

EVALUATIEVERSLAG

AGRARISCHE NEVENSTROMEN EN HUN INZETBAARHEID ALS SECUNDAIRE GRONDSTOF BIJ EENDENKROOS- EN *SPIRULINA*-TEELT

Devlamynck Reindert

E reindert.devlamynck@ugent.be

Coudron Carl

E carl.coudron@inagro.be

Erik Meers

E erik.meers@ugent.be

Jan Leenknecht

E jan.leenknecht@inagro.be

www.ugent.be

www.inagro.be



INHOUD

1	Inleiding	1
2	Karakterisatie agrarische nevenstromen	3
2.1	Algemeen.....	3
2.2	Grondloze teelten – fruitteelt, sierteelt en groenteteelt.....	6
2.2.1	Rekenvoorbeeld	6
2.3	Aquacultuur.....	7
2.4	Algenteelt – Spirulina	7
2.5	Mestverwerking en vergisters.....	8
2.6	Aardappelverwerking	9
2.7	Melksector.....	9
3	Gebruik van restwaters voor de teelt van eendenkroos.....	10
3.1	Specifieke eigenschappen van de eendenkroosteelt.....	10
3.2	Bakkenproef	12
3.2.1	Verkenkende bakkenproeven	12
3.2.2	Bakkenproef restwater uit de varkensmestverwerking.....	13
3.3	Toevoeging P-Bron via restmedia.....	15
3.4	Cubicontainercascades.....	16
3.4.1	Effect van het groeimedium	18
3.4.2	Plaats in de cascade.....	19
3.4.3	Effect van het oogstmoment.....	19
3.4.4	Samenstelling van het eendenkroos	22
3.5	Pilootopstelling.....	24
3.6	Opname van nutriënten	30
3.7	Voedselveiligheid.....	32
4	Gebruik van reststromen voor de teelt van Spirulina	34
4.1	Specifieke eigenschappen van de teelt	34
4.2	Groeiproef	34
5	Conclusie	38
6	Referenties	40
	Colofon	41

1 INLEIDING

De eendenkroosfamilie (*Lemnaceae*) komt van nature voor in kleine wateren, zoals poelen, vijvers, en grachten. De plantjes in deze familie behoren tot de snelst groeiende planten ter wereld en dat maakt hen uniek. In ideale omstandigheden werd vastgesteld dat het zich om de 2 dagen verdubbeld (Ziegler et al., 2015). Bovendien kan eendenkroos 30 tot 45 % eiwit bevatten (Landolt et al., 1987). Deze twee eigenschappen zorgen ervoor dat eendenkroos veel eiwit kan produceren op een kleine oppervlakte. In dit onderzoek werd waargenomen dat de eiwitproductiviteit onder buitenomstandigheden 3,3 tot 4,1 ton eiwit/ha/jaar bedraagt. Dit is 3 tot 4 keer hoger dan de eiwitproductiviteit van conventioneel geteelde soja uit Brazilië of de Verenigde Staten.

Het belang van een lokaal geproduceerd eiwitalternatief is groot aangezien er in Europa meer eiwit wordt geconsumeerd dan dat er geproduceerd wordt. Dit heeft als gevolg dat zowel in 2017 als in 2018 29 miljoen ton sojaschroot in Europa werd ingevoerd (Bouxin, 2017). Sojaschroot is voornamelijk een belangrijke eiwitbron voor diervoeders en dus essentieel voor de vleesproductie. Dit schroot komt hoofdzakelijk uit Brazilië, Argentinië en de Verenigde Staten. De vervanging van geïmporteerd sojaschroot in veevoeder door lokaal geteelde eiwitbronnen zou bovendien de grootste impact kunnen hebben op de broeikasemissies van de vleesproductie in Europa (Reckmann et al., 2016). In Europa wordt er daarom volop ingezet op alternatieve eiwitbronnen. Eendenkroos komt dankzij zijn eiwitproductiviteit daarvoor in aanmerking.

Naast een hoge eiwitproductie heeft eendenkroos ook potentieel in de waterzuivering. Eendenkroos neemt nutriënten op uit het water, de voornaamste zijn nitraat, ammonium, fosfaat en kalium. Deze nutriënten kunnen als minerale meststoffen worden toegediend, maar zijn evengoed aanwezig in restwaters. Tal van landbouwsectoren hebben te kampen met nutriëntenoverschotten, denk maar aan de mestverwerking, spuiwaters uit grondloze teelten en effluenten van algenteelt of viskwekerijen. Deze restwaters omzetten naar loosbaar water vereist dat het nitraat, ammonium en fosfor verwijderd worden tot gehalten lager dan de lozingsnormen. Het verwerken is voor de landbouwer vaak een kost. Door eendenkroos te telen op het restwater kunnen de nutriënten worden benut en worden omgezet tot eiwit. Op deze manier kan er uit het restwater waarde worden gecreëerd voor de landbouwer.

Omwille van de eiwitproductiviteit en de waterzuiveringscapaciteit werd het potentieel van eendenkroos op restwaters in dit project verder onderzocht. Het onderzoek verliep als volgt:

1. verschillende reststromen uit verscheidene landbouwsectoren werden gekarakteriseerd en geanalyseerd,
2. een literatuurstudie bepaalde de specifieke vereisten van de eendenkroosteelt om te kunnen bepalen welke reststromen geschikt zijn als groeimedium,
3. de eendenkroosgroei werd op verschillende reststromen getest onder gecontroleerde omstandigheden in bakkenproeven,
4. daarna werden enkele restwaters met een hoog potentieel geselecteerd voor opschaling om in buitenomstandigheden te worden geëvalueerd,
5. vervolgens werd het restwater met het grootste potentieel op pilotschaal uitgetest in een bassin van 10 op 14. Daardoor kan het reële potentieel van eendenkroos op bedrijfschaal worden bepaald.

Naast het kweken van eendenkroos op restwaters, werden er ook proeven uitgevoerd met de microalg *Spirulina* op restwaters. De opzet van *Spirulina* op restwaters is gelijkaardig aan deze met eendenkroos, nl. waarde creëren voor de landbouwer uit restwater. De insteek is echter anders

aangezien met *Spirulina* de blauwe kleurstof fycocyanine geproduceerd wordt. Deze kleurstof kan mogelijks van toepassing zijn in textiel, papier of voedsel. De resultaten van de groeiproeven worden ook vermeld in dit rapport.

2 KARAKTERISATIE AGRARISCHE NEVENSTROMEN

2.1 ALGEMEEN

Gedurende het project werd ten rade gegaan bij verschillende landbouw praktijkcentra om mogelijke agrarische nevenstromen te identificeren en te karakteriseren. Literatuurgegevens en resultaten van eigen analyses werden gebundeld in Tabel 1. Volgende parameters staan weergegeven:

- zuurtegraad (pH),
- geleidbaarheid (EC),
- nitraat (NO_3^-),
- nitriet (NO_2^-),
- ammonium (NH_4^+),
- totaal stikstofgehalte
- oplosbaar fosforgehalte (P)

Uit de analyses blijkt het potentieel van enkele restwaters die ingezet kan worden als grondstof voor de groei van eendenkroos en *Spirulina*.

Tabel 1 Verzameltabel met de belangrijkste eigenschappen van reststromen uit verscheidene landbouwsectoren op basis van literatuurgegevens, analyses op proefcentra en op praktijkbedrijven (Praktijk)

SECTOR	bron	pH	EC μS/cm	NO ₃ _N mg/l	NO ₂ _N mg/l	NH ₄ _N mg/l	Som N mg/l	P mg/l	K mg/l	
FRUITTEELT	Framboos	PCF	6.1	1763	187	NA	0.13	187	56	179
	Braam	PCF	6.2	1610	169	NA	0.61	169	37	95
	Aardbei	Praktijk	6.3	500	43	NA	NA	43	NA	12
SIERTEELT	Opslagbassin recirculatiewater	Praktijk	6.8	429	1.8	NA	0.06	1.8	1.2	11
	Opslagbassin recirculatiewater	PCS	6.9	67	0.13	0.01	0.07	0.21	2.0	2.0
GROENTETEELT	Tomaat	Inagro	6.6	4025	345	0.00	11	357	37	213
	Paprika	Praktijk	6.2	2307	256	0.00	0.00	256	49	155
AQUACULTUUR	Effluent snoekbaars	Inagro	7.9	1087	26	1.3	2.1	30	2.5	10
	Effleunt omegabaars	Praktijk	7.8	1700	40	NA	3.7	44	10	217
ALGENTEELT	Groeimedium	PCG	9.5	19800	323	0.00	2.8	326	84	500
	Groeimedium	AnKo projects	9.7	10665	46	19	0.05	65	47	593
	<i>Spirulina</i> spoelwater	PCG	8.8	5595	87	0.80	2.4	90	14	212
VARKENSHOUDERIJ	Animal manure (1)	(Sigurnjak et al., 2017)	8	28000	NA	NA	3300	5600	2100	3300
	Dunne fractie mest (1)	VCM	NA	NA	NA	NA	NA	3900	109	1619
	Dikke fractie mest (1)	VCM	NA	NA	NA	NA	NA	11100	1964	2532
	Effluent Biologie aerob	Ivaco	8	12745	312	189	398	813	139	2045
	Effleunt biologie	VCM	NA	NA	NA	NA	NA	400	22	3700
	Lagune constructed wetland na sedimentatie	Ivaco	8	6718	173	46	42	249	1.9	2176
	Chemische luchtwasser (H ₂ SO ₄)	Praktijk	2	262000	0	0.00	34500	34500	0.00	0.00
	Biologische luchtwasser	(Vemis, 2017)	7	NA	1600	0.00	1600	3200	0.00	0.00
	VeDoWs-urine	Praktijk	8	22470	0	NA	341	341	0.52	NA
	digestaat varkensmest	VCM	NA	NA	NA	NA	NA	6000	316	2075
dunne fractie digestaat van mest	(Sigurnjak et al., 2017)	9	20000	0	0.00	3600	3600	27	3000	

MELKVEEHOUDERIJ	Melkwei	Praktijk	5.5	6580	105	NA	19	125	198	NA
	Spoelwater melkrobot	Praktijk	4.2	3375	0	0.00	7.3	7.3	74	1291
SECTOR		bron	pH	EC μS/cm	NO ₃ _N mg/l	NO ₂ _N mg/l	NH ₄ _N mg/l	Som N mg/l	P mg/l	K mg/l
MELKVEEHOUDERIJ	Digestaat rundveemest	VCM	NA	NA	NA	NA	NA	3900	153	1785
	Dunne fractie mest (1)	VCM	7.7	NA	NA	NA	2044	3654	229	4262
	Dikke fractie mest (1)	VCM	NA	NA	NA	NA	NA	5800	262	1370
AARDAPPEL- VERWERKING	Struviet	praktijk	7.3	930	240	NA	970	1210	93000	9100
VERGISTING	Dunne fractie digestaat plant	(Sigurnjak et al., 2017)	8.1	33000	0	0.00	4100	4100	1200	4400
	Mineralenconcentraat	(Sigurnjak et al., 2017)	8.2	40500	NA	NA	6450	6450	NA	7.0

(1): cijfers zijn in mg/kg, aangezien het een vaste stof betreft

NA: Not available – niet beschikbaar

2.2 GRONDLOZE TEELTEN – FRUITTEELT, SIERTEELT EN GROENTETEELT

Per definitie wordt bij een grondloze teelt niet in de bodem gekweekt, maar wel op een substraat. Hieronder vallen voornamelijk vruchtgroenten zoals tomaat en paprika, maar ook snijbloemen (azalea), kleinfruit (braam, framboos, aardbei,...), en potplanten. Wat deze teelten gemeenschappelijk hebben is dat het bemestingswater kan worden opgevangen waardoor hergebruik mogelijk is. In theorie wordt er dus geen water geloosd. Echter zijn er 5 belangrijke redenen waarom het voedingsmedium van de teelt toch geloosd wordt en er dus spui wordt geproduceerd, met name bij:

1. technische fouten,
2. drainwater aan het einde van het seizoen,
3. reinigen van het irrigatiesysteem,
4. afwijkende samenstelling van het voedingsmedium,
5. spoelwater van de filters.

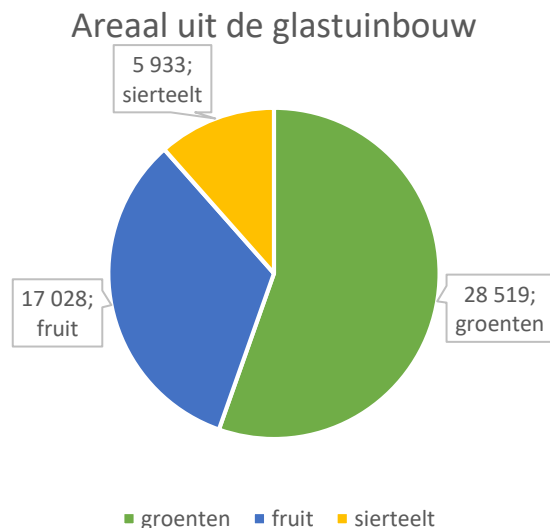
De hoeveelheid spui die geproduceerd wordt is zeer bedrijfs- en teeltafhankelijk, maar op een gemiddeld bedrijf wordt 20,1 m³/ha spui geproduceerd en dit met een gemiddelde concentratie van 20 mmol N/l. Voor meer informatie wordt verwezen naar het rapport 'Telen zonder spui in de glastuinbouw' (Berckmoes et al., 2013).

De analyses uit onze proeven tonen aan dat de geleidbaarheid in vele gevallen in de optimale range voor eendenkroosgroei ligt. De maximale geleidbaarheid werd aangetroffen in de aardbeiteelt maar ook deze ligt nog ver onder de extreme bovengrens waar eendenkroosgroei mogelijk is. Het N- en P-gehalte is vaak aan de hoge kant en bevindt zich in veel gevallen in de optimale range. Deze groeimedia kunnen dus zonder aanpassingen gebruikt worden als groeimedium voor eendenkroosgroei.

Een kleine nuance is hier wel op zijn plaats. De analyses zijn niet op verschillende soorten spui of verschillende tijdstippen op een bedrijf genomen, maar de gemiddelde samenstelling toont wel een gunstig N-gehalte. Meer informatie over het fosfor en de geleidbaarheid is nodig om het potentieel voor eendenkroosgroei beter in te schatten.

2.2.1 Rekenvoorbeeld

Uit de cijfers van de FOD economie blijkt dat in 2015 er 51.699 ha glastuinbouwbedrijven zijn in Vlaanderen (Figuur 1). Dit komt neer op een spuihoeveelheid van 1.000.000 m³ per jaar en 280 ton N per jaar. Een gemiddeld bedrijf heeft echter 7,8 ha teeltgrond en dus een geschatte gemiddelde spuiproductie van 160 m³ per jaar met een N-afzet van 42 kg N/jaar.



Figuur 1 Areaal glastuinbouwbedrijven in 2015 (cijfers van FOD economie).

In bakkenproeven werd vastgesteld dat de $\text{NO}_3\text{-N}$ -verwijdering onder een eendenkroosmat 455 mg/d/m^2 bedraagt. In onze buitenproef bleek dat een groeiseizoen zo een 180 dagen duurt. Dus een vierkante meter eendenkroos kan theoretisch jaarlijks ongeveer 82 g N/m^2 verwijderen. Om alle N te verwijderen uit de spui van een gemiddeld glastuinbouwbedrijf kan dus worden geschat dat een eendenkrooslagune van 515 m^2 voldoende is voor 160 m^3 spui. De diepte van de lagune bedraagt dan ongeveer 30 cm. Hieruit volgt dat volgens deze schatting het technisch haalbaar lijkt om de overige N te verwijderen op een gemiddeld glastuinbouwbedrijf met behulp van eendenkroos.

2.3 AQUACULTUUR

Deze waters worden getypeerd door een ideale geleidbaarheid voor eendenkroos, maar een eerder laag N en P gehalte. Deze restwaters kunnen dus onverdund worden gebruikt, maar hier kan geen optimale groei worden verwacht. Het effluent van de snoekbaarsteelt werd meerdere malen succesvol toegepast als groeimedium voor eendenkroosgroei. Uit de testen blijkt dat een gemiddelde productie van 11,8 ton droge stof/ha/jaar en een gemiddelde eiwitproductie van 3,3 ton eiwit/ha/jaar mogelijk blijkt onder onze teeltomstandigheden en in een West-Europees klimaat.

Het effluent van de omegabaarsteelt was tijdens de testen echter minder succesvol. Bij de analyse van het gebruikte water leken de micronutriënten beperkend.

2.4 ALGENTEELT – SPIRULINA

Uit het rapport minimalisatie van de drain blijkt dat het zoutgehalte en de pH ongunstig is door een hoog carbonaatgehalte (Coudron et al., 2018). Eendenkroos kan groeien op dit medium bij een verdunning van 20 en een pH-correctie.

Het spoelwater heeft een lagere geleidbaarheid en ook een gunstige N en P concentratie waardoor verdunnen geen must lijkt. Dit water kan wel in aanmerking komen voor eendenkroosteelt. De hoge pH kan wel een beperking vormen.

