh)	5	<10	260	<60
Salmonella	no presence of in 25 g	20	na	na	na
Viable Ascaris sp. eggs	no presence of in 25 g	-	-	-	-

na = niet aangetoond

Concluderend voldoet het struviet voor de indicator C.perfringens niet in alle gevallen aan de toekomstige EU norm. Daarbij geldt de kanttekening dat deze norm een factor 1.000 hoger ligt dan de C.perfringens norm in voedingsmiddelen.

8.2 Triggerwaarden medicijnresten en hormonen

Door RIVM (Lijzen et al, 2019) worden de volgende triggerwaarden voorgesteld voor medicijnresten:

- Triggerwaarde voor water van 0,01 µg/L. Deze waarde is gebaseerd op de waarde gebruikt bij de toelating van geneesmiddelen in EU-verband.
- Triggerwaarde voor slib en mest van 100 µg/kg d.s.. Deze waarde, die gebaseerd is op verwaarloosbare risico's voor het milieu, wordt gebruikt bij de beoordeling bij toelating van diergeneesmiddelen.
- Triggerwaarde voor bodem van 1 µg/kg. Deze waarde is gebaseerd op de evaluatie van waarden voor geneesmiddelen.
- Triggerwaarde voor materialen 100 µg/kg (20 µg/kg voor hormonen). Deze is gebaseerd op een indicatieve ADI (Acceptabel Daily Intake voor de mens) en het blootstellingscenario gehanteerd voor voedselcontactmaterialen.

Om de bepalen of de triggerwaardes in de bodem overschreden worden bij toepassing van struviet is uitgerekend met welke factor het struviet wordt verdund bij gebruik als meststof in de maximaal toegelaten dosering. Zie onderstaande berekening in figuur . Gezien de berekende verdunningsfactor van 6.352 kan geconcludeerd worden dat ook de triggerwaarden in de bodem - die een factor honderd lager liggen dan in het product - niet worden overschreden.

De concentraties van medicijnresten en hormonen in het struviet liggen beneden de triggerwaarden voor slib, mest en producten.

Figuur 11 Berekening verdunning in de bodem

De maximaal toegelaten fosfaat dosering op grasland volgens het Uitvoeringsbesluit Meststoffenwet (2019) is 100 kg/ha (als P₂O₅). Struviet uit communaal afvalwater zoals geproduceerd op de huidige Nederlandse installaties bevat 23-29% P₂O₅. De maximaal toegelaten jaarlijkse fosfaatgift als struviet bedraagt dus 345 a 435 kg/ha.

De meststof wordt ingepluogd in de bouwvoor (bovenste 20 cm). De gemiddelde dichtheid van grond is ca 1.700 kg/m³. Gemiddelde Nederlandse grond bevat ca 80% droge stof (AW2000)

Gewicht bovenste 20 cm grond van 1 ha: 1.700 * 100 * 100 * 0,2 = 3.400.000 kg

Opgebracht struviet per kg natte grond: 435/3.400.000 = 0,00013 kg

Opgebracht struviet per kg droge grond: 0,00013 / 0,8 = 0,00016 kg

Elke kilo struviet wordt verdund over 6.253 kg droge grond (1/0,00016)

Dit betekent dat de concentratie van een stof in het struviet 6.253 keer hoger moet zijn dan de detectiegrens in de bodem om de stof te kunnen meten.

8.3 Evaluatie ecotoxiciteit medicijnen in het struvietproduct

Als de concentraties van medicijnresten in het struviet zelf al beneden de waarden liggen waarbij deze stoffen een effect kunnen hebben op het bodemleven is het product zeker veilig.

Van de indicatorstoffen is een indicatieve PNEC_{soil} berekend uit de laagste PNEC_{aqua} die in de literatuur gevonden is. Deze staan in de tweede kolom van onderstaande tabel. Hiervoor is de door ECHA voorgescreven methode gebruikt van omrekening met behulp van de K_{oc} volgens de equilibrium partition coëfficiënt uitgaande van de standaard bodem met 2% organische koolstof (3,4% organische stof) (ECHA, 2017). Zie Bijlage 4 met rekenmethode en bronvermelding van de gebruikte waarden. De keuze van de PNEC_{aqua} is bijgesteld na advies van RIVM.

De standaard Nederlandse bodem bevat 10% en niet 3,4% organische stof. Volgens de hiervoor genoemde guidance en volgens de systematiek van de Regeling Bodemkwaliteit wordt de biologische beschikbaarheid van (niet-ionische) organische stoffen uitsluitend bepaald door het gehalte aan organische stof. Vanuit de PNEC_{soil} (OS 3,4%) is daarom een PNEC_{soil} (OS 10%) berekend specifiek voor de Nederlandse bodem. Hiervoor is onderstaande formule gebruikt:

$$PNEC_{NL} = \frac{10\%}{3,4\%} PNEC_{standaard}$$

In de laatste kolom zijn de hoogst gemeten waarden in struviet vermeld of de detectiegrens als de concentratie lager lag dan de detectiegrens. De gehalten in het struviet liggen niet of niet met zekerheid beneden de indicatieve PNEC_{soil}. Dat betekent dat in een volgende stap berekend moet worden of het struviet bij toepassing als meststof en verdunning in de bodem een risico vormt voor de bodem.

Tabel 20. Indicatieve PNEC_{soil} indicatorstoffen

Indicator	Indicatieve PNEC soil (OS 3,4%) (µg/kg ds soil)	Indicatieve PNEC soil (OS 10% = NL) (µg/kg ds soil)	Maximaal gemeten in struviet (µg/kg)
17alfa-Etynyl-estradiol	0,0015	0,01	<50
17beta Estriol	0,0064	0,02	<50
Carbamazepine	0,90	3,0	<50

Indicator	Indicatieve PNEC soil (OS 3,4%) (µg/kg ds soil)	Indicatieve PNEC soil (OS 10% = NL) (µg/kg ds soil)	Maximaal gemeten in struviet (µg/kg)
Ciprofloxacin	4,5	15,3	70
Clarithromycine	0,69	2,35	<10
Diclofenac	0,07	0,23	<10
Doxycycline	1,55	5,26	<10
Gemfibrozil	1,94	6,58	<50
Metformine	1773	6029	-
Metoprolol	6,3	21,4	20
Oxazepam	3,8	13,0	<5
Paracetamol	12,6	43,0	<50
Sulfamethoxazole	0,5	1,8	<50

8.4 Evaluatie ecotoxiciteit medicijnen in de bodem na toepassing struviet

Met de maximaal gemeten waarden in struviet zijn de concentraties in de bodem berekend met de berekende verdunningsfactor uit § 8.2. Voor de meeste indicatorstoffen ligt de concentratie in het struviet beneden de detectiegrens, voor deze stoffen is uitgegaan van de detectiegrens als een worst-case wat in de bodem terecht zou kunnen komen. Dit is getoetst aan de indicatieve PNEC_{soil}, de concentratie waarbij effecten kunnen optreden voor het bodemleven.

Voor hormonen is de detectiegrens (50 µg/kg) erg hoog t.o.v. de PNEC_{soil} (0,0015 resp. 0,0064 µg/kg). Een factor tienduizend hoger, dat betekent dat uitgaan van de detectiegrens een zeer zware overschatting kan geven. Uit het bio-assay (zie paragraaf 8.5) blijft dat de concentratie aan hormonen ver onder de detectiegrens voor de chemische bepaling ligt. Voor de hormonen zijn de risico's daarom geëvalueerd aan hand van de ER-Calux meting.

In onderstaande tabel is aangegeven wat de berekende concentratietoename is in de bodem en wat deze is als percentage van de indicatieve PNEC_{soil}.

Tabel 21. Berekende concentraties indicatoren medicijnresten t.o.v. indicatieve PNEC_{soil}

	Indicatieve PNEC _{soil} (OS 3,4%) (µg/kg ds soil)	Indicatieve PNEC _{soil} (OS 10% = NL) (µg/kg ds soil)	gemeten max. in struviet (µg/kg)	berekende concentratie in de bodem (µg/kg)	% indicatieve PNEC _{soil} (3,4% OS)	% indicatieve PNEC _{soil} (10% OS = NL)
Carbamazepine	0,90	3,0	<50	< 0,007	< 0,8%	< 0,2%
Ciprofloxacin	4,5	15,3	70	0,01	0,23%	0,07%
Clarithromycine	0,69	2,35	<10	< 0,002	< 0,2%	< 0,06%
Diclofenac	0,07	0,23	<10	< 0,002	< 2,1%	< 0,6%
Doxycycline	1,55	5,26	<10	< 0,002	< 0,09%	< 0,03%
Gemfibrozil	1,94	6,58	<50	< 0,007	< 0,4%	< 0,1%
Metformine	1773	6029	-			
Metoprolol	6,3	21,4	20	0,003	0,05%	0,01%
Oxazepam	3,8	13,0	<5	< 0,0007	< 0,02%	< 0,006%
Paracetamol	12,6	43,0	<50	< 0,007	< 0,06%	< 0,02%
Sulfamethoxazole	0,5	1,8	<50	< 0,007	< 1,4%	< 0,4%

Ciprofloxacin en metoprolol zijn aangetoond in struviet. De toevoeging van ciprofloxacin is ordegrrootte duizend keer minder dan de PNEC_{soil}, de toevoeging van metoprolol tienduizend keer lager. De andere indicator stoffen zijn niet aangetoond omdat de concentratie beneden de detectiegrens ligt. Voor deze stof-

fen is uitgegaan van de detectiegrens. In het ongunstige geval dat deze stoffen in concentraties aanwezig zouden zijn vlak onder de detectiegrens is de berekende concentratie in de bodem in alle gevallen (veel) minder dan procent van de indicatieve $PNEC_{soil}$.

Dit is de concentratietoename uitgaande van de maximaal toegelaten dosering van zuiver struviet met de hoogst gemeten gehalten aan medicijnresten én conservatieve aannames voor de gebruikte indicatieve $PNEC_{soil}$.

Wanneer wordt uitgegaan van een worst case-scenario waarin jaar na jaar struviet wordt opgebracht op dezelfde locaties kan ophoping optreden van de persistente stoffen. In de Meststoffenwet wordt het uitgangspunt gehanteerd dat bij toepassing gedurende 100 jaar geen overschrijding mag plaatsvinden van het verwaarloosbaar risiconiveau (VR). Daarvoor wordt als criterium gehanteerd: $PEC/VR < 1$ waarbij PEC staat voor de predicted environmental concentration.

Behalve de hormonen en paracetamol zijn de indicator stoffen in meer of mindere mate persistent. De PEC na 100 jaar is dan in het ongunstigste geval 100 keer de opgebrachte hoeveelheid. Voor de VR kan de $PNEC_{soil}$ worden aangehouden. Dan geldt dus: $100 \times \text{berekende concentratie in de bodem} / PNEC_{soil} < 1$. Oftewel, de berekende concentratie moet kleiner zijn dan 1% van de $PNEC_{soil}$. Hieraan wordt voldaan.

Uit deze risicoberekening lijkt het zeer onwaarschijnlijk dat medicijnresten in het struviet schade zullen aanrichten aan bodemorganismen. De concentraties in het struviet zijn laag. Na toepassing van de maximaal wettelijk toegelaten dosering van zuiver struviet als meststof zijn de concentratietoenames in de bodem zo laag dat ze ruim onder de indicatieve grens liggen waarbij het bodemleven effecten kan ondervinden. Dit geldt ook bij wanneer struviet 100 jaar achter elkaar wordt toegepast op een locatie.

8.5 Evaluatie ER Calux

Om de uitkomst van een bio-assay te interpreteren kan gebruik worden gemaakt van een effect based trigger value (EBT). Dit is de drempelconcentratie waarboven er effecten kunnen optreden. Een triggerwaarde voor de bodem is niet beschikbaar. Voor effecten van oestrogenen in water geldt een EBT van 0,5 ng EEQ/L als waarde waarbij er een laag risico is op ecotoxicologische effecten (niet humaan risico) (Van der Oost et al, 2017).

Deze triggerwaarde is toegepast op het bodem poriënwater. Wanneer het gebruik van struviet als meststof niet leidt tot een overschrijding van deze triggerwaarde in het poriënwater kan aangenomen worden dat er weinig risico is voor de bodem.

Niet bekend is welk deel van het struviet in het poriënwater in de bodem terecht komt. Ook is de achtergrondconcentratie niet bekend. Voor de berekening is er vanuit gegaan dat alle struviet in het bodemvocht van de bovenste 20 cm terecht komt en dat de achtergrondconcentratie nul is.

In paragraaf 8.2 is berekend dat de maximale struvietgift van 435 kg/ha betekent dat er 0,00013 kg struviet wordt toegevoegd per kg natte grond. Deze bevat in Nederland gemiddeld uit 20% vocht. Er wordt dus 0,00065 kg struviet toegevoegd per kg bodemvocht. De hoogst gemeten waarde in de analyses was 0,095 ng EEQ/g oftewel 95 ng EEQ/kg. Uitgaande daarvan wordt de concentratie in het bodemvocht 0,061 ng EEQ/l (0,00065 kg/l * 95 ng EEQ/kg). Dit is 12,2% van de triggerwaarde van 0,5 ng EEQ/l, dus ongeveer een factor 10 onder de concentratie waarbij in de bodem de triggerwaarde zou worden overschreden.

In de vorige paragraaf is aangegeven dat volgens de risicobenadering uit de Meststoffenwet de gemeten concentratie maximaal 1% mag zijn van het verwaarloosbaar risiconiveau. Hieraan wordt niet voldaan, echter zijn oestrogene hormonen zijn niet persistent. Xuang (2008) vindt een halfwaardetijd voor 17beta-

estradiol van 0,17 dag in zandige leemgrond. Lucas (2006) vindt een halfwaardetijd voor 17beta-estradiol van 5-25 dagen in grasland en 1-9 dagen in grasland bemest met dierlijke mest. Er vindt geen opbouw van de concentraties in de bodem bij een meerjarige struvietgift.

Uit deze risicoberekening lijkt het zeer onwaarschijnlijk dat hormonen in het struviet schade kunnen aanrichten aan bodemorganismen. De concentraties in het struviet zijn laag en na verdunning zijn de berekende concentratietoenames in de bodem zo laag dat ze ruim onder de grens liggen waarbij er weinig risico's zijn voor het bodemleven.

8.6 Evaluatie Pathogenen

8.6.1 Referentiewaarden voor pathogenen

Achtergrondwaarden in de bodem en water

Sporen van sulfiet reducerende clostridia (SSRC), waartoe ook *C. perfringens* behoort, komen algemeen voor in bodem. Er is echter weinig informatie gevonden over gehalten in de bodem. In een studie van Havelaar et al. (1982) is onderzocht welke effect het opbrengen van zuiveringsslib op weilanden heeft op het gehalte aan *Clostridium botulinum*. Dit is een specifieke SSRC. In de referentie weilanden in 50% van de weilanden *Clostridium botulinum* aangetroffen met een gemiddeld gehalte van 10 kve per 100 gram. In de met zuiveringsslib bemeste weilanden was er sprake van 100% positieve monsters met gemiddeld 100 kve per 100 gram. Behalve het specimen *Botulinum* bevat de bodem ook andere SSRC-varianten. In de literatuur worden, naast andere bacteriën, meer dan 20 soorten clostridia gerangschikt onder SSRC waarvan de meesten in de vrije natuur voorkomen. Hierdoor zal het achtergrondgehalte aan SSRC in de bodem (aanzienlijk) hoger zal zijn dan 10 kve per 100 gram.

Het Kenniscentrum Water voor Land- en Tuinbouw (KWLT) heeft data verzameld voor SSRC in water die ook als referentie kunnen dienen. Zie Tabel 22.

Tabel 22. Metingen SSRC in water

	Aantal stalen	Gemiddeld SSRC-gehalte /100ml	Min. SSRC-gehalte /100ml	Max. SSRC-gehalte /100ml
Regenwater	18	60,8	<1	200
Oppervlaktewater	7	24	<1	160
Open put water	177	182,9	<1	8 000
Drainagewater	15	64,5	1	630
Diep grondwater	9	10,4	<1	35
Ondiep grondwater	14	29	<1	220

Bron: Inagro Kenniscentrum water (<http://www.watertool.be>)

In paragraaf 8.2 is berekend dat de maximale struvietgift van 345 kg/ha betekent dat er 0,13 gram struviet wordt toegevoegd per kg natte grond. Deze bevat in Nederland gemiddeld uit 20% vocht. Er wordt dus 0,65 gram struviet toegevoegd per kg bodemvocht. In het struviet is afgezien van de uitschieters in de derde meetronde tot 900 kve/g aangetroffen. Bij toepassing van dit struviet volgens de maximaal toegelaten dosering wordt 1,3 kve/100 gram grond toegevoegd of 6,5 kve/100 ml bodemvocht.

Dit zijn lagere concentraties dan aangetroffen zijn in ondiep grondwater (29 kve/100 ml), regenwater (61 kve/100 ml), oppervlaktewater (24 kve/100 ml) en in de bodem (één specifieke SSRC 10 kve/100 gram). Het gebruik van struviet als meststof leidt waarschijnlijk niet tot een toename van SSRC in de bodem die hoger is dan de achtergrondwaarde.

Gehaltes in zuiveringsslib, dierlijke mest en compost

Gehaltes voor E.coli zijn in gewassen struviet een 2log tot 5log (100 a 100.000) lager dan de waarden uit de literatuur in vergist zuiveringsslib. Gehaltes in gewassen struviet liggen voor SSRC een 2log a 5log factor lager dan de waarden uit de literatuur voor vergist zuiveringsslib en een 2log a 3log factor lager dan in compost. In ongewassen struviet is de reductie t.o.v. vergist zuiveringsslib 1log a 4log.

Voor SSRC zijn geen literatuurwaarden beschikbaar in dierlijke mest, wel van cryptosporidium (Medema et al. 2000). In vleeskalverenmest wordt evenveel tot 100 keer meer cryptosporidium aangetroffen dan in vergist zuiveringsslib. In legkippenmest tot 10.000 keer meer, echter werd cryptosporidium slechts in één op de tien monsters aangetroffen. In vleeskalverenmest gold dit voor bijna tweederde van de monsters.. Het is aannemelijk dat het struviet niet meer cryptosporidium bevat dan vergist zuiveringsslib en dus minder dan vleeskalveren- en kippenmest.

Gehaltes in voedsel

In Warenwetbesluit Bereiding en behandeling van levensmiddelen is een norm opgenomen voor C.perfringens in levensmiddelen van 100.000 kve/g. Salmonella mogen niet aangetoond worden in 25 gram. C.perfringens komt vooral voor in vlees en vleesproducten. Ook kruiden en specerijen kunnen deze bacterie bevatten. De aangetroffen gehaltes in struviet zijn aanzienlijk lager dan wat in voedsel veilig wordt geacht.

Tabel 23. Pathogenen in struviet, zuiveringsslib, compost en dierlijke mest

		Salmonella (kve/g,% aanw.)	E.coli (kve/g)	Faecal coli- forms (kve/g)	SSRC (kve/g)	Cryptosporidi- um viable (to- tal)(kve/g)	Entero virussen (kve/g)	Helminth viable (#/g)
Struviet ge- wassen	Dit onderzoek	0%	<10-10 ³		<10-9*10 ²			
	Morgenschweiss				5-8,6*10 ²			
Struviet on- gewassen	Morgenschweiss				9,3*10 ¹ - 1,3*10 ⁴			
Vergist zuive- ringsslib	Martín-Díaz et al		2,5-6,1*10 ⁵		5,6-12*10 ⁶			
	Guzman	100%		3,4*10 ⁷	4,6*10 ⁶	2,0*10 ¹ (2,6*10 ²)	3,5*10 ¹	0,33 (1,7)
	Huisman		6*10 ⁴					
	Morgenschweiss		<3,3*10 ¹ - 3,4*10 ⁴		4,2*10 ⁴ - 1,2*10 ⁵			
Onbehandeld zuiveringsslib	Martín-Díaz et al		3,2*10 ⁶ - 2,2*10 ⁷		5,9-6,0*10 ⁶			
	Guzman	100%		1,5*10 ⁹	5,1*10 ⁷	2,8*10 ² (1,1*10 ²)		<1 (1,2)
	EU sludge	10 ² -10 ³	10 ⁶				10 ² -10 ⁴	10 ² -10 ³
	Reinthalder		1,1*10 ⁴					
	Huisman		5*10 ⁶					
Compost	Guzman	17%		1,8*10 ³	3,4*10 ⁴	2,3 (3,4*10 ¹)		
Rundermest	Medema		1,4*10 ⁶ 15% aanw.			1% aanw.		
Vleeskalveren mest, ingedikt	Medema					5,7*10 ³ 63% aanw		
Kippenmest	Medema					4,2*10 ⁴ 9%aanw		

Concluderend zijn de gehalten aan SSRC (incl. C.perfrigans) in gewassen struviet (aanzienlijk) lager dan de literatuurwaarden voor vergist zuiveringsslib en compost. De dosering van struviet van maximaal 400 kg/ha is daarbij aanzienlijk lager dan de dosering tot enkele tientallen tonnen per ha van zuiveringsslib en compost. De belasting van de bodem met SSRC is daardoor meer dan een factor 100 lager ligt dan bij bemesting met zuiveringsslib zoals buiten Nederland veelvuldig wordt toegepast. De aangetroffen gehalten van C.perfrigans in struviet zijn aanzienlijk lager dan de grenswaarde uit het Warenwetbesluit voor voedingsmiddelen.

8.7 Dosis-respons berekening

Voor SSRC zijn in de literatuur geen dosis-respons relaties gevonden, wel voor E.coli en Cryptosporidium. Echter kunnen we hiermee geen zinvolle uitspraken doen.

9 Discussie analyseresultaten en risicobeoordeling

9.1 Discussie analyseresultaten

9.1.1 Medicijnen en hormonen

Voor de medicijnresten en hormonen zijn mogelijke verschillen tussen locaties en meetrondes nauwelijks zichtbaar omdat de resultaten grotendeels onder de detectiegrens liggen. Alleen in het struviet van RWZI A'dam West, dat als enige afkomstig is uit zuiveringsslib, zijn voor enkele stoffen gehalten aangetroffen net boven de detectiegrens. Een mogelijke verklaring is het hogere gehalte aan organische stof in dit struviet (ca 5%) vergeleken met het struviet uit centraat dat nauwelijks organische stof bevat (zie paragraaf 0).

Extra wassen lijkt geen substantieel verschil uit te maken. De handgewassen monsters van RWZI A'dam West bevatten voor een aantal stoffen hogere concentraties dan de monsters uit de normale bedrijfsvoering (gewassen met bedrijfswater). Dit betreft metoprolol, ciprofloxacine, estriol equivalent (beide indicatorstoffen) en oxafloxavine (extralijst). Omgekeerd bevatten de monsters uit normale bedrijfsvoering hogere concentraties aan miconazole en triclosan (extralijst). De variatie tussen monsters is groter dan het verschil tussen extra gewassen en normale bedrijfsvoering. Het gaat overigens niet om grote verschillen.

9.2 Pathogenen

De verschillende locaties laten wel flinke verschillen zien als het gaat om de indicatoren voor pathogenen. Van niet meetbaar tot boven de toekomstige EU-grenswaarde. Hieronder wordt ingegaan op de verschillen en mogelijke verklaringen daarvoor.

Verskil extra wassen en verwijderen onzuiverheden RWZI A'dam West

Voor de indicatoren voor pathogenen maakt het extra wassen en verwijderen van de onzuiverheden een groot verschil. Met name bij de E.coli en totaal aan enterobacteriaceae is er sprake van een forse reductie. Voor de SSRC zorgt extra wassen ook voor een substantiële reductie, maar niet voor complete verwijdering. Dit geeft aan dat pathogenen in hoofdzaak aan de buitenkant van het kristal aanwezig zijn en niet in de struvietmatrix ingebouwd worden. Voor de grotere protozoa en oocyst is vanwege het formaat zeer de vraag of ze in het kristal kunnen worden ingebouwd. Deze zijn echter niet direct bepaald.

Verskil struviet uit slib en centraat

Verwacht werd dat het struviet uit slib meer pathogenen zou bevatten dan struviet uit centraat, dit blijkt echter niet het geval voor de SSRC en E.coli. Wel zijn er in Amsterdam een factor 100 meer enterobacteriën aangetroffen. Het beeld qua SSRC is bij RWZI Amsterdam West constanter, enkele honderden kve, tegenover de heen en weer schietende gehalten van <10 tot >10.000 op RWZI Apeldoorn en RWZI Land van Cuijk.

Uitschieters SSRC derde meetronde Apeldoorn en Land van Cuijk

In de derde meetronde werden in het struviet van deze twee locaties meer dan 10.000 kve/g aan SSRC aangetroffen. E.coli waren juist opvallend afwezig. Dit lijkt erop te wijzen dat er omstandigheden zijn geweest waarbij de bacteriën het loodje hebben gelegd, maar waarbij de sulfietreducerende clostria, al dan niet na een groeiexplosie, massaal sporen hebben gevormd. De derde meetronde vond plaats in een uitzonderlijk warme periode. Een andere mogelijke verklaring is herbesmetting van de monsters.

Uitschieter E.coli vierde meetronde RWZI A'dam West

Het hoge gehalte aan E.coli van 3.400 kve/g voor RWZI A'dam West in de vierde ronde is goed verklaarbaar omdat de slibverblijftijd in de RWZI in die periode de helft was van normaal. Dit was een uitzonderlijke omstandigheid. Hoe langer de verblijftijd hoe minder pathogenen er in het slib en dus struviet aanwezig zijn.

Lage E.coli gehalten RWZI Apeldoorn vergeleken met RWZI Land van Cuijk

De gemeten hoeveelheden E.coli (en enterobacteriaceae) in het struviet van RWZI Land van Cuijk zijn veel hoger dan RWZI Apeldoorn ondanks het feit dat op beide locaties een NuReSys reactor op centraat bedreven wordt. Voor de SSRC is dit verschil niet aanwezig. Er zijn vier verschillen in het productieproces: Ten eerste wordt het struviet op RWZI Land van Cuijk wordt gewassen met kraanwater, terwijl dat op de RWZI Apeldoorn niet wordt gewassen. Ten tweede wordt op de RWZI Apeldoorn een deel van het slib (60%) behandeld met thermische-drukhydrolyse waarbij pathogenen worden afgedood. Ten derde wordt op de RWZI Apeldoorn ook het centraat van niet vergist primair slib als bron gebruikt. Dit is juist rijker aan pathogenen. Ten vierde wordt op de RWZI Apeldoorn wordt het struviet opgeslagen in big bags en op RWZI Land van Cuijk in een gesloten container.

Een waarschijnlijke verklaring is dat het opslaan in open big bags in plaats van in een gesloten container zorgt voor een sneller afsterven van de E.coli – en ook andere bacteriën. Ook kan een verklaring zijn dat vanwege het gebruik van kraanwater op RWZI Land van Cuijk met te weinig debiet wordt gewassen om het struviet goed schoon te krijgen. Met kraanwater wordt uiteraard zuiniger omgesprongen dan met bedrijfswater.

Lage gehalten struviet RWZI Amersfoort

De productie op RWZI Apeldoorn levert een zeer schoon struviet op zonder meetbare medicijnresten en met zeer weinig tot geen pathogenen. Hiervoor zijn meerdere mogelijke verklaringen. Ten eerste is het centraat afkomstig uit vergist slib dat deels een TDH-behandeling heeft ondergaan met temperaturen waarbij alle pathogene afgedood worden. Deze TDH wordt bedreven volgens een retourprincipe zie § 2.6 waardoor niet alle vergist slib hittebehandeld is. Ten tweede wordt droogstap ingezet. Het struviet wordt gedurende 10-15 minuten op 55-75 °C gedroogd en vervolgens droog opgeslagen. Deze verblijftijd en temperatuur is volgens de literatuur echter niet afdoende om alle SSRC en C.perfringens af te doden. Een derde mogelijke verklaring is dat vers struviet (ongeacht de installatie) geen SSRC bevat en dat de sporenvorming pas tijdens opslag plaats vindt. De sporenvormende clostridia worden tijdens de droging gedood en hebben geen tijd om een overlevingsvorm te vormen. Dit lijkt echter weinig waarschijnlijk omdat vergist zuiverings-slib wel SSRC bevat. Een vierde mogelijkheid zou zijn dat het Pearl proces op RWZI Amersfoort tot minder pathogenen leidt. Afgezien van het gebruik van entmateriaal om de vorming van grote kristallen te bevorderen zijn er echter geen grote verschillen in procescondities met de andere installaties. De afwezigheid van SSRC lijkt daarom vooral te danken aan de TDH behandeling en de droger. Het effect van een droogstap in een proces zonder TDH kon helaas niet onderzocht worden.

Afwezigheid pathogenen RWZI Land van Cuijk in vierde meetronde

Het bemonsterde struviet had drie weken in de container gestaan vanwege een productiestop en was vrij droog. Dit verklaart de afwezigheid van E.coli, maar niet van SSRC.

Conclusie

Concluderend zien we flinke verschillen in de uitslagen in de tijd en tussen de verschillende productie-technieken en wijze van opslag, die we nog niet volledig kunnen verklaren. Wat we uit de resultaten kunnen opmaken is het volgende: Behandeling van het slib met TDH en drogen van het struviet zorgt voor een pathogene arm struviet. Aangenomen mag worden dat droog opslaan sowieso gunstig is om (her)groei van bacteriën te verminderen. Struviet is een zout en bacteriën hebben slechte overlevingskansen in droog zout. Grondig wassen is effectief in het verwijderen van micro organismen, dit geldt het sterkst voor de (niet sporenvormende) bacteriën. Struviet uit slib bevat niet perse meer micro organismen dan struviet uit centraat. Tijdens langere opslag, waarbij het struviet kan drogen, verdwijnen de E.coli bacteriën. Bij opslag in big bags lijkt dit sneller te verlopen.

9.3 Seizoenseffecten

Er zijn geen seizoenseffecten gevonden op basis van de uitgevoerde meetrondes.

9.4 Vergelijking analyseresultaten met eerdere metingen en literatuur

In het Ufoplan onderzoek (Stenzel et al, 2019) naar medicijnresten in struviet in opdracht van het Duitse Umweltbundesamt (onderhands verkregen) zijn twee rwzi struvieten onderzocht: ongewassen struviet uit een AirPrex proces uit onvergist slib en struviet uit het Stuttgarter Verfahren. In dit laatste proces wordt zuiveringsslib gehydroliseerd (aangezuurd) en wordt via ultrafiltratie een centraat afgescheiden waaruit struviet wordt gewonnen. In beide struvieten bleken met name de met name de (fluor)chinolonen aanwezig te zijn. In het Duitse AirPrex struviet werden tien keer hogere gehalten aan ciprofloxacin en metoprolol aangetroffen dan in het struviet van RWZI A'dam West. Ook carbamazepine was in vergelijkbare gehalten aanwezig maar is echter niet aangetoond in het struviet van RWZI A'dam West. Het verschil is verklaarbaar omdat in de Duitse studie een ongewassen en onzuiver struviet is onderzocht met veel hogere gehalten aan organische stof. Hieraan kunnen medicijnen zich binden. In het in dezelfde studie onderzochte zuiverder struviet uit het Stuttgarter Verfahren werden vergelijkbare gehalten aangetroffen van ciprofloxacin en iets lagere gehalten aan metoprolol dan in het struviet van RWZI A'dam West.

In het eerdere STOWA-onderzoek (Morgenschweiss, 2015) werd in het ongewassen struviet van RWZI A'dam West 0,04 mg/kg metoprolol aangetroffen. In het gewassen, hand gereinigde struviet werd dit niet gemeten. Dit is in lijn met de huidige meting van maximaal 0,02 mg/kg in struviet van RWZI A'dam West.

In experimenten met struviet uit synthetische en natuurlijke urine bleek dat tetracyclines, erythromycine en norfloxacin preferent in struviet terechtkomen (Kemacheevakul, 2012). De indicatorstof doxycycline hebben we echter niet terug kunnen vinden in het struviet. Opgemerkt wordt dat doxycycline is nog niet door Wessling Hongarije is gevalideerd zodat er nog een slag om de arm geldt bij de metingen. Een verklaring voor het niet aantreffen van deze antibiotica is dat de vracht aan deze stoffen laag is op de RWZI. Daarnaast is in de genoemde experimenten een veel lage Mg:P verhouding gebruikt (Kemacheevakuul, 2015) dan in de praktijk, waardoor meer stoffen worden opgenomen in het struviet dan in een reactor op de RWZI. In het onderzoek van de Boer (2018) is bevestigd dat productie met een overmaat aan magnesium de opname van deze stoffen in het struviet tegengaat.

De gevonden gehalten aan SSRC in gewassen struviet zijn vergelijkbaar met de uitkomsten uit het STOWA-onderzoek. In het huidige onderzoek zijn deels lagere gehalten aangetroffen in struviet uit centraat van TDH behandeld slib dat een droogstap ondergaat. In het STOWA-onderzoek was struviet uit dit type proces niet meegenomen.

9.5 Maatregelen om de blootstelling aan pathogenen te beperken

Om een infectie op te lopen met pathogenen is blootstelling aan de pathogeen nodig. Als er geen inname van het struviet is tijdens het verwerken en produceren van struviet op de RWZI en tijdens toepassing van struviet dan is er ook geen gezondheidsrisico.

Bij verwerking van struviet in een professionele omgeving geldt de Arboret en mag verwacht worden dat de medewerkers de aanwijzingen op het veiligheidsinformatieblad in acht nemen t.a.v. het wassen van de handen, niet eten tijdens gebruik en gebruik van handschoenen.

Voor niet professionele gebruikers is het van belang wanneer het struviet pathogenen kan bevatten, duidelijk op de verpakking aan te geven dat het nodig is om handschoenen te gebruiken en na afloop de handen te wassen en ervoor te zorgen dat het product niet wordt ingenomen. Consumenten kunnen in praktijk laks zijn met instructies op de verpakking t.a.v. het gebruik en lopen daardoor een groter risico op besmetting als het struviet niet vrij is van pathogenen.

Een risico voor besmetting via de voedselketen zijn pathogenen die zeer lang in het milieu kunnen overleven. Protozoa en wormeieren kunnen jaren in de bodem overleven en gewassen besmetten. Voor deze

overlevingsvormen zijn de SSRC de indicator. Het risico is het hoogst bij toepassen op een gewas dat voor consumptie of diervoeder wordt gebruikt (o.a. sla of gras). Ook grazend vee kan geïnfecteerd raken met deze pathogenen. Dit neemt niet weg dat de prevalentie van intestine wormen laag is. Ook voor grotere huisdieren wordt regelmatig ontwormen aanbevolen, waardoor slachtvee schoon is van wormen. Vee dat besmet is met ascaris of toxocaris wordt niet in slachthuizen toegelaten of verwerkt.

Zoals is vastgesteld in § 8.6.1 worden bij bemesting met struviet minder SSRC toegevoegd dan bij andere gangbare organische meststoffen. Gebruik van onbewerkt struviet is daarom niet risicovoller dan deze meststoffen.

9.6 Risico medicijnresten en pathogenen in verschillende toepassingsketens

Afhankelijk van de keten vindt een reductie plaats in het gehalte aan eventuele pathogenen. Bijvoorbeeld door hygiënisatie in het productieproces waarbij struviet als grondstof wordt gebruikt. Onderstaande tabel geeft een overzicht. Zie hoofdstuk 3 voor een toelichting op wat verstaan is onder hygiënisatie.

Aangenomen is dat struviet dat voldoet aan de toekomstige EU normen (Strubias criteria) voor eindproducten met teruggewonnen fosfaten veilig is. Wanneer deze normen in de EU meststoffenverordening van kracht worden zal een eindproduct met struviet dat voldoet aan de eisen en een CE keurmerk behaalt automatisch de einde-afval status verkrijgen. Voor struviet dat niet aan de Strubias norm voldoet wordt alleen overschrijding van Salmonella en E.coli als risicovol aangemerkt gezien (zie paragraaf 5.2).

Er kan onderscheid gemaakt worden naar drie type ketens (Tabel 24):

1) Veilige keten ongeacht microbiologische kwaliteit struviet

Donkergroen gemarkeerd zijn de ketens die een pathogenvrij product opleveren. Lichtgroen gemarkeerd zijn ketens waarbij het productieproces niet noodzakelijk een pathogenvrij eindproduct oplevert, maar waarin wel de niet sporenvormend bacteriën (indicator E.coli) zijn afgedood. Ook lichtgroen gemarkeerd zijn de ketens waarin een mogelijk niet pathogenvrij eindproduct wordt gehanteerd door professionele gebruikers en niet wordt toegepast op voedselgewassen of andere toepassingen waarbij blootstelling plaatsvindt. Van professionele gebruikers mag verwacht worden dat deze de Arbo instructies opvolgen (zoals gebruik handschoenen, voorkom aanraking met de mond, handen wassen na toepassing). In de groene ketens zijn er geen risico's of zijn deze goed beheersbaar.

2) Veiligheid keten afhankelijk kwaliteit struviet, beheersmaatregelen kunnen voor veilig gebruik zorgen

Geel gemarkeerd zijn ketens waarbij het productieproces niet gegarandeerd een eindproduct oplevert dat vrij is van pathogenen en waarbij het eindproduct door professionele gebruikers wordt toegepast voor voedselgewassen. Voor deze ketens hangen de risico's af van de kwaliteit van het ruwe struviet. Struviet van rioolwaterzuiveringen waarbij de gehalten aan pathogenen structureel binnen de toekomstige grenswaarden van de EU meststoffenverordening valt (voor E.coli en Salmonella) kan in deze ketens veilig toegepast worden. Risico's van struviet van rioolwaterzuiveringen waar dit (nog) niet het geval is kunnen beheerst worden met teeltbeperkingen zoals deze ook gebruikt worden bij het toepassen van dierlijke mest. De aangetroffen gehalten aan E.coli en SSRC zijn in lijn met dierlijke mest. Salmonella is afwezig.

3) Veiligheid keten afhankelijk kwaliteit struviet, geen adequate beheersmaatregelen

Oranje gemarkeerd zijn ketens waarbij het productieproces niet gegarandeerd een eindproduct oplevert dat vrij is van pathogenen en waarbij het eindproduct door consumenten wordt toegepast. Voor deze ketens hangen de risico's af van de kwaliteit van het ruwe struviet. Van consumenten kan niet verwacht worden dat deze conform veiligheidsinstructies werken of teeltbeperkingen toepassen. Alleen struviet van rioolwaterzuiveringen waarbij de gehalten aan pathogenen structureel binnen de toekomstige grenswaarden van de EU meststoffenverordening valt (voor E.coli en Salmonella) kan in deze ketens veilig toegepast worden.

Tabel 24. Risico pathogenen in verschillende toepassingsketens

Nr	Beschrijving	Behandeling	Risico	
A	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij in het productieproces hygiëniseringsmaatregelen plaatsvindt. Bijvoorbeeld: gebruik als vervanger voor fosfaaterts in een chemisch productieproces (toepassing bij ICL), gebruik in chemisch onbewerkte vorm in korrel- of tabletvormige meststoffen, raffinage tot fosforzuur.	Gehygiëniseerd	Vrij van pathogenen	
B	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij in het productieproces hygiëniseringsmaatregelen en verdunning (min factor 10) plaatsvindt.	Verdund en gedroogd	Vrij van E.coli en Salmonella	
C	Toepassing in (kunst)meststoffen waarbij het eindproduct gedroogd wordt.	Gedroogd	Vrij van E.coli en Salmonella	
D	Toepassing in (kunst)meststoffen of in pure onbewerkte vorm zonder dat sprake is van een vorm van hygiëniseringsmaatregelen of droging.	Geen	D1) Professionele gebruiker, niet voedselgewas	Pathogenen mogelijk aanwezig. Risico besmetting werknemer bij gebruik.
			D2) Professionele gebruiker, voedselgewas	Pathogenen mogelijk aanwezig. Risico bij consumptie voedselgewas (mens, dier) en voor grazers. Risico besmetting werknemer bij gebruik.
			D3) Consument	Pathogenen mogelijk aanwezig. Risico besmetting bij gebruik en bij consumptie voedselgewas.

9.7 Conclusie resultaten risicobeoordeling

Medicijnen en hormonen zijn in geen van de toepassingsketens een probleem. Pathogenen zijn een aandachtspunt en leveren beperkingen op voor de toepassing en/of stellen voorwaarden aan behandeling en kwaliteitscontrole van het struviet in het productieproces tot aan het eindproduct.

Struviet dat op de RWZI zodanig is behandeld dat dit pathogeen vrij is of in elk geval voldoet aan de Strubias criteria voor Salmonella en E.coli als indicator voor niet sporenvormende bacteriën kan aan alle ketens veilig geleverd worden. Dit geldt voor het struviet van RWZI Amersfoort.

Struviet waarvoor dit niet geldt kan veilig geleverd worden aan ketens waarin het eindproduct door hygiëniseringsmaatregelen of drogen vrij is van pathogenen of voldoet aan de Strubias criteria voor Salmonella en E.coli als indicator voor niet sporenvormende bacteriën. Wanneer het eind product als EU meststof op de markt wordt gebracht zal dit product moeten voldoen aan alle Strubias criteria om een CE keurmerk te behalen.

Struviet dat niet voldoet aan de Strubias criteria kan ook veilig geleverd worden aan ketens waarin het eindproduct niet gehygiëniseerd of gedroogd wordt, wanneer uitsluitend geleverd wordt aan professionele gebruikers en deze veiligheidsinformatie krijgen t.a.v. het gebruik.

9.8 Onzekerheden

Er zijn een aantal onzekerheden ten aanzien van de uitkomsten van de analyses en de interpretatie van de risico's:

- Voor medicijnen zijn nog niet alle stoffen gevalideerd. De uitkomsten zijn echter zodanig dat we ook met de huidige onzekerheden kunnen vaststellen dat er geen risico is. Hetzelfde geldt voor de hormonen.
- We weten niet goed hoe we de uitkomsten qua SSRC moeten interpreteren. De SSRC zijn een indicator voor overlevingsvormen zoals protozoa en oocyten en wormeieren. Zonder ijking van de SSRC hieraan kunnen geen uitspraken gedaan worden over verwijdering. Uit onderzoek van Martín-Díaz et al (2016) blijkt dat onder basische omstandigheden (zoals in de struvietreactor) hergroei kan optreden van SSRC. Op basis hiervan constateert hij dat SSRC mogelijk minder geschikt zijn als indicator voor protozoa en wormeieren die immers niet hergroeien. Het is verder niet uit te sluiten dat deze grote overlevingsvormen, niet, maar de clostridia wel in het struvietkristal opgenomen kunnen worden, waardoor het geen geschikte indicator zou zijn voor protozoa en oocyten en wormeieren.
- De gehalten aan pathogenen variëren sterk, we weten niet of na deze meetrondes de mogelijke range volledig in beeld zijn.
- We kunnen de uitkomsten van de pathogenenanalyses niet volledig duiden. Dat maakt het lastig om maatregelen te treffen om deze te beheersen.
- We hebben niet onderzocht in welke mate pathogenen verwijderd worden ten opzichte van hun aanwezigheid in het zuiveringsslib, over het verwijderingsrendement kunnen we geen uitspraken doen en slechts refereren aan literatuurwaarden.
- Antibiotica resistentie is niet meegenomen omdat RIVM heeft aangegeven dat we dat met de kennis van nu niet kunnen duiden (Grinten et al, 2017).

10 Aanvullend onderzoek effect opslag op pathogenen

Na bespreking van de onderzoeksresultaten, zoals hiervoor gepresenteerd, met RIVM, RWS en het Ministerie van IenW heeft RIVM geadviseerd om een andere insteek te kiezen dan het voldoen aan de Strubias criteria. De aanwezigheid van de sporenvormer *C.perfringens* boven de Strubias norm van 100 kve/g wordt niet als problematisch gezien aangezien deze van natuur in de bodem voorkomt en in hoge gehalten (10.000 kve/g). Het wordt echter wenselijk geacht en lijkt ook goed mogelijk om het struviet vrij te krijgen van niet sporenvormende bacteriën (indicator *E.coli*) door opslag en drogen aan de lucht.

In de levensmiddelen technologie wordt de a_w -waarde (hoeveelheid vrij water) gebruikt om te bepalen of bacteriën kunnen overleven in een product. Beneden een bepaalde a_w -waarde specifiek voor een product sterven bacteriën binnen korte tijd af omdat onvoldoende vocht aanwezig is. De verwachting is dat dit voor struviet optreedt beneden een a_w -waarde van 80. Omdat de a_w -waarde eenvoudig bepaald kan worden zou dit een praktisch methode zijn om te controleren of struviet.

Om inzicht te krijgen in het verloop van *E.coli* en *C.perfringens* in het zuiveringsproces, het effect van de opslagcondities op *E.coli* in struviet en de bruikbaarheid van de a_w -waarde als indicator is de HAS Hogeschool ingeschakeld. Studenten van de HAS hebben in opdracht van de EFGF werkgroep Nutriënten nader onderzoek gedaan. Het onderzoeksrapport is opgenomen als bijlage 7 (Schalk en Koenraad, 2021). Hieronder volgt een korte beschrijving van het onderzoek en de uitkomsten. Voor nadere details wordt verwezen naar de bijlage. Uit dit HAS onderzoek worden een aantal conclusies getrokken voor het hoofdrapport.

10.1 Onderzoeksopzet

Er zijn is een viertal experimenten / bepalingen gedaan:

E.coli en *C.perfringens* overleving in verschillende struviet productieprocessen van onvergist slib tot het struviet eindproduct.

Op vier RWZI's (Land van Cuijk, Den Bosch, Apeldoorn en Amersfoort) is het zuiveringsproces in kaart gebracht, is op plaatsen in het proces slib, centraat en struviet bemonsterd en zijn *E.coli* en *C.perfringens* bepaald. Bepaling heeft plaatsgevonden via kweek in een broedstoof en tellen van gevormde kolonies waarbij voor *E.coli* afwijkend van de ISO standaard een temperatuur is gehanteerd van 37°C ipv 44°C, deze is optimaal voor *E.coli* en voorkomt vals negatieven door een te hoge temperatuur.

Eigenschappen van vers en gedroogd struviet: a_w -waarde, de pH, en de EC.

Deze bepalingen zijn gedaan in vers struviet van alle rwzi's en in het gedroogde struviet van Amersfoort (droging bij 70°C) en Apeldoorn (droging aan de lucht in big bags).

*Overleving van *E.coli* en a_w -waarde in de tijd bij open en gesloten opslag*

Er is gebruik gemaakt van struviet van RWZI Apeldoorn en den Bosch. Hiervoor is gekozen omdat dit twee duidelijk verschillende type struviet zijn waarbij Den Bosch gezien kan worden als worst-case voor het afsterven van *E.coli* aangezien het een zeer fijn en nat struviet betreft. De monsters zijn gespiked met *E.coli* rijk water en opgeslagen in een open of gesloten pot in een broedstoof bij 20°C zonder luchtverversing.

Het experiment is twee keer uitgevoerd, de eerste keer om inzicht te krijgen in het verloop, het bepalen van de tijd tussen de meetmomenten en de benodigde duur van het experiment. Hierna is het experiment herhaald en zijn analyses uitgevoerd op *E.coli* en a_w -waarde na 0, 3, 7, 10, 21 en 29 dagen.

*Effect van aanwezigheid van organische stof op verloop *E.coli**

Van struviet van RWZI Den Bosch zijn twee samples onderzocht, één sample met struviet dat gespoeld werd om organische stof te verwijderen, één onbehandeld sample. Beide (natte) samples zijn bewaard in een gesloten pot en op dag 0, 2, 6 en 12 werd het *E.coli* gehalte bepaald.

10.2 Resultaten

E.coli en C.perfringens overleving in verschillende struviet productieprocessen van onvergist slib tot het struviet eindproduct.

In RWZI's met een mesofiele gisting neemt het gehalte aan E. coli geleidelijk af vanaf de slib vergisting tot het geproduceerde struviet. Met uitzondering van RWZI Land van Cuijck waar het centraat meer E.coli bevatte dan het uitgegist slib. In een thermofiele gisting (RWZI Den Bosch) sterven E.coli door de hoge temperaturen (53°C) af en worden in uitgegist slib, centraat en struviet geen E.coli gevonden boven de detectiegrens (100 kve/g). Ook de korte verhittingstap waarmee het struviet op RWZI Amersfoort wordt gedroogd (70°C) zorgt voor volledig afsterven van E.coli. Op basis van één meting bij RWZI Land van Cuijck blijkt dat tijdens het struvietproductieproces zelf geen E.coli afsterven, de afname vindt plaats door de daaropvolgende scheiding van het struviet van de waterfase.

In de hoeveelheid C.perfringens voor en na de slibgisting is geen duidelijk verschil te zien. Ook in de thermofiele vergisting van RWZI Den Bosch overleven de C.perfringens. Na de gisting is het verloop als voor de E.coli.

Het hoogst aangetroffen gehalte aan E.coli in struviet was 270 kve/g, dat ligt in de lijn met eerder uitgevoerde analyses. Van C.perfringens werden hogere gehalten aangetroffen tot $1,5 \cdot 10^5$ kve/g.

Eigenschappen van vers en gedroogd struviet: a_w -waarde, de pH, en de EC.

De a_w -waarde van alle verse struviet monsters ligt dicht bij de 1. In het gedroogde struviet van Amersfoort is de a_w -waarde 0,35 en in het droge struviet van RWZI Apeldoorn 0,64. De pH van de monsters ligt tussen de 8,4 en de 9,3, boven de overlevingsgrens van E.coli. De EC ligt in het bereik van water, zodat dit geen factor is die de overleving belemmert.

Overleving van E.coli en a_w -waarde in de tijd bij open en gesloten opslag

In het struviet van RWZI Apeldoorn nam zowel in open als gesloten potten het E.coli gehalte rap af, na 7 dagen lag dit onder de detectiegrens (van 100 kve/g) voor de open pot en na 10 dagen voor de gesloten pot. In het struviet van RWZI Den Bosch bleef het E.coli gehalte in open en gesloten pot enkele dagen constant om daarna geleidelijk af te nemen. In de open pot werd na 21 dagen geen E.coli meer gemeten, in de gesloten pot na 29 dagen. In het struviet van RWZI Den Bosch werd een log4 reductie bereikt gedurende de tijdsreeks van 29 dagen, in het struviet van RWZI Apeldoorn een log3 reductie omdat hier bij aanvang een log factor minder E.coli aanwezig waren.

In de open potten daalde de a_w waarde tot ca 0,5 aan het einde van de reeks. In de gesloten potten bleef de a_w waarde constant hoog.

Effect van aanwezigheid van organische stof op verloop E.coli

Het tempo waarin de E.coli afneemt is gelijk voor onbehandeld struviet en struviet waarin door spoelen de organische stof zoveel mogelijk is verwijderd. Organische stof speelt geen rol bij het overleven van E.coli in struviet.

10.3 Conclusie voor het hoofdrapport

Er is beter inzicht verkregen welke factoren leiden tot het afsterven van E.coli tijdens opslag. Ongeachte de opslagomstandigheden zorgen de beperkte aanwezigheid van voedingsstoffen in struviet en een PH waarde die boven de overlevingsgrens van E.coli ligt ervoor dat E.coli afsterven. Gunstige opslagomstandigheden, waarbij het struviet kan drogen aan de lucht (bijv. big bag), zorgen voor een snellere afdoding door de toevoer van zuurstof (sneller opgebruiken van voedingsstoffen) en verlaging van de hoeveelheid vrij water (a_w waarde) die nodig is voor overleven van bacteriën. Een grote struvietkorrel helpt daarbij. Omdat struviet een slecht oplosbaar zout is, blijkt osmotische druk geen factor die bijdraagt aan het afsterven. Ook spoelen

met verwijdering van organische stof blijkt geen invloed te hebben op de snelheid waarmee de E.coli afneemt.

Ook onder ongunstige opslagomstandigheden (gesloten container met vochtig struviet) sterven E.coli langzaam af. In 29 dagen werd een log4 reductie gerealiseerd, dat is ruim voldoende uitgaande van het hoogst aangetroffen gehalte aan E.coli van 1.000 kve/g (onder normale bedrijfsvoering). Met een veiligheidsmarge mag verwacht worden dat een opslagperiode van een maand afdoende is om de gewenste verwijdering van niet sporenvormende bacteriën te realiseren.

Bij opslag met droging aan de lucht (bijv. big bags) verloopt de afname van E.coli aanzienlijk sneller. Hiervoor is het wenselijk meer data te verzamelen om vast te stellen welke opslagtermijn afdoende is. Tot die tijd kan via representatieve bemonstering en analyse vastgesteld worden of struviet na een kortere opslagtermijn dan een maand geschikt voldoet aan de eis van afwezigheid van E.coli.

De E.coli sterven gedurende opslag ook af bij een zeer hoge a_w -waarde. Deze is daardoor niet geschikt als indicator of het struviet vrij is van E.coli.

11 Conclusies en aanbevelingen

11.1 Conclusies

Aanpak onderzoek

Onderzoek aan struviet wordt bemoeilijk doordat er weinig laboratoria zijn die de struvietmatrix kunnen en willen meten. Ook is het lastig gebleken om struviet in containers representatief te bemonsteren. De gebruikte analysemethoden zijn werkbaar gebleken.

Analyseresultaten

Alleen in het struviet van RWZI Amsterdam-West (uit slib) zijn medicijnresten aangetroffen net op of boven de detectiegrens. De aanwezigheid van hormonen is met de gevoelige ER-Calux methode in alle struviet in zeer lage doses aangetoond. De verschillende locaties laten flinke verschillen zien als het gaat om de pathogenen met grote variaties tussen de meetrondes. Salmonella is niet aangetoond. E.coli, SSRC waaronder C.perfringens zijn aanwezig. Alleen op RWZI Amersfoort is het struviet vrijwel vrij van pathogenen.

Risicobeoordeling

Voor medicijnen en hormonen is getoetst of de indicatieve PNEC_{soil} (Predicted No-Effect Concentration) in de bodem wordt overschreden bij een maximaal toegelaten bemesting met struviet. Uit deze risicoberekening lijkt het zeer onwaarschijnlijk dat medicijnresten in het struviet schade zullen aanrichten aan bodemorganismen. De concentraties in het struviet zijn laag en na verdunning zijn de concentratietoenames in de bodem zo laag dat ze ruim onder de indicatieve grens liggen (PNEC_{soil}) waarbij het bodemleven effecten kan ondervinden. Dit geldt ook wanneer op een locatie honderd jaar lang de maximale hoeveelheid struviet wordt opgebracht.

Struviet voldoet aan de toekomstige criteria voor EU meststoffen met teruggewonnen fosfaten (eindproducten) met uitzondering van de norm voor C.perfringens. Deze is met 100 kve/g een factor 1.000 lager dan de norm voor C.perfringens voor levensmiddelen uit de Warenwet, zodat het humaan risico hiervan verwaarloosbaar is. Sporenvormers waaronder SSRC (waartoe ook C.perfringens behoort) komen van nature voor in de bodem. Bij de maximaal toegelaten dosering van struviet als meststof is de toevoeging met SSRC uit het struviet niet meer dan de achtergrondgehalten aan SSRC in bodem, regen-, grond- en oppervlaktewater. De gehalten aan SSRC in struviet zijn (aanzienlijk) lager dan de waarden volgens de literatuur in compost. De dosering van struviet als meststof (max 435 kg/ha) is daarbij aanzienlijk lager dan compost (tot enkele tientallen tonnen per ha).

Evaluatie uitkomsten metingen

Wat betreft de medicijnresten en hormonen zijn verschillen nauwelijks zichtbaar omdat de resultaten grotendeels onder de detectiegrens liggen.

Voor de indicatoren voor pathogenen zien we flinke verschillen in de uitslagen in de tijd en tussen de verschillende productietechnieken en wijze van opslag die we nog niet volledig kunnen verklaren. De uitkomsten variëren van niet meetbaar tot boven op de toekomstige EU-grenswaarde. Enkele conclusies zijn: Behandeling van het slib met TDH en vervolgens drogen zorgt voor een pathogeenarm struviet. Droog opslaan is gunstig is om (her)groei van bacteriën te verminderen. Wassen met industriewater is effectief voor het verwijderen van pathogenen, dit geldt het sterkst voor de bacteriën. Struviet uit slib bevat niet meer pathogenen dan uit centraat. Tijdens langere opslag waarbij het struviet droogt sterven de niet sporenvormende bacteriën af. Bij opslag in big bags lijkt dit sneller te verlopen. Er zijn geen seizoenseffecten gevonden.

Vervolgonderzoek effect opslag op pathogenen

Er is aanvullend onderzoek gedaan naar het effect van opslag op het gehalte aan E.coli als indicator voor niet sporenvormende bacteriën. Bij opslag onder ongunstige omstandigheden - vochtig struviet onder anaë-

robe omstandigheden - sterven de E.coli af binnen een maand (log4 reductie). Bij opslag met droging aan de lucht verloopt dit proces aanzienlijk sneller. Door een voldoende lange opslagtijd aan te houden kan struviet vrij van niet sporenvormers op de markt gebracht worden. Alternatief kan middels representatieve analyse vastgesteld worden of de gewenste reductie is gerealiseerd. Opslag heeft geen effect op de aanwezigheid van sporenvormers zoals C.perfringens.

Conclusies t.a.v. gebruik van struviet als meststof

Zowel het gehalte aan SSRC in struviet als de dosering is lager dan bij andere gangbare organische meststoffen. Gebruik van puur struviet van de onderzochte rioolwaterzuiveringen als meststof is daarom niet risicovoller dan deze meststoffen.

Medicijnen en hormonen zijn in geen van de beoogde toepassingsketens een probleem. Struviet dat voldoet aan de Strubias criteria voor E.Coli en Salmonella kan veilig geleverd worden aan elke toepassingsketen aangezien de grondstof dan voldoet aan de toekomstige norm in de EU meststoffenverordening voor eind-producten met teruggewonnen fosfaten. Door voldoende opslagtijd op de RWZI kunnen, verdergaand dan deze norm, de niet sporen vormende bacteriën verwijderd worden. Aanwezigheid van C.perfringens en andere sporenvormers vormt geen risico voor mens en bodem. Het struviet van RWZI Amersfoort voldoet direct uit het productieproces aan de eisen, voor het struviet van de RWZI Amsterdam West, RWZI Apeldoorn en RWZI Land van Cuijk kan dit door opslag gerealiseerd worden.

Struviet dat niet voldoet aan deze eisen kan zonder verdere hygiënisatiestap of droogproces waarbij de niet sporenvormers afsterven, alleen ingezet worden voor de productie van meststoffen voor de professionele markt. De risico's kunnen beheerst worden met gebruikersinstructies en teeltbeperkingen bij toepassing voor voedselgewassen zoals deze ook gelden voor dierlijke mest.

11.2 Aanbevelingen

Voor medicijnen en hormonen is kan de monitoring beperkt blijven tot nieuwe productietechnieken en kan bijvoorbeeld elke twee jaar een steekproef gedaan worden om vast te stellen dat er geen veranderingen zijn opgetreden.

Voor de pathogenen is nader onderzoek gewenst naar het verloop van E.coli bij opslag met droging aan de lucht om de opslagtijd te kunnen bekorten. Ook is onderzoek gewenst hoe de aanwezigheid van C.Perfringens voorkomen kan worden in verband met levering aan producenten van EU meststoffen die met hun eindproduct aan de Strubiasnorm zullen moeten voldoen.

Aanbevolen wordt om de aanwezigheid en verwijdering van mogelijk pathogene organismen in zuivering beter in beeld te krijgen. O.a. de aanwezigheid in het slib en centraat van de slibontwatering. Dit ook met oog op voor andere teruggewonnen stoffen uit de rioolwaterzuivering waar de pathogenen vraag zal worden opgeworpen.

Stel een structureel monitoringsprogramma op voor de pathogenen volgens de toekomstige EU-criteria. Overweeg of het zinvol is om daarbij ook de SSRC als indicator te gebruiken. Zonder ijking zijn de SSRC lastig te interpreteren, allicht kan volstaan worden met C.Perfringens als indicator. Anders verdient het aanbeveling de SSRC te ijken met bijv. Cryosporidium oocysten, Giardia cysten en Toxocara. Zorg bij de monsternamen voor goede verslaglegging inclusief registratie van afwijkingen in de procesvoering in de voorafgaande productieperiode en tijdens de opslag;

Zorg voor een kwaliteitsbeheersingssysteem per locatie zodat omstandigheden die lijden tot hoge gehalten aan pathogenen vermeden worden. Denk bijv. aan het stilzetten van de productie wanneer het centraat te veel organische stof bevat.

Stel de *Ascaris* eggs als toekomstige criterium voor producten met teruggewonnen fosfaat in de EU meststoffenverordening ter discussie vanwege de zeer lage prevalentie en afwezigheid van geaccrediteerde labs in Nederland. Stel ook de norm voor *C.perfringens* ter discussie, deze is onnodig laag vanuit risicoperspectief. *C.Perfringens* is onvermijdelijk in veel struvietwinningsprocessen en kan alleen verwijderd worden bij de productie van het eindproduct door verhitting waarbij het struvietkristal wordt aangetast.

11.3 Vervolgonderzoek en monitoring

De struvietproducerende Waterschappen hebben naar aanleiding van voorliggend onderzoek besloten tot de volgende maatregelen:

Regelmatige monitoring op de pathogenen volgens de toekomstige EU criteria. In eerste instantie wordt uitgegaan van vier keer analyseren per jaar (of zo vaak als er een batch vrijkomt, als dit minder is) volgens een monitorings- en analyseprotocol. Wanneer de pathogenen beter in beeld zijn, kan de frequentie omhoog gaan.

Per locatie wordt gekeken naar maatregelen om de pathogenen te beheersen zoals aanpassing van de opslag of betere controle op de kwaliteit van de invoer van de reactor.

Voor de medicijnresten en hormonen zullen voor nieuwe installaties de indicatorstoffen uit dit rapport geanalyseerd worden. Ook operationele struvietreactoren die nog niet zijn geanalyseerd worden alsnog onderzocht. Daarnaast wordt over twee jaar opnieuw een beperkte steekproef uitgevoerd op medicijnen om vast te stellen dat er geen wijzigingen zijn.

12 Literatuur

Gebruikte bronnen voor in de risicoanalyse gebruikte PNEC's, Koc en Kd's zijn opgenomen in bijlage 4.

Boer A.N de, J.Hammerton, C. Slootweg Uptake of pharmaceuticals by sorbent-amended struvite fertilisers recovered from human urine and their bioaccumulation in tomato fruit, Water Research Volume 133, 15 April 2018

<https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.017>

Carrington E.G, Evaluation of sludge treatments for pathogen reduction – final report, in opdracht Europese Commissie, 2001

http://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/sludge_eval.pdf

European Chemicals Agency (ECHA), Guidance on the Biocidal Products Regulation Volume IV Environment - Assessment and Evaluation (Parts B + C) Version 2.0 October 2017

EPA (United States Environmental Protection Agency), Six-Year Review 3 Technical Support Document for Long-Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule, 2016

<https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-12/documents/810r16011.pdf>

Grinten E. van der, J. Spijker; Medicijnresten, pathogenen en antibioticaresistentie in struviet uit Nederlands huishoudelijk afvalwater, RIVM Briefrapport 2017-0144 <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2017-0144.pdf>

Guzman C. J.Jofre, M. Montemayor and F. Lucena; Occurrence and levels of indicators and selected pathogens in different sludges and biosolids; Journal of Applied Microbiology ISSN 1364-5072, 2007

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03487.x>

Havelaar, A.H., Veenstra, S. en Notermans, S., 1982. Voorkomen en betekenis van Clostridium botulinum in zuiveringsslib. H₂O (15) 6: 118-120.