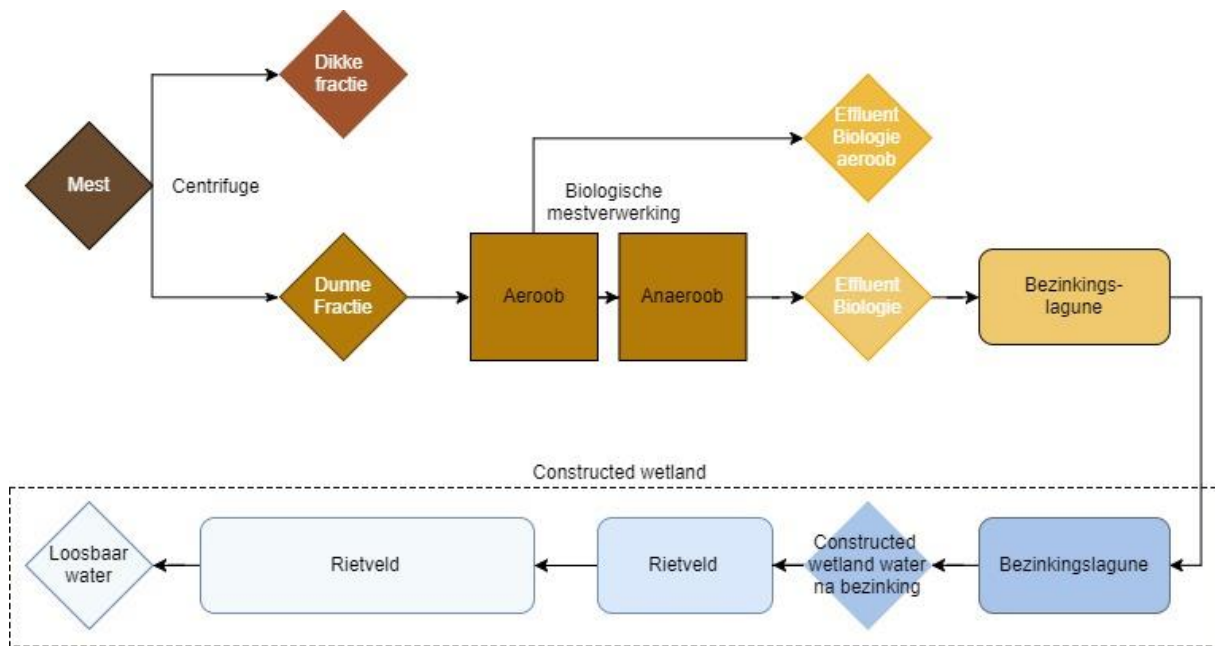
2.5 MESTVERWERKING EN VERGISTERS

Deze waters bevatten doorgaans voldoende nitraat, ammonium en fosfaat, maar ook veel ongunstige ionen zoals chlorides en sulfaten. Dit heeft als gevolg dat de geleidbaarheid de toxische limiet van 10,9 mS/cm overschrijdt. Het zoutgehalte verlagen kan door te verdunnen. Hiermee worden de gunstige nutriënten echter ook verdund. De nood voor verdunnen heeft als gevolg dat er opslag van regenwater moet voorzien worden. Het voordeel bij deze waters is echter dat op het bedrijf zelf het eendenkroos een waarde heeft want deze kan namelijk ingezet worden als voeder voor de dieren. Op die manier kan de kringloop van afval tot grondstof gesloten worden op het bedrijf zelf.

In dit project is de nadruk gelegd op het water van de biologische verwerking van varkensmest gekoppeld aan een constructed wetland Figuur 2¹. Ten eerste wordt de varkensmest gescheiden in een vloeibare en vaste fractie door een centrifuge. De vaste fractie wordt gecomposteerd en dient als organische meststof. De dunne fractie gaat in de biologische mestverwerking of de 'biologie'. De biologie bestaat uit een actief-slibproces met nitrificatie en denitrificatie. Tijdens de nitrificatie zetten bacteriën ammoniak (NH_3) om naar nitraat (NO_3^-) in aanwezigheid van zuurstof (aeroob proces). Tijdens de denitrificatie wordt nitraat omgezet naar het inerte, milieu-neutrale stikstofgas (N_2) in afwezigheid van zuurstof (anaeroob proces). Het effluent van de biologie wordt dan opgeslagen in een bezinkingstank waar het slib bezinkt. Vervolgens wordt het door een constructed wetland gestuurd. Een constructed wetland is een aaneenschakeling van verschillende rietvelden op substraat die het effluent van de biologie verder verwerkt tot loosbaar water door stikstof, fosfor en organisch materiaal te verwijderen.

De biologische mestverwerking gaat vooraf door een scheiding van dikke en dunne fractie door middel van een centrifuge, maar er zijn ook andere manieren. Een interessante techniek is het (Vermeulen Dobbelaere Welfare) VeDoW-systeem. Door middel van zwaartekracht wordt in dit systeem de urine onmiddellijk in de stal gescheiden van de vaste mest. Het verschil met conventionele stallen ligt hem in de schuine vloer van de drijfmestkelder. De vloeibare mest stroomt naar beneden richting een geultje, terwijl de vaste fractie op de keldervloer blijft liggen en wordt verwijderd via schrapers.

¹ De samenstelling van de waters uit Figuur 2 worden ook weergegeven in Tabel 1.



Figuur 2 Schematisch overzicht van de biologische mestverwerking gekoppeld aan een constructed wetland zoals in het bedrijf Ivaco in Eernegem

2.6 AARDAPPELVERWERKING

Enkele reststromen bevatten een laag P-gehalte zoals luchtwasser water, varkensurine en water uit constructed wetlands. Om een goeie eendenkroosgroei te bekomen is een P-bron noodzakelijk. Fosfor kan via minerale zouten worden toegediend, maar ook hier kunnen reststromen in aanmerking komen. Eén van die reststromen is struviet. Dit mineraal met samenstelling $Mg(NH_4)PO_4 \cdot 6(H_2O)$ wordt vaak geproduceerd in de restwaterverwerking van verschillende aardappelverwerkingsbedrijven.

2.7 MELKSECTOR

Naast reststromen uit de mest heb je in de melkveesector ook het spoelwater van de melkrobot en het melkwei, een reststroom uit de kaasmakerij. Deze twee reststromen bevatten meer P dan N (mg/l) waardoor dit een interessante aanrijingsbron kan zijn van P in restwaters met een laag P-gehalte.

Bij testen bleek wel snel dat melkwei een opromingseffect heeft. Deze oproming verhindert de groei van eendenkroos en verhoogt de schimmeldruk.

Het spoelwater van de melkrobot werd niet verder getest als groeimedum voor eendenkroos maar kan wel als een beloftevolle P-bron worden gezien.

3 GEBRUIK VAN RESTWATERS VOOR DE TEELT VAN EENDENKROOS

3.1 SPECIFIEKE EIGENSCHAPPEN VAN DE EENDENKROOSTEELT

Eendenkroos is een familie van kleine drijvende plantjes (1 mm tot 1,5 cm). Het bestaat uit 5 genera (*Lemna*, *Spirodella*, *Wolffia*, *Wolffiella*, en *Landoltia*) waarvan de soort *Lemna minor* het meest voorkomt in Vlaanderen en Nederland (Van der Meijden, 2005) (zie Figuur 3). Eendenkroos wordt in de literatuur dikwijls aangereikt als een geschikte kandidaat voor de valorisatie van restwater want het is de snelst groeiende bloeiende plant ter wereld en het bevat een eiwitgehalte tussen de 30 en 45% waardoor het een geschikte eiwitbron kan zijn voor veevoeder (Landolt et al., 1987).

Voor meer informatie over de praktische kant van de eendenkroos kweek kan je terecht in de teelthandleiding van Inagro en UGent:

http://leden.inagro.be/DNN_DropZone/Publicaties/4782/Eendenkroos_HANDLEIDING_LR.pdf

De plant heeft enkele voordelige eigenschappen ten opzichte van andere geschikte gewassen voor valorisatie van restwater:

1. aangezien de planten drijven en meer dan 1 mm groot zijn, kunnen deze relatief eenvoudig uit het water verwijderd worden, wat minder evident is voor bijvoorbeeld micro-algen,
2. een donker medium heeft geen negatieve invloed op de lichtinstraling die de planten ontvangen. Planten die in hun medium groeien in plaats van erbovenop, hebben dit voordeel niet,
3. eendenkroos is een inheemse plantenfamilie in Vlaanderen en Nederland, waardoor het meer koude tolerant en winterhard is ten opzichte van tropische waterplanten zoals waterhyacint.



Figuur 3 Voorbeeld van verschillende soorten eendenkroos. De plantjes met rode verkleuringen zijn Lemna gibba, de groene zijn Lemna minor en kleinere knopjes tussenin zijn Wolffia arrhiza. De rode kleur is een typisch symptoom van fosfordeficiëntie bij Lemna gibba

Het is vanzelfsprekend dat de watersamenstelling een impact heeft op de groei van het eendenkroos. Er zijn tal van waterparameters die de groei van eendenkroos kunnen beïnvloeden. De belangrijkste parameters zijn de zuurtegraad (pH), de geleidbaarheid van het water (EC) en het nutriëntengehalte (NH₄, NO₃, P, K, Na, Ca, Mg, Cl). Als één van de waardes van deze parameters onder een extreme

ondergrens ligt of boven een extreme bovengrens, dan is de groei van eendenkroos niet mogelijk. In Optimale groei wordt bereikt indien alle parameters binnen een kleiner bereik van optimale grenzen. de optimale en extreme grenzen waarbinnen eendenkroos groeit zijn weergegeven in Tabel 2.

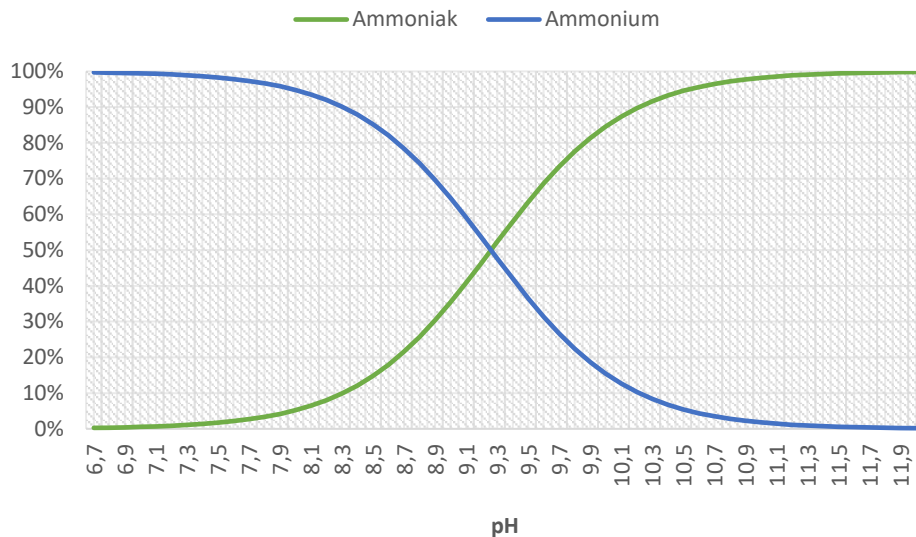
Tabel 2 Optimale en extreme onder- en bovengrenzen voor eendenkroosteelt. Als een parameter buiten de extreme grenzen ligt is groei onmogelijk, en als de parameter binnen de optimale grenzen ligt is de groei optimaal (Landolt et al., 1987)

		Extreme ondergrens	Optimale ondergrens	Optimale bovengrens	Extreme bovengrens
pH		5	6,5	7,5	9
EC	μS/cm	10	600	1400	10900
NH ₄ _N*	mg/l	9	45	90	1350
NO ₃ _N*	mg/l	0	70	700	1400
P	mg/l	0	0.4	11	55
K	mg/l	0.2	39	780	2000
Na	mg/l	0.0	120	230	3400
Ca	mg/l	0.1	20	400	2000
Mg	mg/l	0.2	4.9	97	1200
Cl	mg/l	0.0	0.4	36	3500
S	mg/l	0.1	48	1900	4800

* De optimale range voor N afkomstig uit NH₄ of uit NO₃ is verschillend. De gegeven grenzen gelden enkel bij gebruik van ofwel een nitraatstikstofbron, ofwel een ammoniumstikstofbron, en niet wanneer ze gecombineerd worden.

De parameters interageren echter ook sterk met elkaar. Een eerste belangrijke interactie is die tussen de pH en het **ammonium (NH₄⁺) /ammoniak (NH₃) evenwicht**. Het (NH₄⁺/NH₃)-evenwicht is namelijk pH-afhankelijk (zie Figuur 4). Ammoniakstikstof is zeer toxisch en verhindert de groei van eendenkroos bij concentraties vanaf 8,0 mg NH₃_N/l, terwijl ammonium dan weer de meest efficiënte stikstofbron voor eendenkroos is (Caicedo et al., 2000). Met als gevolg dat de extreme grenzen van eendenkroosgroei veel lager liggen bij een hoge pH. Bij een pH 7 is slechts 1 % van de totale hoeveelheid ammonium en ammoniak in ammoniak-vorm². Dus kan er in het totaal 550 mg ammonium- en ammoniakstikstof aanwezig zijn zonder dat de hoeveelheid ammoniak de limiet van 8,0 mg NH₄⁺_N/l overschrijdt. Bij een pH 9 bevindt zich reeds 35 % in ammoniak-vorm, waardoor de maximale hoeveelheid ammonium- en ammoniakstikstof slechts 23 mg/l meer bedraagt. Deze concentratie is zelf lager dan wat theoretisch een gewenste ondergrens is. Tot conclusie, de extreme bovengrenzen van eendenkroosgroei (Tabel 2) liggen lager bij een stijgende pH.

² De gegevens werden berekend via het chemisch evenwicht tussen ammonium en ammoniak met een evenwichtswaarde van 9,26 waarbij de volgende formule geldt: $10^{-pKa} = \frac{[NH_3][H^+]}{[NH_4^+]}$



Figuur 4 Het ammoniak/ammonium-evenwicht ten opzichte van de pH. De gegevens werden berekend via het chemisch evenwicht tussen ammonium en ammoniak met een evenwichtswaarde van 9,26

De pH heeft niet alleen een invloed op de vorm waarin stikstof in het medium zit, maar omgekeerd geldt ook dat de stikstof-vorm een invloed heeft op de pH. Het verschil tussen nitraat en ammonium is hier voornamelijk belangrijk. Eendenkroos neemt namelijk NO_3^- ionen op door een nitraat/ H^+ co-transportpomp, terwijl NH_4^+ voornamelijk door een proton-extrusie-pomp werkt. Met andere woorden, de opname van nitraat doet de pH stijgen, terwijl bij opname van ammonium de pH daalt (Ulrich, 1987).

Daarnaast heeft de pH in combinatie met calcium ook een effect op de **fosforbeschikbaarheid**. Diaz et al. (1994) toonden aan dat de aanwezigheid van calcium bij een hoge pH het onoplosbare calciumfosfaat vormen. Voor een calciumconcentratie van 20 mg/l en een pH van 10 stelden ze vast dat 30 % van het fosfor onder onoplosbare vorm voorkomt.

Tot slot speelt ook de geleidbaarheid of elektrische conductiviteit (EC) een belangrijke rol. Dit is een maatstaf voor het aantal positieve en negatieve geladen deeltjes in het water. Als regel geldt, hoe meer geladen deeltjes of ionen, hoe hoger de elektrische geleiding en dus hoe hoger de EC. De gemeten geleidbaarheid maakt echter geen volledig onderscheid tussen nuttige ionen zoals fosfaten en nitraten en minder gunstige zoals natriumionen en chlorides. Een hoge EC met veel gunstige ionen kan dus wel nog leefbaar zijn voor eendenkroos terwijl een lagere EC met overwegend minder gunstige ionen dit niet meer is. De geleidbaarheid blijft echter een gemakkelijk en snel te meten parameter die een indicatie geeft over het aantal geladen deeltjes en dus de kans aangeeft dat een bepaald deeltje een toxische grens overschrijdt. In de literatuur is een maximale geleidbaarheid waargenomen van 10,9 mS/cm, maar doorgaans ondervonden we in dit onderzoek schade bij lagere geleidbaarheden van 7,3 mS/cm.

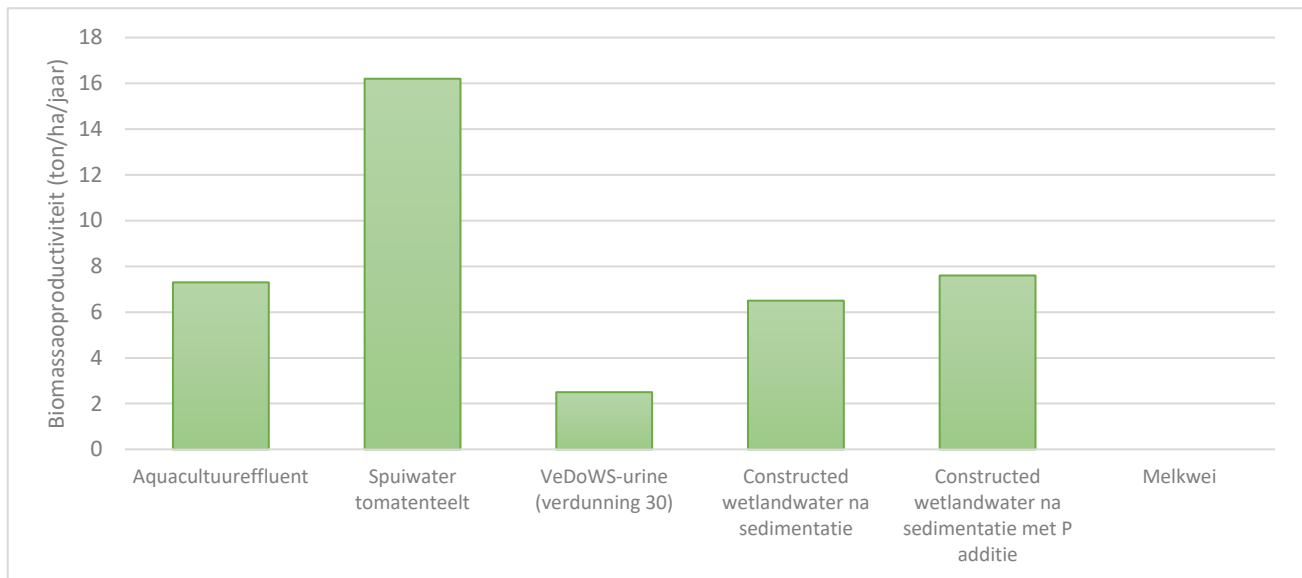
3.2 BAKKENPROEF

3.2.1 Verkennende bakkenproeven

Bij aanvang van het project werden er op kleine schaal verschillende restwaterstromen getest op in bakken. Dit zijn gemiddelde resultaten van verschillende proeven onder verschillende omstandigheden (serre, onder lampen, buitenomstandigheden, verschillende bakken en tijdstippen).

De resultaten zijn louter indicatief om aan te tonen wat geschikte media kunnen zijn. De volgende media werden getest (Figuur 5):

- Aquacultuureffluent Snoekbaars
- Spuiwater tomatenteelt
- VeDoWS-urine (de vloeibare stroom die door een specifiek design van de mestkelder van een varkensstal direct van de drijfmest wordt gescheiden)
- Constructed wetlandwater na sedimentatie (met en zonder P correctie)
- Melkwei



Figuur 5 Geëxtrapoleerde resultaten (ton/ha/jaar) van verkennende bakkenproeven van verschillende reststromen.

De behaalde resultaten zijn louter indicatief, gezien het gebrek aan uniforme omstandigheden en voldoende herhalingen. Echter kan wel worden geconcludeerd dat spuiwater van tomatenteelt een interessante stroom is gezien zijn hoge productiviteit. Ook het aquacultuureffluent van de snoekbaarsteelt en het water uit constructed wetlands na sedimentatie resulteerden in goeie groei van het eendenkroos. De testen op het laatst genoemde restwater toonden aan dat er optimalisatie mogelijk is door P toe te voegen. De VeDoWS-urine kan ook een geschikt medium zijn voor eendenkroosgroei, maar ook hier is nog verder optimalisatie nodig. Het melkwei toonde een sterke schimmelgroei en eendenkroossterfte binnen de week waardoor dit niet verder werd onderzocht.

3.2.2 Bakkenproef restwater uit de varkensmestverwerking

Eendenkroos kweken op restwater uit de varkensmestverwerking is een bijzonder interessante case. De productie van varkensvlees kent een sterke vraag naar voedereiwit. De productie van eendenkroos op het restwater heeft dus onmiddellijk een toepassing in de sector zelf. In een ideaal scenario kan de mest op een varkensbedrijf zelf verwerkt worden door eendenkroos en kan het eendenkroos dan dienen als voeder voor de varkens. Op die manier sluit je de kringloop van afvalstof naar grondstof op het bedrijf zelf. Omwille van het sterk circulair karakter werd daarom verder ingezet op het optimaliseren van restwaters uit de mestverwerking.

Vooraleer restwater van de varkensmestverwerking (Ivaco-water) in reële buitenomstandigheden kan worden getest, worden voorafgaand verschillende combinaties van het water gevalideerd onder gecontroleerde omstandigheden. Het water in de constructed wetland na bezinking, bevat nog altijd

een deel stikstof onder de vorm van nitraat. Dit water is echter nog te zout om geschikt te zijn voor eendenkroos, daarnaast bevat het ook nauwelijks fosfor. Om het water geschikt te maken voor eendenkroos zal verdund moeten worden, een verdunningsreeks moet uitsluitel geven over de minimale noodzakelijke verdunning. Om fosfor in het water te introduceren, wordt een deel effluent van de biologie aan het mengsel toegevoegd.

3.2.2.1 Proefopzet

Voor de proef worden bakken (300x200x120 mm) gebruikt met 3,5 liter groeimedum per bak. Per replica wordt 20 gram vers eendenkroos geïnoculeerd. Het eendenkroos is afkomstig van een kloon die bij Inagro onder buitenomstandigheden op restwater van snoekbaarskweek wordt aangehouden. De verschillende combinaties van restwater staan samengevat in Tabel 3, de nutritionele samenstelling staat weergegeven in Tabel 4. De reststromen zijn afkomstig van op de site van Ivaco (Figuur 2).

Tabel 3 Benaming en recept van verschillende geteste restwatermengsels van Ivaco-water (IM = Ivaco-mengsel), er zijn 10 behandelingen op basis van de hoeveelheid biologie die toegevoegd wordt en de fractie van het water afkomstig is van constructed wetlandwater na bezinking.

	IM 1	IM 2	IM 3	IM 4	IM 5	IM 6	IM 7	IM 8	IM 9	IM 10
effluent na biologie (g/l)	3	3	3	3	3	32	32	32	32	32
Fractie Constructed wetland water na bezinking (%)	18	36	45	54	72	18	36	45	54	72

Tabel 4 Samenstelling van de zuivere restwaters (constructed wetlandwater na bezinking en effluent na biologie) en van de restwatermengsels uit Tabel 3 (IM = Ivaco-mengsel)

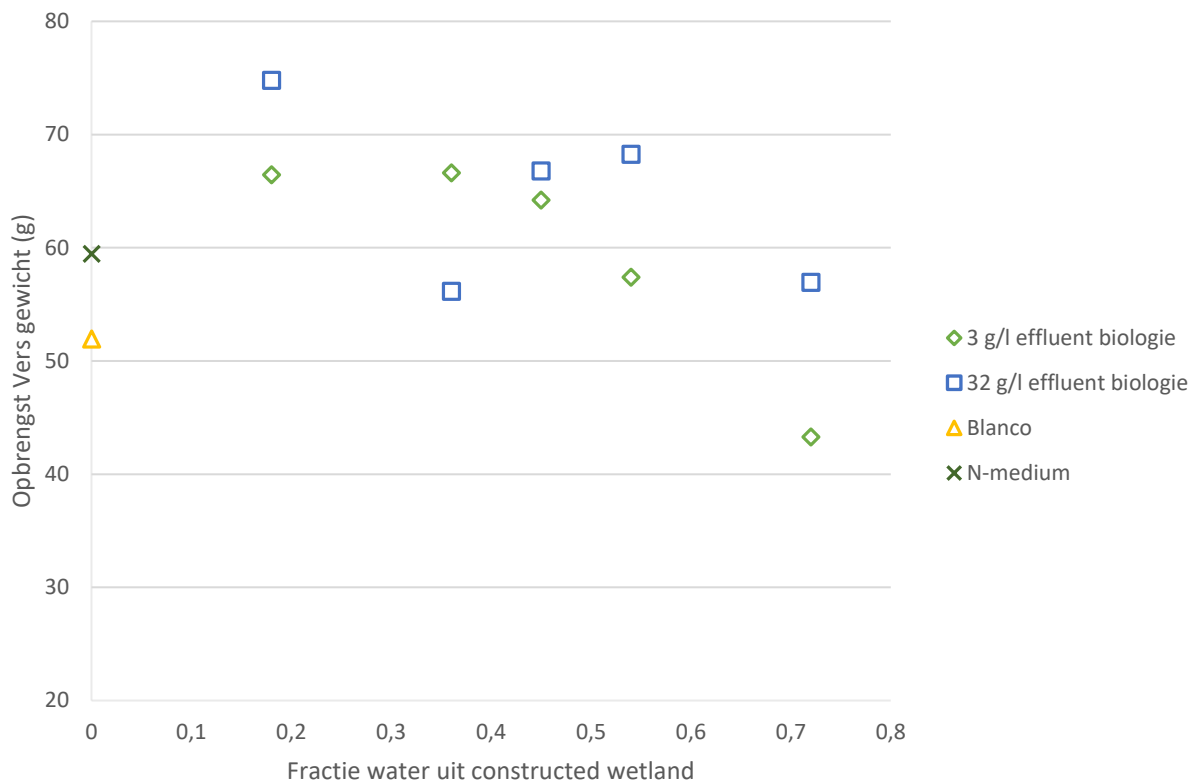
	Constr. Wetland water na bezinking	Effluent na biologie	IM 1	IM 2	IM 3	IM 4	IM 5	IM 6	IM 7	IM 8	IM 9	IM 10
pH	7,7	8,4	7,8	7,8	7,7	7,7	7,6	8,0	8,0	7,9	8,0	7,9
EC ($\mu\text{S}/\text{cm } 20^\circ\text{C}$)	9500	8100	2600	4200	5000	5700	7300	2700	4300	5000	5800	7300
NO ₃ -N (mg/l)	237	77	38	75	93	113	151	41	70	88	104	140
Fosfor (mg/l)	2	70	3.0	3.2	3.5	3.9	4.3	25	25	23	22	22
Kalium (mg/l)	2000	1900	440	820	950	1300	1600	470	840	1000	1300	1700

De proef wordt uitgevoerd onder artificiële belichting ($120 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 16 uur licht, 8 uur donker) in een klimaatkamer bij een temperatuur van 21 °C en een relatieve vochtigheid van 60 %.

Na 2 weken wordt het eendenkroos geoogst waarbij het vers gewicht wordt bepaald.

3.2.2.2 Resultaten en discussie

De resultaten staan grafisch weergegeven in Figuur 6. Omwille van de grote variatie in de data kan er geen statistisch significant optimum worden bepaald. De groei lijkt echter geen nadeel te ondervinden tot 54 % inmenging van constructed wetland restwater. Ook hogere inmenging van 72 % leverde nog altijd meer dan een verdubbeling van de biomassa op na twee weken. Daarnaast resulteerde in 4 van de 5 gevallen een grotere fractie effluent van de biologie (en dus een hogere fosforconcentratie) ook een grotere finale oogst op.



Figuur 6: Eendenkroosogst (vers gewicht) twee weken na de start van de groeiperiode op restwater van de varkensmestverwerking. Het startgewicht bedraagt 20 gram vers eendenkroos. N-medium is een synthetisch referentiemedium, de blanco is het regenwater waarmee werd verdund

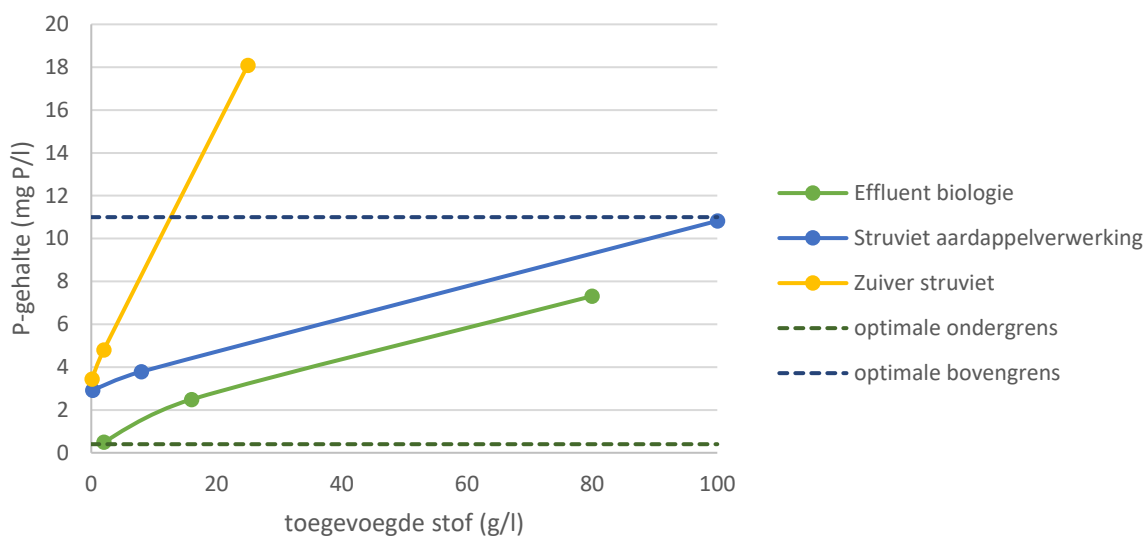
3.2.2.3 Conclusie

Op basis van restwater uit de varkensmestverwerking kan een voedingsmedium voor eendenkroos worden samengesteld waarop eendenkroos minstens even goed groeit als op een synthetisch referentiemedium (N-medium). Dit is een groei van 65 g/m²/d vers gewicht (VG). Het water uit de constructed wetlands is een geschikte N-bron voor eendenkroos, mits een verdunning (EC = ± 5 mS/cm). Daarnaast heeft de toevoeging van extra fosfor ook effect. Effluent uit de biologie van de mestverwerking kan daarvoor dienst doen als een bedrijfseigen bron van fosfor. Hoewel de opbrengst relatief laag is ten opzichte van wat we in buitenomstandigheden zullen aantreffen, kan wel worden gesteld dat de groei beter lijkt dan in een referentiemedium.

3.3 TOEVOEGING P-BRON VIA RESTMEDIA

Restwaters zoals spuiwater van luchtwassers, varkensurine en water uit constructed wetlands zijn arm aan fosfor. Om een goeie eendenkroosgroei te bekomen is fosfor echter noodzakelijk. Dat kan als mineraal zout, maar ook hier kunnen reststromen een alternatief zijn.

Er werd geëxperimenteerd met 2 verschillende bronnen van P uit reststromen, struviet en biologisch effluent. Met biologisch effluent wordt de slurry op de site van Ivaco bedoeld na biologische verwerking (zie Figuur 2). Er werden 2 bronnen struviet geanalyseerd, een zuiver struviet kristal afkomstig van het bedrijf Decuyper BVBA en struviet afkomstig van een aardappelverwerkingsbedrijf. Die laatste bevat ook een deel organische fractie afkomstig van aardappelschillen. Het struviet werd in een standaardreeks toegevoegd aan milli-Q water en de opgeloste P werd geanalyseerd na 24 uur met een ionenchromatografie. De resultaten zijn weergegeven in Figuur 7.



Figuur 7 Resultaten van het toevoegen van 3 verschillende P-bronnen in water, waarbij het opgeloste P-gehalte werd gemeten na toevoeging van verschillende hoeveelheden materiaal aan milli-Q water (een extra gefilterd gedemineraliseerd water)

De conclusie is dat alle drie de P-bronnen een fosforconcentratie kunnen bereiken binnen de optimale grenzen. Onzuiverheden beïnvloeden duidelijk de efficiëntie waarmee fosfor wordt vrijgesteld uit het struviet, maar in beide gevallen kan de optimale bovengrens van opgeloste P bereikt worden. Een nadeel is echter wel dat bij een toevoeging van struviet aan milli-Q (een extra gedemineraliseerd water), de kristallen niet volledig tot oplossing komen. Er blijft een melkachtige substantie over. De oplosbaarheid van struviet kan echter wel verbeterd worden door bijvoorbeeld de pH te veranderen of chelerende agenten toe te voegen.

Ondanks de eigenschappen van struviet wordt in de opschalingsproeven het effluent van de biologische mestverwerking verkozen als P-bron. Het effluent is ook in staat fosfor in oplossing te brengen en is direct beschikbaar op de site van Ivaco.

3.4 CUBICCONTAINERCASCADES

In 2018 werd er onder buitenomstandigheden eendenkroos gekweekt met als doel een betrouwbare inschatting van de opbrengst van eendenkroos te maken in Vlaanderen en Nederland. De resultaten van de periode 30 april 2017 tot 15 oktober 2018³.

Hierbij werden er drie verschillende media getest (zie Tabel 5);

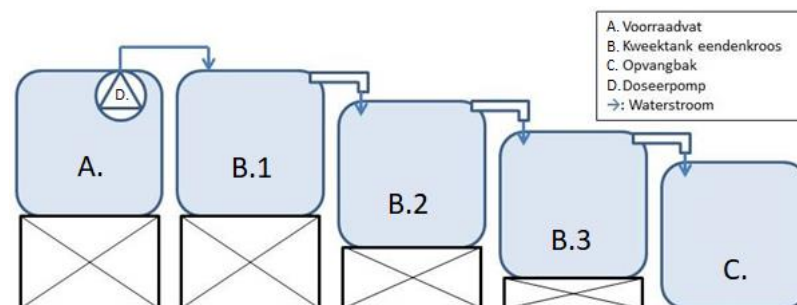
- Een referentie mengsel met ideale samenstelling voor eendenkroos (N van N-medium);
- Het effluent van snoekbaarskweek op Inagro (A van Aquacultuur);
- Een mengsel van verschillende restwaters afkomstig van een mestverwerking die gekoppeld is met een constructed wetland geproduceerd op de site van Ivaco in Eernegem (I van Ivaco). Hierbij werd er gestreefd naar een N en P gehalte binnen optimale omstandigheden.

³ Deze groeiproef heeft 175 dagen geduurd, maar over het algemeen zijn er 194 groeidagen genoteerd. Voor de verdere opschaling van resultaten zal met een afgeronde periode van 180 groeidagen gerekend worden.