<http://edepot.wur.nl/387217>

Hudcová H., J. Vymazal en M. Rozkošný; Present restrictions of sewage sludge application in agriculture within the European Union, Soil and Water Research, 14, 2019 (2): 104–120

<https://doi.org/10.17221/36/2018-SWR>

Huisman J.; Microbiologische risico's van slib voor de gezondheid; Voordracht uit de 16e vakantiecursus in behandeling van afvalwater 'Slib opnieuw bekeken', gehouden op 7 en 8 mei 1981 aan de TH Delft.

<http://edepot.wur.nl/386839>

Huygens, Dries, Hans Saveyn, Davide Tonini, Peter Eder & Luis, Delgado Sancho, Pre-final STRUBIAS Report, DRAFT STRUBIAS recovery rules and market study for precipitated phosphate salts & derivatives, thermal oxidation materials & derivatives and pyrolysis & gasification materials in view of their possible inclusion as Component Material Categories in the Revised Fertiliser Regulation, 2018

Kemacheevakul, P., Otani, S., Matsuda, T. en Shimizu, Y., Occurrence of micro-organic pollutants on phosphorus recovery from urine. Water Science and Technology 66, 2194–2201; 2012.

<https://doi:10.2166/wst.2012.452>

Kemacheevakul P., S. Chuangchote, S. Otani, T. Matsuda, Y. Shimizu, Effect of magnesium dose on amount of pharmaceuticals in struvite recovered from urine, Water Sci. Technol., 72 (7) (2015), pp. 1102-1110

Leuken J.P.G. van et al.; Verkenning van de microbiologische risico's van mest voor de gezondheid, RIVM Rapport 2017-0100

<https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2017-0100.pdf>

Lijzen J.P.A. et al, Beoordeling hergebruik van luier- en incontinentiemateriaal: Stappenplan en risicobeoordelingskader voor de mogelijke risico's van stoffen en pathogenen in producten, RIVM Briefrapport 2019-0111

Lucas Sophie D., David L. Jones, Biodegradation of estrone and 17 β -estradiol in grassland soils amended with animal wastes, Soil Biology and Biochemistry, Volume 38, Issue 9, 2006, Pages 2803-2815,

<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.04.033>.

Martín-Díaz, J., Ruiz-Hernando, M., Astals, S., Lucena, F., Assessing the usefulness of clostridia spores for evaluating sewage sludge hygienization, Bioresource Technology (2016)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.075>

Medema et al. 2000. Cryptosporidium en Giardia: voorkomen in rioolwater, mest en oppervlaktewater met zwem- en drinkwaterfunctie RIZA rapportnr. 2000.035

Morgenschweis, C., Vergouwen, L., van Scholl, L. en Leenen, I., 2015. Verkenning van de kwaliteit van struviet uit de communale afvalwaterketen (No. STOWA 2015 34). STOWA.

<https://www.stowa.nl/sites/default/files/assets/PUBLICATIES/Publicaties%202015/STOWA%202015-34.pdf>

Oost R. van der, Sileno G, Suárez-Muñoz M, Nguyen MT, Besselink H, Brouwer B. SIMONI (smart integrated monitoring) as a novel bioanalytical strategy for water quality assessment: Part i-model design and effect-based trigger values, 2017

<https://doi.org/10.1002/etc.3837>

Stenzel, Fabian, Rolf Jung, Sonja Wiesgickl, Arzneimittelrückstände in Rezyklaten der Phosphorrückgewinnung aus Klärschlämmen, Fraunhofer-Institut für Umwelt-, Sicherheits-, und Energietechnik, in opdracht van Bundesministeriums für Umwelt, Naturschutz und nukleare Sicherheit, TEXTE 31/2019

Quik JTK, Lijzen JPA, Spijker J, Creating safe and sustainable material loops in a circular economy : Proposal for a tiered modular framework to assess options for material recycling [Blauwdruk voor veilige en duurzame kringlopen in een circulaire economie], RIVM raport 2018-0173, 2019

Reinthal F.F. , J. Posch, G. Feierl, G. W. ust, D. Haas, G. Ruckebauer, F. Mascher, E. Marth, Antibiotic resistance of E. coli in sewage and sludge, Water Research 37 (2003) 1685–1690

[https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00569-9](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00569-9)

Strachan NJC et al.; Dose response modelling of Escherichia coli O157 incorporating data from foodborne and environmental outbreaks; International Journal of Food Microbiology. 103(1), pp.35-47; 2005

STOWA, Fosfaatruigwinning in communale afvalwaterzuiveringsinstallaties, 2011-24.

STOWA, Fosforhoudende producten uit de communale afvalwaterketen. Wet- en regelgeving, marktkansen, verwerkingsconcepten, 2013-32

Wassenaar P.N.H., L.C. van Leeuwen, R.J. Luit, Concentratiegrenswaarden voor ZZS in afvalstromen, RIVM Briefrapport 2017-0099

<https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2017-0099.pdf>

Vazquez-Roig, Pablo & Segarra, Ramón & Blasco, Cristina & Andreu, Vicente & Pico, Yolanda. Determination of Pharmaceuticals in Soils and Sediments by Pressurized Liquid Extraction and Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. Journal of chromatography, 2009.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2009.11.033>

Xuan, Richeng, Alma A. Blassengale, and Qiquan Wang, Degradation of Estrogenic Hormones in a Silt Loam Soil, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2008 56 (19), 9152-9158,

<https://doi.org/10.1021/jf8016942>

Bijlage 1 Onderbouwing selectie medicijnresten

In dit memo worden voor de deels afwijkende PNEC_{aqua} waarden gebruikt dan in het rapport. Gebruikt zijn de laagst geboden waarden in de literatuur, deze kwamen niet allen overeen met de PNEC_{aqua} waarden die bij het RIVM in gebruik zijn. Voor de indicatorstoffen is in dit rapport uitgegaan van de door RIVM aanbevolen waarden.

Bijlage 2 Recovery rates medicijnen Wessling

Compound Name	Recovery %		LOQ (mg/kg)
	0,01 mg/kg	0,05 mg/kg	
Acebutolol	72	90	0,01
Acenokumarol	20	77	0,05
Amlodipine	53	75	0,05
Atenolol	80	72	0,01
Betaxolol	62	82	0,05
Bisoprolol	64	74	0,05
Carbamazepine	36	87	0,05
Carvedilol	28	75	0,05
Chlorotetracycline	75	78	0,01
Cimetidine	76	78	0,01
Ciprofloxacin	30	81	0,05
Codein	79	87	0,01
Cortisol	41	78	0,05
Cortisone	35	71	0,05
Cotinine	66	77	0,05
Diazepam	24	76	0,05
Diltiazem	46	82	0,05
Enalapril	66	78	0,05
Enrofloxacin	74	80	0,01
Esmolol	60	77	0,05
Estradiol-17beta	-	124	0,05
Estriol	-	110	0,05
Estrone	-	116	0,05
Ethynylestradiol-17alpha	-	108	0,05
Famotidine	68	77	0,05
Flumequin	31	72	0,05
Fluvastatin	24	93	0,05
Furosemide	-	108	0,05
Gemfibrozil	-	130	0,05
Gestodene	17	75	0,05
Hydrochlorothiazide	-	109	0,05
Ibuprofen	-	116	0,05
Indapamide	34	84	0,05
Iopromide	76	90	0,01
Levonorgestrel	8	72	0,05
Lincomycin	88	81	0,01
Lisinopril	81	77	0,01
Lomefloxacin	64	72	0,05
Lovastatin	15	79	0,05
Miconazole	17	83	0,05
Mupirocin	47	86	0,05
Naproxen	-	112	0,05
Nimodipine	13	72	0,05
Norethisterone	24	74	0,05

Compound Name	Recovery %		LOQ (mg/kg)
	0,01 mg/kg	0,05 mg/kg	
Ofloxacin	86	87	0,01
Oxolinic acid	31	86	0,05
Oxprenolol	64	76	0,05
Oxytetracyclin	73	74	0,01
Paracetamol	51	79	0,05
Propranolol	54	77	0,05
Propyphenazone	31	76	0,05
Ramipril	62	86	0,05
Salbutamol	82	73	0,05
Simvastatin	15	77	0,05
Sotalol	68	75	0,05
Sulfadiazine	39	73	0,05
Sulfadimethoxine	24	71	0,05
Sulfadimidine	39	77	0,05
Sulfamerazine	35	74	0,05
Sulfamethizole	46	83	0,05
Sulfamethoxazol	27	75	0,05
Sulfamethoxypyridazine	37	71	0,05
Sulfasalazine	40	79	0,05
Sulfathiazole	42	74	0,05
Testosteron	27	74	0,05
Tetracycline	78	79	0,01
Thiabendazole	39	83	0,05
Tilmicosin	85	83	0,01
Triclocarban	-	97	0,05
Triclosan	-	106	0,05
Trimethoprim	73	80	0,01
Tylosin	49	72	0,05

EEQEE

Bijlage 3 Monstername instructie struviet

Instructie

- Vraag RWZI contactpersoon welke hoeveelheid minimaal 2 weken productie representeert. Hieruit mengmonster maken. Bij een jaarproductie van 300 ton/jaar is dit een volle container (ca 12 ton) of ca 8 big bags (van elk 1,5 ton).
- Ruim 1 kg mengmonster, goed mengen.
- Bemonsteren volgens onderstaand monstername protocol
- Verdelen over 3 kleine (150 gr) en 1 groter potje (500 gr), restant bewaren ivm heranalyses.
- Maken foto's van de monstername situatie en invullen monstername formulier.
- Vraag contactpersoon RWZI of er productieverstoringen zijn geweest.
- Apparatuur tussen twee locaties in goed reinigen (pathogenen verwijderen).
- Monstername formulier invullen.

Protocol bemonstering container

- 2 boringen per 10m² met klepgutsboor of siloboor tot op de bodem, 1 extra boring per 5 m² extra oppervlak.
- De boor of buis wordt verticaal in het materiaal geduwd of gedraaid. Als het apparaat volledig gevuld is, wordt het uit de partij getrokken en leeggemaakt. Deze handeling wordt herhaald (indien nodig door aanbrengen van verlengstukken) tot de bodem van de partij wordt bereikt.
- Indien minder dan $\frac{3}{4}$ van de totale hoogte kan worden geboord, worden meerdere ondiepere boringen (min. 100 cm) geplaatst met een totale lengte van minimaal de diepte van 2 volledige boringen.
- De grepen van de 2 boringen (per 10m²) worden samengevoegd tot een veldmonster.
- Minimale greepgrootte 0,1 liter.

Protocol bemonstering voorraadhoop

- 2 boringen tot op de bodem waarvan 1 door het hoogste punt van de hoop.
- De boor of buis wordt verticaal in het materiaal geduwd of gedraaid. Als het apparaat volledig gevuld is, wordt het uit de partij getrokken en leeggemaakt. Deze handeling wordt herhaald (indien nodig door aanbrengen van verlengstukken) tot de bodem van de partij wordt bereikt.
- Indien niet de volledige diepte of diameter kan doorboord worden, wordt minstens doorboord over een lengte gelijk aan de som van lengte, breedte en hoogte van de partij, maar gespreid over meerdere, ruimtelijke gespreide, ondiepere boringen van min. 100 cm.
- De grepen van de 2 boringen worden samengevoegd tot een veldmonster.
- Minimale greepgrootte 0,1 liter.

Protocol bemonstering big bags

- 1 greep per big bag.
- Minimale greepgrootte 0,1 liter.

Bijlage 4 Berekening PNEC_{soil}

Formules

De indicatieve PNEC_{soil} is afgeleid uit PNEC_{aqua}. Daarbij is de methode gebruikt uit de "Guidance on the Biocidal Products Regulation; Volume IV - Environment - Assessment and Evaluation (Parts B + C); Version 2.0 October 2017".

De PNEC_{soil} in (natte) grond kan berekend worden uit de PNEC_{aqua} volgens formule 91 uit de guidance:

$$PNEC_{soil} \left[\frac{mg}{kg_{soil}} \right] = PNEC_{aqua} \left[\frac{mg}{l} \right] * 1000 * \frac{K_{soil,water} \left[\frac{m^3}{m^3_{soil}} \right]}{RHO_{soil} \left[\frac{kg_{soil}}{m^3_{soil}} \right]}$$

De K_{soil-water} kan berekend worden volgens formule 27 uit de guidance:

$$K_{soil,water} \left[\frac{m^3}{m^3_{soil}} \right] = F_{air,soil} * K_{air,water} + F_{water,soil} \left[\frac{m^3_{water}}{m^3_{soil}} \right] + F_{solid,soil} \left[\frac{m^3_{solid}}{m^3_{soil}} \right] * \frac{Kp_{soil} \left[\frac{l}{kg_{solid}} \right]}{1000 \left[\frac{l}{m^3} \right]} * RHO_{solid} \left[\frac{kg_{solid}}{m^3_{solid}} \right]$$

De K_{psoil} is berekend met formule 26 uit de guidance.

$$\left[\frac{l}{kg_{solid}} \right] = Foc_{soil} \left[\frac{kg_{oc}}{kg_{solid}} \right] * Koc \left[\frac{l}{kg_{oc}} \right]$$

De compartimentering naar de lucht is verwaarloosd.

Om de zo berekende PNEC_{soil} vervolgens in drooggewicht uit te drukken is een conversiefactor nodig, formule 18 uit de guidance:

$$CONV_{soil} \left[\frac{kg_{soil}}{kg_{solid}} \right] = \frac{RHO_{soil} \left[\frac{kg_{soil}}{m^3_{soil}} \right]}{F_{solid,soil} \left[\frac{m^3_{solid}}{m^3_{soil}} \right] * RHO_{solid} \left[\frac{kg_{solid}}{m^3_{solid}} \right]}$$

$$PNEC_{soil\ dwt} \left[\frac{mg}{kg_{solid}} \right] = PNEC_{soil\ wwt} \left[\frac{mg}{kg_{soil}} \right] * CONV_{soil} \left[\frac{kg_{soil}}{kg_{solid}} \right]$$

Dit levert uitgeschreven met behulp van bovenstaande formules de volgende formule op voor de PNEC_{soil} droge stof:

$$PNEC_{soil\ dwt} \left[\frac{mg}{kg_{solid}} \right] = PNEC_{aq} \left[\frac{mg}{l} \right] * \left(\frac{1000 \left[\frac{l}{m^3} \right] * F_{water,soil} \left[\frac{m^3_{water}}{m^3_{soil}} \right]}{F_{solid,soil} \left[\frac{m^3_{solid}}{m^3_{soil}} \right] * RHO_{solid} \left[\frac{kg_{solid}}{m^3_{solid}} \right]} + Foc_{soil} \left[\frac{kg_{oc}}{kg_{solid}} \right] * Koc \left[\frac{l}{kg_{oc}} \right] \right)$$

Hierbij worden in tabel 3 van de guidance de volgende waarden gegeven:

$$F_{solid,soil} = 0,6$$

$$F_{water,soil} = 0,2$$

$$Foc_{soil} = 0,02$$

$$RHO_{solid} = 2500$$

$$RHO_{soil} = 1700$$

Dit resulteert in de volgende conversie factor:

$$CONV_{soil} = 1700 / (0,6 * 2500) = 1,1333$$

Wanneer geen Koc beschikbaar was maar wel een experimentele Kd waarde is de $PNEC_{soil}$ berekend volgens $PNEC_{soil} = PNEC_{aqua} * Kd$.

Gebruikte $PNEC_{aqua}$, Koc en Kd

Stofgroep	Stof	Literatuurwaarden $PNEC_{aqua}$ (µg/L) (vet=gekozen)	Verantwoording keuze $PNEC_{aqua}$	Koc	Kd wa- ter-soil (L/kg)
Hormonen	17-α-Ethinylestradiol	0,03 (A); 0,00001 AF10 (B); 0,0001 AF10 (G,E); 0,000035 (U)	JRC voorstel, ook door RIVM gebruikt. Laagste waarde.	4571 (H), 2188 (Z)	
Hormonen	17-β-Estradiol	0,01 AF1000 (A); 0,00002 AF50 (B); 0,0004 (U)	JRC voorstel.	2951 (H), 791-2511 (aa)	
Psychofarmaca	Carbamazepine	2,5 AF10 (B); 170 AF100 (G); 0,5 (O)	0,5 µg/L is beleidsmatig vastgesteld.	367 (Q), 83-1250 (X)	
Antibiotica: (fluor)-chinolonen	Ciprofloxacin	698 (C); 0,036 AF50 (B); 0,52 (H); 0,05 AF1000 (E); 0,089 (U)	JRC voorstel, ook gebruikt door RIVM.	2522 (H); 61000 (E); 16982 (M), 19952-630957 (Y)	
Antibiotica: macroliden	Clarithromycin	0,20 (B); 0,04 (O)	JRC stelt 0,12 µg/L voor, RIVM gebruikt neemt dit over.	281 (J)	
NSAID	Diclofenac	9,7 AF1000 (A); 0,10 AF10 (B); 0,115 AF10 (E); 0,1 AF10 (z); 0,05 (U)	JRC voorstel, ook door RIVM gebruikt. Laagste waarde.	891 (H); 2310 (E); 243 (Q); 62-2310 (W)	
Antibiotica: tetracyclines	Doxycycline	5790 (D); 0,054 (B); 1,39 (V)	RIVM gebruikt het hogere 1,39 µg/l, dit is aangehouden.	49,0 (L)	
Cholesterolverlagers	Gemfibrozil	1,18 (A) 3,8 (B); 1,5 (O)	Waarde uit RIVM rapport (weinig verschil met laagste waarde)		1,29 (N)
Diabetes	Metformine	60 AF100 (B); 240 AF50 (G); 780 (O) ; 156 (S); 1030 AF10 (S)	780 µg/L is beleidsmatig vastgesteld.	107 (H)	
Beta blokkers	Metoprolol	7,3 AF1000 (F); 31 AF100 (E); 28,3 (H); 62 (O)	RIVM gebruikt 8,6 µg/L	3773 soil (H, T); 563 soil (Q,T); 29,8-115 (P), 30-563 (Y)	
Angstremmer	Oxazepam	0,48 (B,K) ; 215,3 (O); 0,83 AF100 (R)	Laagst gevonden waarde	447 (H); 390 (K)	
Pijnstiller	Paracetamol	9,2 (E,O)	Waarde uit RIVM rapport	62 (E)	
Antibiotica: sulfonamide	Sulfamethoxazol	0,15 AF10000(B); 59 AF10 (B,G); 0,118 AF50 (E,O)	Waarde uit RIVM rapport, laagste waarde	530 (E); 1862 (M); 218 (Q)	

Bronnen

- A Martin J., Camacho-Muñoz M. D., Santos J. L., Aparicio I., Alonso E. 2012. Distribution and temporal evolution of pharmaceutically active compounds alongside sewage sludge treatment. Risk assessment of sludge application onto soils. Journal of Environmental Management 102: 18-25.

- B Bergmann, Dr. Axel, Dr. Reinhard Fohrmann, Dr. Frank-Andreas Weber. Zusammenstellung von Monitoringdaten zu Umwelt. Umweltbundesamt, 66/2011
- C Brain R. A. Johnson D. J. Richards M. 2004 Effects of 25 pharmaceutical compounds on *Lemna gibba* using a seven-day static-renewal test *Environ. Toxicol. Chem* 23 371 382
- D Xu D. Wang Y. Rao G. 2013 Cellular response of green algae to the toxicity of tetracycline antibiotics *Environ. Sci* 34 3386 3390
- E NIVA. Initial assessment of eleven pharmaceuticals using the EMEA guideline in Norway, Norwegian Pollution Control Authority, TA-2216/2006
- F AstraZeneca, Environmental Risk Assessment Data Metropool
- G Aa , N.G.F.M. van der, et al. Assessment of potential risks of 11 pharmaceuticals for the environment Using environmental information from public databases, RIVM Letter Report 601711003/2011
- H Eriksen, G. S.; Amundsen, C.E.; Bernhoft, A.; Eggen, T.; Grave, K.; Halling-Sørensen, B.; Källqvist, T.; Sogn, T.; Sverdrup, L., (2009). Risk assessment of contaminants in sewage sludge applied on Norwegian soils. Norwegian Scientific Committee for Food Safety
- I Moermond, C.T.A.. Environmental risk limits for pharmaceuticals - Derivation of WFD water quality standards for carbamazepine, metoprolol, metformin and amidotrizoic acid. RIVM Letter report 270006002/2014
- J Thompson, A. The fate and removal of pharmaceuticals during sewage treatment. Cranfield University, 2005
- K Bouissou-Schurtz, Camille et al. Ecological risk assessment of the presence of pharmaceutical residues in a French national water survey. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69 (2014) 296–303
- L Hyo-Jung Kim, Hyun-Jeoung Lee, Dong Soo Lee, and Jung-Hwan Kwon. Modeling the Fate of Priority Pharmaceuticals in Korea in a Conventional Sewage Treatment Plant *Environ. Eng. Res.* Vol. 14, No. 3, pp. 186-194, 2009
- M Chen Yihan, Hongjie Chen, Li Zhang, Yue Jiang, Karina Yew-Hoong Gin and Yiliang He. Occurrence, Distribution, and Risk Assessment of Antibiotics in a Subtropical River-Reservoir System. *Water*, 2018.
- N Krascenits Z., E. Hiller, M. Bartal, Distribution of four human pharmaceuticals, carbamazepine, diclofenac, gemfibrozil, and ibuprofen between sediment and water, *J. Hydrol. Hydromech.* 56 (2008) 237–246.
- O Moermond C.T.A. et al. Geneesmiddelen en waterkwaliteit RIVM Briefrapport 2016-0111
- P Hansch, C., Leo, A., D. Hoekman. Exploring QSAR - Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants. Washington, DC: American Chemical Society., 1995., p. 18
- Q Barron L, Havel J, Purcell M, Szpak M, Kelleher B, et al. (2009) Predicting sorption of pharmaceuticals and personal care products onto soil and digested sludge using artificial neural networks. *Analyst* 134: 663–670.
- R Smit C.E. Effecten van drugs op het waterecosysteem, Verkenning van de ecologische risico's van 10 stoffen, RIVM Briefrapport 2015-0129
- S Grinten E. van der et al. Milieufafwegingen in de geneesmiddelenvoorziening, RIVM Briefrapport 2016-0207
- T Wenzel Dr. Andrea, Dr. Karsten Schlich, B. Sc. Lidiya Shemotyuk, Dr. Monika Nendza. Revision der Umweltqualitätsnormen der Bundes-Oberflächengewässerverordnung nach Ende der Übergangsfrist für Richtlinie 2006/11/EG und Fortschreibung der europäischen Umweltqualitätsziele für prioritäre Stoffe. Umwelt Bundesamt TEXTE 47/2015
- U Loos Robert, Dimitar Marinov, Isabella Sanseverino, Dorota Napierska and Teresa Lettieri Review of the 1st Watch List under the Water Framework Directive and recommendations for the 2nd Watch List, April 2018
- V Lahr Joost , Caroline Moermond, Mark Montforts, Anja Derksen, Nico Bondt, Linda Puister-Jansen, Tanja de Koeijer, Paul Hoeksma. Diergeneesmiddelen in het milieu een synthese van de huidige kennis. STOWA 2019-26
- W Diclofenac EQS dossier 2011
- X Wenzel Andrea, Lidiya Shemotyuk. EQS Datasheet Environmental Quality Standard Carbamazepine. Umwelt Bundesamt 2014.
- Y Sahlin Sara , D. G. Joakim Larsson, Marlene Ågerstrand. Ciprofloxacin EQS data overview. ACES report number 15, 2018
- Z Vlaardingen P.L.A. van, L.R.M. de Poorter, R.H.L.J. Fleuren, P.J.C.M. Janssen, C.J.A.M. Posthumus

Doodeman, E.M.J. Verbruggen, J.H. Vos. Environmental risk limits for twelve substances, prioritised on the basis of indicative risk limits. RIVM report 601782003/2007

aa Sub-Group on Review of the Priority Substance List. Beta-Estradiol EQS Dossier, 2011.

Afgeleide indicatieve PNEC_{soil}

Stofgroep	Stof	PNEC _{aq} (µg/L)	Koc		PNEC _{soil} (uit Koc of anders Kd)	
			min	max	min	max
Hormonen	17-α-Ethinylestradiol	3,5E-050,	2188	4571	1,5E-03	3,2E-03
Hormonen	17-β-Estradiol	0,0004	791	2951	6,4E-03	2,4E-02
Psychofarmaca	Carbamazepine	0,5	83	1250	0,9	12,6
Antibiotica: (fluor)chinolonen	Ciprofloxacin	0,089	2522	630957	4,5	30,2
Antibiotica: macroliden	Clarithromycin	0,04	281	-	0,69	0,69
NSAID	Diclofenac	0,05	62	2310	0,07	2,3
Abtibiotica: tetracyclines	Doxycycline	1,39	49	-	1,55	1,55
Cholesterolverlagers	Gemfibrozil	1,5	*	-	1,9	1,9
Diabetes	Metformine	780	107	-	1773	1773
Beta blokkers	Metoprolol	62	30	3773	45	4,7E03
Angstremmer	Oxazepam	0,48	390	447	3,8	4,4
Pijnstiller	Paracetamol	9,2	62	-	12,6	12,6
Antibiotica: sulfonamide	Sulfamethoxazol	0,118	218	1862	0,530	4,41

*) Berekend uit de Kd = 1,29 L/kg

Bijlage 5 Monstername verslagen

Monsternameformulier struviet

Locatie: RWZI Amersfoort – 2^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Marco de Koster

Naam begeleider RWZI: Frank Peters - Vallei en Veluwe

Datum + tijdstip monstername: 29-03-2019, 10:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Alleen big bags, staan buiten in open kapschuur op pallets.



Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

buiten in open kapschuur op pallets

Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- monsterlepel gebruikt
- representatief verdeeld zijn 15 big bags bemonsterd. Meerdere grepen met lepel in rvs emmer gehomogeniseerd en één monsterpot van gevuld.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was droog
- kleur licht grijs
- geen zintuigelijke waarnemingen

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

n.v.t.

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

Geen informatie beschikbaar.

Overige opmerkingen / fotos



Monsternamatformulier struviet

Locatie: RWZI Apeldoorn – 2^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Marco de Koster

Naam begeleider RWZI: Frank Peters, Vallei en Veluwe

Datum + tijdstip monsternam: 29-03-2019, 12:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Big bags

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

Buiten opgeslagen op stelcon-platen, niet afgedekt.



Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- pulsboor en monsterlepel gebruikt

- representatief verdeeld zijn 10 big bags bemonsterd. Meerdere steken met pulsboor en grepen met lepel per big bag.

In rvs emmer gehomogeniseerd en één monsterpot van gevuld.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was droog
- kleur licht geelwit
- geen zintuigelijke waarnemingen

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

n.v.t.

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

Geen informatie beschikbaar.

Overige opmerkingen / fotos



Monsternameformulier struviet

Locatie: RWZI Cuijk – 2^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Marco de Koster

Naam begeleider RWZI: Marga Heijmans, Aa en Maas - Land van Cuyk

Datum + tijdstip monstername: 29-03-2019, 14:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Tank

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

Binnen in tank opgeslagen, afgedekt.



Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- monsterlepel gebruikt
- representatief bemonsterd. Meerdere grepen met lepel in rvs-emmer gehomogeniseerd en één monsterpot van gevuld.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was droog
- kleur grijsbruin tot licht grijs
- geen zintuigelijke waarnemingen

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

n.v.t.

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

Geen informatie beschikbaar.

Overige opmerkingen / fotos



Monsternamatformulier struviet

Locatie: RWZI West – 2^{de} bemonstering

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Alleen monster ongewassen uit tank bemonsterd, gewassen monster stond al klaar.

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

Binnen opgeslagen, dichte tank.

Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- monsterlepel gebruikt
- 10 grepen met lepel in rvs emmer gehomogeniseerd.
- één monsterpot (ongewassen) van gevuld

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was droog
- kleur grijs
- geen zintuigelijke waarnemingen

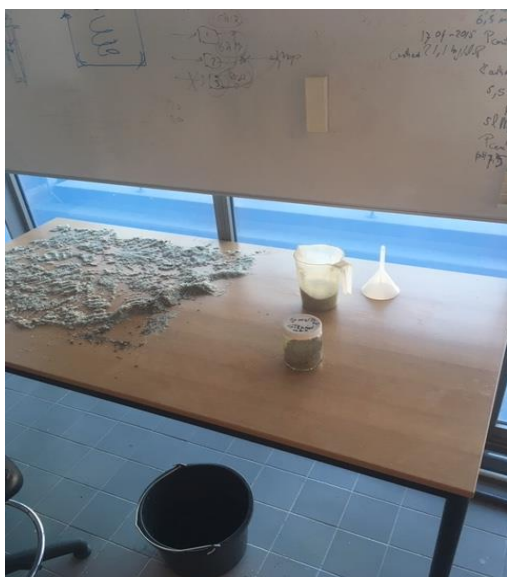
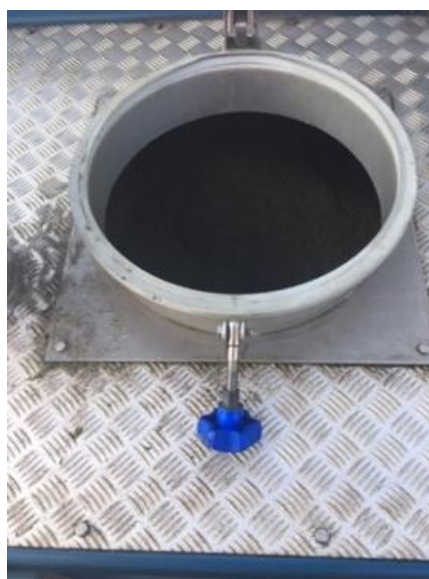
Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

n.v.t.

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

Geen informatie beschikbaar.

Overige opmerkingen / fotos



Monsternamelformulier struviet

Locatie: RWZI Cuijk – 4^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Paul Vriend en Aalke de Jong

Naam begeleider RWZI: Jeroen Verbraets, Aa en Maas - Land van Cuyk

Datum + tijdstip monsternamelformulier: 13-09-2019, 14:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Container

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

In gesloten container.



Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- monsterlepel gebruikt
- representatief bemonsterd. Meerdere grepen met lepel in rvs-emmer gehomogeniseerd en één monsterpot van gevuld.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was vrijwel droog
- kleur wit tot okergeel
- geen zintuigelijke waarnemingen

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

n.v.t.

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

De productie stond al 3 weken stil. Bemonsterd is vanuit het luik waar het struviet de container binnenkomt, dus het bemonsterde materiaal was ca 3 weken oud..

Overige opmerkingen / fotos

Monsternamatformulier struviet

Locatie: Amersfoort– 4^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Paul Vriend en Aalke de Jong

Naam begeleider RWZI: Rein van den Bos, Vallei en Veluwe

Datum + tijdstip monsternam: 13-09-2019, 10:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Big bags uit de opslag.

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

Onder een afdak in de buitenlucht



Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- monsterlepel gebruikt
- representatief bemonsterd. Meerdere grepen met lepel in rvs-emmer gehomogeniseerd en één monsterpot van gevuld.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was droog
- kleur wit
- geen zintuigelijke waarnemingen

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarom?

Nee

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

Nee

Overige opmerkingen / fotos



Monsternameformulier struviet

Locatie: RWZI Apeldoorn – 4^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Paul Vriend en Aalke de Jong

Naam begeleider RWZI: Gijs Vermeijs, Vallei en Veluwe

Datum + tijdstip monstername: 13-09-2019, 11:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Gedurende 5 dagen een schep verse productie

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

Stond klaar in de koelkast.



Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

- monsterlepel gebruikt
- representatief bemonsterd. Meerdere grepen met lepel in rvs-emmer gehomogeniseerd en één monsterpot van gevuld.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

- monstermateriaal was vochtig
- kleur donkergrijs
- slibgeur

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

Ja, monster over 5 dagen ipv 2 weken

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

Nee

Overige opmerkingen / fotos



Monsternamelformulier struviet

Locatie: RWZI Amsterdam West – 4^{de} bemonstering

Naam monsternemer: Paul Vriend

Naam begeleider RWZI: Alex Veldman, Waternet

Datum + tijdstip monsternamelformulier: 13-09-2019, 08:00 uur

Wat is bemonsterd (hoop, big bags, container)

Uit de container, gedurende vijf opeenvolgende dagen een schep verzameld.

Waar en hoe was het opgeslagen (open lucht/binnen, niet afgedekt/wel afgedekt)

Monster stond klaar in de koelkast

Hoe is bemonsterd (aantal steken, aantal grepen, aantal big bags indien van toepassing)

n.v.t.

Beschrijving bemonsterd materiaal (droog/nat, geur, zichtbare verontreinigingen)

Is er afgeweken van het protocol? Zo ja, waarop?

Ja, monster over 5 dagen ipv 2 weken

Zijn er productieverstoringen geweest in de bemonsterde batch (vraag RWZI contactpersoon).

De doorlooptijd van het slib was de helft van normaal.

Overige opmerkingen / fotos

Bijlage 6 Analyse certificaten

Bijlage 7 Rapport pathogen HAS



ADVIESRAPPORT PATHOGENEN IN STRUVIET

ENERGIE
EN
Grondstoffen
FABRIEK

stowa

has
hogeschool

Auteurs: Bob Schalk en Thijs Koenraad

Opleiding: Milieukunde

Leerjaar: 4

Projectbegeleiders: Sebastiaan Morre en
René Schoorl

Opdrachtgever: Werkgroep Nutriënten
van de Energie- en Grondstoffenfabriek;
en STOWA

Datum: 07-07-2021

HAS Hogeschool
Onderwijsboulevard 221
Postbus 90108
5200 MA 's-Hertogenbosch
Telefoon: 088 890 36 00

Documenttitel: Pathogenen in struviet
Projectcode: 21200185

Opdrachtgever: STOWA en Werkgroep Nutriënten van de Energie- en Grondstoffenfabriek

Contactpersoon: Ruud Schemen

Projectleider: Sebastiaan Morre

Inhoudelijk expert: René Schoorl

Projectteam: Bob Schalk
Thijs Koenraad

Plaats: 's-Hertogenbosch

Datum: 7 juli 2021

Voorwoord

Dit project is uitgevoerd als beroepsopdracht voor de werkgroep Nutriënten van de Energie- en Grondstoffenfabriek (EFGF) en STOWA (Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer). Hierbij was Ruud Schemen het aanspreekpunt namens de hierboven genoemde partijen. Vanuit HAS Hogeschool zijn Sebastiaan Morre en René Schoorl, docenten Milieukunde, aangesteld om het project te begeleiden.

Wij willen Ruud Schemen bedanken voor de prettige samenwerking gedurende het project. Ook willen we Sebastiaan Morre en René Schoorl bedanken voor de goede begeleiding. Verder willen we Judith van den Thillart-van Eijk, Angelique Epping en Mark van Lokven, van het microbiologie lab op HAS Hogeschool, bedanken voor de begeleiding en samenwerking tijdens de experimenten. Als laatste willen we Rob de Jonge, werkzaam bij het RIVM, bedanken voor het meedenken bij het opstellen van de juiste opzet van de experimenten.

Samenvatting

Dit project is uitgevoerd in opdracht van STOWA en de Werkgroep Nutriënten van de Energie- en Grondstoffenfabriek. Struviet dat momenteel door verschillende RWZI's in Nederland wordt geproduceerd wordt op dit moment verkocht op basis van een "eigen verklaring". Hierdoor is de economische waarde en de afzet beperkt. Om dit te vergroten wordt de voorkeur gegeven aan een rechtsoordeel (van de overheid) waarin wordt aangegeven dat struviet aan criteria van de einde-afvalstatus voldoet. In de Kaderrichtlijn afvalstoffen staat beschreven dat een product onder andere niet schadelijk mag zijn voor mens en milieu om aan de norm voor einde-afvalstatus te voldoen.

In het verleden is het aantal pathogenen op struviet bepaald, waarbij in sommige gevallen relatief hoge aantallen pathogenen zijn aangetroffen. Op dit moment is de reden hiervan onbekend. Daarom is het doel van dit onderzoek om handvatten te creëren waarmee struviet van constante kwaliteit geproduceerd kan worden, kijkend naar pathogenen.

Dit onderzoek is uitgevoerd bij de volgende RWZI's: Amersfoort, Amsterdam-West, Apeldoorn, Land van Cuijk, 's-Hertogenbosch en Tiel. Allereerst zijn de verschillende struviet productie methoden met de omliggende zuiveringsprocessen in kaart gebracht. Ook zijn de eigenschappen van het geproduceerde struviet per onderzoekslocatie onderzocht. Daarna is de overleving van *E. coli* op struviet onderzocht door struviet monsters van RWZI Apeldoorn en 's-Hertogenbosch te spiken. De overleving van *E. coli* is in een open en gesloten opslag onderzocht. In beide methoden van opslag is een afname van *E. coli* waargenomen, om deze reden is de invloed van organisch stof op struviet voor de overleving van *E. coli* onderzocht. Ook is het verloop van *E. coli* en *C. perfringens* in en rondom het struviet productieproces in beeld gebracht.

Uit de resultaten is naar voren gekomen dat de a_w -waarde van vers struviet boven de overlevingswaarde van *E. coli* ligt, voor de zes onderzochte locaties. Verder vindt minimaal 2 log reductie plaats van *E. coli* op struviet na 18 dagen en minimaal 4 log reductie na 29 dagen. Het verloop van *E. coli* tussen een monster dat gespoeld is en hierdoor minder CZV bevat en een niet gespoeld monster is gelijk. De hoogst gemeten *E. coli* waarde op vers geproduceerd struviet hoeveelheid is 230 kve/gram. Verder is gemeten dat de hoeveelheid *E. coli* na een thermofiele vergisting van boven de 50 °C ver onder het meetbereik is, dus nagenoeg 0 kve/gram. Het aantal *C. perfringens* is op elke zuivering voor de slibvergisting rond de $1 \cdot 10^5$ kve/gram, welke langzaam afneemt gedurende het proces.

Aan de hand van de resultaten blijkt dat de hoge a_w -waarde van struviet ($>0,95$) gunstig is voor de overleving van *E. coli*. Daarnaast is bevonden dat de mate waarin organisch stof aanwezig is op struviet, net als de wateractiviteit, geen effect heeft op de mate waarin *E. coli* kan overleven op struviet. Uit de resultaten blijkt dat *E. coli* zowel in een open als gesloten opslag afsterft door middel van tijd. De afname van *E. coli* na thermofiele vergisting kan verklaard worden doordat de maximale overlevingstemperatuur van *E. coli* 45 °C is.

Afhankelijk van het struviet productieproces en de omliggende zuiveringsprocessen wordt de opslagtijd van struviet bepaald. Door middel van deze opslag worden onverwachte pieken van *E. coli* op struviet verlaagd waardoor een veilig product geleverd wordt. Aanbevolen wordt om het struviet minimaal 18 dagen op te slaan wanneer gebruik gemaakt wordt van een mesofiele slibvergisting, zodat een 2 log reductie van *E. coli* plaatsvindt. Deze opslagtijd kan verkleind worden wanneer het struviet in big bags wordt opgeslagen of wordt gedroogd door middel van een droogstap. Wanneer gebruik gemaakt wordt van een thermofiele slibvergisting is geen opslag nodig voor de reductie van *E. coli* op struviet.

Geadviseerd wordt de overleving van *E. coli* bij verschillende temperaturen, gebaseerd op seizoenen, te onderzoeken. Daarnaast wordt aanbevolen op meerdere momenten *E. coli* en *C. perfringens* van verse monsters te meten, zodat de variatie hiervan in beeld gebracht kan worden. Als laatste wordt geadviseerd de overleving van *E. coli* op struviet monsters van verschillende locaties te onderzoeken, zodat verschillen in afnamesnelheid inzichtelijk gemaakt worden.

Inhoud

1.	Inleiding	1
2.	Struviet.....	3
2.1	Wat is struviet?	3
2.2	Hoe wordt struviet geproduceerd op een RWZI?.....	5
3.	<i>Escherichia Coli</i>	8
4.	<i>E. coli</i> overleving bij verschillende struviet productieprocessen	10
4.1.	Methode	10
4.2.	Resultaten	11
4.3.	Discussie	13
4.4.	Conclusie.....	13
5.	Eigenschappen struviet monsters.....	14
5.1.	Methode	14
5.2.	Resultaten	15
5.3.	Discussie	18
5.4.	Conclusie.....	19
6.	Effect opslag van struviet op overleving <i>E. coli</i>	20
6.1.	Methode	20
6.2.	Resultaten	22
6.3.	Discussie	26
6.4.	Conclusie.....	27
7.	Invloed organisch stof op struviet voor overleving <i>E. coli</i>	28
7.1.	Methode	28
7.2.	Resultaten	28
7.3.	Discussie	29
7.4.	Conclusie.....	29
8.	Verloop <i>E. coli</i> en <i>C. perfringens</i> bij processen op een RWZI	30
8.1.	Methode	30
8.2.	Resultaten	31
8.3.	Discussie	36
8.4.	Conclusie.....	36
9.	Conclusie en advies	37
	Literatuurlijst.....	39
	Bijlage 1: Ruwe meetdata	1

Bijlage 2: Berekening theoretische oplosbaarheid struviet	5
Bijlage 3: Resultaten Hygiëne swaptest.....	7
Bijlage 4: <i>Clostridium Perfringens</i>	8
Bijlage 5: Informatietabel verschillen onderzochte RWZI's	9

1. Inleiding

Struviet, een grondstof bestaande uit ammonium, fosfaat en magnesium, heeft in de meeste EU-staten een afvalstatus. Dit betekent dat moet worden aangetoond dat het voldoet aan de einde-afvalcriteria uit de Kaderrichtlijn afvalstoffen voordat het als grondstof verkocht mag worden (Huygens et al., 2019). In Nederland worden door een aantal rioolwaterzuiveringen struviet geproduceerd. Dit struviet wordt verkocht aan bedrijven om dit te verwerken tot producten, zoals kunstmest. Zolang dit struviet een afvalstatus heeft moeten afnemers in hun vergunning opgenomen hebben dat ze afvalstoffen mogen verwerken. Dit beperkt zowel de afzet als de economische waarde van struviet.

De afzet en economische waarde kan vergroot worden door het behalen van de einde-afvalstatus voor struviet. In de Kaderrichtlijn afvalstoffen staat beschreven dat een product onder andere niet schadelijk mag zijn voor mens en milieu om aan de norm voor einde-afvalstatus te voldoen (Europees Parlement, 2008). Voor de einde-afvalstatus voor struviet wordt in de meeste EU-staten de STRUBIAS (STRUvite, Blochar en AShes) criteria aangehouden. Op dit moment wordt in Nederland struviet verhandeld op basis van een eigen verklaring (van de struviet producent) dat het geen afvalstof is. Omdat een oordeel van de overheid meer waarde heeft hebben de waterschappen in de Green Deal grondstoffen uit 2014 gevraagd of het ministerie een uitspraak kan doen over de inzet van struviet uit afvalwater. Hierop heeft het ministerie van infrastructuur en waterstaat het RIVM om advies gevraagd. Het RIVM heeft diverse modules ontwikkeld waaraan wordt getoetst. Hierbij moet gedacht worden aan zware metalen, Zeer Zorgwekkende Stoffen (ZZS), medicijnresten en pathogenen. Op al deze modules scoorde struviet goed, enkel voor de module van pathogenen is nader onderzoek benodigd.

Aan de hand van de analyses die in het verleden zijn uitgevoerd om het aantal pathogenen op het geproduceerde struviet te bepalen, is gebleken dat een batch struviet niet altijd aan de STRUBIAS criteria voldoet (Jong de et al., 2019). Op dit moment is de reden hiervoor onbekend en wordt er gezocht naar een methode om de kwaliteit van het geproduceerde struviet te waarborgen kijkend naar pathogenen. Vanuit de werkgroep Nutriënten van de Energie- en Grondstoffenfabriek (EFGF) en STOWA (Stichting Toegepast Onderzoek Waterbeheer) is om deze reden dit project opgestart. Dit project is mogelijk gemaakt door de bijdrage van STOWA.

Allereerst is een inventarisatie van de verschillende struviet productieprocessen gemaakt waarin de hoeveelheid *E. coli*, als indicatororganisme voor pathogenen, gedurende het proces gemeten is. Ook is onderzocht welke handvatten beschikbaar zijn om het aantal *E. coli* op struviet te verlagen. Dit onderzoek is gefocust op de aanwezigheid van *E. coli* als indicator voor de mogelijke pathogenen. Ook is in het geproduceerde struviet de hoeveelheid *C. perfringens* bepaald, als indicator voor sporenvormende bacteriën. Het advies dat wordt uitgebracht is gebaseerd op het struviet van de rioolwaterzuiveringsinstallaties (RWZI's) van Amersfoort; Amsterdam-West; Apeldoorn; Land van Cuijk; 's-Hertogenbosch en Tiel. De resultaten van dit onderzoek kunnen gebruikt worden

als stap richting het opzetten van een kwaliteitssysteem om struviet met een constante kwaliteit te produceren.

Aan de hand van deze doelstelling is de volgende hoofdvraag opgesteld: Op welke wijze kan struviet geproduceerd worden met een constante bacteriologische kwaliteit dat voldoet aan een toekomstige norm, gebaseerd op de STRUBIAS criteria?

Om deze hoofdvraag te beantwoorden zijn de volgende onderzoeksvragen opgesteld:

1. Hoe ziet het struviet productieproces op de verschillende onderzoekslocaties eruit?
2. Welke methode is geschikt om *E. coli* zowel in het proces als bij de opslag van struviet te meten?
3. Hoe verhoudt de *E. coli* overleving zich binnen het struviet productieproces en tussen de verschillende onderzoekslocaties?
4. Is het mogelijk door middel van opslagomstandigheden van het struviet, de concentratie *E. coli* op het struviet te verlagen?
5. Hoe verhoudt de hoeveelheid *C. perfringens* zich tussen de verschillende onderzoekslocaties?

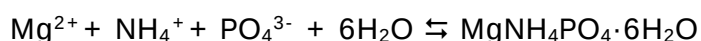
Deze onderzoeksvragen zijn beantwoord door middel van literatuuronderzoek en verschillende experimenten. Deze experimenten zijn onderbouwd met literatuur en de expertise van deskundigen, zoals laboratoriumbeheerders en voedingmiddelentechnologen. De resultaten van ieder experiment zijn gebruikt voor het opzetten van het opvolgende experiment. De gebruikte methode is per experiment verder toegelicht.

2. Struviet

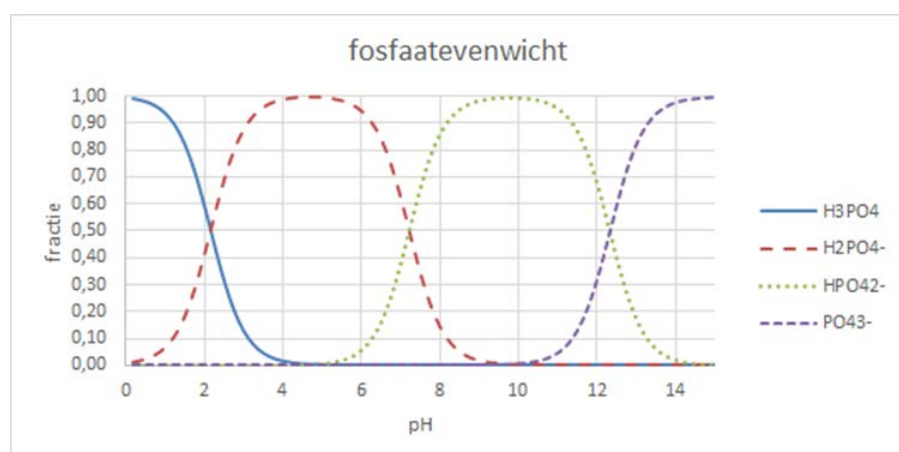
In dit hoofdstuk wordt de achtergrondinformatie over struviet beschreven. Dit hoofdstuk bestaat uit de volgende paragrafen: wat is struviet; en hoe wordt struviet geproduceerd op een RWZI.

2.1 Wat is struviet?

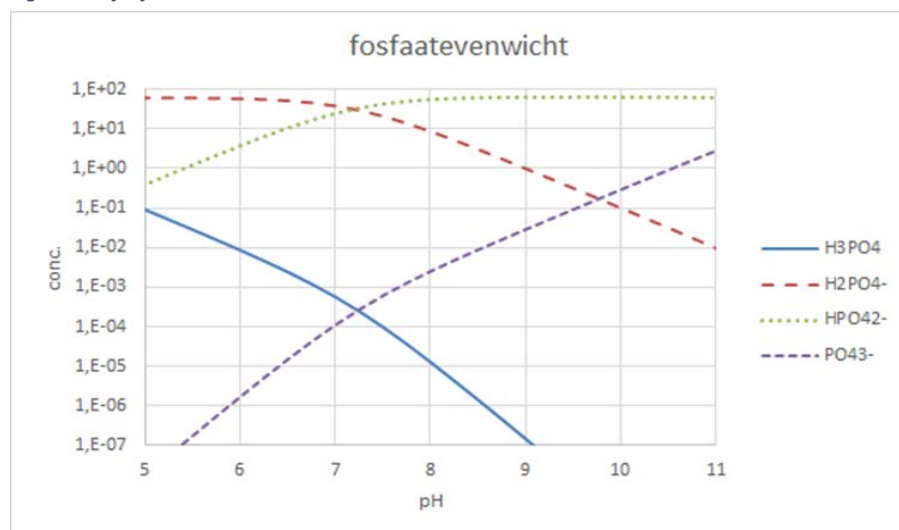
Struviet is een kristal bestaande uit de volgende mineralen: magnesium (Mg^{2+}), ammonium (NH_4^+) en fosfaat (PO_4^{3-}), en dit wordt gevormd volgens de volgende reactievergelijking:



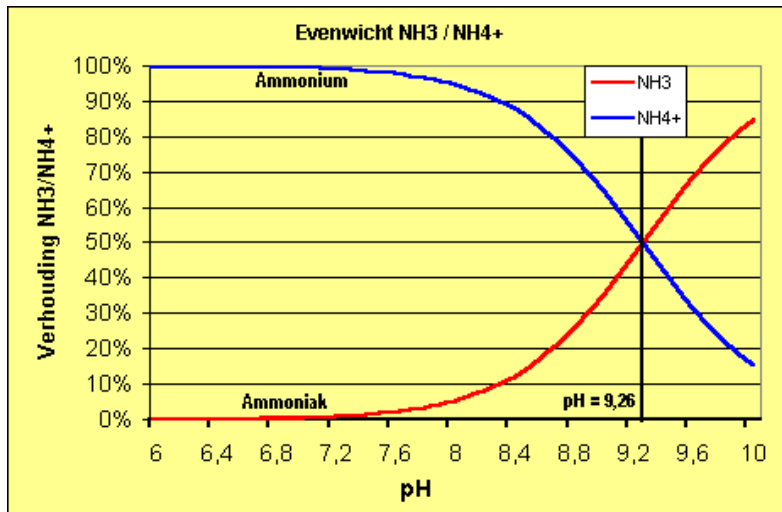
De vorming van struviet is afhankelijk van de pH, aangezien de vorm waarin ammonium en fosfaat aanwezig zijn, pH afhankelijk is. Het fosfaat evenwicht is weergegeven in figuur 1a en 1b. In figuur 1a is de fractie weergegeven van de verschillende fosfaat vormen bij bepaalde pH waarden. Hierin is te zien dat fosfaat vooral in de juiste vorm aanwezig is bij een pH boven de 10,5. In figuur 1b is de concentratie van de verschillende fosfaat vormen weergegeven bij bepaalde pH waarden. Hierin is te zien dat ook bij een lagere pH PO_4^{3-} voorkomt, maar enkel in een lage concentratie. Het ammonium evenwicht is weergegeven in figuur 2. Het ammonium is in de juiste vorm aanwezig bij een pH tot 10 (AqualInfo, z.d.). In de praktijk wordt struviet geproduceerd bij een pH rond de 8,0 (STOWA, 2012).



Figuur 1a: fosfaatevenwicht



Figuur 1b: fosfaatevenwicht



Figuur 2: ammonium evenwicht (AqualInfo, z.d.)

Deze neerslag vindt plaats in de verwerking van afvalwater. Dit proces kan ongewenst plaatsvinden in de leidingen van de afvalwaterzuivering waar het verstoppingen veroorzaakt. Of het kan gecontroleerd plaatsvinden in een reactor, waar het ook gewonnen kan worden, en afgezet kan worden als grondstof in de kunstmestproductie (STOWA, 2012).

Het struviet kan in verschillende vormen, kleuren en maten kristalliseren, onder andere bruine en witte piramidevormige kristallen, plaatjes, naaldjes en balletjes. Tijdens deze reactie zijn de volgende parameters sturend: oververzadiging van fosfaat, ammonium en magnesium; pH en temperatuur (STOWA, 2012).

Met behulp van het programma Visual Minteq is berekend dat de maximale geleidbaarheid van struviet 332 $\mu\text{S}/\text{cm}$ is bij een pH van 8,7. De geleidbaarheid van drinkwater ligt tussen 300-800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Logisticon, z.d.). Dit betekent dat struviet een slecht oplosbaar zout is, aangezien er weinig ionen oplossen in het water. De oplosbaarheid hiervan is 169 mg/l bij 25 °C (Bhuiyan et al., 2007).

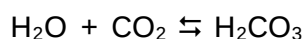
2.2 Hoe wordt struviet geproduceerd op een RWZI?

Er zijn meerdere technieken om struviet te produceren uit afvalwater. De vier technieken die toegepast worden bij de te onderzoeken RWZI's zijn in tabel 1 weergegeven. In deze paragraaf worden de vier verschillende technieken kort beschreven.

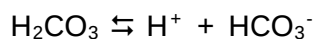
Tabel 1: gebruikte technieken struviet productie

Waterschap	RWZI	Techniek
Aa en Maas	's-Hertogenbosch	AnPhos
	Land van Cuijk	NuReSys
Rivierenland	Tiel	AnPhos
Vallei en Veluwe	Amersfoort	Pearl
	Apeldoorn	NuReSys
Waternet	Amsterdam-West	Airprex

Bij de technieken AnPhos, NuReSys en Airprex vindt CO₂ stripping plaats door middel van beluchting. CO₂ wordt door middel van beluchting verwijderd uit het water, doordat het in evenwicht wil zijn met de concentratie die aanwezig is in de lucht. CO₂ vormt samen met water koolzuur volgens onderstaande reactievergelijking:



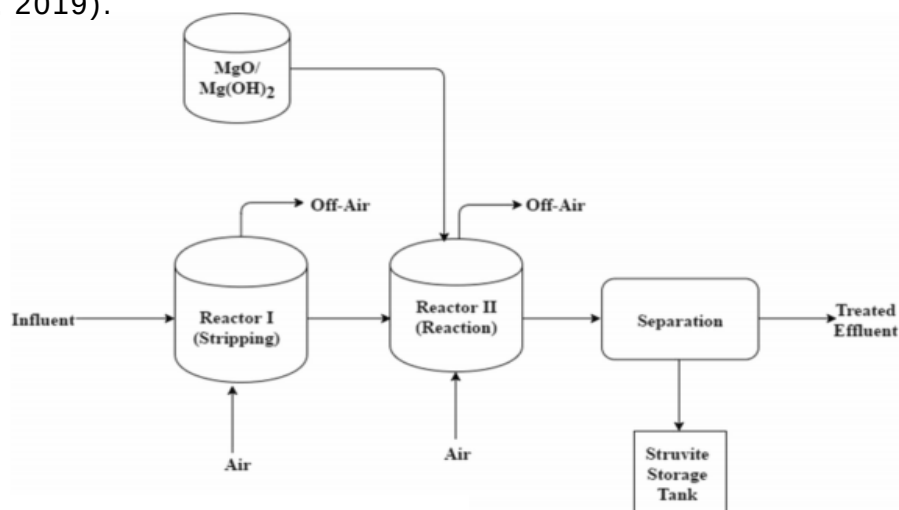
Dit koolzuur is weer in evenwicht met de concentratie waterstofcarbonaat, waarbij een H⁺ ion gevormd wordt en dit leidt tot verzuring. Dit is weergegeven in onderstaande reactievergelijking:



Kortom als minder CO₂ in het water aanwezig is zal er minder koolzuur aanwezig zijn en hierdoor ook minder H⁺ ionen, doordat beide evenwichten naar links verschuiven. Hierdoor stijgt de pH door middel van beluchting.

AnPhos

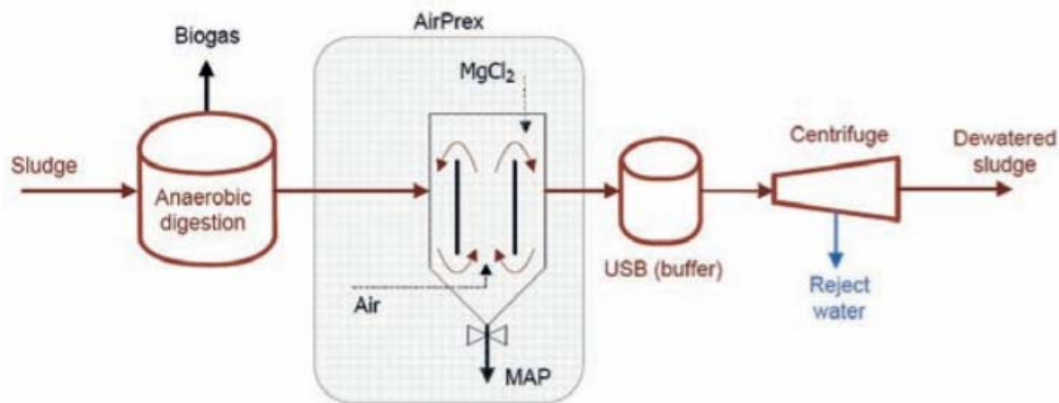
Het proces bestaat uit twee gescheiden reactors: de eerste reactor wordt gebruikt voor de beluchting van het afvalwater (CO₂ strippen) en de tweede reactor wordt gebruikt voor de kristallisatie van struviet door het toevoegen van magnesiumhydroxide (Mg(OH)₂). In figuur 3 is het proces weergegeven (Ghosh et al., 2019).



Figuur 3: AnPhos processchema (Ghosh et al., 2019).

Airprex

Het Airprex systeem is een proces ontwikkeld door het Berliner Wasserbetriebe. En heeft als hoofddoel het ontwateringsproces van vergist slib te optimaliseren en produceert tijdens dit proces ook struviet. Het proces vindt plaats in een continuous stirred-tank reactor (CSTR-reactor). Het proces is schematisch weergegeven in figuur 4 (Ghosh et al., 2019), (STOWA, 2012).

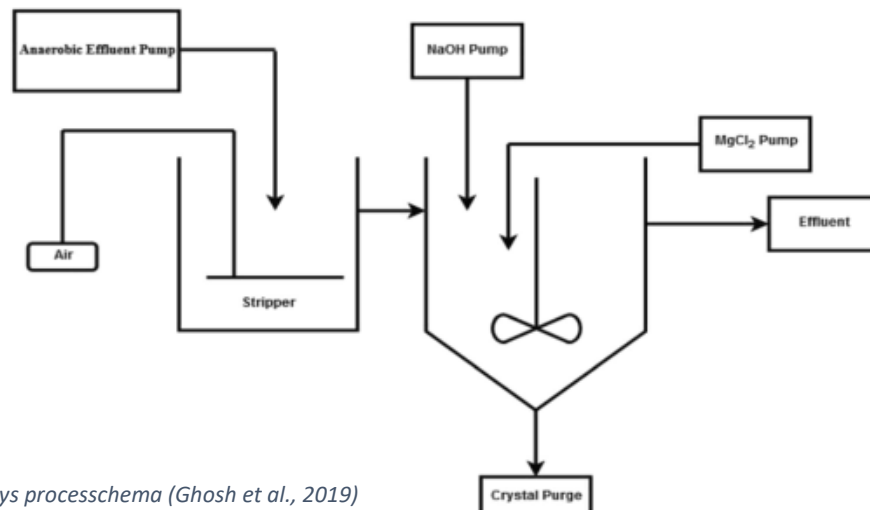


Figuur 4: Airprex processchema (STOWA, 2012).

Te zien is dat de Airprex reactor gevoed wordt met vergist slib uit een anaerobe vergistingstank. Aan deze stroom wordt magnesiumchloride (MgCl_2) gedoseerd voordat het in de Airprex reactor terecht komt. In het Airprex systeem wordt door de beluchting in het midden van de reactor de CO_2 gestript, hierdoor zal de pH stijgen en zal het neerslaan van struviet kunnen plaatsvinden. Door middel van deze beluchting wordt tevens het slib gecirculeerd in de reactor. Het neergeslagen struviet wordt constant geoogst aan de onderkant van de reactor. Dit struviet wordt op RWZI Amsterdam-West gewassen met bedrijfswater voordat het opgeslagen wordt in een container (Ghosh et al., 2019), (STOWA, 2012).

NuReSys

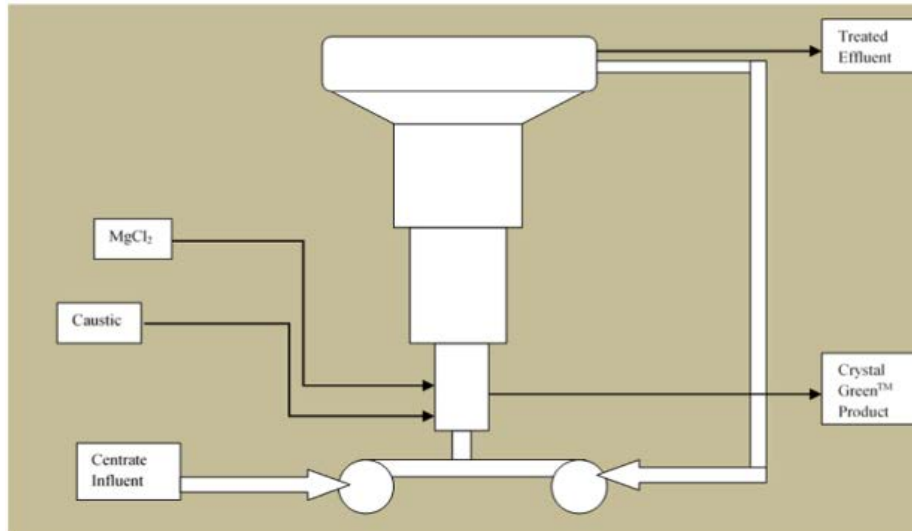
NuReSys (Nutrient Recycle Systems) is een systeem waar batchgewijs struviet geproduceerd wordt. De pH wordt tussen de 8,5 en 8,7 gehouden door het toevoegen van NaOH. Het systeem kan zowel voor centraat als slib gebruikt worden. Op RWZI Land van Cuijk en Apeldoorn wordt centraat gebruikt als voeding voor de struviet reactor. In figuur 5 is het proces weergegeven (Ghosh et al., 2019).



Figuur 5: NuReSys processchema (Ghosh et al., 2019)

Pearl

Het Pearl proces van Ostara is ontworpen door de University of British Columbia. En wordt hoofdzakelijk gebruikt voor het verwijderen van fosfaat uit stromen als centraat uit slibontwatering. Dit proces vindt plaats in een Pearl reactor en is schematisch weergegeven in figuur 6 (Ghosh et al., 2019).