Tabel 5 Gemiddelde samenstelling van het (A) aquacultuureffluent, N referentiemedium, en (I) mengsel van verschillende reststromen in de mestverwerking op Ivaco doorheen de proefperiode van 30/04 tot 15/10/2018

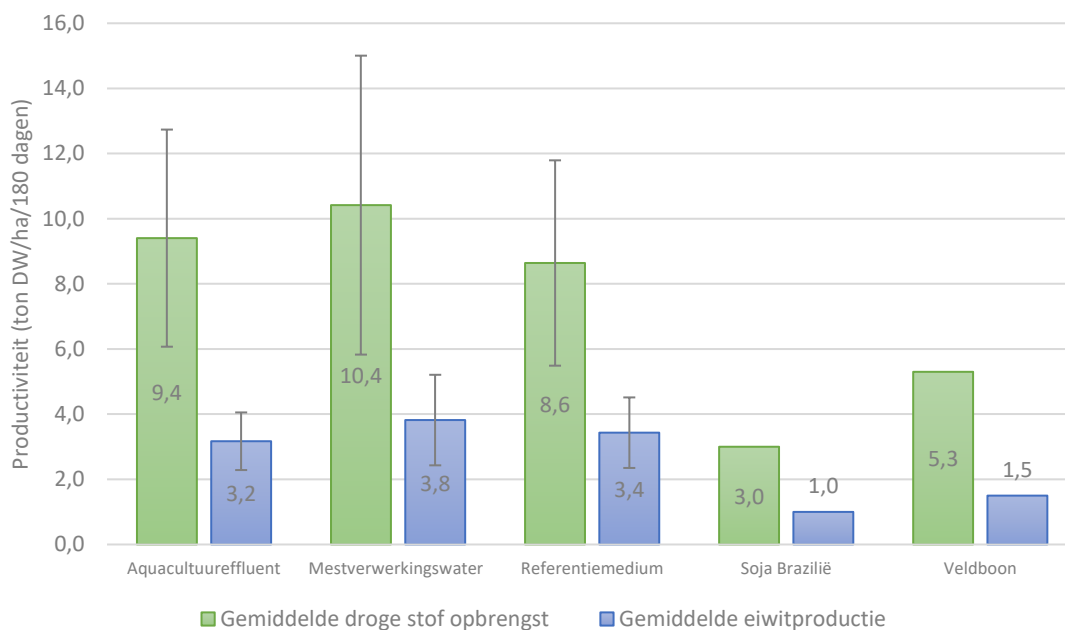
	A	N	I	
pH	7.8 ± 0.17	7.5 ± 0.6	8.4 ± 0.3	
EC	1327 ± 538	1344 ± 565	6960 ± 1701	µS/cm
NO ₃ _N	13 ± 10	105 ± 44	48 ± 28	mg/l
NO ₂ _N	0.6 ± 0.3	1.3 ± 1.2	7.1 ± 8.4	mg/l
NH ₄ _N	5.3 ± 6.4	0.8 ± 0.6	18 ± 25	mg/l
som N	19 ± 8	107 ± 44	73 ± 32	mg/l
P	10 ± 16	4.6 ± 1.6	32 ± 36	mg/l
K	10 ± 2	275 ± 132	1345 ± 386	mg/l
Na	114 ± 101	7.3 ± 7.4	581 ± 154	mg/l
Mg	18 ± 2.7	37 ± 27	59 ± 42	mg/l
Ca	166 ± 83	37 ± 15	128 ± 36	mg/l
Cl	171 ± 161	23 ± 54	1086 ± 969	mg/l
SO ₄ ²⁻	112 ± 16	96 ± 45	1100 ± 397	mg/l
H ₂ CO ₃	325 ± 72	93 ± 91	935 ± 462	mg/l
Fe	927 ± 2176	895 ± 544	40197 ± 50889	µg/l
Cu	31 ± 73	13 ± 10	1222 ± 1864	µg/l
Zn	458 ± 1014	40 ± 31	2383 ± 3539	µg/l
B	99 ± 141	149 ± 50	1798 ± 496	µg/l
Mn	78 ± 148	530 ± 554	1484 ± 2043	µg/l

Elk medium werd getest in een cubicontainercascade bestaande uit 5 aaneengeschakelde cubicontainers (zie Figuur 8). Elke week wordt het voorraadvat (A) gevuld met een medium. het medium wordt vervolgens overgepompt naar de hoogst gepositioneerde kweektank (B.1) met een doseerpomp (D.) waarbij het debiet regelbaar is. Door middel van een overloop worden de andere kweektanks (B.2, B.3) voorzien van medium. Het effluent van de laagst gepositioneerde kweektank loopt finaal over in een opvangbak (C). De bovenzijde van elke kweektank is open, maar wordt wel bedekt met een fijnmazig net om plagen buiten te houden. Elke week werd het oppervlak geogst, vervolgens werd 500 g eendenkroos teruggeplaatst op het water als startmateriaal voor een nieuwe week. Ook werd de samenstelling van het water in het voorraadvat wekelijks geanalyseerd zodat de samenstelling van het medium kon gekoppeld worden aan de opbrengst. Alle cubicontainers staan in openlucht waardoor de resultaten afhankelijk zijn van de weeromstandigheden.



Figuur 8 schematische voorstelling van de cubicontainercascade waarmee de eendenkroosopbrengst werd bepaald op een medium in open lucht

De resultaten worden weergegeven in Figuur 9. De weergegeven waarden zijn geëxtrapoleerd naar een volledig groeiseizoen en een hectare oppervlakte om de vergelijking met andere gewassen mogelijk te maken. De duur van het groeiseizoen werd vastgelegd op 180 dagen. Onder artificiële omstandigheden waarbij de temperatuur wordt verhoogd en er kunstmatig wordt belicht, zou de duur van het groeiseizoen kunnen worden verdubbeld en daarmee dus ook de opbrengst. De behaalde opbrengst en eiwitgehalte werd vergeleken met 1) soja geteeld in Brazilië en 2) het alternatief eiwitgewas veldboon dat de hoogste eiwitproductie kende tijdens Nederlandse rassenproeven (van der Mheen et al., 2013). Het is duidelijk dat eendenkroos een groot potentieel heeft als producent van plantaardig eiwit. Bovendien blijken het effluent van de snoekbaarsteelt en mestverwerkingswater uit de productie van vleesvarkens geschikte bronnen te zijn als voedingsmedium voor eendenkroos.



Figuur 9 Biomassa- en eiwitproductiviteit van eendenkroos in vergelijking met andere eiwitgewassen (projectresultaten. 2018; SOPA, 2017; van der Mheen et al., 2013)

Er werd een model gefit waarbij de biomassaopbrengst werd uitgezet in functie van het oogstmoment, het medium en de plaats in de cascade. Daaruit volgde dat voornamelijk het oogstmoment ($p = 10^{-14}$) de meest significante invloed heeft, gevolgd door het medium ($p = 0,001$). De plaats in de cascade had geen significant effect. Er werd ook een model gefit voor de eiwitproductie op basis van dezelfde parameters en daaruit blijkt dat de eiwitproductie enkel significant beïnvloed wordt door het oogstmoment.

3.4.1 Effect van het groeimedium

Er werd enkel een significant verschil in biomassaopbrengst waargenomen tussen het referentiemedium en het restwater van de mestverwerking. Het eendenkroos op het restwater van de mestverwerking is significant ($p < 0,05$) productiever dan eendenkroos op het referentiemedium. Echter vertaalde dit verschil in biomassa niet in een significant verschil in eiwitproductie.

Hieruit concluderen we dat over het hele groeiseizoen de invloed van het medium erg beperkt blijft. Ondanks dat de zoutconcentratie ($7,0 \pm 1,7$ mS/cm) van het mestverwerkingswater het hoogste is van de drie geteste media, heeft het een significant hogere opbrengst dan het referentiemedium. Het aquacultuurwater, dat het minste N (19 ± 8 mg N/l) bevat van de 3 media, vertoont geen significant lagere opbrengst. Dit is opvallend aangezien het stikstofgehalte van het aquacultuureffluent al rond

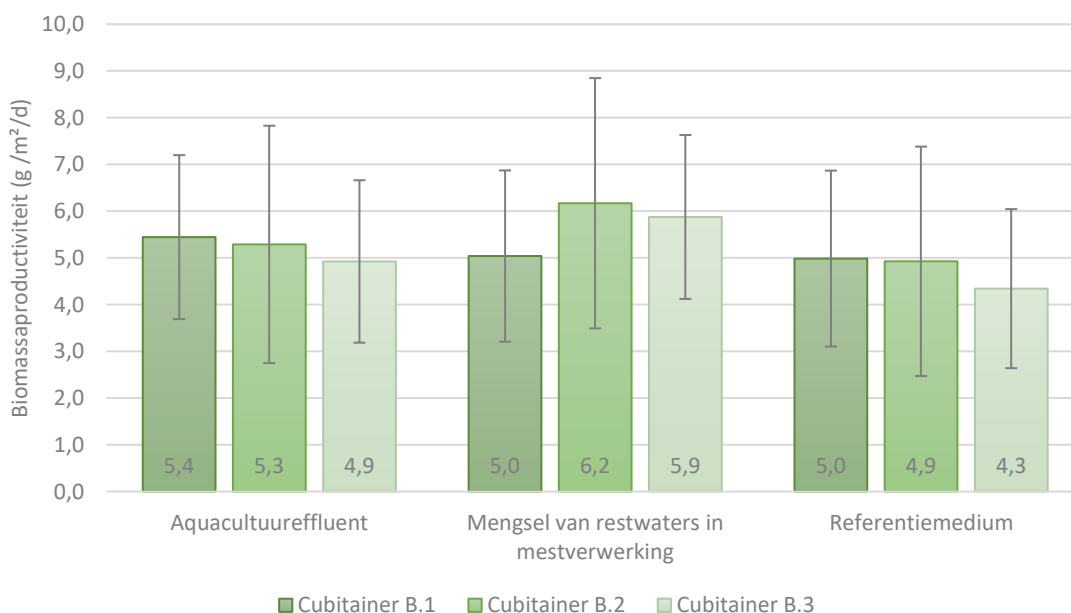
de looslimiet voor mestverwerkingswater ligt (11 mg N/l). De duidelijke verschillen in groeimedia hebben dus in onze proeven een beperkt effect op de groei van eendenkroos.

3.4.2 Plaats in de cascade

Uit het statistisch model kunnen we ook concluderen dat het verwachte verdunningseffect door de positie in de cubicontainercascade beperkt is (zie Figuur 10).

De groei van eendenkroos op het referentiemedium en op het aquacultuur effluent toont wel een licht dalende trend van de eerste naar de laatste cubicontainer. Waarschijnlijk is de aanleiding de verwijdering van nutriënten in de hoger geplaatste cubicontainers waardoor er suboptimale omstandigheden gecreëerd worden voor de groei in de lagere containers.

Bij het mengsel van restwaters uit de mestverwerking heeft de 1^{ste} cubicontainer een lagere opbrengst dan de laatste twee. De eerste krijgt de zuivere voedingsoplossing terwijl de andere twee het effluent van zijn voorganger in de cascade krijgt. Rond 16 juli is er door de aanhoudende droogte een probleem ontstaan door zoutstress. De restwaters zelf, en het verdunningswater geraakten steeds meer ingedampt waardoor het zoutgehalte toxische concentraties oversteeg. De eerste cubicontainer ondervindt als eerste de toxische concentraties, terwijl de reactie van de andere cubicontainers later volgt. Dit effect werd versterkt omdat de cubicontainercascade werd stopgezet op het moment dat het eendenkroos op de eerste cubicontainer tekenen van stress begon te ondervinden.



Figuur 10 Interactie effect tussen de verschillende media en de plaats in de cascade. Cubitainer B.1 is de hoogst geplaatste en krijgt vers medium. terwijl cubitainer B.2 via een overloop het effluent van cubitainer B.1 krijgt en cubitainer B.3 krijgt dan het effluent van cubitainer B.2

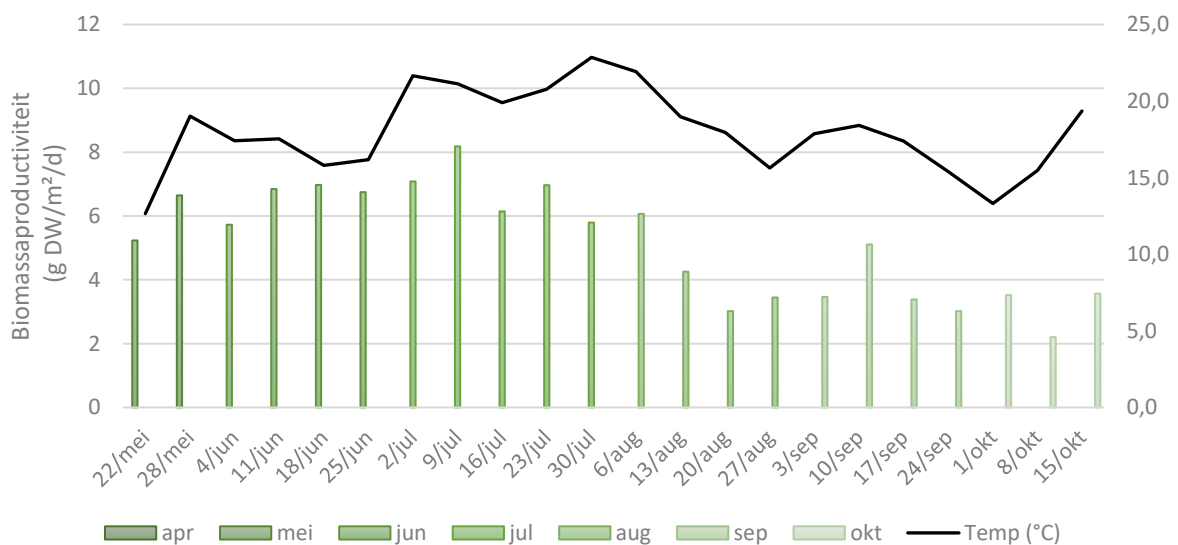
3.4.3 Effect van het oogstmoment

Het effect van het oogstmoment is het voornaamste effect voor de biomassa- en eiwitproductiviteit. Dit kan verklaard worden als volgt: in de lente en de herfst zijn de daglengte, de gemiddelde lichtintensiteit en temperaturen lager dan in de zomer. In juli en augustus zijn de warmste maanden met het meeste licht en dan wordt de hoogste productie verwacht. Een gelijkaardige trend wordt weergegeven in Figuur 11.

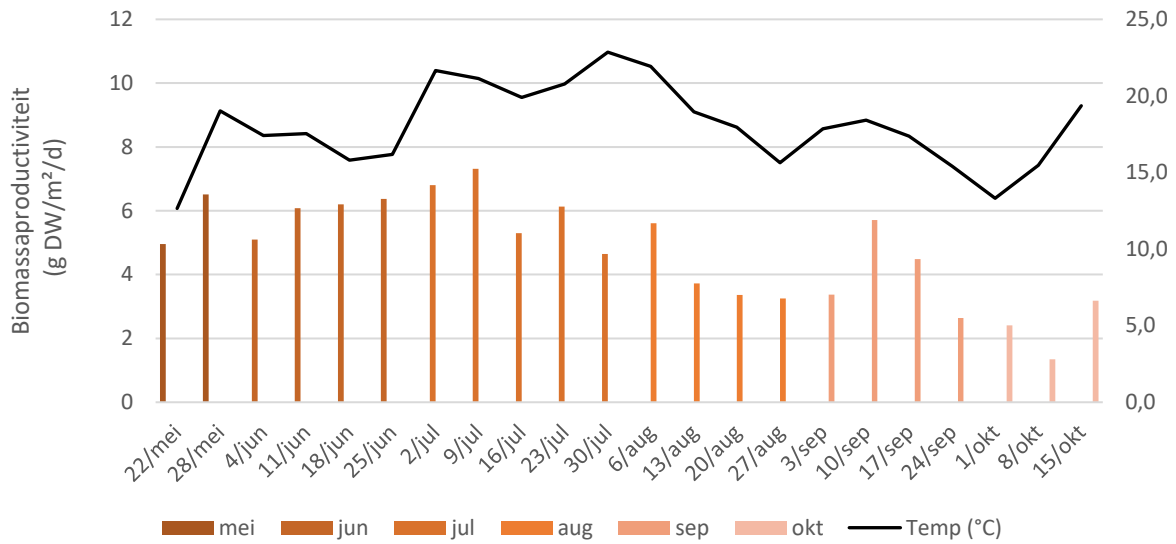
Over de drie cascades heen zien we een duidelijke trend van een licht stijgende biomassaopbrengst tot aan 9 juli waarna de opbrengst weer lijkt te dalen. De beste opbrengst werd aangetroffen op het mengsel van restwater uit de mestverwerking en bedroeg 15 g/m²/d ofwel 17 ton/ha/groeiseizoen. Dit kwam overeen met 5,5 ton eiwit/ha/groeiseizoen.

Bij het mengsel van restwaters uit de mestverwerking is de verklaring voor de daling van de opbrengst voornamelijk te vinden in de gestegen zoutconcentraties van het mengsel (zie Figuur 14). Door een aanhoudende droogte verdampte er water uit de regenwaterlagune en het constructed wetland met als gevolg dat de zoutconcentraties van deze waters steeg. Op 16 juli werd een mengsel met een EC van 11 mS/cm toegediend en de week erop een mengsel met EC van 9,8 ms/cm. De opbrengsten van de weken daarop tonen een sterke daling in groei, met als dieptepunt de periode tussen 20 augustus en 3 september. Daarna werd beslist om al het water uit de cascade te vernieuwen waardoor er opnieuw groei mogelijk was. Door een lagere temperatuur, lichtintensiteit en kortere daglengte, werd er toch een lagere groei waargenomen dan in het begin van de zomer.

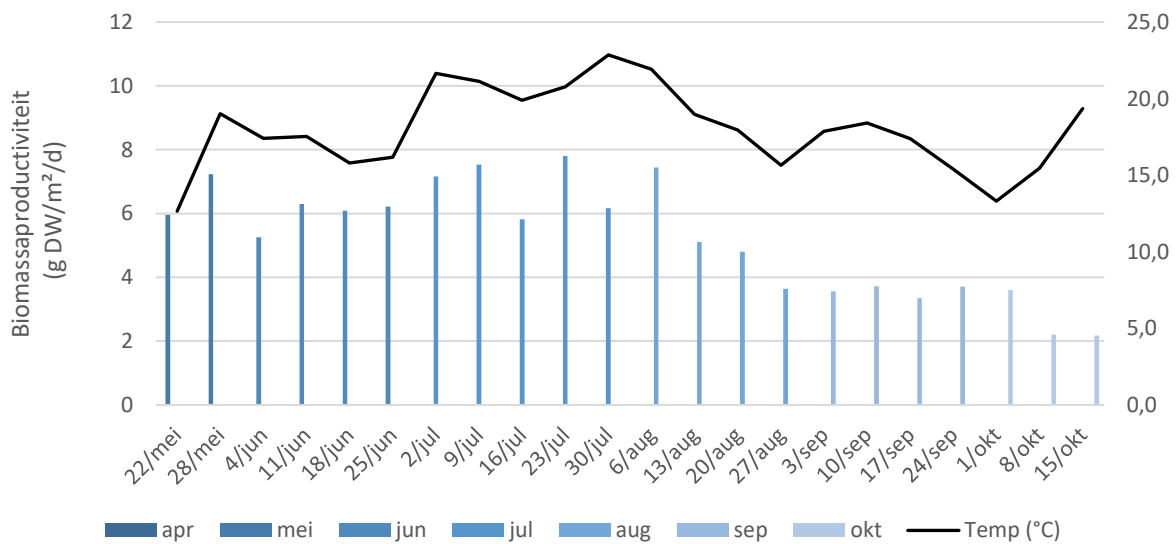
Voor de cascades op het aquacultuureffluent en het referentiemedium bleven de variaties in watersamenstelling binnen de optimale grenzen waardoor de groei nooit een extreme terugval kende (Figuur 12 en Figuur 13). Hoewel ook door een lagere temperatuur, lichtintensiteit en kortere daglengte de opbrengst daalde.



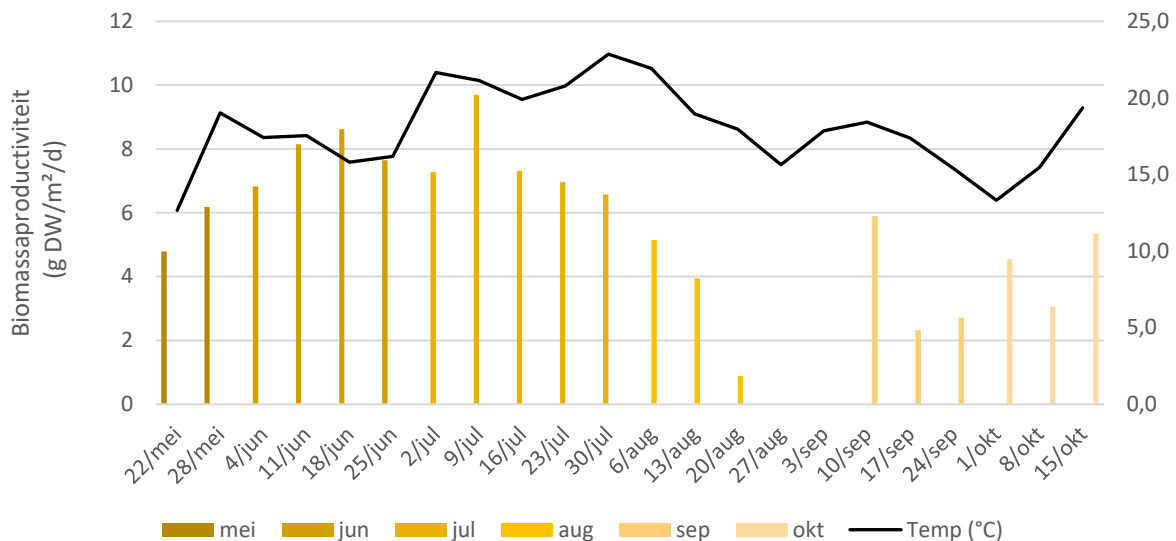
Figuur 11 Gemiddelde biomassaopbrengst van alle drie de cascades in g DW/m²/d en gemiddelde temperatuur doorheen het groeiseizoen



Figuur 12 Gemiddelde biomassa-productiviteit van de 3 cubiconainers van de cascade in g DW/m²/d gevuld met referentiemedium en de gemiddelde temperatuur doorheen het groeiseizoen



Figuur 13 Gemiddelde biomassa-productiviteit van de 3 cubiconainers van de cascade in g DW/m²/d gevuld met aquacultuureffluent en de gemiddelde temperatuur doorheen het groeiseizoen



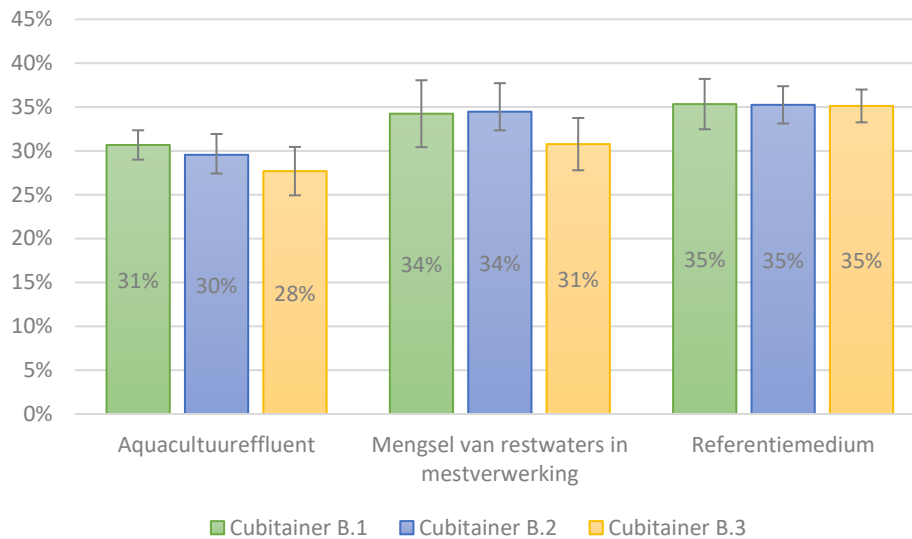
Figuur 14 Gemiddelde biomassa-productiviteit van de 3 cubiconainers van de cascade in g DW/m²/d gevuld met een mengsel van **restwaters uit de mestverwerking** op Ivaco en de gemiddelde temperatuur doorheen het groeiseizoen

3.4.4 Samenstelling van het eendenkroos

Tijdens de proeven werd naast de productiviteit ook het N- en P-gehalte van het eendenkroos bepaald. Het eiwitgehalte kan worden berekend door het totale N-gehalte te vermenigvuldigen met de factor 6,25. Dit heeft wel de beperking dat het geen rekening houdt met het mineraal opgeslagen N-gehalte, waardoor dit een benadering is.

Eiwit is een belangrijke component in voeder en is essentieel voor een goeie groei van dieren. In Europa is er een sterke afhankelijkheid van eiwit uit import, voornamelijk sojaschroot. Het vervangen van sojaschroot door lokaal geteelde alternatieven heeft een positieve impact op het milieu.

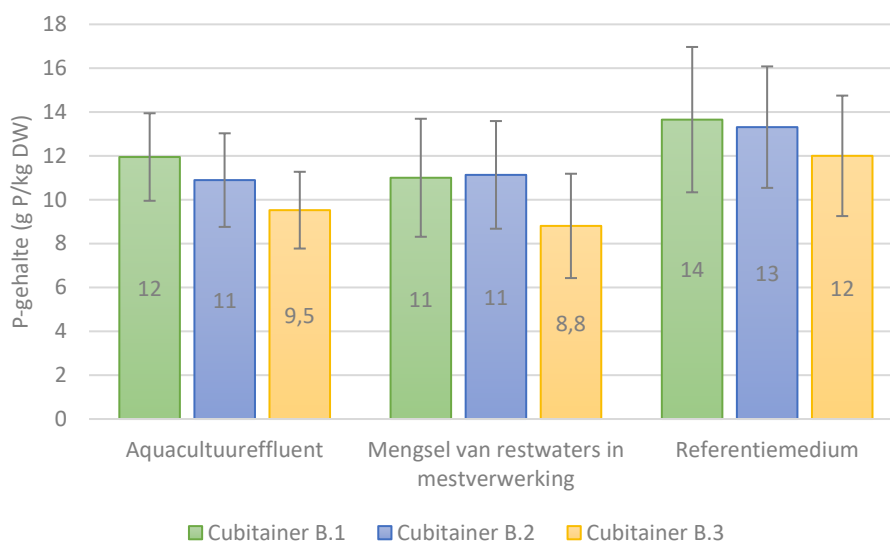
Het N-gehalte van het eendenkroos op het aquacultuureffluent is significant lager dan dat van de andere 2 proefopstellingen (Figuur 15). Dit wordt verklaard door het lagere N-gehalte in het medium (Tabel 5) ten opzichte van dat van de andere twee opstellingen. Bovendien is de trend het duidelijkst zichtbaar in de cascade met aquacultuureffluent. Bij lage N-gehalten in het medium, kan stikstof limiterend worden voor de aanmaak van eiwit. Hoe meer stikstof in het medium, hoe meer eiwitten er kunnen worden aangemaakt. Er is echter een bovengrens. Bij hoge N-gehalten in het medium treedt er verzadiging op waardoor hogere N-gehalten niet langer resulteren in hogere N-gehalten. Daarnaast is het N-gehalte van het eendenkroos op het referentiemedium significant hoger dan dat op het mengsel van restwaters uit de mestverwerking.



Figuur 15 Geschat eiwitgehalte van het eendenkroos gegroeid op alle cubicontainers in onze testopstellingen

Fosfor is eveneens een essentieel element voor plant en dier. Het is een essentiële component in de celwand, en in tanden en botten. Daarnaast heeft het een essentiële rol in de energieproductie van het lichaam met als sleutelmolecule adenosinetriphosfaat (ATP).

Ook het P-gehalte van eendenkroos toont significante verschillen tussen de verschillende cascades en op de plaats in de cascade (zie Figuur 16). Ten opzichte van het eiwitgehalte is bij het P-gehalte een duidelijkere dalende trend te zien in elke cascade. De verklaring hiervoor is dat elke cubicontainer een zuiverende werking heeft en dus P opneemt waardoor in de volgende cubicontainer in de cascade er een lagere P-concentratie is. Opvallend is dat het referentiemedium de laagste P-concentratie heeft van de drie geteste media, terwijl de hoogste P-gehalten net in het eendenkroos van het referentiemedium worden aangetroffen. Het mengsel van restwaters uit de mestverwerking heeft dan weer de laagste P-concentraties maar het eendenkroos heeft daar de laagste P-gehalten. De verklaring van dit fenomeen ligt hem in het feit dat het fosfor in het referentiemedium meer in oplosbare en opneembare vorm is dan in het mengsel van restwaters uit de mestverwerking.

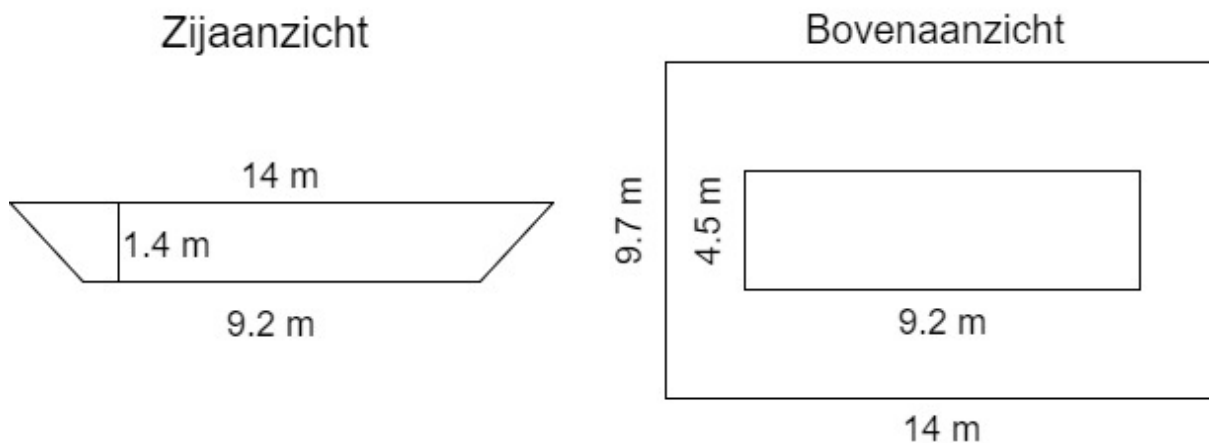


Figuur 16 P-gehalte van het eendenkroos gegroeid op alle cubitainers in onze opstellingen

Uit deze proeven kunnen we concluderen dat het medium een belangrijke invloed heeft op de samenstelling en de kwaliteit van het eendenkroos. Over het algemeen geldt dat meer N in het medium zorgt voor een hoger eiwitgehalte en wat resulteert in een hogere voederwaarde. Het P-gehalte van het medium zorgt voor eendenkroos met een hoger P-gehalte, maar belangrijk is dat dit P-gehalte in plant-beschikbare vorm moet zijn.

3.5 PILOOTOPSTELLING

Tijdens het project werd er ook eendenkroos gekweekt op pilotschaal. Het bassin ligt naast een constructed wetland op het bedrijf Ivaco in Eernegem. De piloot heeft een diepte van 1,4 m. De bodem werd afgedekt met een zwart zeil om de invloed van opstijgend water (en nutriënten) uit de bodem en percolatie van groeimedum in de bodem te vermijden. De afmetingen worden weergegeven in Figuur 17. De pilootopstelling in de praktijk staat weergegeven Figuur 18. Het maximale volume wordt geschat op 132,8 m³ maar doorgaans werd de put maar voor een 30-tal cm gevuld. Bovenaan de opstelling werden netten gespannen met behulp van staalkabels om de piloot af te schermen van watervogels. De piloot werd eveneens vanuit alle windrichtingen afgeschermd van wind, grotendeels door de omliggende rietvelden, maar ook gedeeltelijk door mais op een naburig perceel. De invloed van wind minimaliseren is belangrijk om ophoping van eendenkroos te verhinderen. Oen de competitie met algen te minimaliseren.



Figuur 17 afmetingen van de pilootopstelling



Figuur 18 Links de piloot in constructie. Rechts De piloot in werking. Een inoculatiecirkel met sensoren is links in beeld te zien, centraal wordt er toegezien op de skimmer die het eendenkroos oogst. Op de achtergrond zijn nog een deel van de netten te zien, aan de staalkabels werden ook de densiteitsmeters geplaatst

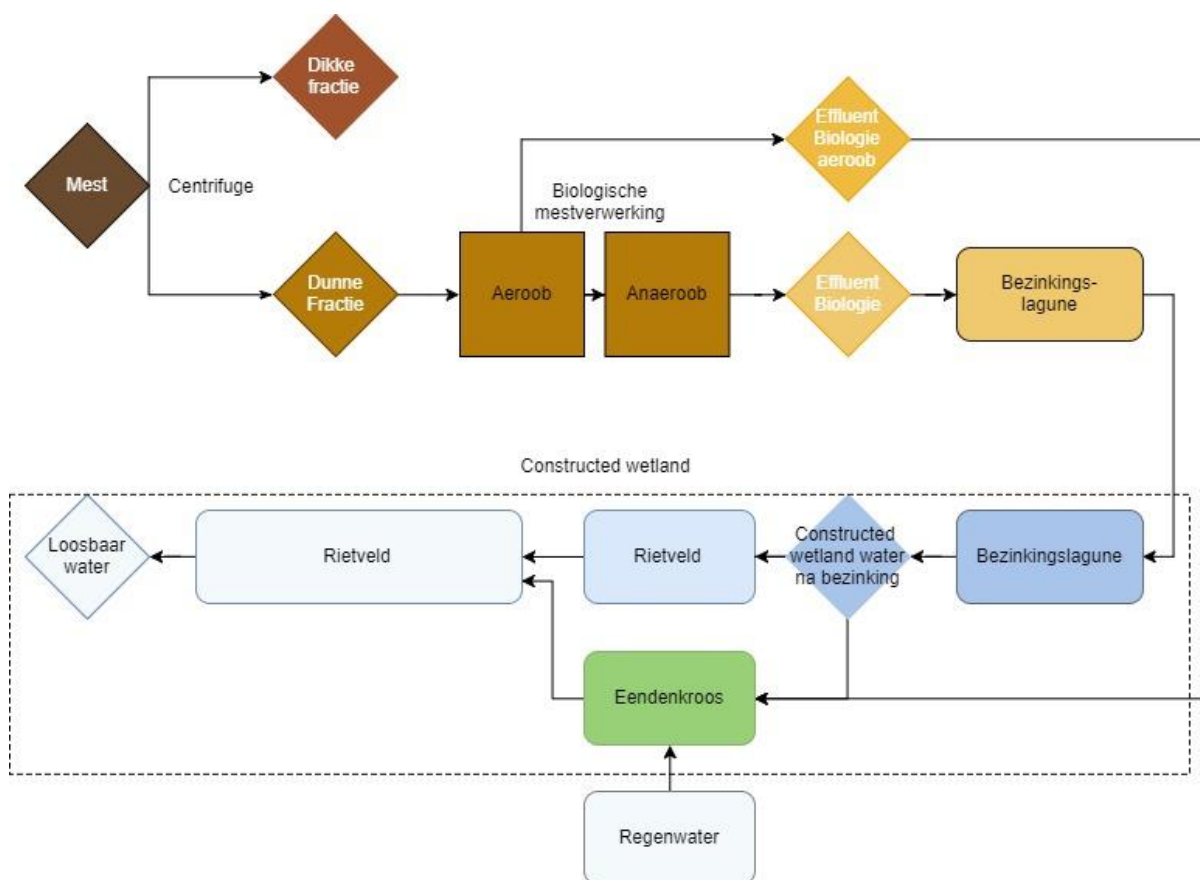
Op de site van Ivaco wordt varkensmest verwerkt door een biologische mestverwerking met een naverwerking via een constructed wetland. In de zomer van 2017 werd de eendenkrooslagune gevuld met het water uit het constructed wetland na bezinking (Figuur 18). Initieel was er een lichte groei tot er volledige bedekking werd vastgesteld, maar kort daarna daalde de bedekkingsgraad snel. Daarom werd de piloot overspannen met netten om vraat te verminderen. Het groeimedium in de piloot werd ververs en herinoculatie met groeikrachtig eendenkroos zorgende daarna voor een hergroei van het eendenkroos. Echter, opnieuw daalde de bedekkingsgraad na enkele weken. Analyses van het groeimedium toonden een tekort aan fosfor aan en een hoog zoutgehalte. De piloot werd daarom bemest met minerale fosfor (trifosfaat) en binnen een week bedekte eendenkroos het volledige oppervlak tot aan het einde van het groeiseizoen.