Figuur 6: Pearl processchema (Ghosh et al., 2019).

In de Pearl reactor wordt struviet gevormd in een up-flow-fluidized bed reactor. Voordat de te behandelen stroom in deze reactor terecht komt wordt magnesiumchloride (MgCl_2) gedoseerd. Daarnaast kan om de pH te sturen natronloog (NaOH) gedoseerd worden (in figuur 6 weergegeven als “caustic”). Als gevolg van het up-flow systeem worden bolvormige struviet korrels geproduceerd. Bovenin de struviet reactor zijn de korrels nog klein, deze zullen naarmate ze aangroeien bezinken. Onderin de reactor worden de bezonken grote korrels geoogst (Ghosh et al., 2019).

3. *Escherichia Coli*

Escherichia Coli ofwel *E. coli* is een gramnegatieve staafvormige bacterie en is familie van *Enterobacteriaceae*. Van nature komt de bacterie voor in de darmen van warmbloedige dieren zoals mensen (RIVM, 2018). *E. coli* wordt vaak als indicatororganisme gebruikt voor het mogelijk aanwezig zijn van pathogenen.

Het is een facultatief anaerobe bacterie, wat betekent dat het micro-organisme zowel met als zonder zuurstof kan overleven (WFC, z.d.). *E. coli* groeit echter het beste in een aeroob milieu, aangezien door het gebruik van zuurstof bij de afbraak van voedingsstoffen meer energie gewonnen kan worden. Wanneer *E. coli* terecht komt in een anoxisch milieu zal het zijn metabolisme aanpassen. In dit proces wordt zuurstof vervangen met een andere elektronenacceptor als nitraat (NO_3^-). Tijdens dit proces komt iets minder energie vrij en zal de groei iets verminderen. Wanneer er geen elektronenacceptoren aanwezig zijn zal de cel overgaan tot gisting. Dit proces levert veel minder energie op dan anaerobe respiratie (Wiersema, I., z.d.-a).

De mate van overleving van *E. coli* is afhankelijk van een aantal factoren, zoals temperatuur, pH, wateractiviteit en beschikbare voedingsstoffen. De maximale groei van *E. coli* vindt plaats tussen 36-40 °C met een optimum van 37 °C (Albrecht, J. A., z.d.) (Doyle et al., 1984). De bacterie kan echter overleven in een range van 4-45 °C, waar afsterving sneller zal gaan bij hoge temperaturen dan lage temperaturen (Jang et al., 2017).

Daarnaast is de zuurtegraad (pH) van de omgeving ook zeer belangrijk voor de overleving van *E. coli*. De minimale pH voor de groei van *E. coli* is 4,4 met een optimale groei bij 7,0. Echter kan *E. coli* overleven in de range van 3,8-8,5 (Lieverloo et al., 2018). In een onderzoek waarin de overleving van *E. coli* in bodemonsters is bepaald, is gevonden dat *E. coli* beter kan overleven bij lage pH waarden dan relatief hoge pH waarden (Jang et al., 2017)(Lieverloo et al., 2018).

De beschikbaarheid van water is ook een belangrijke factor voor de overleving van *E. coli*. Deze beschikbaarheid wordt gemeten door middel van wateractiviteit (a_w), de laagste waarden waar *E. coli* bij kan groeien is 0,95, waarin de maximale a_w -waarde 1 is (Lieverloo et al., 2018). Dit laat zien dat de wateractiviteit cruciaal is voor *E. coli* overleving.

De beschikbaarheid van voedingsstoffen als koolstof, stikstof en fosfor zijn belangrijk voor *E. coli* groei en overleving. *E. coli* kan verschillende vormen van organisch koolstof afbreken waardoor het flexibel is voor zijn overleving (Jang et al., 2017). Uit het onderzoek van Huygens et al. blijkt dat neergeslagen fosfaat-zouten met een laag gehalte aan organisch stof als struviet, ook een lage concentratie pathogenen bevatten. Dit kan betekenen dat de overleving en zeker groei van *E. coli* op struviet mogelijk geremd worden door de beschikbaarheid van voedingsstoffen (Huygens et al., 2019).

Bovenstaande parameters hebben individueel effect op de overleving van *E. coli*. Echter zal de combinatie van de parameters samen een ander beeld opleveren

van de mate waarin *E. coli* kan overleven en groeien (hurdle effect). Mede hierdoor is de overleving en groei van *E. coli* op struviet momenteel niet bekend.

***E. coli* in de bodem**

E. coli kan van nature in de bodem voorkomen door onder andere het toepassen van dierlijke mest op landbouwgrond. Afhankelijk van het type mest dat gebruikt wordt is gemiddeld $1,4 \cdot 10^6$ kve *E. coli*/gram aanwezig in de mest (Morgenschweis, 2015). Uit onderzoek is gebleken dat *E. coli* kan overleven op de aanwezige voedingstoffen in de bodem. Na 24 dagen is een lichte daling geconstateerd in de hoeveelheid *E. coli*. Echter is bekend dat *E. coli* tot 200 dagen kan overleven in de bodem onder natuurlijke omstandigheden. En tot 500 dagen onder koude omstandigheden, aangezien de cel onder deze omstandigheden in een 'slapende' staat terecht komt (Nandakafle et al., 2018) (Biocunus, z.d.).

***E. coli* in rioolwaterzuivering**

Het influent dat een rioolwaterzuivering (RWZI) binnengaat bevat 10^3 - 10^7 kve *E. coli*/ml (Grinten van der, et al., 2017). Binnen de zuivering van het rioolwater zal het gehalte van deze bacteriën niet significant veranderen aangezien *E. coli* onder zowel aerobe als anoxische en anaerobe omstandigheden kan overleven. De vergisting van het slib vindt plaats onder anaerobe omstandigheden, met temperaturen verschillend van 35 °C (mesofiele vergisting) of 55 °C (thermofiele vergisting). Mesofiele vergisting zal geen negatieve effecten hebben op de overleving van *E. coli*. Thermofiele vergisting zal dit wel hebben aangezien de maximale overleving temperatuur van *E. coli* 45 °C is. Na het vergisten wordt het slib ingedikt, in deze stap zal de *E. coli* grotendeels met het slib afgevoerd worden als slibkoek. Vervolgens wordt dit slib extern verbrand.

4. *E. coli* overleving bij verschillende struviet productieprocessen

Dit experiment geeft inzicht in de hoeveelheid *E. coli* en die aanwezig is in het eindproduct en tijdens de processtappen voor de vorming van struviet.

4.1. Methode

Dit is onderzocht door op locatie, op verschillende plaatsen in en rondom het struviet productieproces, een steekmonster te nemen en hiervan de hoeveelheid *E. coli* te bepalen. Dit is uitgevoerd op de locaties:

- RWZI Land van Cuijk;
- RWZI 's-Hertogenbosch;
- RWZI Apeldoorn;
- RWZI Amersfoort.

Nadat de monsters genomen zijn, zijn deze koel bewaard om verandering van biologische activiteit te beperken. Bij de bovengenoemde vier RWZI's zijn 4 of 5 monsters genomen. De volgende monsters zijn genomen op iedere locatie: slib (voor vergisting), uitgegist slib, centraat en vers struviet. Wanneer op locatie filtraat wordt verwerkt binnen de struviet productie is dit monster ook meegenomen in het onderzoek.

De volgende RWZI's zijn niet meegenomen, omdat de struviet installatie niet draaide, waardoor geen vers monster genomen kon worden.

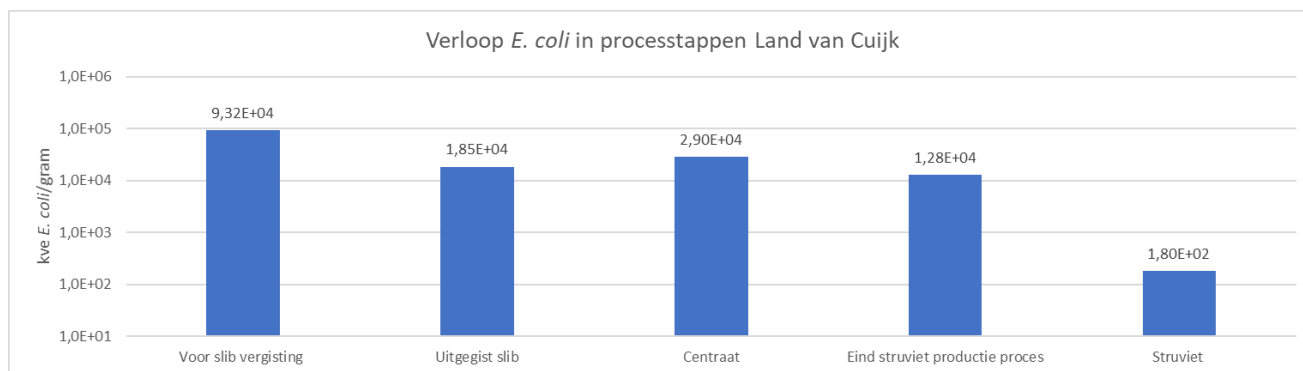
- RWZI Tiel;
- RWZI Amsterdam-west.

***E. coli* bepalen**

Voor de bepaling van *E. coli* is 20 gram van het monster genomen en 180 ml PFZ-vloeistof (Pepton fysiologisch zout, 0,9% NaCl, 1% pepton), dit is een vloeistof waar micro-organismen beter in kunnen overleven dan water (verdunding van 10x) (Wiersema, I., z.d.). Dit is door middel van stomacheren gehomogeniseerd. *E. coli* is bepaald volgens ISO 16649-2, "*Microbiologie van voedingsmiddelen en diervoeders - Horizontale methode voor de bepaling van β -glucuronidase-positieve *E. coli* - Deel 2: Bepaling van het koloniegetal bij 44 °C met behulp van 5-bromo-4-chloro-3-indolyl β -D-glucuronide.*" Tijdens het experiment is gebruikt gemaakt van een TBX-voedingsbodem (Tryptone Bile X-glucuronide) en hierop is 1 ml van de homogene oplossing gepipetteerd. De benodigde verdunningsreeks is tijdens het experiment nader bepaald. Deze verdunningen zijn in duplo ingezet. TBX-voedingsbodems zijn hiervoor gebruikt, omdat dit selectief is voor *E. coli* (Oxoid, z.d.). In plaats van het inzetten van de platen bij 44 °C, zoals beschreven in de ISO norm, is ervoor gekozen om het in te zetten bij 37 °C. Hiervoor is gekozen, omdat dit de optimale temperatuur is voor *E. coli* om te groeien (Doyle et al., 1984). Het afvalwater heeft een temperatuur tussen de 8 en de 20 °C, afhankelijk van het seizoen (Hartman et al., 2015). Hierdoor kan een vals negatieve meting ontstaan als de kweektemperatuur boven het optimum van *E. coli* ligt. Na 18-24 uur zijn de petrischalen uit de broedstoof gehaald en de kolonies geteld. Voor een statistisch betrouwbaar resultaat zijn enkel de platen meegenomen waar tussen de 10 en 150 kolonies geteld zijn (Dijk et al., 2015).

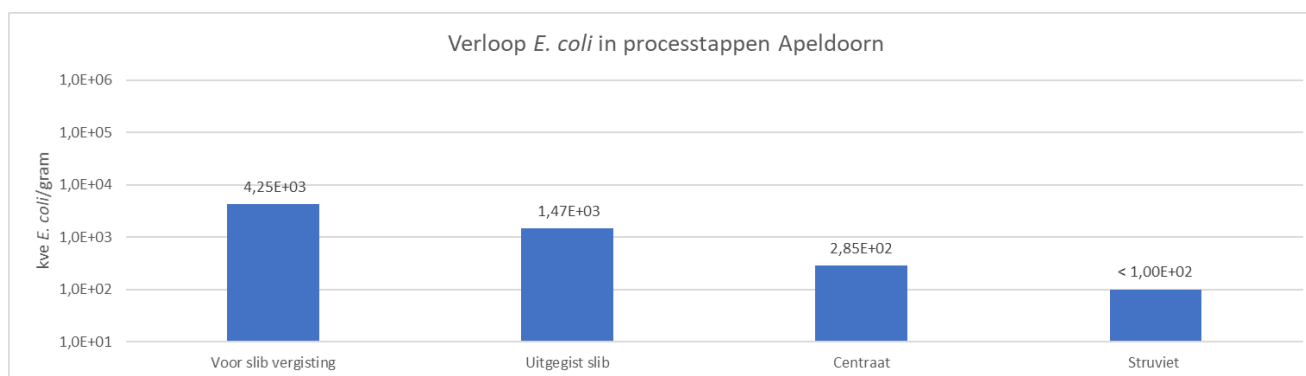
4.2. Resultaten

Onderstaand zijn de resultaten weergegeven van het aantal *E. coli* bij verschillende processtappen bij vier RWZI's. De ruwe data van het experiment is terug te vinden in bijlage 1.



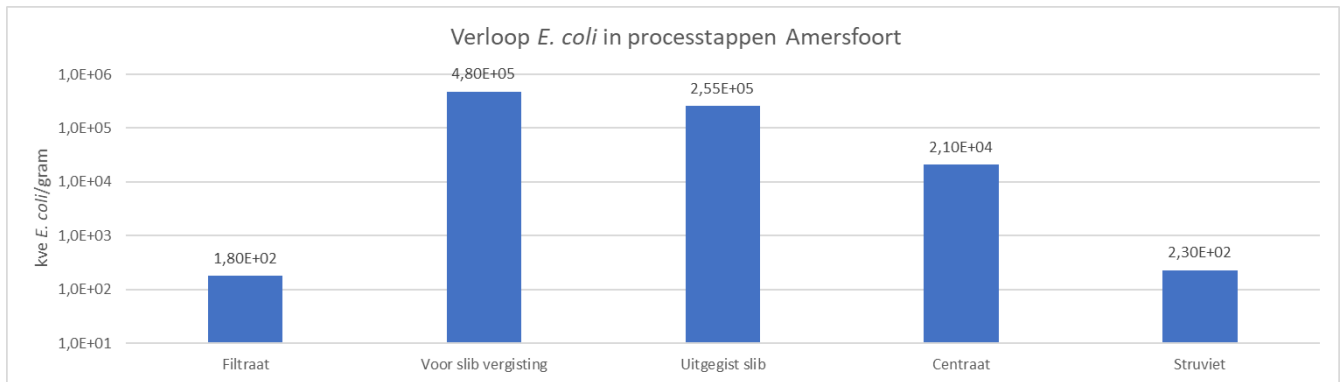
Figuur 7: verloop *E. coli* in processtappen RWZI Land van Cuijk

In bovenstaande figuur 7 zijn de gemeten hoeveelheden aan *E. coli* weergegeven. Hierin is te zien dat de hoeveelheid aan *E. coli* gedurende het proces boven $1 \cdot 10^4$ kve/gram ligt en in het gevormde struviet $1,80 \cdot 10^2$ kve/gram. Het monster "Eind struviet productieproces" is genomen voordat het water van het geproduceerde struviet wordt gescheiden.



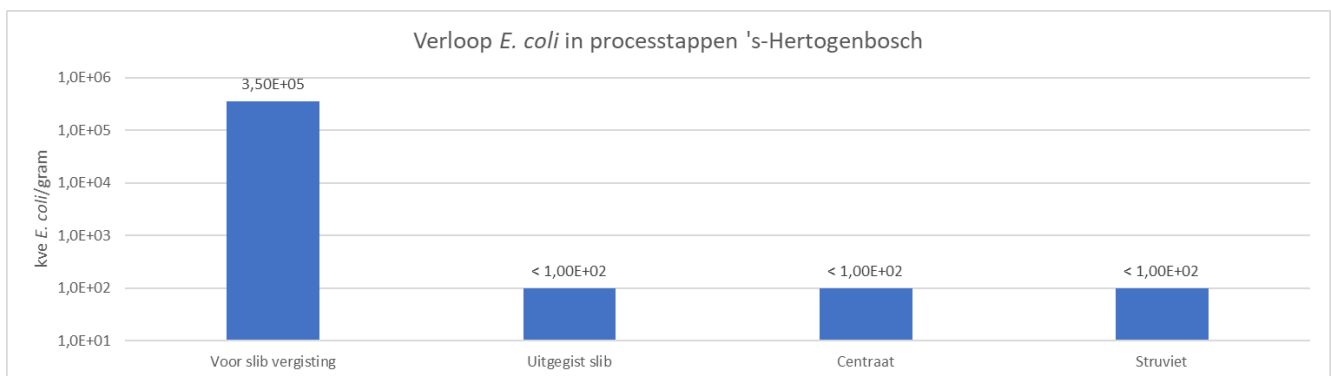
Figuur 8: verloop *E. coli* in processtappen RWZI Apeldoorn

In bovenstaande figuur 8 is de gemeten hoeveelheden aan *E. coli* weergegeven. Hierin is te zien dat de hoeveelheid aan *E. coli* gedurende het proces boven $1 \cdot 10^4$ kve/gram ligt en in het gevormde struviet < 100 kve/gram (onder meetbereik, er zijn 0 kolonies geteld bij verdunning -1).



Figuur 9: verloop *E. coli* in processtappen RWZI Amersfoort

In bovenstaande figuur 9 is de gemeten hoeveelheden aan *E. coli* weergegeven. Het filtraat, afkomstig vanuit een zeefbandpers voorafgaand aan de slibvergisting, bevat $1,80 \cdot 10^2$ kve/gram *E. coli*. Dit filtraat wordt niet vergist, maar wordt evenals het centraat (waterfractie afkomstig uit slibontwatering), verwerkt als voeding van de Pearl reactor. Het aantal *E. coli* in het gevormde struviet is $2,3 \cdot 10^2$ kve/gram.



Figuur 10: verloop *E. coli* in processtappen RWZI 's-Hertogenbosch

In bovenstaande figuur is te zien dat de hoeveelheid aanwezig *E. coli* na de thermofiele vergisting van 53 °C verminderd wordt van $3,5 \cdot 10^5$ kve/ gram tot <100 kve/g (onder meetbereik, er is 1 kve/g geteld bij verdunning -1). Bij de opvolgende monsters is geen *E. coli* meer op de plaat aangetroffen.

4.3. Discussie

Aan de hand van dit experiment is gebleken dat het aantal *E. coli* in vers geproduceerd struviet niet boven $2,30 \cdot 10^2$ kve/gram uitkomt. Deze metingen zijn op de volgende zuiveringen uitgevoerd: RWZI Land van Cuijk, Apeldoorn, Amersfoort en 's-Hertogenbosch. Aangezien deze locaties respectievelijk NuReSys (Land van Cuijk en Apeldoorn), Pearl en AnPhos in bedrijf hebben zullen deze gehalten *E. coli* zich ook voordoen op deze locaties. Het gehalte aan *E. coli* voor RWZI Apeldoorn en Amersfoort neemt geleidelijk af vanaf de slib vergisting tot het geproduceerde struviet. Aangezien *E. coli* grotendeels aanwezig zal zijn in de waterfractie (Grinten van der, et al., 2017). Dit is na de slibontwatering het centraat, en in de struviet reactor de waterfractie die afgevoerd wordt naar de Demon of direct de biologische zuivering in. Te zien is dat het aantal *E. coli* op RWZI 's-Hertogenbosch in het slibvergisting proces afneemt van $3,50 \cdot 10^5$ kve/gram tot <100 kve/gram (onder meetbereik). Op deze locatie wordt gebruik gemaakt van een thermofiele vergisting dat plaatsvindt bij 53°C gedurende 18 dagen. Aangezien de maximale temperatuur voor de overleving van *E. coli* 45°C is zullen deze organismen in dit proces sterven. Deze vergelijkbare afname is niet te zien bij de RWZI's die gebruik maken van mesofiele vergisting (Land van Cuijk, Amersfoort en Apeldoorn). De resultaten van RWZI Land van Cuijk laten zien dat *E. coli* tijdens het struviet productieproces niet afsterft. Wel is de het aantal *E. coli* op het struviet met een factor 100 lager nadat het afgescheiden is van de waterfractie.

4.4. Conclusie

Uit dit experiment kan geconcludeerd worden dat het aantal *E. coli* in vers struviet bij de vier onderzochte RWZI's onder $3 \cdot 10^2$ kve/gram is. Dit betekent dat deze resultaten aan de STRUBIAS norm voor *E. coli*, onder de 1000 kve/gram, zouden voldoen. Echter zal in Nederland waarschijnlijk een strengere norm voor *E. coli* gehanteerd gaan worden, wat betekent dat een methode onderzocht moet worden om het aantal *E. coli* op struviet te verlagen. Verder kan geconcludeerd worden dat het vergisten van slib bij een temperatuur van boven de 50°C ervoor zorgt dat alle *E. coli* sterft. Hierdoor is de hoeveelheid *E. coli* in het geproduceerde struviet nagenoeg nul.

5. Eigenschappen struviet monsters

Tijdens dit experiment is de mate waarin pathogenen kunnen overleven op verschillende struviet monsters onderzocht. Hiervoor zijn de volgende parameters onderzocht: wateractiviteit (a_w), zuurtegraad (pH), geleidbaarheid (EC). Voor deze parameters is gekozen, omdat dit belangrijke parameters zijn voor de overleving van organismen. Verder is de hypothese gesteld dat de a_w -waarde van het struviet te laag is voor de meeste micro-organismen om te kunnen overleven (Jong de et al., 2019).

5.1. Methode

In dit experiment is van iedere te onderzoeken zuivering een struviet monster genomen (RWZI Amersfoort, Amsterdam-West, Apeldoorn, Land van Cuijk, 's-Hertogenbosch en Tiel). De monsters zijn indien mogelijk van vers struviet genomen en bewaard in afgesloten bakjes met een inhoud van 150 ml. Wanneer het productieproces bestaat uit een drogingsstap is er ook een monster genomen van het gedroogde product. Deze monsters zijn bij een temperatuur van 20 °C bewaard.

Metten van a_w -waarde

De a_w -waarde staat voor de wateractiviteit in een product, dit is een maat voor de hoeveelheid vrij water in het product. Het is een dimensie-loze eenheid en bestaat uit een waarde tussen 0 en 1, waarbij met een waarde dicht bij de 1 veel vrij water aanwezig is. De a_w -waarde kan gebruikt worden om de groeipotentie van micro-organismen te bepalen. Zo is het voor micro-organismen lastig om te groeien bij een lage a_w -waarde. Wanneer de a_w -waarde lager wordt zullen minder type micro-organismen kunnen groeien of zelfs zullen afsterven. De a_w -waarde wordt bepaald door de relatieve luchtvochtigheid van de lucht rondom het product te meten. Wanneer deze waarde gedurende vijf minuten stabiel is, is het water van het product in evenwicht met de lucht (Nutrilab, z.d.). De a_w -waarde van het struviet is bepaald volgens de norm: ISO 18787:2017, "Voedingsmiddelen-Bepaling van wateractiviteit." De a_w -waarde is bepaald met de Novasina Labmaster Standaard in het microbiologie laboratorium van HAS Hogeschool. Deze is eerst gekalibreerd met de kalibratiezouten, zodat deze geschikt is om de a_w -waarde van struviet te bepalen. De a_w -meter is gebruikt op de stand [average] en voor ieder monster in enkelvoud uitgevoerd.

Metten van pH en geleidbaarheid

Daarnaast zijn zowel de pH en geleidbaarheid (EC) van ieder monster in enkelvoud gemeten. pH is een belangrijke parameter in de mate waarin micro-organismen kunnen overleven en groeien. De geleidbaarheid van het monster laat zien in welke mate struviet op kan lossen. Aangezien het monster in een vaste vorm aanwezig is, is het opgelost in gedemineraliseerd water. Dit is uitgevoerd in een verhouding 1 deel monster en 5 delen gedemineraliseerd water. Deze methode is afgeleid vanuit de norm: ISO 10390:2005, "Bodem- Bepaling van de pH waarde." Voorafgaand aan de pH meting is de pH electrode geijkt. Voor zowel de pH electrode (HACH PHC101-01) als de EC electrode (HACH CDC401-01) is een multimeter gebruikt (HACH HQ40D), zodat beide parameters gelijktijdig gemeten zijn.

5.2. Resultaten

Bij dit experiment is de a_w -waarde, de pH, en de EC van de struviet monsters bepaald. Ook is informatie verkregen over de verschillende struviet productieprocessen van de RWZI's die deelnemen aan dit onderzoek. Deze resultaten zijn weergegeven in tabel 2. De foto's die genomen zijn van het struviet zijn weergegeven onder tabel 2. Uit deze resultaten is gebleken dat de a_w -waarde van alle verse struviet monsters dicht bij de 1 liggen. De pH van deze monsters ligt tussen de 8,4 en de 9,3. De EC ligt tussen de 240 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en de 2100 $\mu\text{S}/\text{cm}$ en wijkt dus in de meeste gevallen niet ver af van de theoretische EC waarde van 332 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Deze waarde is berekend door middel van Visual Minteq, welke nader beschreven staat in bijlage 2. Bij het struviet waar significant hogere waardes gemeten zijn dan de theoretische waarde is het struviet monster waarschijnlijk vervuild met andere stoffen als Na^+ en Cl^- .

Tabel 2: resultaten experiment inventarisatie struviet

Monster	Monsterlocatie	Foto	Struviet productie proces	Te verwerken stroom	Mg toevoeging	a _w - waarde	pH	EC (µS/cm)	Opmerkingen monster
RWZI Tiel	Voor schoefpers	1	AnPhos	Centraat	Mg(OH) ₂	0,984	8,54	994	Installatie stond maand stil
RWZI Amsterdam-west	Eindproduct	2	AirPrex	Slib	MgCl ₂	0,977	8,81	434	Installatie staat 2 weken stil
RWZI Land van Cuijk	Eindproduct	3	NuReSys	Centraat	MgCl ₂	0,984	8,91	376	Vers monster
RWZI 's-Hertogenbosch	Eindproduct	4	AnPhos	Centraat	Mg(OH) ₂	0,983	8,60	548	Vers monster
RWZI Apeldoorn (1)	Vers product	5	NuReSys	Centraat	MgCl ₂	0,967	8,69	2076	Vers monster
RWZI Apeldoorn (2)	Eindproduct	6	NuReSys	Centraat	MgCl ₂	0,642	9,22	263	Gedroogd in buitenlucht
RWZI Amersfoort (1)	Vers product	7	Pearl	Centraat+ filtraat	MgCl ₂	0,983	9,15	240	Vers monster
RWZI Amersfoort (2)	Eindproduct	8	Pearl	Centraat+ filtraat	MgCl ₂	0,353	8,48	421	Gedroogd onder 70 °C

Onderstaand zijn de foto's van de verschillende monsters struviet weergegeven in afbeelding 1, welke vermeld staan in bovenstaande tabel. Te zien is dat het product van de AnPhos reactoren (foto 1&4) het fijnste is. Het product van RWZI Land van Cuijk (foto 3) is vergelijkbaar met het uiterlijk van zand. Struviet vanuit de Airprex reactor (foto 2) bestaat uit grote kristallen. Tussen foto 5 & 6 en 7 & 8 zijn de verschillen weergegeven tussen een nat en droog product. Het struviet van RWZI Apeldoorn is groter dan dat van RWZI Land van Cuijk, terwijl beide RWZI's gebruik maken van een NuReSys reactor. Het struviet afkomstig uit de Pearl reactor heeft de grootste korrels.

Foto 1:



Foto 2:



Foto 3:



Foto 4:



Foto 5:



Foto 6:



Foto 7:



Foto 8:



Afbeelding 1: foto's struviet monsters van verschillende RWZI's

5.3. Discussie

Voorafgaand aan dit onderzoek was de verwachting dat de a_w -waarde van het struviet te laag was voor de overleving van pathogenen, in dit geval *E. coli*. Een lage a_w -waarde voor een zout resulteert namelijk in een hoge ionenconcentratie. Tijdens dit experiment is gebleken dat de a_w -waarde van alle vers genomen monsters tussen 0,967- 0,984 liggen. De minimale a_w -waarde voor de groei van *E. coli* is 0,95; dit betekent dat de eventueel aanwezige *E. coli* op het struviet kan overleven. Deze a_w -waarde kan verlaagd worden door het struviet te drogen, wat binnen de te onderzoeken RWZI's gebeurt op RWZI Amersfoort en Apeldoorn. Met een droogstap van 70 °C en respectievelijk het in de buitenlucht opslaan. Uit deze metingen is gebleken dat een verlaging haalbaar is tot ten minste 0,353 op RWZI Amersfoort en 0,642 op RWZI Apeldoorn. Deze waardes liggen beiden onder de overlevingsgrens voor *E. coli*, en zullen een afnemend effect hebben op de hoeveelheid *E. coli* op het struviet.

pH is een andere belangrijke parameter voor de overleving van *E. coli*. De gemeten pH waardes van het struviet van de onderzochte locaties verschillen van 8,48 tot 9,22. De maximale pH voor de overleving van *E. coli* is 8,5 met een optimum pH voor groei op 7,0. Dit betekent dat het struviet op alle onderzochte locaties een negatieve werking zal hebben op de overleving van *E. coli*.

De elektrische geleidbaarheid (EC) van ieder struviet monster is bepaald. Deze waardes verschillen van 240 tot 2076 $\mu\text{S}/\text{cm}$, waarin het verse struviet monster van Apeldoorn het enige monster is met een waarde boven de 1000 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Wanneer deze waarde vergeleken wordt met de EC van drinkwater wat tussen 300-800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ligt, zal deze concentratie geen negatief effect hebben op de groei/ overleving van *E. coli* (Logisticon, z.d.). Uit onderzoek van Bhuiyan et al. is gebleken dat struviet een slecht oplosbaar zout is met een oplosbaarheid van 169 mg/l bij 25 °C. Doordat struviet slecht oplosbaar is in water zal het niet snel een toxische werking hebben op de micro-organismen, als gevolg van de lage osmotische druk. De theoretisch berekende EC van struviet, 332 $\mu\text{S}/\text{cm}$, ligt hoger dan de gemeten waardes van de struviet monsters RWZI Apeldoorn gedroogd (263 $\mu\text{S}/\text{cm}$) en RWZI Amersfoort vers (240 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Tijdens de opslag van kristalvormige producten als struviet kan de oplosbaarheid hiervan veranderen, waardoor de monsters in mindere mate opgelost kunnen zijn (Garcia-Ruiz et al., 2015). Waarschijnlijk waren deze monsters nog niet volledig opgelost.

De grootte van struviet korrels/ kristallen bepaalt de poriegrootte van het product. Wanneer het struviet een kleine poriegrootte heeft zal het langzamer drogen dan wanneer het een grotere poriegrootte heeft. De volgende struviet monsters hebben een oplopende poriegrootte: Tiel/ 's-Hertogenbosch, Land van Cuijk, Apeldoorn, Amsterdam-west en Amersfoort.

5.4. Conclusie

Vanuit dit experiment is gebleken dat de a_w -waarde van vers struviet, van alle onderzochte RWZI's, hoog genoeg is voor de overleving van *E. coli*. Het struviet dat gedroogd wordt (RWZI Amersfoort) of in de buitenlucht in big bags wordt opgeslagen neemt genoeg in a_w -waarde af voor de afsterving van *E. coli*. Het geproduceerde struviet van RWZI Tiel, 's-Hertogenbosch, Land van Cuijk en Amsterdam-West wordt opgeslagen in een gesloten container. Hierin zal de a_w -waarde minder snel afnemen. Hieruit kan geconcludeerd worden dat de manier waarop struviet opgeslagen wordt een belangrijke rol speelt in de overleving van *E. coli* op struviet.

Het struviet van RWZI Amersfoort en Amsterdam-west heeft de grootste poriegrootte en zal hierdoor sneller afnemen in a_w -waarde. Het struviet van RWZI Tiel en 's-Hertogenbosch heeft de kleinste poriegrootte en zal met de kleinste snelheid afnemen in a_w -waarde.