We kunnen hieruit concluderen dat bescherming tegen vraat van watervogels belangrijk is en dat het water van constructed wetlands door een gebrek aan fosfor maar een beperkte groei toelaat.

Om eendenkroos te kweken en algenstress te verhinderen is het aangeraden om eerst een volledige eendenkroosbedekking te verkrijgen en daarna pas nutriënten toevoegen. Dit komt omdat een ideaal mengsel voor eendenkroos ook een goeie algengroei toelaat, als algen dus in een dergelijk medium licht kunnen ontvangen zullen deze dus sterk groeien en het eendenkroos overwoekeren. Bij een volledige bedekking van eendenkroos hebben de algen echter geen kans. Daarom werd op 9 mei 2018, 3,7 kg eendenkroos geïnoculeerd op regenwater. Negentien dagen later was er een volledige

bedekking van eendenkroos. Opmerkelijk was de lange wortels van de plantjes, wat wijst op nutriëntentekort.

Op 28 mei werd de lagune van nutriënten voorzien door restwaters toe te voegen. Om het fosfortekort te verhelpen werd ook fosfor toegevoegd tot de optimale concentratie. In tegenstelling tot het groeiseizoen van 2017 werd een bedrijfseigen reststroom rijk aan fosfor gebruikt. De lagune werd gevuld met 26 m³ water uit de constructed wetlands na de bezinkingstap en 5 m³ effluent van de aerobe nitrificatiestap van de biologische mestverwerking. Omwille van het hoog zoutgehalte in restwaters uit de mestverwerking wordt het water nog aangelengd met 17 m³ regenwater (Figuur 19). Het totale volume bedroeg 48 m³, de samenstelling is terug te vinden Tabel 6.



Figuur 19 schematische voorstelling van de pilootopstelling en de restwaters die gebruikt werden voor het vullen van de pilootopstelling

Gedurende de periode tussen 28 mei en 6 augustus werd de N- en P-verwijdering geschat door de concentraties van start en einde te vergelijken (Tabel 6). In die periode werd een N-verwijdering van 876 mg N/m²/d geschat. Hoewel dit een onderschatting kan zijn omdat er ook organisch gebonden stikstof gemineraliseerd kan worden tijdens de waarnemingsperiode. De P-verwijdering was zelfs positief. Er werd dus meer gemineraliseerd dan dat er werd opgenomen. De aangroei bedroeg 42 mg P/m²/d. We concluderen dat door de bacteriële werking in de eendenkroosmat en door de opname van nutriënten door eendenkroos het N-gehalte in het water daalt maar dat dit niet noodzakelijk geldt voor fosfor.

Tabel 6 De zuurtegraad, geleidbaarheid en oplosbaar ammonium, nitriet, nitraat en fosfor in pilootopstelling op 28 mei, 3 juni en 6 augustus 2018

	pH	EC mS/cm	NH ₄ _N mg/l	NO ₂ _N mg/l	NO ₃ _N mg/l	totN mg/l	P mg/l	Volume m ³
Lagune 28/05	7,8	5,6	12	4,8	73	90	5,3	48
Lagune 3/06	8,0	4,7	6,6	1,9	56	64	2,7	/
Lagune 6/08	9,1	7,7	2,5	0,28	1,8	4,6	13,0	35

Op 6 augustus daalde de bedekkingsgraad van het eendenkroos. De lage N concentratie en de verhoogde geleidbaarheid leken de belangrijkste redenen voor eendenkroossterfte. Er werd overwogen om effluent van de biologische mestverwerking toe te voegen om zo het nutriëntgehalte te verhogen, maar dan werd onlosmakelijk het zoutgehalte ook hoger, met als gevolg dat beslist werd de lagune terug leeg te maken en de proef te herstarten.

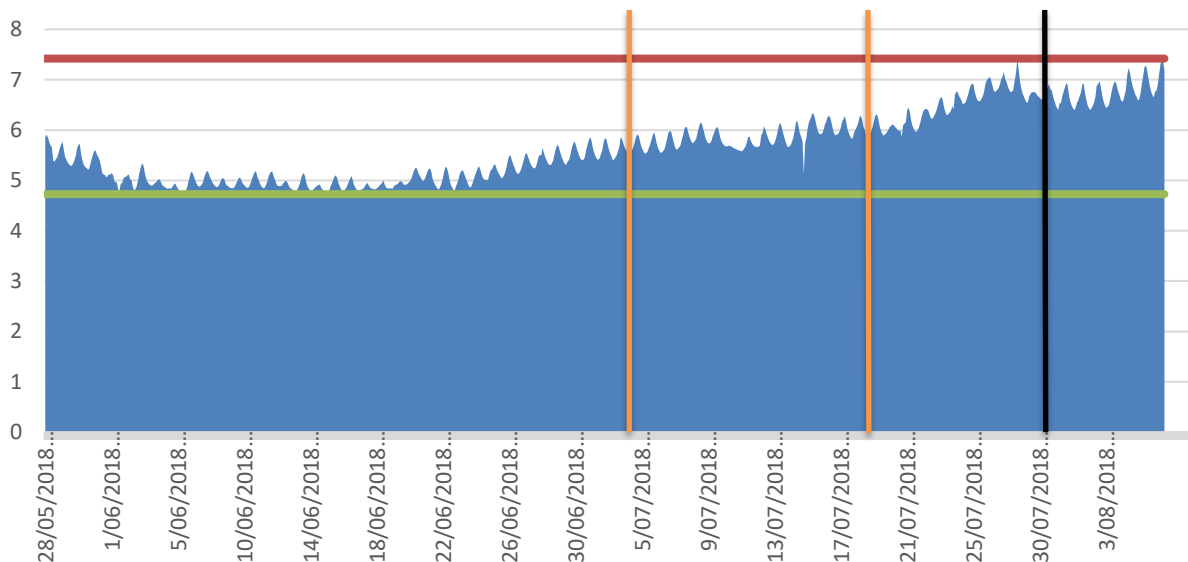


Figuur 20 Oogst van de piloot op 28 juli 2018. Een skimmer zuigt de bovenste waterlaag af deze wordt door een voederzak gepompt. De zak filtert het kroos uit het water

Op 4 juli werd een eerste keer echt geoogst tot de eendenkroosmat het wateroppervlak net niet meer volledig bedekte (zie Figuur 20). De opbrengst bedroeg 80 kg vers gewicht (VG). Twee weken later, 18/07, werd er opnieuw geoogst tot er net geen volledige bedekking was, De oogst bedroeg 100 kg VG. Daarna werd nogmaals geoogst op 30 juli tot de optimale densiteit werd bereikt, de oogst werd toen echter niet gewogen. De week erop op 6 juli was de bedekking echter gedaald waardoor besloten werd dat het medium niet meer geschikt was voor eendenkroosgroei.

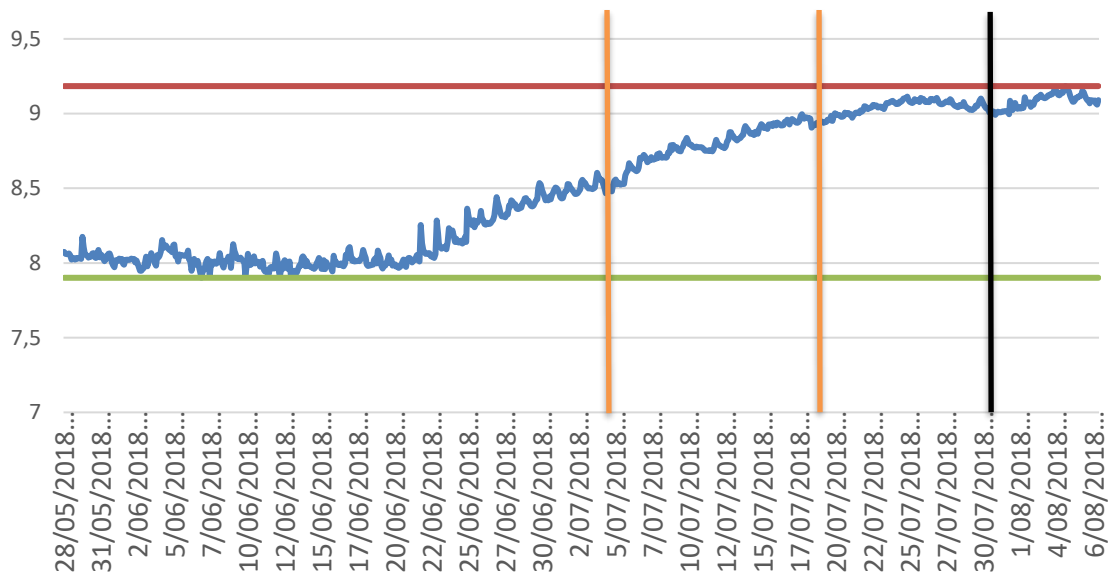
De geleidbaarheid, temperatuur, opgeloste zuurstof en pH werden ook consistent elke 2 uur bijgehouden via een meetmast. De geleidbaarheid tijdens de proef tussen 28 mei en 6 augustus wordt getoond in Figuur 21. De geleidbaarheid volgt een duidelijke dagelijkse cyclus. Rond zonsondergang bereikt de geleidbaarheid zijn dagelijks maximum, waarna het stilaan terug daalt tot voor zonsopgang. De dagelijkse variatie ligt rond de 0,35 mS/cm. Daarnaast is er ook vanaf 22 juni een geleidelijk stijgende trend in geleidbaarheid waar te nemen. Het maximum wordt bereikt op 29 juni en 6 augustus

en bedraagt 7,4 mS/cm. Het verschil tussen de maximale en minimale EC bedraagt 2,7 mS/cm. Een daling van de EC kan verklaard worden door regenval, opname van nutriënten en condensatie van waterdamp. Een stijging van de EC kan verklaard worden door evaporatie van water. Uit onze resultaten kunnen we afleiden dat een periode van langdurige droogte ervoor kan zorgen dat de geleidbaarheid sterk oploopt. In dit geval bedraagt de stijging 32 % van ten opzichte van het oorspronkelijke startmedium. Deze stijging van de geleidbaarheid wordt aangehaald als 1 van de oorzaken van de sterfte van eendenkroos die vastgesteld werd tussen 31 juli en 6 augustus.



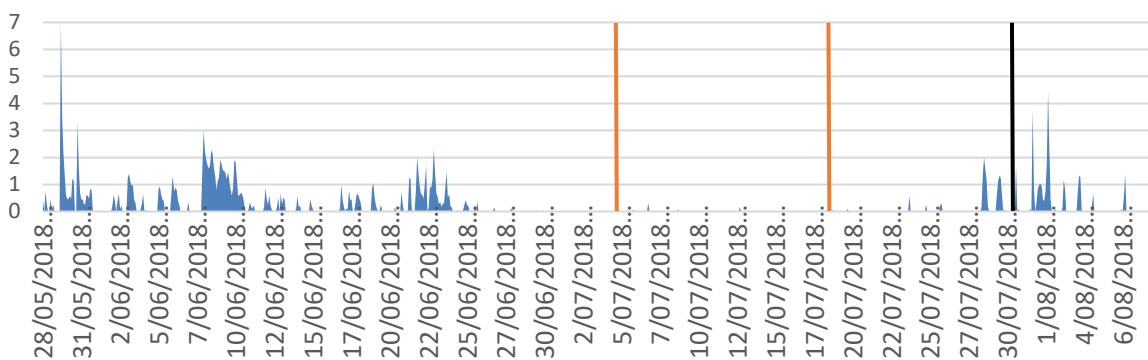
Figuur 21 Geleidbaarheid in de pilootopstelling tussen 28 mei en 6 augustus 2018. De oranje lijnen duiden de start en het einde aan van de groeiperiode waar er 100 kg VG werd geoogst, de zwarte lijn toont het begin aan waarna er geen positieve groei meer werd vastgesteld

Naast de stijgende geleidbaarheid is ook de stijgende pH één van de oorzaken van een ongunstig groeimedium. De pH toont een relatief constante waarde, afgezien van de dagelijkse variatie, tot 21 juni (zie Figuur 22). Daarna kent het een sterke stijging tot ongeveer 22 augustus waarna de pH stagneert rond de 9,1. De maximale pH in deze periode bedroeg 9,2. Dit overschrijdt de maximale bovengrens die eendenkroosgroei toelaat. Een mogelijke verklaring die hier kan aan gegeven worden, is het alkalisch effect van opname van nitraten door eendenkroos. Ook denitrificatie zorgt voor een meer alkalisch groeimedium. Nitrificatie en opname van ammonium door eendenkroos werken dit alkalisch effect wel tegen. De aanwezigheid van ammonium in het water heeft dus een verzurend effect en de aanwezigheid van nitraat een alkalisch effect. Hoewel in het groeimedium zowel ammonium als nitraat aanwezig was, overweegt het alkalisch effect bij het restwater van de varkensmestverwerking.



Figuur 22 De pH in de pilootopstelling tussen 28 mei en 6 augustus 2018. De oranje lijnen duiden de start en het einde aan van de groeiperiode waar er 100 kg VG werd geoogst, de zwarte lijn toont het begin aan waarna er geen positieve groei meer werd vastgesteld

De temperatuur en de opgeloste zuurstof volgen minder duidelijke trends. Tussen 25 juni en 27 juli wordt echter nooit meer dan 0,6 mg O₂/l gemeten (zie Figuur 23). Tussen de groeiperiode van 4 en 18 juli werd 100 kg geoogst ondanks dat het zuurstofgehalte laag was. De gemiddelde watertemperatuur bedroeg 19 ± 2°C. We kunnen hieruit concluderen dat eendenkroos geen hoge zuurstofgehaltenes in het water nodig heeft om te groeien.



Figuur 23 De opgeloste zuurstof in de piloot tussen 28 mei en 6 augustus 2018. De oranje lijnen duiden de start en het einde aan van de groeiperiode waar er 100 kg VG werd geoogst, de zwarte lijn toont het begin aan waarna er geen positieve groei meer werd vastgesteld

Op 28 augustus 2018 werd de lagune gevuld met 6 m³ zuiver leidingwater en 4 m³ effluent van de aerobe nitrificatiestap in de biologische verwerking. Ook hier werd de temperatuur, pH, opgeloste zuurstof en geleidbaarheid continu gemeten. Hier zijn echter geen duidelijke trends zichtbaar. De temperatuur (13 ± 2 °C), de pH (8,5 ± 0,1), het zuurstofgehalte (0,23 ± 0,55 mg O₂/l) en de geleidbaarheid (2,8 ± 0,4 mS/cm) werden ook bepaald tussen de periode van 28/08 en 17/10. Het

medium wordt dus gekenmerkt door een suboptimale hoge pH, een laag zuurstofgehalte en een relatief gunstige geleidbaarheid.

Vanaf 17 september was er volledige bedekking door eendenkroos en vanaf dan werd er wekelijks een wateranalyse uitgevoerd op meerdere parameters en werd de groei bepaald door telkens al het eendenkroos te oogsten. De resultaten staan weergegeven in Tabel 7.