De pH waarde van het geproduceerde struviet ligt boven de overlevingsgrens van *E. coli*, namelijk een pH van 8,5. Wanneer dit gecombineerd wordt met een a_w -waarde lager dan 0,95 zal er een hurdle effect optreden. Hierdoor zal de afsterving sneller verlopen wanneer beide parameters individueel ook resulteren in afsterving. Aangezien struviet een slecht oplosbaar zout is, zal de zoutconcentratie geen effect hebben op de overleving van *E. coli*.

6. Effect opslag van struviet op overleving *E. coli*

Uit de inventarisatie is gebleken dat de manier van opslaan effect heeft op de a_w -waarde van het struviet. En op deze manier ook op de mate waarin *E. coli* kan overleven. In dit hoofdstuk staat beschreven hoe de overleving van *E. coli* op struviet is onderzocht voor twee opslagmethoden. Deze resultaten kunnen gebruikt worden om een eerste stap te zetten naar een kwaliteitssysteem om struviet te produceren dat constant voldoet aan de toekomstige *E. coli* criteria.

6.1. Methode

Tijdens dit experiment zijn verschillende onderwerpen onderzocht namelijk:

- Overleving van *E. coli* bij een open systeem
- Overleving van *E. coli* bij een gesloten systeem

Het experiment is twee keer uitgevoerd, de eerste keer voor het inzichtelijk krijgen van het verloop, om zo te kunnen zien of het aantal *E. coli* stijgt of daalt op het struviet en hoe snel dit ongeveer verloopt. Hierna is het experiment herhaald, maar dan met de kennis van de eerste keer voor een geschikte tijd tussen de meetmomenten en een juiste duur van het experiment.

Aangezien de overleving van *E. coli* bacteriën bepaald is, is in een steriele omgeving gewerkt. Daarnaast is het materiaal dat gebruikt is om monsters te nemen ook gesteriliseerd.

Deel 1: inventarisatie overleving *E. coli* op struviet

Dit deel van het experiment is uitgevoerd om een eerste inzicht te krijgen in het verloop van *E. coli* op struviet. Hierbij waren enkel 2 meetmomenten, dag 0 en dag 5. Voor dit onderdeel is 200 gram struviet gebruikt per pot en zijn zowel gespikede monsters, als blanco (ongespiked) monsters onderzocht. Verderop in dit hoofdstuk, onder het kopje “Monster spiken” wordt ingegaan over de methode voor het spiken. Bij de blanco monsters is in plaats van de *E. coli* rijke vloeistof dezelfde hoeveelheid aan gedemineraliseerd water toegevoegd. Voor dit experiment zijn twee typen struviet gebruikt (vers struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en vers struviet van RWZI Apeldoorn). Deze twee typen struviet verschillen in fysieke eigenschappen en is geproduceerd volgens een ander type struviet reactor: RWZI Apeldoorn beschikt over NuReSys en RWZI 's-Hertogenbosch over AnPhos. Deze productieprocessen zijn respectievelijk aanwezig op RWZI's Land van Cuijk en Tiel, hierdoor zijn op het vlak van productieprocessen vier locaties vergeleken. Op dag 5 zijn van elke pot 3 monsters genomen, welke vervolgens in duplo zijn uitgeplaat. Dit is uitgevoerd om inzicht te verkrijgen in de mate van homogenisatie van het struviet in de potten. De 0-meting is in enkelvoud uitgevoerd.

Deel 2: Overleving *E. coli* op struviet bij verschillende opslagen

Dit experiment is uitgevoerd om een gedetailleerder beeld te verkrijgen van de overleving van *E. coli* op struviet. Daarnaast is deze overleving ook vergeleken tussen twee verschillende opslagen, namelijk een open pot en een gesloten pot. Zodat de overleving bepaald is voor een omgeving waarin de a_w -waarde gelijk blijft (gesloten pot) en waarin deze afneemt (open pot). Voor dit experiment is opnieuw vers struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en RWZI Apeldoorn gebruikt. De twee typen struviet is per 500 gram opgeslagen in zowel de open als gesloten pot. Om een gedetailleerder beeld te verkrijgen van de overleving zijn meer meetmomenten gebruikt dan in deel 1, namelijk dag 0, 3, 7, 10, 21 en 29. Op ieder meetmoment is zowel de a_w -waarde als de hoeveelheid *E. coli* per gram struviet gemeten. De hoeveelheid *E. coli* is bepaald volgens de methode beschreven in hoofdstuk 4.1. onder het kopje "*E. coli* bepalen" de monsters zijn in enkelvoud genomen. Aangezien uit de resultaten van deel 1 is gebleken dat de betrouwbaarheid van monstername in enkelvoud voldoende is.

Monster spiken

Voor het spiken van het monster is 1 ml *E. coli* rijk water met een concentratie van $1 \cdot 10^8$ kolonievormende eenheden toegevoegd per 100 gram struviet. Voor deze concentratie aan kve is gekozen, omdat dit de helft van de maximale concentratie is die gemeten kan worden en de verandering van *E. coli* met een hoge concentratie het snelst zichtbaar is. Dit struviet is gehomogeniseerd door het te kneden gedurende vijf minuten in een stomacherzak. Hiervan is vervolgens de a_w -waarde en de hoeveelheid *E. coli* per gram bepaald als 0-meting. De a_w -waarde is bepaald volgens de methode beschreven in hoofdstuk 5.1. onder het kopje "meten van a_w -waarde" en wordt gemeten nadat het monster gehomogeniseerd is. De hoeveelheid struviet dat gebruikt is voor de opslag experimenten is afhankelijk van de hoeveelheid meetmomenten. Aangezien 25 gram struviet benodigd is per meting en genoeg struviet moet overblijven, zodat het effect van monstername geminimaliseerd wordt. De hoeveelheid struviet waarvoor gekozen is, is per experiment verder toegelicht.

Opslag monsters en monstername

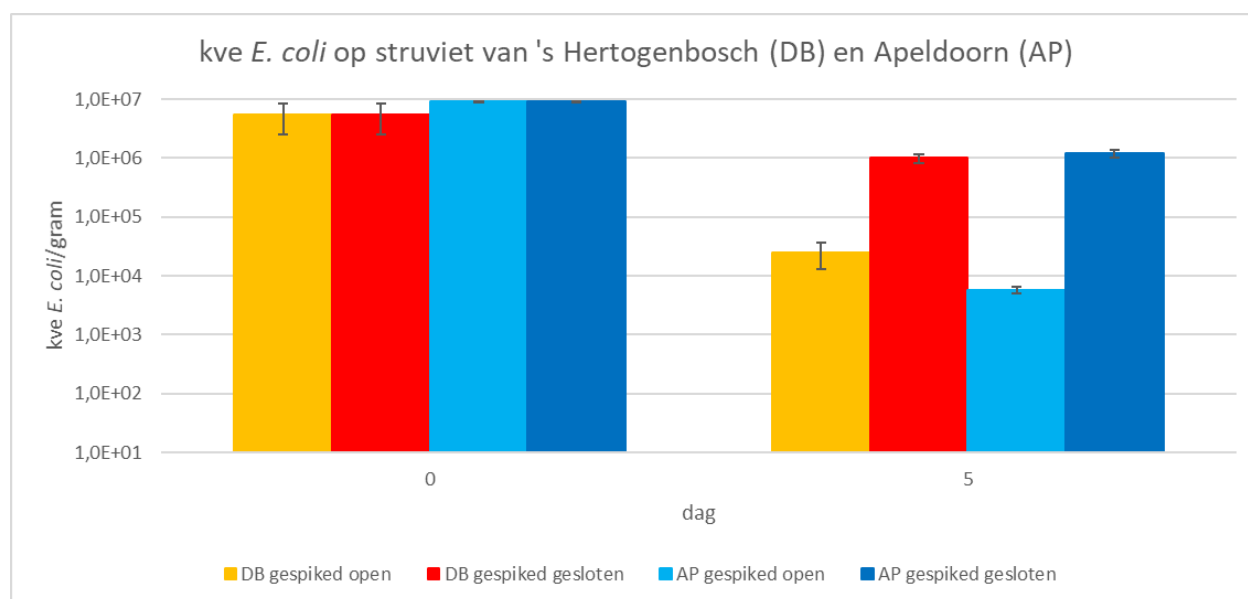
De proefopstelling is geplaatst in een broedstoof met een constante temperatuur van 20 °C, om de buitenlucht na te bootsen. In de broedstoof wordt de lucht gecirculeerd, echter wordt deze lucht niet ververst. De monstername vanuit de potten is uitgevoerd door het struviet te homogeniseren door middel van een steriele lepel. Op deze wijze is een representatief monster genomen van de gehele pot.

6.2. Resultaten

Zoals in hoofdstuk 6.1 aangegeven is dit experiment opgedeeld in 2 delen: inventarisatie van het verloop; en het verloop van *E. coli* bij verschillende opslagen. De ruwe data van het experiment is terug te vinden in bijlage 1.

Deel 1: inventarisatie van het verloop van *E. coli* op struviet

De overleving van *E. coli* op het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en RWZI Apeldoorn is voor een periode van 5 dagen onderzocht als inventarisatie op het verloop van *E. coli* op struviet. Deze resultaten zijn weergegeven in figuur 11.



Figuur 11: verloop *E. coli* op struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn

In bovenstaande figuur 11 is te zien dat bij zowel de open als gesloten pot het aantal *E. coli* op het struviet is gedaald na 5 dagen. De twee open potten tonen een sterkere daling ten opzichte van de twee gesloten potten.

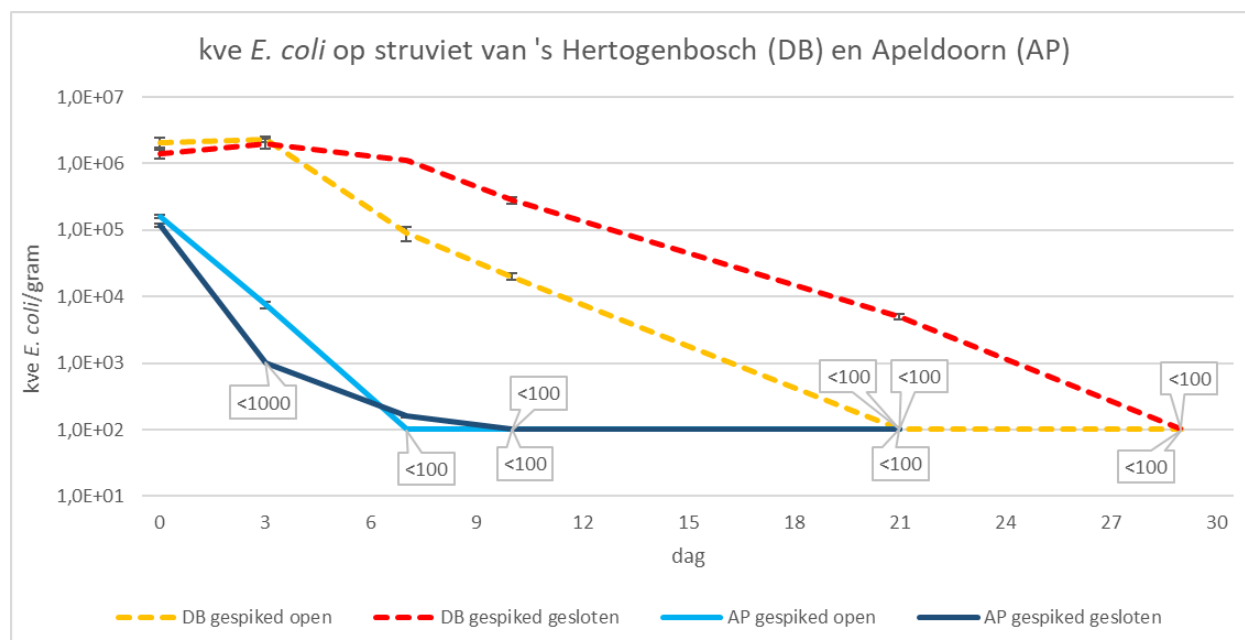
In onderstaande tabel is de a_w -waarde te zien op dag 0 en na 5 dagen. Hierin is te zien dat het struviet van RWZI Apeldoorn voor de twee open potten na 5 dagen onder de 0,85 ligt. Het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch heeft na 5 dagen nog een a_w -waarde boven de 0,94.

Tabel 3: a_w -waarde struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn

	a_w -waarde							
	's-Hertogenbosch				Apeldoorn			
Dag	Blanco		Gespiked		Blanco		Gespiked	
	open	gesloten	open	gesloten	open	gesloten	open	gesloten
0	0,986	0,986	0,986	0,986	0,965	0,965	0,965	0,965
5	0,956	0,992	0,971	0,986	0,833	0,973	0,775	0,973

Deel 2: overleving *E. coli* op struviet bij open en gesloten opslag

De overleving van *E. coli* op het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn is voor een periode van 29 dagen onderzocht. Deze resultaten zijn weergegeven in figuur 12. De resultaten zijn weergegeven op een logaritmische schaal, een lineair verloop in deze grafiek is in werkelijkheid een exponentieel verloop van groei of in dit geval afsterving van *E. coli*.



Figuur 12: verloop *E. coli* op struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en struviet van RWZI Apeldoorn

In bovenstaande figuur 12 is te zien dat bij zowel de open als gesloten pot het aantal *E. coli* op het struviet daalt in de loop van de tijd. De open pot toont een sterkere daling ten opzichte van de gesloten pot. Bij het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch is de eerste 2/3 dagen het aantal *E. coli* gelijk gebleven. Na deze 3 dagen is een exponentiele daling van het aantal *E. coli* waargenomen. Bij het struviet van RWZI Apeldoorn is wel vanaf de eerste dag een daling van het aantal *E. coli* zichtbaar. De procentuele afname in *E. coli* voor ieder meetpunt is weergegeven in bijlage 1.

In tabel 4 is de reductie van *E. coli* van ieder struviet monster weergegeven. Hierin is te zien dat het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch in een open omgeving sneller daalt waarop na 20 dagen een 4 log reductie (afname van factor 10000) heeft plaatsgevonden. Tegenover 29 dagen in de gesloten pot. Uit de grafiek is af te lezen dat na 18 dagen minimaal een 2 log reductie plaatsvindt, ongeacht de manier van opslaan. De reductie van *E. coli* op struviet van Apeldoorn verloopt in de eerste dagen gelijkmatig. Het struviet in een open pot heeft na 7 dagen 3 log reductie en het struviet in een gesloten pot behaalt deze reductie na 10 dagen. Een 4 log reductie is niet haalbaar op deze monsters aangezien de beginwaarde hiervoor te laag is.

Tabel 4: reductie *E. coli* bij de opslag van struviet RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn

Aantal dagen opslaan voor het behalen van de betreffende reductie aan <i>E. coli</i>				
Reductie	DB gesloten	DB open	AP gesloten	AP open
1 log	12	6	2	2
2 log	18	10	3	4
3 log	24	15	10	7
4 log	29	20	-	-

In tabel 5 is de gemiddelde afname van *E. coli* per dag weergegeven tussen de twee meetmomenten voor het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch. Hierin is te zien dat er geen afname tussen het meetmoment op dag 21 en 29 bij de open opslag heeft plaatsgevonden. Dit komt doordat op dag 21 het onderste meetbereik van 100 kve/gram bereikt is.

Tabel 5: gemiddelde afname *E. coli* per dag struviet RWZI 's-Hertogenbosch

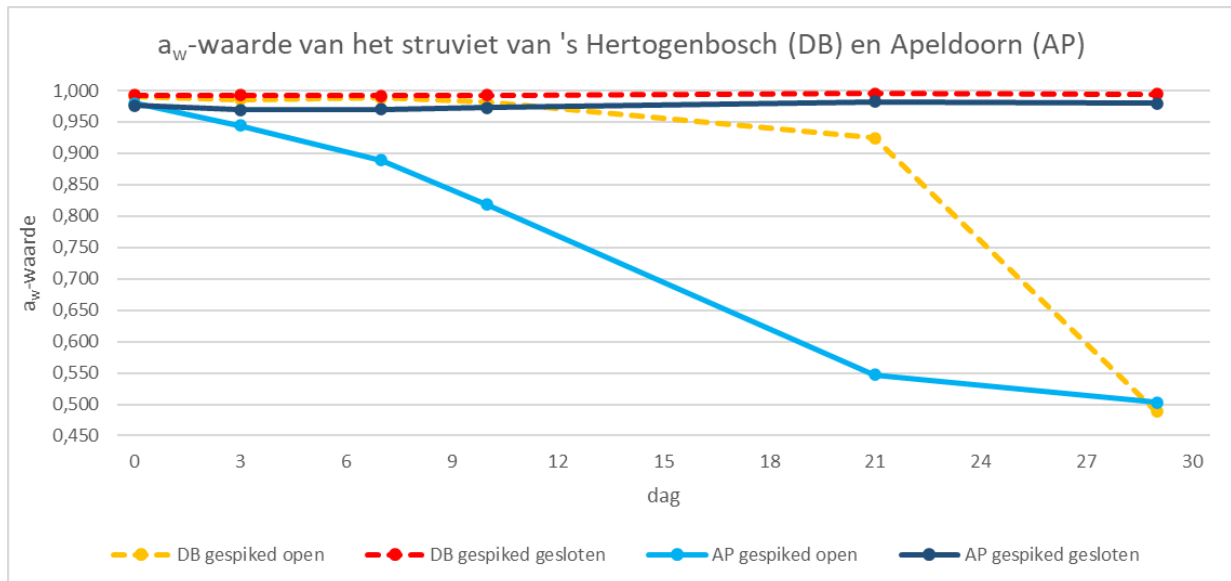
Procentuele afname <i>E. coli</i> (gem/dag)		
Dagen	DB open	DB gesloten
0-3	-3,175%	-14,286%
3-7	24,033%	11,250%
7-10	25,843%	24,848%
10-21	9,045%	8,929%
21-29	0,000%	12,250%

In tabel 6 is de gemiddelde afname van *E. coli* per dag weergegeven tussen de twee meetmomenten voor het struviet van RWZI Apeldoorn. Te zien is dat de afname het grootst is tussen dan 0-3. Deze neemt af tussen dag 3-7. In de open opslag is er na 7 dagen <100 kve *E. coli*/gram aanwezig, voor de gesloten opslag geldt dit na 10 dagen.

Tabel 6: gemiddelde afname *E. coli* per dag struviet RWZI Apeldoorn

Procentuele afname <i>E. coli</i> (gem/dag)		
Dagen	AP open	AP gesloten
0-3	31,750%	33,056%
3-7	24,671%	21,000%
7-10	0,000%	12,500%
10-21	0,000%	0,000%

In onderstaande figuur 13 is het verloop van a_w -waarde weergegeven van de open en gesloten opslag van struviet afkomstig van RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn.



Figuur 13: verloop a_w -waarde van struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn

Wateractiviteit is bepalend in de groei en overleving van micro-organismen zoals *E. coli*. Het verloop van de wateractiviteit voor het struviet van 's-Hertogenbosch en Apeldoorn in zowel de open als gesloten opslag zijn weergegeven in figuur 13. In beide gesloten potten is de a_w -waarde gelijk gebleven. De a_w -waarde van beide open potten daalde wel in de loop van de tijd, waarbij deze van het struviet van RWZI Apeldoorn een sterkere daling vertoonde. De a_w -waarde ligt van beide open potten na 29 dagen rond de 0,5.



Afbeelding 2: struviet 's-Hertogenbosch dag 0



Afbeelding 3: struviet 's-Hertogenbosch dag 3



Afbeelding 4: struviet 's-Hertogenbosch dag 10

6.3. Discussie

Aan de hand van dit experiment is gebleken dat *E. coli* na verloop van tijd sterft op struviet. Individueel hebben deze omstandigheden effect op de afsterving van *E. coli* echter zal de combinatie van deze omstandigheden een “hurdle effect” veroorzaken. Oorzaken voor de afsterving van *E. coli* op struviet kunnen zijn:

1. Beperkte voedingstoffen op het struviet:

Struviet is een fosfaat-zout dat over het algemeen weinig organisch stof bevat waardoor er ook weinig voedingstoffen aanwezig zijn. Het organisch stof dat aanwezig is op struviet is grotendeels vergist tijdens de slibgisting. Tijdens dit proces zullen eerst de makkelijk afbreekbare voedingstoffen verbrand worden, en blijven de complexere organische verbindingen over. *E. coli* zal deze complexe organische verbindingen niet kunnen afbreken, hierdoor zal het op struviet kunnen overleven door zijn resterende voedingstoffen die in zijn cel aanwezig zijn. Dit is terug te zien in de resultaten van het struviet vanuit RWZI 's-Hertogenbosch. In de open opslag overleeft *E. coli* nog drie dagen op zijn resterende voedingstoffen, en in de gesloten opslag voor zes dagen, aangezien de hoeveelheid *E. coli* in deze periode niet afneemt. Het verschil in deze overlevingstijd is te verklaren door het wel/ niet aanwezig zijn van zuurstof zoals onderstaand staat beschreven.

2. Wateractiviteit:

De a_w -waarde van gesloten potten is gedurende 29 dagen gelijk gebleven boven de overlevingsgrens van *E. coli*, 0,95. Zowel op struviet van RWZI 's-Hertogenbosch en Apeldoorn sterft *E. coli* af in de gesloten potten. Het aantal *E. coli* op het struviet van de open pot van RWZI 's-Hertogenbosch daalt significant sneller dan bij de gesloten pot. Ondanks dat de a_w -waarde van dit struviet gedurende 10 dagen boven de overlevingswaarde van *E. coli* zit is dit verschil vanaf 3 dagen al zichtbaar. Doordat enkel het bovenste laagje van het struviet droogt en waarna het struviet gehomogeniseerd wordt, neemt de a_w -waarde over het geheel gezien nauwelijks af. Echter zal de *E. coli* op het bovenste laagje gestorven zijn dus is het aantal *E. coli* in de pot lager.

3. Aan/ afwezigheid zuurstof:

In afbeelding 2 is te zien dat struviet van RWZI 's-Hertogenbosch in een open opslag, een waterlaag aanwezig is op het struviet. Deze waterlaag resulteert in een anaeroob milieu voor *E. coli* op het struviet. Deze waterlaag verdampt in de open opslag na 3 dagen zoals te zien is in afbeelding 3. Hierdoor zal het milieu in het struviet langzaam veranderen van anaeroob naar aeroob wanneer het struviet verder opdroogt. Deze laag water verdampt echter niet in de gesloten opslag, waardoor een anaeroob milieu blijft bestaan. Als gevolg hiervan zal *E. coli* in de open opslag sneller afsterven dan de gesloten opslag, aangezien het sneller al zijn voedingstoffen verbrand zal hebben. Dit proces verloopt namelijk sneller bij een aeroob milieu dan een anaeroob milieu. *E. coli* in de open opslag is na

20 dagen 4 log gereduceerd, terwijl *E. coli* in de gesloten opslag na 29 dagen 4 log is gereduceerd.

Het struviet van RWZI Apeldoorn heeft een grotere poriegrootte dan het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch. Hierdoor is er zuurstof beschikbaar voor *E. coli* in het struviet van RWZI Apeldoorn dan RWZI 's-Hertogenbosch. Het struviet van Apeldoorn heeft geen waterlaag gehad, hierdoor heeft het niet in een anaeroob milieu verkeerd. *E. coli* op struviet van RWZI Apeldoorn zal om deze reden ook sneller afsterven dan op struviet van RWZI 's-Hertogenbosch.

4. Zuurtegraad:

In het experiment dat beschreven staat in hoofdstuk 5 is te zien dat de pH van struviet boven de overlevingsgrens van *E. coli* ligt. Dit zal in combinatie met de bovenstaande parameters een reden zijn voor de afsterving van *E. coli*.

Het struviet van Apeldoorn is ontvangen met een a_w -waarde (0,85) lager dan de minimale overlevingsgrens van *E. coli*. Om deze reden is het struviet nadat het gespiked was nog verhoogd in a_w -waarde door middel van leidingwater. Dit zal geen negatieve werking gehad hebben op de overleving van *E. coli* aangezien struviet een slecht oplosbaar zout is (169 mg/l). Waardoor de eventueel toegenomen zoutconcentratie geen rol speelt.

Tijdens dit experiment is ook een alternatieve methode onderzocht voor de telling van *E. coli*. De methode die onderzocht is zijn de swaptests van Hygiena (Hygiena Microsnap coliform enrichment swaptest in combinatie met Hygiena Microsnap *E. coli* detection swaptest). Deze swaptests zijn gemeten met de Hygiena EnSure Touch ATP luminometer. De resultaten hiervan zijn vergeleken met de resultaten van de telplaat methode. Deze alternatieve methode is niet betrouwbaar gebleken, de resultaten hiervan zijn terug te vinden in bijlage 3.

6.4. Conclusie

Uit de resultaten kan geconcludeerd worden dat *E. coli* sterft bij de opslag van struviet. Dit is zowel het geval bij een open als gesloten pot, waarbij een open pot het aantal *E. coli* sneller daalt, omdat de a_w -waarde hier ook een rol heeft in de afname van *E. coli*. Na het opslaan van struviet gedurende 18 dagen is een minimale 2 log reductie en bij het opslaan gedurende 29 dagen een minimale 4 log reductie. Afhankelijk van het aantal *E. coli* dat op vers geproduceerd struviet zit kan aan de hand van deze resultaten bepaald worden hoelang het opgeslagen moet worden.

7. Invloed organisch stof op struviet voor overleving *E. coli*

In dit experiment is de invloed van organisch stof op de overleving van *E. coli* op struviet onderzocht. Dit is onderzocht zodat kennis verkregen wordt van de mate waarin voedingstoffen, in de vorm van organisch stof, dat op struviet aanwezig is de overleving van *E. coli* beïnvloed. De concentratie chemisch zuurstof verbruik (CZV) is gebruikt als maat voor organisch stof op struviet.

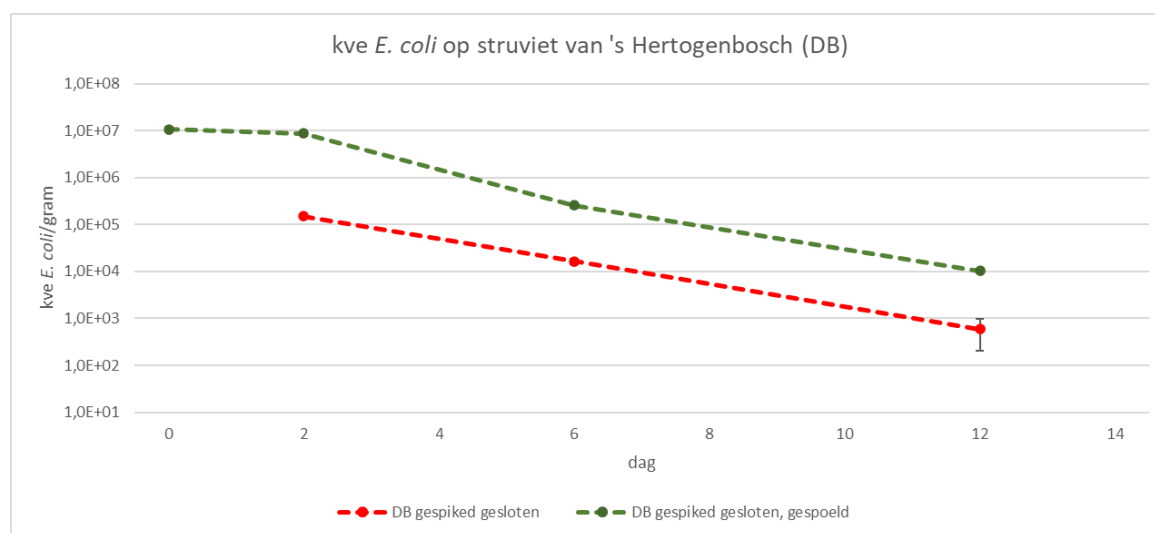
7.1. Methode

Tijdens dit experiment is het struviet van RWZI 's-Hertogenbosch gebruikt en enkel gesloten potten. Het struviet in de ene pot is eerst gespoeld met leidingwater om een deel van het CZV te verwijderen. Dit is gedaan door het struviet in een pot te plaatsen, te vullen met leidingwater, goed te schudden en hierna het water af te gieten (dit is 3x herhaald). Het andere monster is niet gespoeld met leidingwater, maar daar is enkel 60 ml leidingwater aan toegevoegd om beide monsters te voorzien van een a_w -waarde boven de overlevingsgrens (0,95) van *E. coli*, om invloed van a_w -waarde uit te sluiten. Hierna is van beide struviet monsters in enkelvoud het CZV gehalte bepaald door middel van Hach Lange kuvettentesten (LCK514 & LCK1414). Hiervoor is 10 ml van beide monsters 1:5 verdund met gedemineraliseerd water.

Beide monsters zijn hierna gespiked met *E. coli* zoals beschreven staat in hoofdstuk 6.1 onder het kopje “Monster spiken”. Tijdens dit experiment is *E. coli* gemeten op dag 0, 2, 6 en 12 zoals beschreven staat in hoofdstuk 4.1. onder het kopje “*E. coli* bepalen”. De monsters zijn opgeslagen en bemonsterd zoals beschreven staat in hoofdstuk 6.1 onder het kopje “Opslag monsters en monstername.”

7.2. Resultaten

De invloed van CZV op struviet voor de overleving van *E. coli* is voor een periode van 12 dagen onderzocht. Deze resultaten zijn weergegeven in figuur 14. De ruwe data van het experiment is terug te vinden in bijlage 1.



Figuur 14: invloed organisch stof op overleving *E. coli*

Te zien is dat de afname van *E. coli* in zowel het gespoelde als niet gespoelde monster met een vergelijkbare snelheid plaatsvinden. De standaardafwijking is voor de meeste meetpunten dusdanig klein dat deze niet zichtbaar is in de grafiek. De concentratie *E. coli* in het niet gespoelde monster op $t = 0$ dagen is niet opgenomen als gevolg van een meetfout.

De procentuele afname van *E. coli* is weergegeven in tabel 7. Hierin is te zien dat na 12 dagen 99% van de beginconcentratie *E. coli* is afgestorven in beide monsters.

Tabel 7: procentuele afname *E. coli*

Procentuele afname <i>E. coli</i>		
Dag	DB niet gespoeld	DB gespoeld
0		0,000%
2	0,000%	18,981%
6	89,000%	97,593%
12	99,603%	99,904%

In onderstaande tabel 8 is de a_w -waarde weergegeven van het struviet uit beide potten. Hierin is te zien dat voor beide monsters de a_w -waarde dichtbij de 1 ligt.

Tabel 8: a_w -waarde van het struviet

a_w -waarde opslag experiment		
Dag	niet gespoeld	gespoeld
0	0,999	1,000
12	1,000	0,999

7.3. Discussie

In de resultaten is opnieuw te zien dat de opslag van struviet ervoor zorgt dat het aantal *E. coli* exponentieel afneemt. De a_w -waarde van het struviet is voor beide monsters 0,999 of 1,000 waardoor dit geen negatief effect heeft gehad op de overleving van *E. coli*. Zowel het gespoelde als niet gespoelde monster zijn met vergelijkbare snelheden afgenomen in *E. coli* hoeveelheden. Desondanks deze met verschillende concentraties zijn geëindigd, gespoeld tot $1,04 \cdot 10^4$ kve/gram en niet gespoeld tot $5,95 \cdot 10^2$ kve/gram. Dit verschil is ontstaan doordat de monsters waarschijnlijk verschillende beginconcentraties *E. coli* bevatten. De exacte waarde van het entmateriaal kan met ongeveer 1 log waarde verschillen.

7.4. Conclusie

Het struviet van tevoren spoelen blijkt geen zichtbaar effect te hebben op de overleving van *E. coli*, want het verloop tussen beide monsters is gelijk. Opnieuw toont dit experiment aan dat ook bij een hoge a_w -waarde van 0,999 *E. coli* sterft op het struviet.