Tabel 7 opbrengst van de piloot tussen de periode 24 september en 8 oktober

Datum	Opbrengst VG (g/m ² /d)	Opbrengst DG (g/m ² /d)	Totale biomassa op de piloot (kg VG) ⁴	Totale startgewicht (kg VG)	Opbrengst op cubiccontainer-cascade (g DG/m ² /d)
24/09	25	2,0	41	31	2,7
1/10	27	2,1	52	41	4,5
8/10	49	3,9	46	25	3,1

VG: vers gewicht

DG: droog gewicht

De opbrengst ligt in dezelfde grootteorde in de piloot als in de cubiccontainercascades. Een vergelijking tussen de cubiccontainercascade op restwaters uit de mestverwerking en de piloot is interessant omdat ze enkele gelijkenissen vertonen, met name:

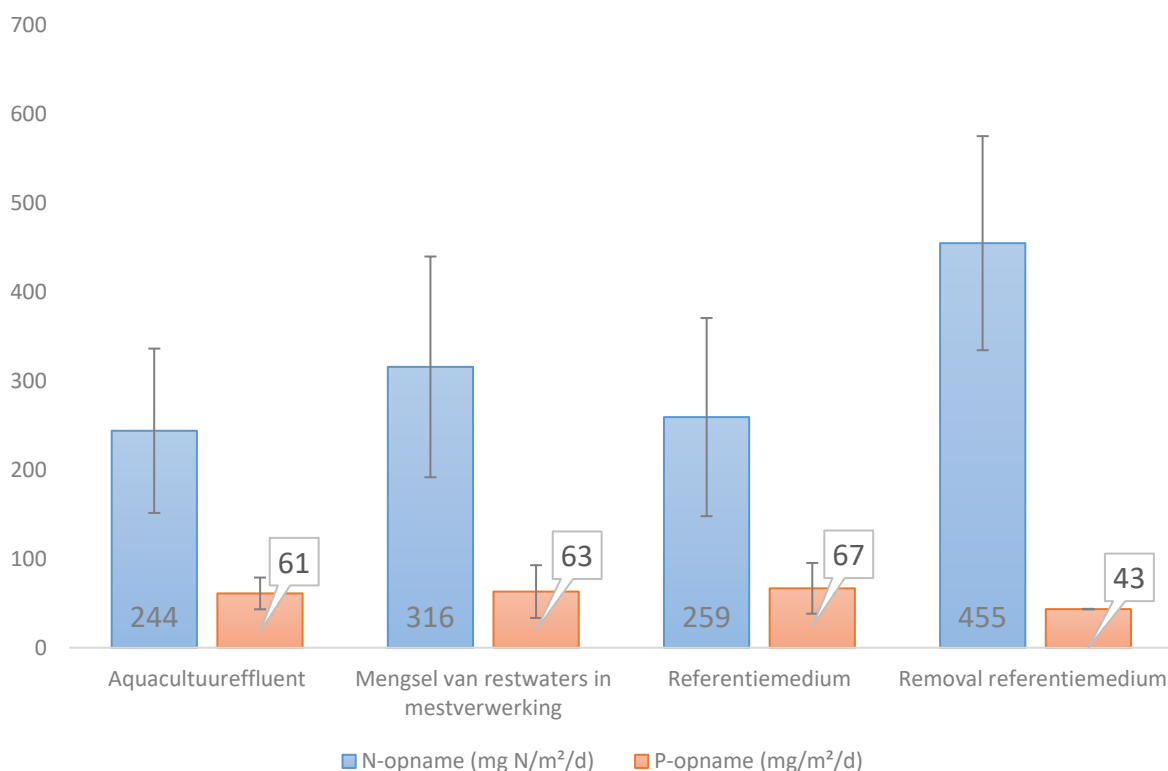
- beide proeven werden getest op dezelfde locatie in Eernegem en zijn dus aan hetzelfde klimaat onderhevig,
- beide zijn een mix van regenwater en anaerobe biologie,
- beide hebben een gelijkaardige dichtheid bij inoculatie (met uitzondering van de groeiperiode tussen 24/09 en 1/10, daar is echter de densiteit van de piloot 890 g VG/m², dit kan voor een grotere competitie gezorgd hebben voor nutriënten en licht).

We kunnen echter geen significante verschillen in opbrengst vaststellen tussen de cubiccontainerschaal en pilotschaal. Opschalen kan positief zijn zoals op 8/10 maar ook negatief zoals op 24/09 (zie tabel Tabel 7). Een meer gerichte proef naar het effect van opschalen waarin meer omstandigheden gelijk zijn, kan tot hardere conclusies leiden. De huidige proef is wel een sterke indicatie dat het opbrengspotentieel gelijkaardig is aan wat weergegeven wordt in Figuur 9.

3.6 OPNAME VAN NUTRIËNTEN

Uit Figuur 24 blijkt dat eendenkroos N en P verwijderd uit het medium. Deze N en P worden dan onder andere gebruikt voor de productie van eiwitten. Opvallend is dat de P opname in de drie cubiccontainercascades niet significant varieert tussen de verschillende media ondanks dat het mengsel van restwater uit de varkensmestverwerking meer P bevat dan het referentiemedium. De P-verwijdering werd in een bakkenproef ook getest. De verwijdering van P ligt daar wel lager, maar dit ligt aan het feit dat de P limiterend werd op het einde van de tijdsperiode waarin getest werd.

⁴ De totale biomassa op de piloot tijdens de proef op eind september ligt lager dan de biomassa op de piloot geoogst in juli omdat de oppervlakte (59m²) beduidend lager is in de laatste groeiproeven. Dit komt door het verschil in hoeveelheid water tussen de twee periodes.



Figuur 24 Nutriëntenopname van eendenkroos waargenomen in de cubicontainercascades

De opname van P ligt tussen de 61 en 67 mg P/m²/d, wat overeenkomt met 11 tot 12 g/m²/groei seizoen. Dit is zeer gelijkaardig aan de verwijdering onder een rietveld. Daar wordt namelijk tussen de 10 en 20 g P/m²/jaar verwijderd.

De N-opname is wel afhankelijk van het medium dat gebruikt wordt. Voor aquacultuur en het referentiemedium ligt de opname op ongeveer 250 mg N/m²/d. Ondanks dat het N-gehalte van het referentiemedium hoger ligt, zorgt dit niet voor een significante grotere opname. De opname van N bij het restwater van de mestverwerking ligt echter wel hoger dan dat van het referentiemedium. Ondanks dat het N-gehalte van het water van deze twee media erg gelijkaardig is en dat ook het N-gehalte gelijk is in beide eendenkroospopulaties, heb je toch een significant hogere opname bij het mestverwerkingswater. Dit is te verklaren door de significant betere groei van eendenkroos op dit medium.

Let wel, er spelen verschillende processen een rol in de verwijdering van N en P, naast de opname door eendenkroos is er ook (1) N-afbraak door bacteriën en fysische volatiliteit van ammonium en (2) verwijdering van P uit oplossing door sedimentatie van P-gebonden deeltjes. De N-verwijdering in de bakkenproef ligt daardoor hoger dan de opname die we waargenomen hebben in de cubicontainerproeven. De verwijdering ligt rond de 455 mg N/m²/d. Dit komt overeen met ongeveer 82 g N/m²/groei seizoen. Voor een rietveld wordt geschat dat de verwijdering rond de 250 à 630 g N/m²/jaar ligt (Vymazal, 2007). De totale verwijdering hangt echter af van het klimaat, het medium, en het zuurstofniveau. Een andere grote invloed is ook de diepte en de verhouding met het oppervlak van het bassin. De N-verwijdering op de piloot werd bijvoorbeeld geschat op 876 g N/m²/d, wat hoger is dan in de bakkenproeven werd vastgesteld. Meer gericht de verschillende processen in het water in kaart brengen en kwantificeren is hier aangewezen.

In het geval van effluent van de aquacultuur blijkt ook dat ondanks het N- en P-gehalte zich haast onder de loosbare normen bevinden, de opname toch relatief gelijk is aan de andere media. Zo hebben we een indicatie van het nutriënten-verwijderend vermogen van eendenkroos bij zowel zeer nutriëntrijke en relatief arme restwaters.

Als conclusie kunnen we stellen dat ondanks de invloed van het medium op de samenstelling en de groei van eendenkroos (zie 3.4), dit niet zorgt voor een verschil in P-opname en een beperkt verschil in N-opname van de eendenkroosmat.

3.7 VOEDSELVEILIGHEID

De microbiologische veiligheid is van essentieel belang indien het product voor diervoeder of humane voeding zal worden aangewend. Met het zicht op verdere verwerkingstoepassingen van eendenkroos werden daarom analyses uitgevoerd op eendenkroosstalen van verschillende oorsprong en het medium waarop het eendenkroos werd gekweekt. De microbiologische parameters die werden bekeken zijn:

- Aanwezigheid van ***E. coli*** is een indicatie van fecale besmetting en de mogelijke aanwezigheid van ecologisch gelijkaardige pathogenen (bv, *Salmonella*).
- **STEC** zijn shiga-toxine producerende *E. coli*. Het shiga-toxine is een gifstof dat door de bacterie wordt aangemaakt en schade veroorzaakt aan de cellen in de darmwand.
- ***Clostridium perfringens*** is een bacterie die voedselvergiftiging kan veroorzaken.
- ***Salmonella*** kan bij de mens via de orale route ziekte induceren zoals gastro-enteritis, systeemziekten van organen en tyfus.
- De bacterie ***Campylobacter*** leeft in de darmen van dieren en komt via hun uitwerpselen bijna overal op voor. Ze overleven goed op voedingsmiddelen, maar groeien er niet op verder. *Campylobacter* veroorzaakt een voedselinfectie. Er zijn maar weinig *Campylobacter*-bacteriën nodig om ziek van te worden. Het zorgt jaarlijks voor meer ziektegevallen dan *Salmonella*.

Analyses werden uitgevoerd door het ILVO, Technologie & Voeding. De analyses voor het eendenkroos staan samengevat in Tabel 8. De analyses van de verschillende groeimmedia staan samengevat in Tabel 9.

Tabel 8 Microbiologische analyse van eendenkroos gekweekt op verschillende media, zijnde: aquacultuur restwater, een synthetisch referentiemedium (N-medium, Appenroth) en twee opstellingen met restwater van de varkensmestverwerking (Ivaco casc. en piloot), (NA = Niet aangetoond)

	Referentie-medium	Aquacultuur-effluent	Mengsel van restwaters in mestverwerking	Piloot gevuld met mengsel van restwaters mestverwerking
<i>E. coli</i>	<10,0 kve/g	<10,0 kve/g	10 kve/g	<10,0 kve/g
STEC	NA	NA	NA	NA
<i>Clostridium perfringens</i>	NA	NA	NA	NA
<i>Salmonella</i>	NA	NA	NA	NA
<i>Campylobacter</i>	NA	vermoedelijk aanwezig	NA	NA

Tabel 9 Microbiologische analyse van verschillende media waarop eendenkroos werd gekweekt, zijnde: aquacultuur restwater, een referentiemedium (N-medium, Appenroth) en twee opstellingen met restwater van de varkensmestverwerking (Ivaco casc. en piloot), (NA = niet aangetoond)

	Referentie- medium	Aquacultuur- effluent	Mengsel van restwaters in mestverwerking	Piloot gevuld met mengel van restwaters mestverwerking
<i>E. coli</i>	2 kve / 100 ml	1 kve / 100 ml	2000 kve/100 ml	910 kve / 100 ml
STEC	NA	NA	NA	NA
<i>Clostridium</i> <i>perfringens</i>	NA	NA	NA	NA
<i>Salmonella</i>	NA	NA	NA	NA
<i>Campylobacter</i>	NA	NA	vermoedelijk aanwezig	NA

Eendenkroos gekweekt op een synthetisch referentiemedium en eendenkroos van de Ivaco piloot, waren beiden vrij van microbiologische besmetting. Eendenkroos gekweekt op aquacultuurmedium bevatte vermoedelijk *Campylobacter*. Eendenkroos van de Ivaco cascade bevatte enkel wat *E. coli*, maar dit was nog altijd lager dan de grenswaarde die door Europa wordt gesteld voor gehakt vlees 50 kve/g (cfr. verordening (EG) nr, 2073/2005).

Ook de gebruikte groeimedia zijn veelal vrij van de geteste pathogenen. Enkel de opstellingen met restwater van de varkensmestverwerking (Ivaco) bevatten beduidend meer *E. coli*. De aanwezigheid van *E. coli* in het restwater mag niet verbazen aangezien *E. coli* een typische darmbacterie is voor onder andere varkens. De aanwezigheid in het medium leidt echter niet rechtstreeks tot een probleem in het eendenkroos.

4 GEBRUIK VAN RESTSTROMEN VOOR DE TEELT VAN SPIRULINA

4.1 SPECIFIEKE EIGENSCHAPPEN VAN DE TEELT

Spirulina wordt van nature in carbonaatmeren aangetroffen met een hoge pH. Bij de teelt is het dan ook belangrijk om deze omstandigheden na te bootsen door het carbonaatgehalte hoog te houden. De hoge pH heeft wel een belangrijke invloed op de vorm waarin N beschikbaar moet zijn. Ammonium kent namelijk een hoge volatiliteit bij hoge pH en dit heeft een negatieve impact op het milieu en de beschikbaarheid van N voor *Spirulina*. Bovendien heeft ammonium een remmend effect op de groei van *Spirulina* vanaf een concentratie gelijk aan 36 mg/L, er is sprake van toxiciteit bij concentraties hoger dan 180 mg/L. Nitraat blijft wel stabiel in het medium bij hoge pH waardoor deze vorm dan ook wordt verkozen als N-bron.

Bovendien groeien de microalgen in het groeimedium, waardoor de toegankelijkheid van licht een belangrijke factor is. De mate van troebelheid van een kandidaat-restwater werd enerzijds visueel geëvalueerd en anderzijds bepaald aan de hand van een meting van de optische dichtheid bij 750 nm. Verder was ook de afwezigheid van andere microalgen een belangrijke voorwaarde aangezien deze anders bij de start van een teelt de *Spirulina* te fel zouden beconcurreren, met het risico op een complete overname van de cultuur.

Op basis van de selectiecriteria pH, ammonium-gehalte, aanwezigheid concurrentiële (micro)algen en troebelheid werden potentiële agrarische nevenstromen geselecteerd waarop *Spirulina* geteeld zou kunnen worden.

4.2 GROEIPROEF

Op basis van de eerder genoemde selectiecriteria kwamen twee kandidaat-restwaters in aanmerking om een teeltproef op te starten in de raceway ponds. In eerste instantie werd een mengeling genomen van enerzijds spoelwater van de *Spirulina*-teelt afkomstig van de teler en Projectpartner Light AnKo Projects en anderzijds een extract van grasbermmaaisel. De tweede nevenstroom was spoelwater afkomstig van een viskwekerij op het PCG. De twee reststromen zouden dan vergeleken worden op vlak van nutriëntopname en productie van *Spirulina*-biomassa met een controle-object dat groeit op een kunstmatig samengesteld medium.

Beide restwaters werden geanalyseerd op hun volledige nutritionele samenstelling om de referentiewaarden te bepalen zodoende de opname van de verschillende nutriënten te kwantificeren doorheen de tijd. Het restwater met het grasextract had hierbij de hoogste EC en pH.

Om een selectief voordeel op vlak van nutriëntbeschikbaarheid te vermijden tussen de drie verschillende behandelingen (kunstmatig medium, spoelwater+grasextract, viswater) werd het niveau van quasi alle macro- en micro-nutriënten zoveel mogelijk gelijk gebracht voor de drie media. Op deze manier zouden verschillen tussen de drie objecten hoofdzakelijk te wijten zijn aan de aard en biologie van de verschillende waters. Aangezien het medium met het grasextract de hoogste EC en pH had, werd ervoor gekozen om de andere twee media op hetzelfde nutritionele niveau te brengen door toevoeging van kunstmeststoffen. Op 4/10/2018 werd bijbemest in ponds 1 en 2 omwille van een N-gebrek (zie ook Tabel 10).