8. Verloop *E. coli* en *C. perfringens* bij processen op een RWZI

Dit experiment geeft inzicht in de hoeveelheid *E. coli* en *C. perfringens* die aanwezig is in het eindproduct en tijdens de processtappen voor de vorming van struviet.

8.1. Methode

Dit is onderzocht door op locatie, op verschillende plaatsen in en rondom het struviet productieproces, een steekmonster te nemen en hiervan de hoeveelheid *E. coli* en *C. perfringens* te bepalen. Dit is uitgevoerd op de locaties:

- RWZI Land van Cuijk;
- RWZI 's-Hertogenbosch;
- RWZI Apeldoorn;
- RWZI Amersfoort.

Nadat de monsters genomen zijn, zijn deze koel bewaard om verandering van biologische activiteit te beperken. Bij de bovengenoemde vier RWZI's zijn 4 of 5 monsters genomen. De volgende monsters zijn genomen op iedere locatie: slib (voor vergisting), uitgegist slib, centraat en vers struviet. Wanneer er op locatie filtraat wordt verwerkt binnen de struviet productie is dit monster ook meegenomen in het onderzoek.

De volgende RWZI's zijn niet meegenomen, omdat de struviet installatie niet draaide, waardoor geen vers monster genomen kon worden.

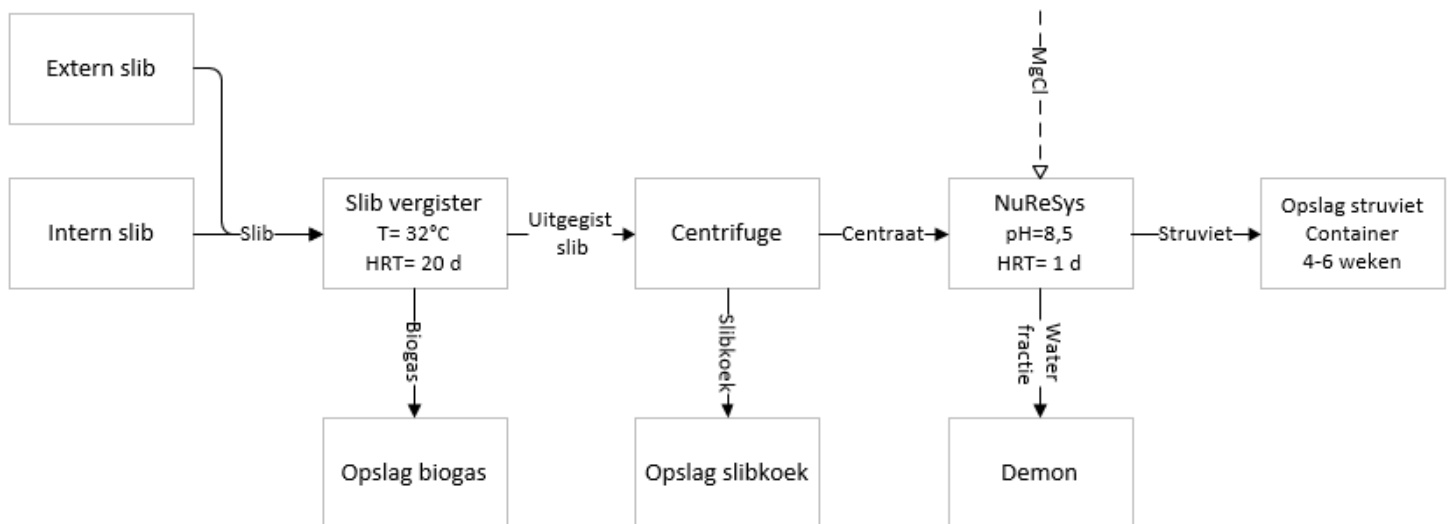
- RWZI Tiel;
- RWZI Amsterdam-west.

De hoeveelheid *E. coli* is bepaald, zoals in hoofdstuk 4.1 onder het kopje "*E. coli* bepalen" beschreven staat. *C. perfringens* is een indicatororganisme voor sporenvormende bacteriën. De hoeveelheid *C. perfringens* is aangetoond door middel van het kweken op TSC-agar voor 24 uur op 37 °C conform ISO 7937. Het stomacheren en de telling van kolonies is op identieke wijze uitgevoerd als beschreven staat in hoofdstuk 4.1 onder het kopje "*E. coli* bepalen".

8.2. Resultaten

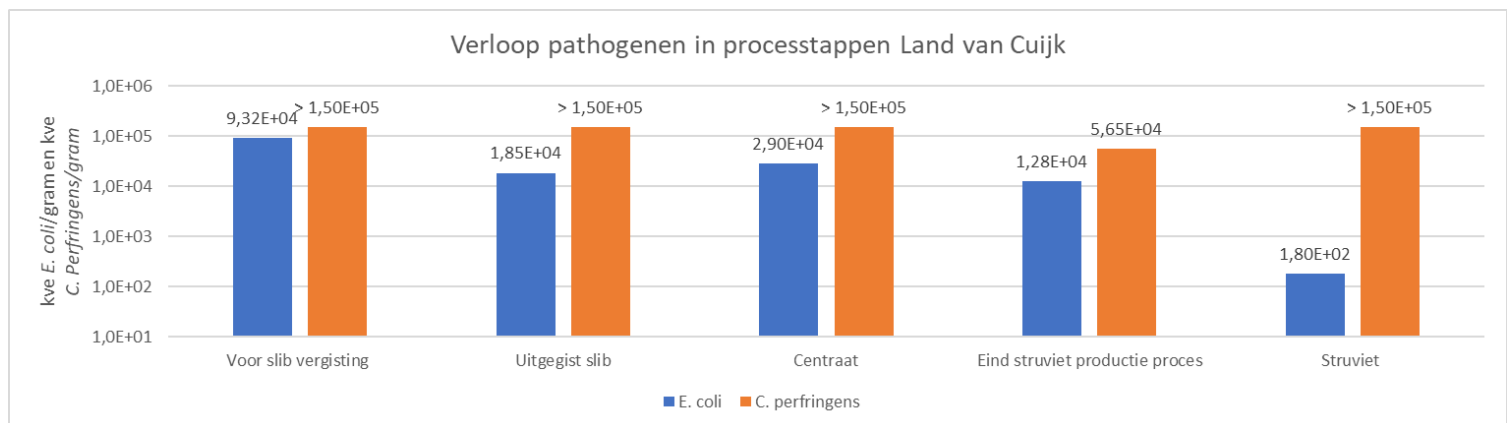
In dit hoofdstuk zijn de resultaten weergegeven van de overleving van *E. coli* en *C. perfringens*. Daarnaast is een uitleg van de verschillende struviet productieprocessen weergegeven en de omliggende processtappen. De ruwe data van het experiment is terug te vinden in bijlage 1.

RWZI Land van Cuijk



Figuur 15: processchema RWZI Land van Cuijk

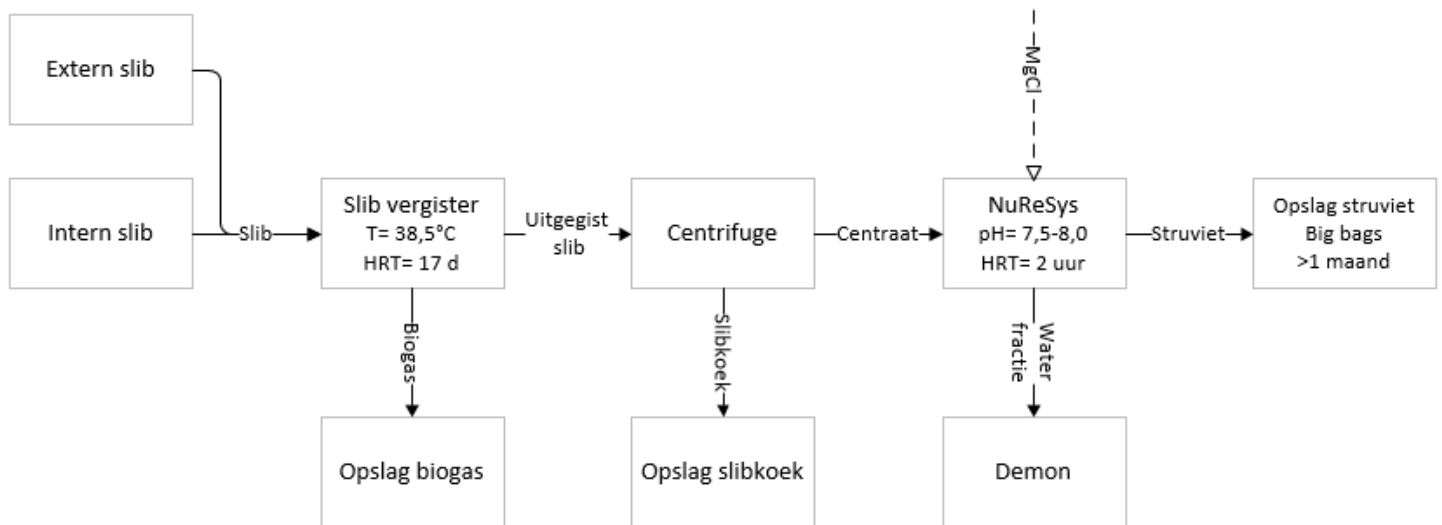
In bovenstaande figuur 15 is het processchema van de RWZI in Land van Cuijk weergegeven. Hier wordt het type struviet reactor genaamd, NuReSys, gebruikt voor de productie van struviet.



Figuur 16: verloop *E. coli* en *C. perfringens* in processtappen RWZI Land van Cuijk

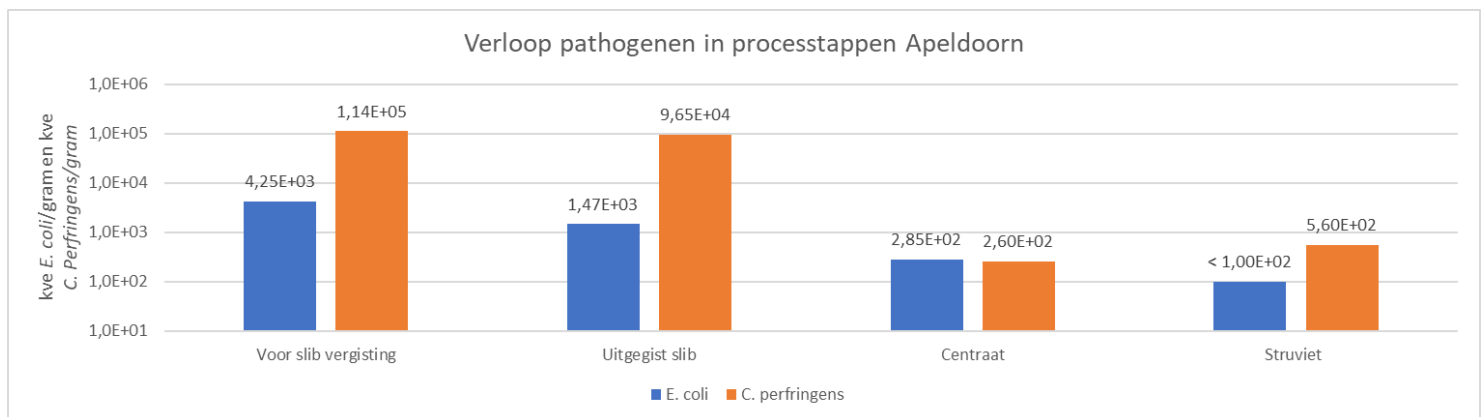
In bovenstaande figuur 16 is de gemeten hoeveelheden aan *E. coli* en *C. perfringens* weergegeven. Hierin is te zien dat de hoeveelheid aan *E. coli* gedurende het proces boven de $1 \cdot 10^4$ ligt en in het gevormde struviet $1,8 \cdot 10^2$ aan kve/gram. Het aantal *C. perfringens* is gedurende het proces en ook in het gevormde struviet boven de $5,0 \cdot 10^4$ aan kve/gram.

RWZI Apeldoorn



Figuur 17: processchema RWZI Apeldoorn

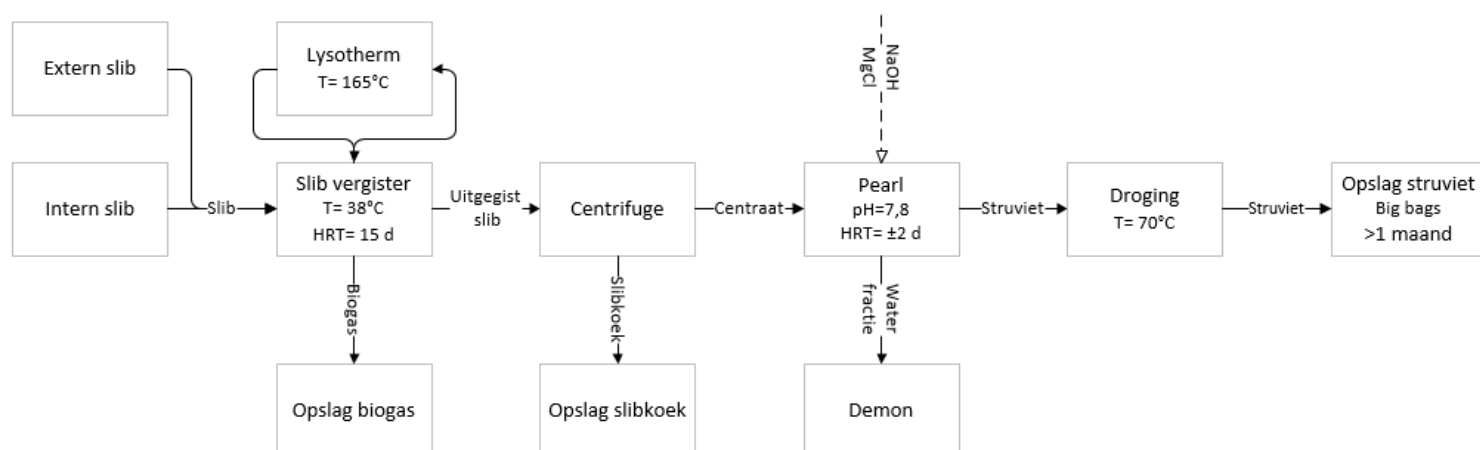
In bovenstaande figuur 17 is het processchema van de RWZI in Apeldoorn weergegeven. Hier wordt het type struviet reactor genaamd, NuReSys, gebruikt voor de productie van struviet.



Figuur 18: verloop *E. coli* en *C. perfringens* in processtappen RWZI Apeldoorn

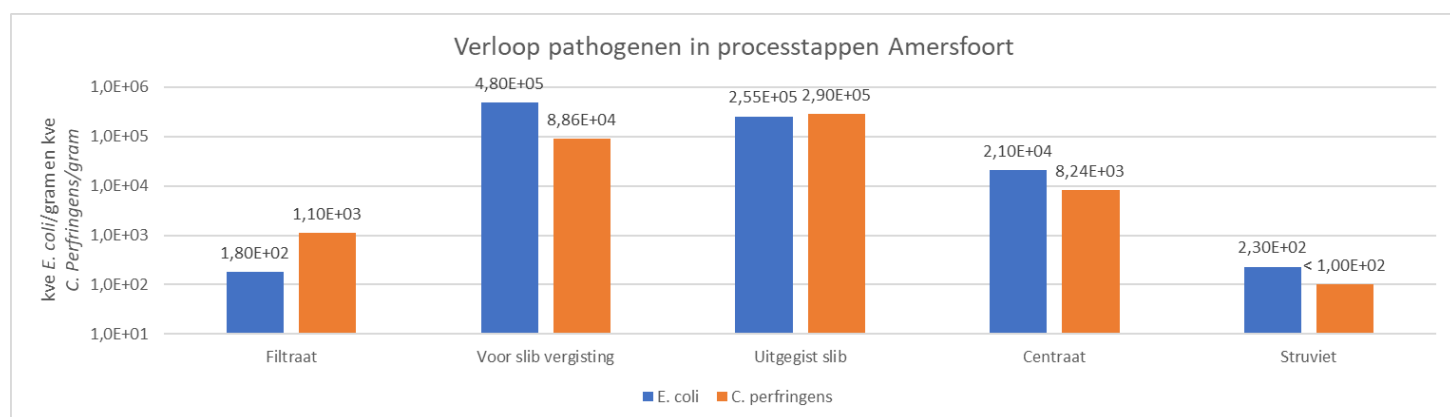
In bovenstaande figuur 18 is de gemeten hoeveelheden aan *E. coli* en *C. perfringens* weergegeven. Hierin is te zien dat de hoeveelheid aan *E. coli* gedurende het proces boven de $1 \cdot 10^4$ ligt en in het gevormde struviet < 100 aan kve/gram (onder meetbereik, er is geen enkele kolonie geteld bij verdunning -1). Het aantal *C. perfringens* is gedurende het proces boven de $1,1 \cdot 10^5$. In het gevormde struviet is dit $5,6 \cdot 10^2$ aan kve/gram.

RWZI Amersfoort



Figuur 19: processchema RWZI Amersfoort

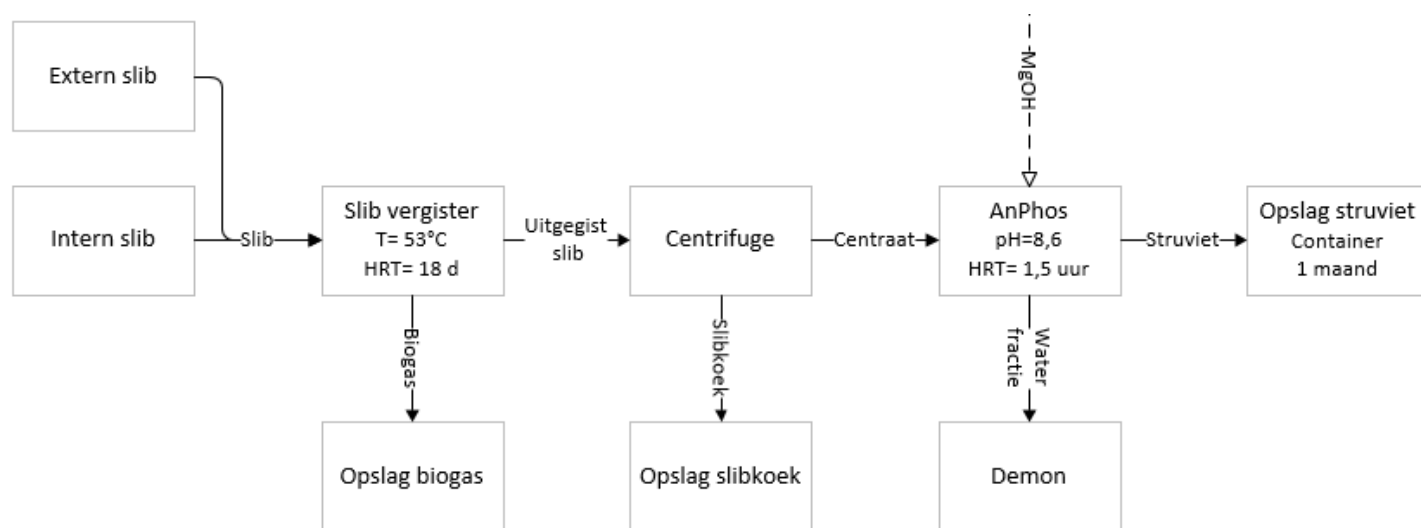
In bovenstaande figuur 19 is het processchema van de RWZI in Amersfoort weergegeven. Hier wordt het type struviet reactor genaamd, Pearl, gebruikt voor de productie van struviet.



Figuur 20: verloop *E. coli* en *C. perfringens* in processtappen RWZI Amersfoort

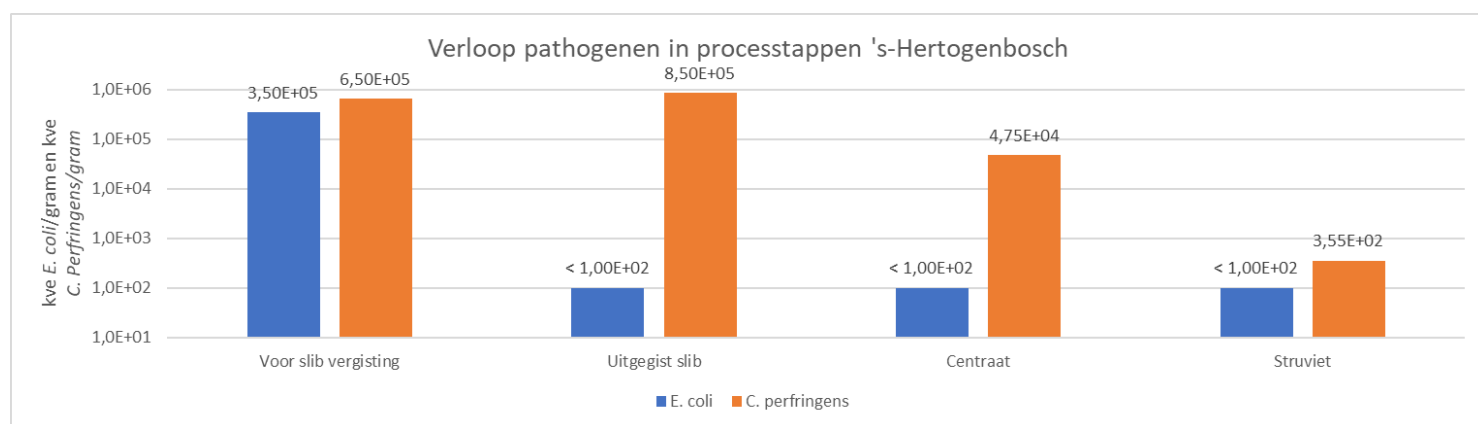
In bovenstaande figuur 20 is de gemeten hoeveelheden aan *E. coli* en *C. perfringens* weergegeven. Het filtraat, afkomstig vanuit een zeefbandpers voorafgaand aan de slibvergisting, bevat $1,8 \cdot 10^2$ kve/gram *E. coli* en $1,1 \cdot 10^3$ kve/gram *C. perfringens*. Dit filtraat wordt niet vergist, maar wordt evenals het centraat verwerkt als voeding van de Pearl reactor. In het gevormde struviet is het aantal *C. perfringens* < 100 (onder meetbereik, er zijn vijf en vier kolonies geteld bij verdunning -1). Voor het aantal *E. coli* is in het gevormde struviet $2,3 \cdot 10^2$ kve/gram gemeten.

RWZI 's-Hertogenbosch



Figuur 21: processchema RWZI 's-Hertogenbosch

Bovenstaand is in figuur 21 is een processchema van RWZI 's-Hertogenbosch weergegeven. In dit processchema is de struviet reactor, AnPhos, en de omliggende processtappen weergegeven. Hierin zijn de belangrijkste procesparameters weergegeven voor de overleving van *E. coli*. In bijlage 5 is meer informatie over de AnPhos reactor te vinden. De overleving van *E. coli* en *C. perfringens* is bepaald voor het bovenstaande processchema. Deze gegevens zijn weergegeven in figuur 22.

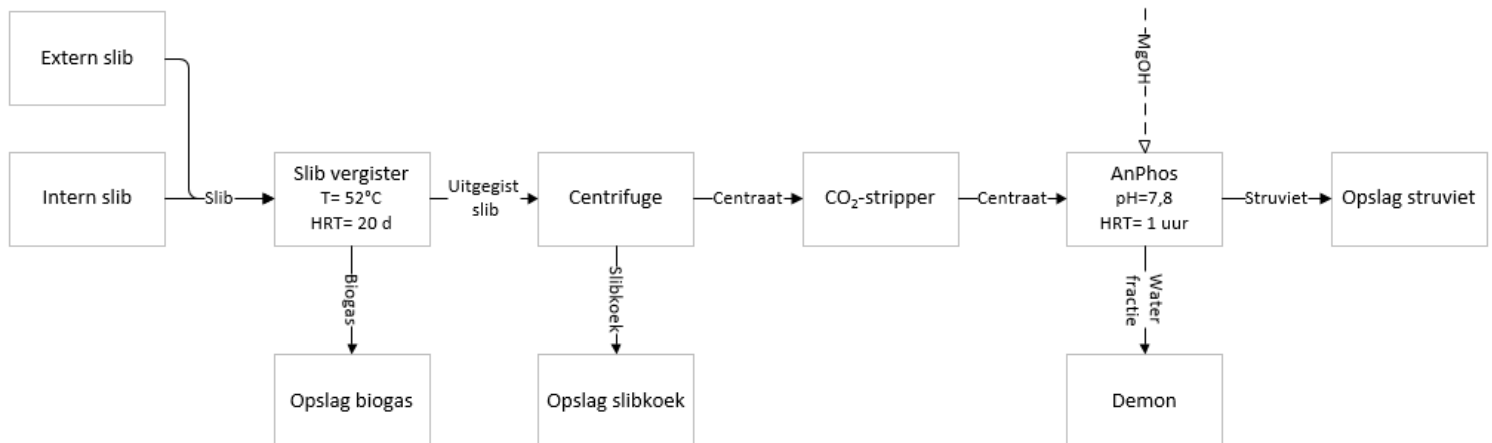


Figuur 22: verloop *E. coli* en *C. perfringens* in processtappen RWZI 's-Hertogenbosch

In bovenstaande figuur is te zien dat de hoeveelheid aanwezig *E. coli* na de thermofiele vergisting van 53 °C verminderd wordt van $3,5 \cdot 10^5$ kve/gram tot 0 kve/gram (onder meetbereik, er is één kve/g geteld bij verdunning -1). Bij de opvolgende monsters is er geen *E. coli* meer op de plaat aangetroffen. De hoeveelheid *C. perfringens* neemt in de figuur 22 genoemde processtappen af van $6,5 \cdot 10^5$ kve/gram tot $3,6 \cdot 10^2$ kve/gram.

RWZI Tiel

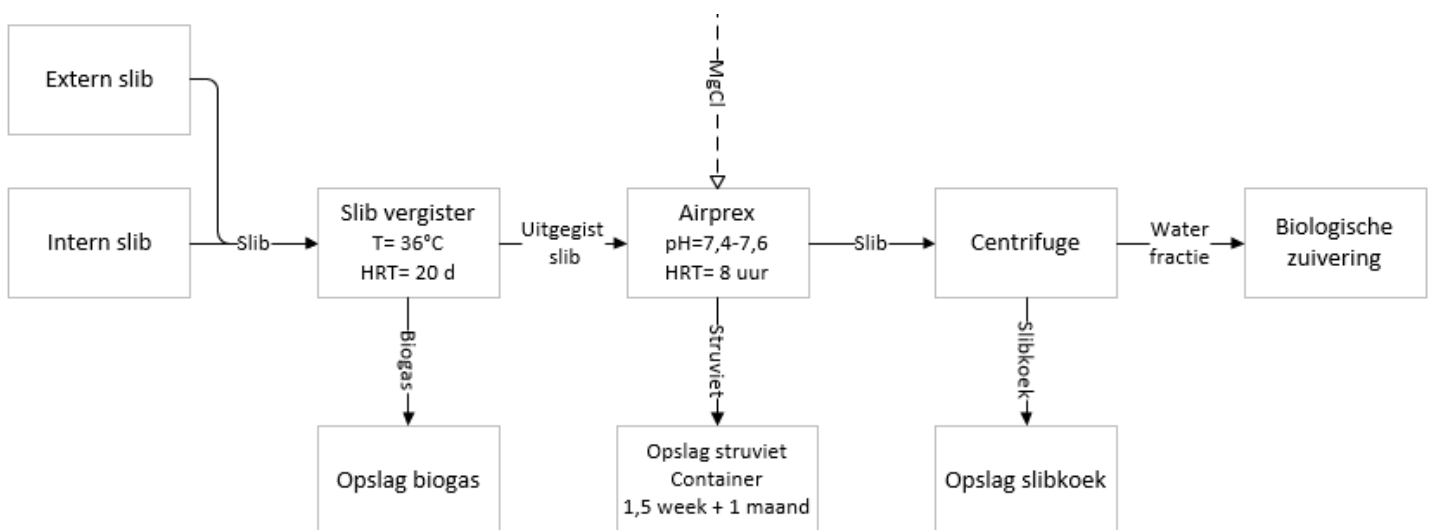
Onderstaand in figuur 23 is een processchema weergegeven van de AnPhos reactor op RWZI Tiel en de omliggende processtappen. Op RWZI Tiel wordt evenals op RWZI 's-Hertogenbosch gebruik gemaakt van een thermofiele vergisting, bij 52 °C. Voordat het centraat de AnPhos reactor in wordt gepompt wordt het door een CO₂-stripper geleid om de pH te verhogen. Meer informatie over het processchema van RWZI Tiel is te vinden in bijlage 5. Bij deze RWZI zijn zoals eerder vermeld geen monsters genomen.



Figuur 23: processchema RWZI Tiel

RWZI Amsterdam-west

In figuur 24 is een processchema van RWZI Amsterdam-West weergegeven. Hierin is de struviet reactor, Airprex, weergegeven met de omliggende productie stappen. Het slib wordt op RWZI Amsterdam-West vergist bij een temperatuur van 36 °C. Dit vergiste slib wordt direct in de Airprex reactor gepompt waar het struviet gevormd wordt, waarna het ontwaterd wordt. Meer informatie over dit processchema is te vinden in bijlage 5. Bij deze RWZI zijn zoals eerder vermeld geen monsters genomen.



Figuur 24: processchema RWZI Amsterdam-west

8.3. Discussie

De hoeveelheden aan *E. coli* en *C. perfringens* die gevonden zijn in de verse slib monsters (voor slibgisting) komen overeen met de verwachte hoeveelheid in rioolwater. De verwachting is dat deze bacteriesoorten niet beïnvloed worden door eerdere processen op een rioolwaterzuivering. *E. coli* kan namelijk overleven onder zowel anaerobe als aerobe omstandigheden.

De slibvergisting blijkt uit de metingen wel een significant effect te hebben op de hoeveelheid aanwezige *E. coli*. De monsters van RWZI 's-Hertogenbosch laten een afname zien van $3,5 \cdot 10^5$ kve/gram voor de slibgisting tot onder de meetgrens van 100 kve/gram na de slibgisting. Op deze RWZI wordt gebruik gemaakt van thermofiele vergisting, waarin het slib voor 18 dagen met 53 °C in de reactor aanwezig is. Dit is boven de maximale overleving temperatuur van *E. coli*, namelijk 45 °C, dit zal dus na 18 dagen vrijwel alle aanwezige *E. coli* doden. Deze thermofiele vergisting wordt ook gebruikt op de locatie RWZI Tiel onder 52 °C met een verblijfstijd van 20 dagen. Op de RWZI's waar een mesofiele slibgisting (35 °C) gebruikt wordt is geen zichtbaar verschil in de hoeveelheid *E. coli* voor en na de slibgisting.

In de hoeveelheid *C. perfringens* voor en na de slibgisting is geen duidelijk verschil te zien. Echter neemt de hoeveelheid net als *E. coli* af na de slibontwatering, hier zal een gedeelte afgevoerd worden in de vaste fractie. De hoeveelheid aanwezig *C. perfringens* neemt af van het centraat monster naar het verse struviet monster. Dit heeft als oorzaak dat het afgevoerd wordt met de waterfractie in de struviet reactor, aangezien deze gesuspenderd zijn in water (Grinten van der, et al., 2017).

8.4. Conclusie

Uit dit experiment kan geconcludeerd worden dat een thermofiele slibvergisting een afstervende werking heeft op *E. coli*. Hierdoor zal op RWZI Tiel een vergelijkbaar beeld ontstaan van het verloop van *E. coli* als op RWZI 's-Hertogenbosch. Bij de RWZI's die gebruik maken van mesofiele slibvergisting is deze afname in *E. coli* na de slibvergisting niet aanwezig. *C. perfringens* toont geen afsterving in zowel mesofiele als thermofiele slibvergisting. Tijdens het proces neemt de hoeveelheid van zowel *E. coli* als *C. perfringens* af door het scheiden van de vaste- en waterfractie.

9. Conclusie en advies

In dit hoofdstuk worden de onderzoeksvragen en de hoofdvraag beantwoord. Op basis van deze antwoorden wordt een advies gegeven over de meest geschikte methode om de kwaliteit van struviet, kijkend naar *E. coli*, te waarborgen. Verder worden suggesties gegeven voor vervolg onderzoek.

Aan de hand van het aantal gemeten *E. coli* op vers struviet blijkt dat de hoogst gemeten waarde 230 kve *E. coli*/gram is. Uit de resultaten van het opslag experiment blijkt dat het opslaan van struviet gedurende 18 dagen leidt tot een minimale reductie van 2 log in een gesloten omgeving, bij 20 °C. Hieruit kan dus geconcludeerd worden dat het opslaan van struviet gedurende 18 dagen ertoe leidt dat nagenoeg geen *E. coli* meer aanwezig is. Ook is ook aangetoond dat alle *E. coli* sterft tijdens een thermofiel vergistingsproces van boven de 50 °C. Dit is te verklaren, doordat 45 °C de maximale overlevingstemperatuur is voor *E. coli*. Hieruit kan geconcludeerd worden dat het opslaan van struviet niet nodig is zodra de RWZI gebruik maakt van thermofiele slibvergisting. Als laatste is onderzocht wat de invloed van de a_w -waarde is op de overleving van *E. coli*. Dit versnelt de verlaging van het aantal *E. coli* waardoor een RWZI die een droogstap na het struviet productieproces heeft een kortere opslag tijd kan toepassen. De verwachting is dat er na een droogstap bij 70 °C geen *E. coli* meer aanwezig is op het struviet. Ook het opslaan in een big bag zorgt voor een verlaging van de a_w -waarde, waardoor ook in dit geval een kortere opslag tijd toegepast kan worden.

Verder kan geconcludeerd worden dat *E. coli* niet sterft tijdens een mesofiel vergistingsproces. *C. perfringens* blijft zowel tijdens als mesofiel als een thermofiel vergistingsproces in leven. Echter daalt zowel de concentratie *C. perfringens* als *E. coli* gedurende het verloop op de RWZI, omdat deze micro-organismen zich ophopen in de waterfractie. Wanneer de vaste- en waterfractie gescheiden worden in de centrifuge en na de struviet reactor vindt deze afname plaats. De hoeveelheid *C. perfringens* op vers struviet ligt lager dan 1000 kve/gram, op RWZI Land van Cuijk na.

Afhankelijk van het struviet productieproces en de omliggende zuiveringsprocessen wordt de opslagtijd van struviet bepaald. Door middel van deze opslag worden onverwachte pieken van *E. coli* op struviet verholpen waardoor een veilig product geleverd wordt. Aanbevolen wordt om het struviet minimaal 18 dagen op te slaan wanneer gebruik gemaakt wordt van een mesofiele slibvergisting, zodat een 2 log reductie van *E. coli* plaatsvindt. Deze opslagtijd kan verkleind worden wanneer het struviet in big bags wordt opgeslagen of wordt gedroogd door middel van een droogstap. Wanneer gebruik gemaakt wordt van een thermofiele slibvergisting is geen opslag nodig voor de reductie van *E. coli* op struviet.

Voor het vervolg onderzoek is het noodzakelijk om onderzoek te doen naar de overleving van *E. coli* op struviet bij verschillende temperaturen, met de nadruk op de gemiddelde temperatuur per seizoen in Nederland. Aangezien de overlevingstijd van *E. coli* waarschijnlijk toeneemt bij lage temperaturen. Aan de hand van dit onderzoek kan inzicht verkregen worden in welke mate de opslagtijd van struviet beïnvloed wordt door de temperatuur.

Daarnaast wordt sterk aangeraden de overleving van *E. coli* op struviet van meerdere productielocaties uit te voeren. Zodat een beeld verkregen kan worden van de opslagtijd die nodig is voor iedere specifieke locatie. En zo de variaties hierin in beeld te krijgen.

Verder is het ook sterk aan te raden om meerdere keren het aantal *E. coli* en *C. perfringens* op het vers geproduceerde struviet te bepalen. Hierdoor wordt de variatie aan concentraties in beeld gebracht en kan nauwkeuriger de benodigde opslag tijd bepaald worden. Ook wordt aangeraden om de concentratie te bepalen nadat het een bepaalde tijd in de opslag gestaan heeft om te controleren of het opslaan van struviet hetzelfde resultaat geeft in de praktijk.

Als laatste is het interessant maar niet noodzakelijk om het aantal *E. coli* te meten in de twee stromen na de struviet reactor (het struviet en de waterfractie). Waarschijnlijk zit de *E. coli* in deze waterfractie en zijn ze niet dood gegaan tijdens het struviet productieproces.

Literatuurlijst

Albrecht, J. A. (z.d.). *Clostridium perfringens*. Geraadpleegd op 11 juni 2021, van [https://food.unl.edu/clostridium-perfringens#:~:text=Microorganism%20Characteristics%3A%20Gram%20positive%20spore,\(109%2D117%2C%20B0F\)](https://food.unl.edu/clostridium-perfringens#:~:text=Microorganism%20Characteristics%3A%20Gram%20positive%20spore,(109%2D117%2C%20B0F))

Albrecht, J. A. (z.d.). *Escherichia coli O157:H7 (E Coli)*. Geraadpleegd op 24 maart 2021, van <https://food.unl.edu/escherichia-coli-o157h7-e-coli>

AW-waarde. Nutrilab B.V. Geraadpleegd op 16 februari 2021, van <https://nutrilab.nl/nl/analyse/awwaarde#:~:text=De%20AW%2Dwaarde%20is%20een,is%20een%20dimensie%2Dloze%20eenheid>

Bhuiyan, M. I. H., Mavinic, D. S., & Beckie, R. D. (2007). *A solubility and thermodynamic study of struvite*. Geraadpleegd van <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17910254/>

Bioconus. (z.d.). *Overleven van Escherichia coli in het milieu: fundamentele en volksgezondheidsaspecten*. Geraadpleegd op 8 juni 2021, van <https://dut.bioconus.com/survival-escherichia-coli-environment-fundamental-408567>

Blaak, H., Lynch, G., Italiaander, R., Hamidjaja, R. A., Schets, F. M., & de Roda Husman, A. M. (2015). Multidrug-Resistant and Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Dutch Surface Water and Wastewater. *PLOS ONE*, 10(6), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127752>

Dijk, R., Berg van den, D., Beumer, R. R., Boer de, E., Dijkstra, A. F., Mout, L., Veld in 't, S. (2015). *Microbiologie van Voedingsmiddelen* (5e druk). Capelle aan den IJssel, Nederland: Mybusinessmedia BV.

Doyle, M. P., & Schoeni, J. L. (1984). *Survival and Growth Characteristics of Escherichia coli Associated with Hemorrhagic Colitis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 48(4), 855–856. Geraadpleegd van <https://aem.asm.org/content/aem/48/4/855.full.pdf>

Europees Parlement. (2008, 19 november). *RICHTLIJN 2008/98/EG*. Geraadpleegd op 2 april 2021, van <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/NL/TXT/?uri=celex:32008L0098>

Garcia-Ruiz, J. M., & Otalora, F. (2015). *Crystal Growth in Geology: Patterns on the Rocks*. Geraadpleegd van https://www.researchgate.net/publication/283298550_Crystal_Growth_in_Geology_Patterns_on_the_Rocks

Grinten van der, E., & Spijker, J. (2017). *Medicijnresten, pathogenen en antibioticaresistentie in struviet uit Nederlands huishoudelijk afvalwater*. RIVM. Geraadpleegd van <https://www.rivm.nl/bibliotheek/rapporten/2017-0144.pdf>

Hartman, E. C., & Bloemendal, J. M. (2015). *Warm rioolwater: vergeten energie met potentie*. Geraadpleegd van <https://tvvlconnect.nl/?file=1681&m=1567205405&action=file.download#:~:te>

[xt=Riothermie%20is%20het%20principe%20waarmee,van%20de%20betreffende%20riolering%20staan.](#)

Hassan, K. A., Elbourne, L. D., Tetu, S. G., Melville, S. B., Rood, J. I., & Paulsen, I. T. (2015). Genomic analyses of *Clostridium perfringens* isolates from five toxinotypes. *Research in Microbiology*, 166(4), 255–263.

<https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.10.003>

Huygens, D., Saveyn, H. G. M., Tonini, D., Elder, P., & Delgado Sancho, L. (2019). *Technical proposals for selected new fertilising materials under the Fertilising Products Regulation (Regulation (EU) 2019/1009)*. Publications Office of the European Union. Geraadpleegd van

https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC117856/jrc117856_jrc117856_electronic.pdf

Jang, J., Hur, H.-G., Sadowsky, M. J., Byappanahalli, M. N., Yan, T., & Ishii, S. (2017). Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications-a review. *Journal of Applied Microbiology*, 123(3), 570–581. Geraadpleegd van

<https://doi.org/10.1111/jam.13468>

Jong de, A. E. I. (2003). *Clostridium perfringens: Spores & Cells Media & Modeling*. Geraadpleegd van <https://edepot.wur.nl/121470>

Jong de, A. L., & Vriend, P. P. C. (2019). *Pathogenen en medicijnresten in struviet uit communaal afvalwater (concept)*. Nieuwegein, Nederland: Aquaminerals/ Waternet.

Lieverloo van, H., Wildt de, G., & Hapert van, N. (2018). *Ziekteverwekkende micro-organismen in voedsel*. 's-Hertogenbosch, Nederland: HAS Hogeschool.

Logisticon. (z.d.). *Wat is gedemineraliseerd water of demiwater*. Geraadpleegd op 9 juni 2021, van <https://www.logisticon.com/over-ons/aquaclinics/gedemineraliseerd-water-of-demiwater>

Morgenschweis, C., Vergouwen, L., Schöll van, L., & Leenen, I. (2015). *Verkenning van de kwaliteit van struviet uit de communale afvalwaterketen*. STOWA. Geraadpleegd van

<https://www.stowa.nl/sites/default/files/assets/PUBLICATIES/Publicaties%202015/STOWA%202015-34.pdf>

Nandakafle, G., Christie, A. A., Vilain, S., & Brözel, V. S. (2018). *Growth and Extended Survival of Escherichia coli O157:H7 in Soil Organic Matter*.

Geraadpleegd van

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.00762/full>

Nutrient Platform. (2017, oktober). *Struviet en de wet?* Geraadpleegd van

Nutrilab. (z.d.). <https://www.nutrientplatform.org/wp-content/uploads/2016/01/20171027-Factsheet-Hoe-zit-het-met-struviet-en-de-wet.pdf>

NZFSA. (2010). *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*. Geraadpleegd van

<https://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/11021/direct>

Oxoid. (z.d.). *TRYPTONE BILE X-GLUCURONIDE MEDIUM (TBX)*. Geraadpleegd op 24 maart 2021, van http://www.oxoid.com/UK/blue/prod_detail/prod_detail.asp?pr=CM0945&c=UK&lang=EN

RIVM. (2018, 12 december). *E.coli (Escherichia coli) | RIVM*. Geraadpleegd op 25 maart 2021, van <https://www.rivm.nl/e-coli-escherichia-coli>

Sorensen, D. L., Eberl, S. G., & Dicksa, R. A. (1989). Clostridium perfringens as a point source indicator in non-point polluted streams. *Water Research*, 23(2), 191–197. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(89\)90043-2](https://doi.org/10.1016/0043-1354(89)90043-2)

STOWA. (2012). *Struviet productie door middel van het airprex proces*. Geraadpleegd van <https://www.stowa.nl/sites/default/files/assets/PUBLICATIES/Publicaties%202012/STOWA%202012-27.pdf>

TU Delft. (2010). *Afvalwaterbehandeling*. Geraadpleegd van <https://ocw.tudelft.nl/wp-content/uploads/Afvalwaterbehandeling2008.pdf>

WFC. (z.d.). *Escherichia coli*. Geraadpleegd op 26 maart 2021, van <http://www.foodconsultant.nl/nl/haccp-database/42-kennis/76-escherichia-coli#:~:text=Doordat%20E.,onschuldige%20darmbewoners%20bij%20de%20mens>

Wiersema, I. (z.d.). *Verdunningen microbiologisch onderzoek*. Geraadpleegd op 23 maart 2021, van <https://www.microbiologie.info/verdunning%20aanleggen%20voor%20microbiologisch%20onderzoek.html>

Wiersema, I. (z.d.-a). *Aerobe en anaerobe ademhaling bacterie*. Geraadpleegd op 8 juni 2021, van <https://www.microbiologie.info/Ademhaling%20.html>

Wiersema, I. (z.d.-b). *Bacteriespore*. Geraadpleegd op 25 juni 2021, van <https://www.microbiologie.info/bacteriespore.html>

Bijlage 1: Ruwe meetdata

In deze bijlage is de ruwe data per experiment weergegeven.

Effect opslag van struviet op overleving *E. coli* deel 1:

Tabel 1: ruwe data opslag experiment deel 1 van 's-Hertogenbosch

	's-Hertogenbosch															
	Blanco				Gespiked											
	Open		Gesloten		Open						Gesloten					
	kve	a _w - waarde	kve	a _w - waarde	kve					aw- waarde	kve					a _w - waarde
Dag					1	2	3	Gem	SD		1	2	3	Gem	SD	
0	0	0,986	0	0,986	5,4*10 ⁶	-	-	5,4*10 ⁶	2,9*10 ⁶	0,986	5,4*10 ⁶	-	-	5,4*10 ⁶	2,9*10 ⁶	0,986
5	0	0,956	0	0,992	1,3*10 ⁴	2,3*10 ⁴	3,7*10 ⁴	2,5*10 ⁴	1,2*10 ⁴	0,971	8,8*10 ⁵	1,0*10 ⁶	1,2*10 ⁶	1,0*10 ⁶	1,6*10 ⁵	0,986

Tabel 2: ruwe data opslag experiment deel 1 van Apeldoorn

	Apeldoorn															
	Blanco				Gespiked											
	Open		Gesloten		Open						Gesloten					
	kve	a _w - waarde	kve	a _w - waarde	kve					aw- waarde	kve					a _w - waarde
Dag					1	2	3	Gem	SD		1	2	3	Gem	SD	
0	0	0,965	0	0,965	9,1*10 ⁶	-	-	9,1*10 ⁶	2,8*10 ⁵	0,965	9,1*10 ⁶	-	-	9,1*10 ⁶	2,8*10 ⁵	0,965
5	0	0,833	0	0,973	6,5*10 ³	5,1*10 ³	6,0*10 ³	5,8*10 ³	7,1*10 ²	0,775	1,3*10 ⁶	1,0*10 ⁶	1,0*10 ⁶	1,2*10 ⁶	1,7*10 ⁵	0,973

Effect opslag van struviet op overleving *E. coli* deel 2:

Tabel 3: ruwe data opslag experiment deel 2

	's-Hertogenbosch						Apeldoorn					
	Open			Gesloten			Open			gesloten		
Dag	kve	SD	aw-waarde	kve	SD	aw-waarde	kve	SD	aw-waarde	kve	SD	aw-waarde
0	$2,1 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$	0,990	$1,4 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$	0,993	$1,6 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^3$	0,980	$1,2 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^3$	0,976
3	$2,3 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$	0,986	$2,0 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$	0,993	$7,6 \cdot 10^3$	$8,5 \cdot 10^2$	0,944	$1,0 \cdot 10^3$		0,969
7	$8,9 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^4$	0,988	$1,1 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^4$	0,992	$1,0 \cdot 10^2$		0,889	$1,6 \cdot 10^2$	7,1	0,970
10	$2,0 \cdot 10^4$	$2,1 \cdot 10^3$	0,981	$2,8 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^4$	0,993	$1,0 \cdot 10^2$		0,818	$1,0 \cdot 10^2$		0,973
21	$1,0 \cdot 10^2$		0,924	$5,0 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^2$	0,995	$1,0 \cdot 10^2$		0,547	$1,0 \cdot 10^2$		0,982
29	$1,0 \cdot 10^2$		0,488	$1,0 \cdot 10^2$		0,994			0,503			0,980

Tabel 4: ruwe data opslag experiment deel 2, procentuele afname *E. coli* RWZI 's-Hertogenbosch

Procentuele afname <i>E. coli</i>		
Aantal dagen	DB open	DB gesloten
0	0,000%	0,000%
3	-9,524%	-42,857%
7	95,762%	21,429%
10	99,048%	80,000%
21	99,995%	99,643%
29	99,995%	99,993%

Tabel 5: ruwe data opslag experiment deel 2, procentuele afname *E. coli* RWZI Apeldoorn

Procentuele afname <i>E. coli</i>		
Aantal dagen	AP open	AP gesloten
0	0,000%	0,000%
3	95,250%	99,167%
7	99,938%	99,867%
10	99,938%	99,917%
21	99,938%	99,917%

Invloed organisch stof op struviet voor overleving *E. coli*:

Tabel 6: ruwe data, invloed organisch stof op overleving *E. coli*

s-Hertogenbosch gesloten								
Dag	Gespiked			Gespiked, gespoeld			Blanco	
	aw	<i>E. coli</i> (kve/gram)	SD	aw	<i>E. coli</i> (kve/gram)	SD	aw	<i>E. coli</i> (kve/gram)
0	0,999			1,000	$1,08 \cdot 10^7$	$1,20 \cdot 10^6$	0,999	<100
2		$1,50 \cdot 10^5$			$8,75 \cdot 10^6$	$1,06 \cdot 10^6$		<100
6		$1,65 \cdot 10^4$	$2,12 \cdot 10^3$		$2,60 \cdot 10^5$	$2,83 \cdot 10^4$		-
12	1,000	$5,95 \cdot 10^2$	$3,95 \cdot 10^2$	0,999	$1,04 \cdot 10^4$	$5,66 \cdot 10^2$	1,000	-

Verloop *E. coli* en *C. perfringens* bij processen op een RWZI

Tabel 7: ruwe data verloop *E. coli* en *C. perfringens* op RWZI Land van Cuijk

Land van Cuijk (NuReSys)		
Monster	<i>E. coli</i> (kve)	<i>Clostridium perfringens</i> (kve)
Voor slib vergisting	$9,32 \cdot 10^4$	$> 1,5 \cdot 10^5$
Uitgegist slib	$1,85 \cdot 10^4$	$> 1,5 \cdot 10^5$
Centraat	$2,90 \cdot 10^4$	$> 1,5 \cdot 10^5$
Eind struviet productieproces	$1,28 \cdot 10^4$	$5,65 \cdot 10^4$
Struviet	$1,80 \cdot 10^2$	$> 1,5 \cdot 10^5$

Tabel 8: ruwe data verloop *E. coli* en *C. perfringens* op RWZI Apeldoorn

Apeldoorn (NuReSys)		
Monster	<i>E. coli</i> (kve)	<i>Clostridium perfringens</i> (kve)
Voor slib vergisting	$4,25 \cdot 10^3$	$1,14 \cdot 10^5$
Uitgegist slib	$1,47 \cdot 10^3$	$9,65 \cdot 10^4$
Centraat	$2,85 \cdot 10^2$	$2,60 \cdot 10^2$
Struviet	<100	$5,60 \cdot 10^2$

Tabel 9: ruwe data verloop *E. coli* en *C. perfringens* op RWZI Amersfoort

Amersfoort (Pearl)		
Monster	<i>E. coli</i> (kve)	<i>Clostridium perfringens</i> (kve)
Filtraat	$1,80 \cdot 10^2$	$1,10 \cdot 10^3$
Voor slib vergisting	$4,80 \cdot 10^5$	$8,86 \cdot 10^4$
Uitgegist slib	$2,55 \cdot 10^5$	$2,90 \cdot 10^5$
Centraat	$2,10 \cdot 10^4$	$8,24 \cdot 10^3$
Struviet	$2,30 \cdot 10^2$	<100

Tabel 10: ruwe data verloop *E. coli* en *C. perfringens* op RWZI 's-Hertogenbosch

's-Hertogenbosch (AnPhos)		
Monster	<i>E. coli</i> (kve)	<i>Clostridium perfringens</i> (kve)
Voor slib vergisting	$3,50 \cdot 10^5$	$6,50 \cdot 10^5$
Uitgegist slib	<100	$8,50 \cdot 10^5$
Centraat	<100	$4,75 \cdot 10^4$
Struviet	<100	$3,55 \cdot 10^2$

Bijlage 2: Berekening theoretische oplosbaarheid struviet

Visual Minteq is een programma dat gebruikt kan worden voor de berekening van chemische evenwichten van onder andere oplossingen die in contact zijn met gasen en vaste stoffen.

Tabel 11: ruwe data uit Visual Minteq voor berekening theoretische oplosbaarheid struviet

Berekend door Visual Minteq bij 20 °C en een pH van 8,67		
	Concentratie (mol/L)	Activiteit (mol/L)
Cl ⁻	$8,98 \cdot 10^{-4}$	$8,38 \cdot 10^{-4}$
H ⁺	$2,28 \cdot 10^{-9}$	$2,13 \cdot 10^{-9}$
H ₂ PO ₄ ⁻	$2,22 \cdot 10^{-5}$	$2,07 \cdot 10^{-5}$
H ₃ PO ₄	$5,90 \cdot 10^{-12}$	$5,90 \cdot 10^{-12}$
HPO ₄ ²⁻	$7,97 \cdot 10^{-4}$	$6,04 \cdot 10^{-4}$
Mg(NH ₃) ₂ ²⁺	$3,18 \cdot 10^{-11}$	$2,42 \cdot 10^{-11}$
Mg ²⁺	$8,16 \cdot 10^{-4}$	$6,19 \cdot 10^{-4}$
MgCl ⁺	$2,15 \cdot 10^{-6}$	$2,01 \cdot 10^{-6}$
MgHPO ₄ (aq)	$2,17 \cdot 10^{-4}$	$2,17 \cdot 10^{-4}$
MgOH ⁺	$7,65 \cdot 10^{-7}$	$7,14 \cdot 10^{-7}$
MgPO ₄ ⁻	$2,95 \cdot 10^{-6}$	$2,75 \cdot 10^{-6}$
NH ₃ (aq)	$1,54 \cdot 10^{-4}$	$1,54 \cdot 10^{-4}$
NH ₄ ⁺	$8,85 \cdot 10^{-4}$	$8,26 \cdot 10^{-4}$
OH ⁻	$3,45 \cdot 10^{-6}$	$3,22 \cdot 10^{-6}$
PO ₄ ³⁻	$2,01 \cdot 10^{-7}$	$1,08 \cdot 10^{-7}$

De theoretische geleidbaarheid van struviet is berekend door de concentraties bij het evenwicht te verrekenen met de molaire ion geleidbaarheden uit BINAS tabel 41.

Berekening geleidbaarheid [H⁺]:

$$[H^+]_{\text{tijdens evenwicht struviet}} = 2,13 \cdot 10^{-9} \text{ mol/l}$$

$$\text{Molaire geleidbaarheid } H^+ = 34,965 \text{ mS} \cdot \text{m}^2/\text{mol}$$

$$EC_{[H^+]} = ((2,13 \cdot 10^{-9}) \cdot 1000) \cdot 34,965 = 7,98 \cdot 10^{-5} \text{ mS/m}$$

Tabel 12: berekening theoretische EC waarde bij oplossing van struviet

Berekening totale EC met gewogen EC		
In BINAS (bij T=298 K)	In $10^{-3} \Omega^{-1} \text{ m}^2 \text{ mol}^{-1}$	
Is hetzelfde als	mS*m ² /mol	
Molecuul	mS*m²/mol	EC (mS/m)
H ⁺	34,965	$7,98 \cdot 10^{-5}$
NH ₄ ⁺	7,35	6,51
$\frac{1}{2} \text{Mg}^{2+}$	5,3	8,65
OH ⁻	19,8	$6,82 \cdot 10^{-2}$
Cl ⁻	7,631	6,85
$\frac{1}{2} \text{Mg}(\text{NH}_3)_2^{2+}$ *	6,03	$3,84 \cdot 10^{-7}$
MgCl ⁺ *	6,03	$1,30 \cdot 10^{-2}$
MgOH ⁺ *	6,03	$4,61 \cdot 10^{-3}$
H ₂ PO ₄ ⁻ **	6,83	$1,52 \cdot 10^{-1}$
$\frac{1}{2} \text{HPO}_4^{2-}$ **	6,83	10,88
MgPO ₄ ⁻ **	6,83	$2,02 \cdot 10^{-2}$
$\frac{1}{3} \text{PO}_4^{3-}$ **	6,83	$4,11 \cdot 10^{-3}$
EC totale oplossing		33,154 mS/m
EC totale oplossing		331,54 $\mu\text{S/cm}$
* = Aangezien deze moleculen niet staan in de BINAS is hier het gemiddelde van de positieve waardes uit de lijst in BINAS tabel 41, molaire iongeleidbaarheden, gebruikt (zonder de uitschieter H ⁺)		
** = Aangezien deze moleculen niet staan in de BINAS is hier het gemiddelde van de negatieve waardes uit de lijst in BINAS tabel 41, molaire iongeleidbaarheden, gebruikt (zonder de uitschieter OH ⁻)		

Bijlage 3: Resultaten Hygiëna swaptest

In deze bijlage zijn de resultaten van de Hygiëna *E. coli* swaptest weergegeven tegenover de resultaten van de telplaat methode gebaseerd op ISO 16649-2.

Tabel 13: ruwe data Hygiëna *E. coli* swaptest

Swap test dag 7 (verdunding 1:1)				Resultaten telplaten (TBX)
Verdunding	RLU/ CFU	<i>E. coli</i>	kve	kve
-1	508 ±152	60	6,00*10 ²	8,9*10 ⁴
-3	35 ±10	7	7,00*10 ³	
-1	892 ±276	60	6,00*10 ²	1,1*10 ⁶
-3	26 ±7	7	7,00*10 ³	

Tabel 14: ruwe data Hygiëna *E. coli* swaptest

Swap test dag 7 (verdunding 1:10)				Resultaten telplaten (TBX)
Verdunding	RLU/ CFU	<i>E. coli</i>	kve	kve
-1	4375 ±1312	180	1,80*10 ²	8,9*10 ⁴
-3	175	20	2,00*10 ³	
-1	<5000	300	3,00*10 ²	1,1*10 ⁶
-3	262 ±78	35	3,50*10 ³	

Tabel 15: ruwe data Hygiëna *E. coli* swaptest

Swap test dag 10 (verdunding 1:1)				Resultaten telplaten (TBX)
Verdunding	RLU/ CFU	<i>E. coli</i>	kve	kve
-1	298 ±89	35	3,50*10 ²	2,0*10 ⁴
-2	35 ±10	7	7,00*10 ²	
-1	674 ±202	60	6,00*10 ²	2,8*10 ⁵
-2	35 ±10	7	7,00*10 ²	

Tabel 16: ruwe data Hygiëna *E. coli* swaptest

Swap test dag 10 (verdunding 1:10)				Resultaten telplaten (TBX)
Verdunding	RLU/ CFU	<i>E. coli</i>	kve	kve
-1	2975 ±892	180	1,80*10 ²	2,0*10 ⁴
-2	175 ±52	20	2,00*10 ²	
-1	>5000	300	3,00*10 ²	2,8*10 ⁵
-2	612 ±183	60	6,00*10 ²	

Tabel 17: ruwe data Hygiëna *E. coli* swaptest

Swap test dag 10 (verdunding 1:100)				Resultaten telplaten (TBX)
Verdunding	RLU/ CFU	<i>E. coli</i>	kve	kve
-1	>5000	300	3,00*10 ¹	2,0*10 ⁴
-2	3500 ±1050	180	1,80*10 ²	
-1	>5000	300	3,00*10 ¹	2,8*10 ⁵
-2	3500 ±1050	180	1,80*10 ²	

Bijlage 4: *Clostridium Perfringens*

Clostridium perfringens (*C. perfringens*) is een sporenvormende bacterie die groeit onder anaerobe omstandigheden. Echter kan deze bacterie ook groeien wanneer er zuurstof in geringe mate aanwezig is in zijn milieu. Deze bacterie komt voor in de bodem; mariene sedimenten; zoetwatersedimenten; en het maagdarmsstelsel van mensen en dieren (Hassan et al., 2015).

C. perfringens kan overleven bij een temperatuur range van 10-55 °C, met een optimum van 43 °C. Verder kan deze bacterie groeien bij een pH tussen de 5 en de 9. De minimale a_w -waarde waarbij deze kan groeien is 0,96 (NZFSA, 2010) (Albrecht, J. A., z.d.)

C. perfringens gaat sporen vormen wanneer de bacterie in een ongunstige overleving omstandigheid verkeerd als: hitte, droogte, radiatie, voedseltekort of toxische chemicaliën. De sporen die de cel maakt is een overlevingsmechanisme, deze spore zal in een ruststand blijven waar geen stofwisseling of deling plaatsvindt (Wiersema. -b, z.d.). De sporenvorming kan plaatsvinden tussen 27-50 °C bij een pH van 6,0-8,0 en a_w -waarde van >0,96 (Jong de., 2003). Deze sporen kunnen onder zeer extreme omstandigheden overleven. De sporen zullen geactiveerd worden wanneer ze in een gunstig milieu verkeren, waar vaak genoeg voedingstoffen aanwezig zijn.

In onderstaande tabel 18 is de hoeveelheid *E. coli* en *C. perfringens* weergegeven op verschillende plekken.

Tabel 18: aantal *E. coli* en *C. perfringens* (*Blaak et al., 2015) (oppervlaktewater, in en effluent RWZI); **Sorensen et al., 1989) (uitwerpselen mensen); ***Grinten van der, et al., 2017); ****(TU Delft, 2010))

	Aantal <i>E. coli</i>	Totale fecale bacteriën	Totaal <i>C. perfringens</i>
Uitwerpselen mensen		10^7 - 10^9 kve/gram **	10^3 - 10^7 kve/gram **
Influent RWZI	10^3 - 10^7 kve/ml ***	10^4 - 10^6 kve/ml *	
Effluent RWZI	10^3 kve/ml ****	10^1 - 10^4 kve/ml *	
oppervlaktewater		0 - 10^3 kve/ml *	

Bijlage 5: Informatietabel verschillen onderzochte RWZI's

In deze bijlage is verdere informatie weergegeven van de zes onderzoekslocaties. Deze gegevens zijn afkomstig uit verschillende interviews en gesprekken met procesoperators/ technologen en bedrijfsleiders van de verschillende RWZI's.

Tabel 19: informatie over de verschillende onderzochte RWZI's

Procesinformatie	RWZI Land van Cuijk	RWZI Apeldoorn	RWZI Tiel	RWZI 's-Hertogenbosch	RWZI Amsterdam-west	RWZI Amersfoort
Struviet productieproces	NuReSys	NuReSys	AnPhos	AnPhos	AirPrex	Pearl
Te verwerken stroom	Centraat	Centraat	Centraat	Centraat	Slib	Centraat + filtraat
Mg toevoeging (poeder of oplossing)	MgCl ₂	MgCl ₂	Mg(OH) ₂	Mg(OH) ₂	MgCl ₂	MgCl ₂
Vergistingstemperatuur (°C)	32	38,5	52	53	36	38
Verblijfstijd vergister	20 dagen	17 dagen	20 dagen	18 dagen	20 dagen	15 dagen
Verblijfstijd struviet reactor	1 dag	2 uur	1 uur	1,5 uur	8 uur	2 dagen
pH struviet reactor	8,5	7,5-8,0	7,8	8,6	7,4-7,6	7,8
Waarmee wordt de pH veranderd?	-	-	CO ₂ strippen	-	-	NaOH
Type big bag/container + verblijfstijd	Container, 4-6 weken	Big bag, >1 maand	-	Container, 1 maand	Container, 1,5 week + 1 maand	Big bag, >1 maand
Batch gewijs geproduceerd?	Continu	Continu	Batch	Batch	Continu	
Droging [ja/nee]	Nee	Nee	Nee	Nee	Nee	Ja [70 °C]