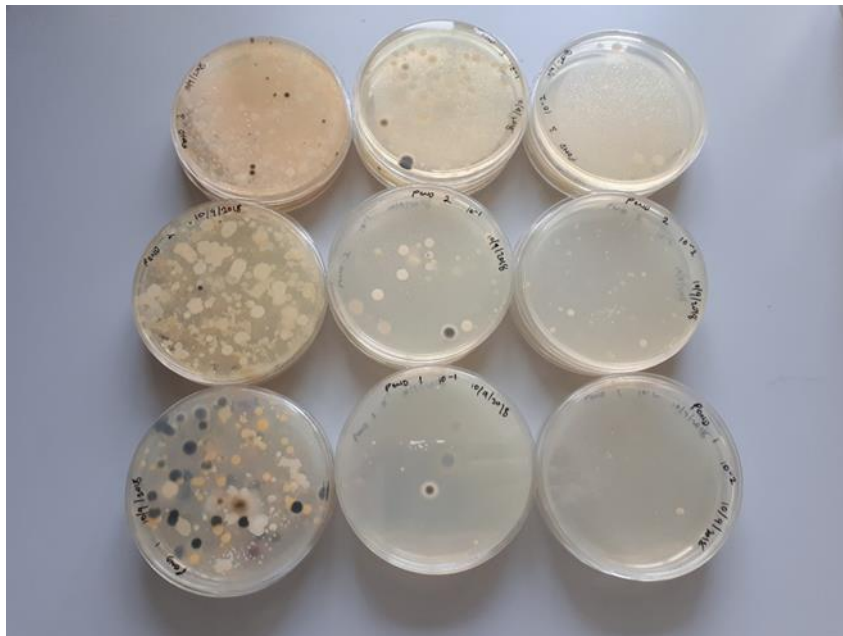
Tabel 10 Overzicht van de mestanalyses uitgevoerd op het kunstmatig medium (pond 1), het groeimedium bestaande uit Spirulina-spoelwater en grasextract (pond 2), en het groeimedium gebaseerd op visspoelwater (pond 3)

POND 1																				
		mS/cm	mmol/l										mmol/l	µmol/l						
Datum	pH	EC	NH ₄ ⁺	K ⁺	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	S (SO ₄ ²⁻)	HCO ₃ ⁻	P (H ₂ PO ₄ ⁻)	Si	Fe	Mn	Zn	B	Cu	Mo	
28/08/2018		13,90	0,20	11,40	132,62	1,30	0,40	5,30	15,50	3,60	117,80	1,92	0,00	0,30	0,60	0,30	1,50	0,90	0,70	
		14,00	0,20	11,48	133,57	1,31	0,40	5,34	15,61	3,63	118,65	1,93	0,00	0,30	0,60	0,30	1,51	0,91	0,71	
2/10/2018	9,30	13,50	0,00	9,70	145,30	0,60	0,20	1,40	92,60	2,60	43,80	1,04	0,02	0,30	0,60	0,30	1,50	0,90	0,70	
		14,00	0,00	10,06	150,68	0,62	0,21	1,45	96,03	2,70	45,42	1,08	0,02	0,31	0,62	0,31	1,56	0,93	0,73	
Bijbemesting 04/10/2018				+1,14				+3,65				+0,84		+11,70						
22/10/2018	9,50	14,50	0,10	8,50	186,40	0,30	0,20	5,20	87,30	2,20	42,10	1,32	0,00	0,00	0,00	0,20	2,00	0,50	0,60	
		14,00	0,10	8,21	179,97	0,29	0,19	5,02	84,29	2,12	40,65	1,27	0,00	0,00	0,00	0,19	1,93	0,48	0,58	
POND 2																				
28/08/2018	9,50	14,00	0,20	11,40	183,60	0,40	0,40	5,30	15,50	3,60	117,80	1,92	0,00	12,00	0,60	1,80	4,50	1,70	1,30	
		14,00	0,20	11,40	183,60	0,40	0,40	5,30	15,50	3,60	117,80	1,92	0,00	12,00	0,60	1,80	4,50	1,70	1,30	
2/10/2018	9,70	12,60	0,00	12,60	142,50	0,20	0,10	0,00	15,30	0,80	87,00	0,28	0,00	0,80	0,00	0,20	0,00	0,20	0,00	
		14,00	0,00	14,00	158,33	0,22	0,11	0,00	17,00	0,89	96,67	0,31	0,00	0,89	0,00	0,22	0,00	0,22	0,00	
Bijbemesting 04/10/2018				+1,61	+5,30			+5,30				+1,61		+11,11						
22/10/2018	10,00	12,80	0,00	2,00	169,10	0,00	0,00	4,20	17,00	0,50	45,60	0,40	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
		14,00	0,00	2,19	184,95	0,00	0,00	4,59	18,59	0,55	49,88	0,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
POND 3																				
28/08/2018	-	14,20	0,20	11,40	130,21	2,20	0,50	5,30	15,50	3,60	117,80	1,92	0,00	12,00	0,60	1,80	4,50	1,70	1,30	
		14,00	0,20	11,24	128,38	2,17	0,49	5,23	15,28	3,55	116,14	1,89	0,00	11,83	0,59	1,77	4,44	1,68	1,28	
30/08/2018	6,80	10,40	0,20	0,00	3,00	0,10	0,00	5,00	12,40	0,00	3,60	0,00	0,01	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	
		14,00	0,21	0,00	3,11	0,10	0,00	5,19	12,86	0,00	3,73	0,00	0,01	0,52	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

De groeimedia werden in de ponds aangemaakt op 28/08/2018 voor een volume van 900 liter waarbij de dag nadien de enting gebeurde met 100 liter *Spirulina*-oplossing in elke pond.

Uit de analyses zoals weergegeven in Tabel 10 is ook duidelijk dat pond 3 met het viswater onmiddellijk na inoculatie crashte. Een nutriëntanalyse van het water toont ook aan dat nagenoeg alle nutriënten verdwenen zijn. Ook viel bij de sensormetingen van het opgeloste zuurstof-gehalte (DO-gehalte) te zien dat het zuurstof in het water progressief afnam. Vermoedelijk werd dit helemaal opgebruikt door de aanwezigheid van een grote kolonie nitrificerende bacteriën aangezien de herkomst van het gebruikte viswater in verbinding staat met een biofilter die geïnoculeerd was met deze bacteriën (zie ook Figuur 25). Mogelijks waren deze bacteriën additioneel in concurrentie met de geïnoculeerde *Spirulina* voor de beschikbare nutriënten waardoor de cultuur uiteindelijk crashte.

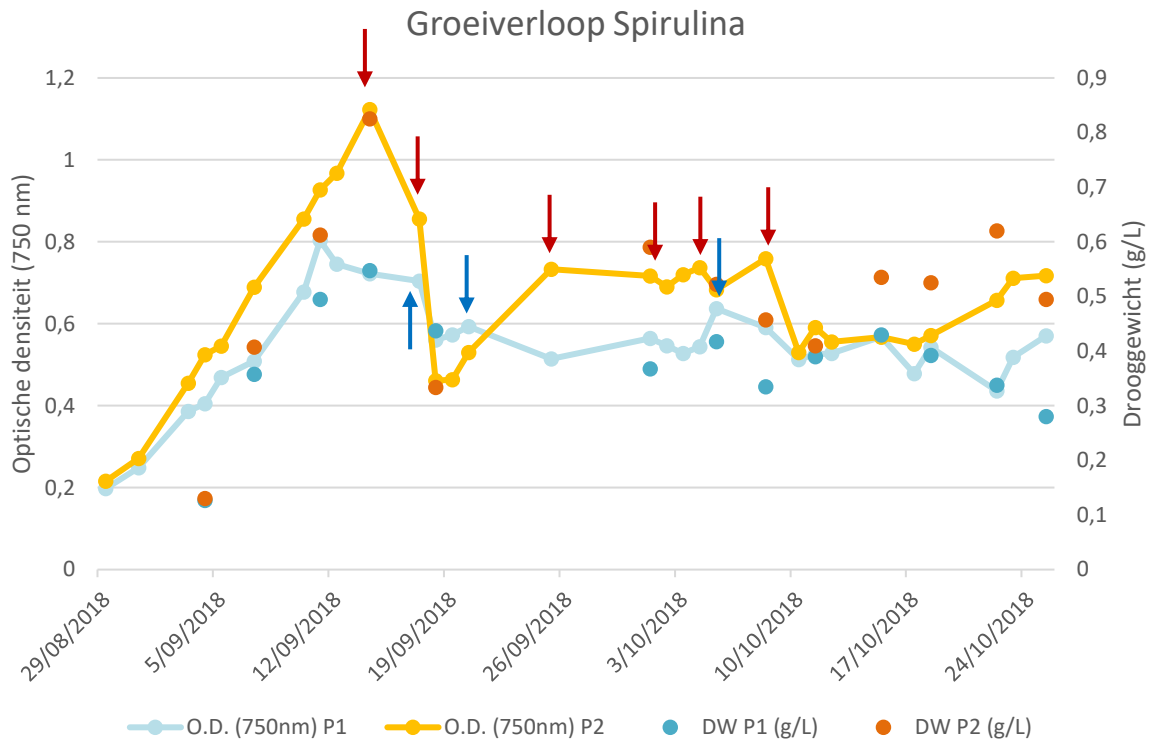
Een factor die mogelijks ook heeft meegespeeld bij de crash van de cultuur in pond 3 was het calcium-gehalte. Deze was namelijk een factor 11 hoger dan aangewezen met als gevolg chemische neerslagvorming van calciumfosfaat.



Figuur 25 Overzichtsbeeld van de uitplantingen van de verschillende waters uit pond 1 (kunstmatig medium), 2 (*Spirulina*-spoelwater en grasextract) en 3 (visspoelwater) op bacterieel groeimedum. Van onder naar boven: petriplaten van pond 1, 2 en 3, Van links naar rechts: verdunningsfactor 1:1, 1:10 en 1:100

Daaropvolgend werd een kleinschalige proef opgezet met viswater in flessenkweek in een klimaatkast. Het verschil met de teelt in de raceway pond was dat het viswater eerst ontsmet was met ozon om de microbiële concurrentie te elimineren, maar ook hier mislukte de kweek van *Spirulina* op het viswater.

De teelt van *Spirulina* in pond 2 was daarentegen wel mogelijk en verliep zelfs beter dan bij het kunstmatig samengestelde medium uit pond 1 (zie ook Figuur 26). Hoewel er soms voor projectdoeleinden geoogst werd uit pond 1, hetgeen niet geregistreerd is op de figuur, kan gesteld worden dat de kweek op spoelwater van de *Spirulina*-kwekerij in combinatie met grasextract een haalbare kaart is. Naast het goede teeltresultaat werd ook duidelijk dat er een goede opname doorging van het resterende N, P en K in het restwater. Er moest zelfs bijbemest worden om het aftsterven van de cultuur te vermijden, waarna er verdere opname van de toegevoegde nutriënten gebeurde.



Figuur 26 Groeiverloop van de Spirulina tijdens het nevenstromenexperiment, opgevolgd met O,D,-metingen en DS-bepalingen. De pijlen duiden momenten van oogsten aan

5 CONCLUSIE

In dit rapport werd onderzocht of eendenkroos nutriënten uit reststromen kan omzetten naar eiwitten en welke reststromen daarvoor interessant zijn. Als eerste stap werden verschillende reststromen in de brede land- en tuinbouwsector gekarakteriseerd. Uit de analyses kunnen we concluderen dat er 3 soorten reststromen zijn waar er potentieel ligt voor eendenkroos. De eerste stroom is spui van bodemloze teelten. Deze stromen hebben een ideaal nutriëntengehalte (N, P) en een gunstig zoutgehalte om zonder verdere modificaties als groeimedium te dienen voor eendenkroos. De tweede stroom is het effluent van viskwekerijen. Deze reststromen bevatten nutriënten waardoor lozen niet mogelijk is maar onvoldoende om optimale groei te bekomen. In dit onderzoek werd het effluent van de snoekbaars getest. De opbrengst in buitenomstandigheden met een groeiseizoen van 180 dagen kan toch minstens 9,4 ton/ha/jaar bedragen en de eiwitproductiviteit bedraagt bij deze teelt dan 3,2 ton/ha/jaar. De derde stroom is water uit de mestverwerking en vergisting. Hier is heel wat variatie tussen de voorgaande verwerkingsstappen die al werden doorlopen, maar over het algemeen kan wel geconcludeerd worden dat het zoutgehalte vaak te hoog is voor gunstige eendenkroosgroei. Verdunnen is dus noodzakelijk. Het voordeel is wel dat via verschillende combinaties van bedrijfseigen restwaters een gunstig mengsel kan gemaakt worden voor eendenkroosgroei. In dit onderzoek werd het water uit de biologische mestverwerking genomen. De biomassa-productiviteit bedroeg hierop minstens 10,4 ton/ha/jaar met een eiwitproductiviteit van 3,8 ton/ha/jaar. Bij deze restwaters werd na analyse wel het gebrek aan fosfor in enkele stromen duidelijk. Onder de gekarakteriseerde reststromen zijn er ook enkele P-bronnen geïdentificeerd, nl.: struviet, spoelwater van een melkrobot en melkwei.

Uit onze resultaten werd duidelijk dat zowel de biomassa- als eiwitproductiviteit van eendenkroos geteeld op restwaters hoger ligt voor eendenkroos dan voor soja in Brazilië. Dit heeft als gevolg dat men de totale eiwitvraag op een kleiner oppervlak kan voorzien door over te schakelen op eendenkroosteelt vergeleken met sojateelt of andere landgebonden eiwitgewassen.

Daarnaast werden er ook enkele interacties waargenomen tijdens de cubicontainerproeven.

- Het verschil in productiviteit van eendenkroos gegroeid op relatief arme reststromen zoals aquacultuur en relatief rijke reststromen zoals restwaters uit de mestverwerking is niet significant. Dit geeft indicatie dat er nog veel optimalisatie mogelijk is door in te zetten op selectie van sterker groeiende rassen of klonen.
- De nutriënteninhoud heeft een invloed op de samenstelling en kwaliteit van het eendenkroos. Bevat het water namelijk een optimale N verhouding dan is het eiwitgehalte van het eendenkroos ook hoger. Dit betekent ook dat eendenkroos dat groeit op water met een N-concentratie die de losbare normen benadert, een lager eiwitgehalte zal bevatten. Dit proces beïnvloedt de voederwaarde.

Tijdens het project was het doel om ook op pilotschaal eendenkroos te telen op restwaters. Uit de resultaten hebben we geleerd dat eendenkroos kan groeien op een medium met een relatief hoge pH en een laag zuurstofgehalte. Bovendien lijkt opschaling, mits enkele aanpassingen, geen negatief effect te hebben op de productiviteit van het eendenkroos.

Eendenkroos kweken als biologische waterzuiveraar, naast zijn eigenschappen als eiwitgewas, is ook mogelijk. We stelden vast dat eendenkroos N en P uit het water verwijdert met een opnamesnelheid van 244 - 316 mg N/m²/d en 61 - 67 mg P/m²/d. De verwijdering van N en P ligt doorgaans wel hoger door de invloed van bacteriën en sedimentatie.

Het gekweekt eendenkroos werd tijdens dit project ook geanalyseerd op de belangrijkste varkens- en mensenpathogenen. De resultaten blijken belovend naar voedselveiligheid. Enkel *Campylobacter* zou vermoedelijk aanwezig kunnen zijn op het eendenkroos geteeld op aquacultuur effluent. Echter dit betreft een eenmalige analyse op het einde van het groeiseizoen en biedt dus geen garanties op voederveiligheid.

In verband met het inzetten van secundaire reststromen als voedingsbron voor *Spirulina* kunnen we besluiten dat er aan enkele voorwaarden moet worden voldaan. Zo moet de calciumconcentratie in het water laag zijn en mag het geen toxische niveaus bevatten van de andere nutriënten (bijvoorbeeld ammonium). Daarbovenop moet dit water vrij helder zijn zodat fotosynthese niet belemmerd wordt, alsook vrij van andere concurrentiële (micro)algen.

Uit de groeiproef werd duidelijk dat een mengsel van spoelwater van een *Spirulina*-kwekerij en extract van grasbermmaaisel een waardig alternatief kan zijn voor het gebruik van regenwater mits toevoeging van additionele kunstmeststoffen.

Over het algemeen kan wel worden besloten dat zowel Eendenkroos als *Spirulina* in staat zijn biomassa en plantaardig eiwit te produceren uit reststromen en zo ingezet kan worden om de kringloop van nutriënten te sluiten en de landbouw te verduurzamen.

6 REFERENTIES

- Berckmoes, E., & Mechant, E. (2013). Telen zonder spui in de glastuinbouw, 38. Retrieved from <https://www.proefstation.be/wp-content/uploads/2015/07/BROCHURE-Telen-zonder-spui-26032014.pdf>
- Bouxin, A. (2017). *Statistical yearbook - 2016*. Retrieved from <http://www.fefac.eu/files/79278.pdf>
- Coudron, C., Devlamynck, & Van Havermaet, R. (2018). *MAXIMAAL HERGEBRUIK VAN HET MEDIUM SPIRULINA-TEELT*. Roeselare.
- Diaz, O. A., Reddy, K. R., & Moore Jr, P. A. (1994). Solubility of inorganic phosphorus in stream water as influenced by pH and calcium concentration. *Water Research*, 28(8), 1755–1763. Retrieved from <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0043135494902488>
- Landolt, E., & Kandeler, R. (1987). *Biosystematic investigations in the family of duckweeds (Lemnaceae), Vol. 4: the family of Lemnaceae-a monographic study, Vol. 2 (phytochemistry, physiology, des Geobotanischen Instituts der ETH)*. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DE88P0034>
- Reckmann, K., Blank, R., Traulsen, I., & Krieter, J. (2016). Comparative life cycle assessment (LCA) of pork using different protein sources in pig feed. *Archiv Fuer Tierzucht*, 59(1), 27. Retrieved from <http://search.proquest.com/openview/338928d7e3f082a70c48146b8dc0d3fc/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2037688>
- Sigurnjak, I., Vaneekhaute, C., Michels, E., Ryckaert, B., Ghekiere, G., Tack, F. M. G., & Meers, E. (2017). Fertilizer performance of liquid fraction of digestate as synthetic nitrogen substitute in silage maize cultivation for three consecutive years. *Science of The Total Environment*, 599–600, 1885–1894. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2017.05.120>
- SOPA. (2017). World Soybean Productivity | SOPA. Retrieved December 12, 2017, from <http://www.sopa.org/statistics/world-soybean-productivity/>
- Ulrich, W. (1987). Nitrate and ammonium uptake in green algae and higher plants: mechanism and relationship with nitrate metabolism. *Inorganic Nitrogen Metabolism/Edited by WR Ulrich*. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201302063452>
- Van der Meijden, R. (2005). *Heukels flora van Nederland* (23rd ed.). Wolters-Noordhoff.
- van der Mheen, H. J., & Timmer, R. D. (2013). *Perspectief inlandse teelt eiwithoudende gewassen voor de mengvoederindustrie*. Wageningen.
- Vemis. (2017). *Een luchtwasser wat nu? Deel 1: biologische luchtwassers*.
- Vymazal, J. (2007). Removal of nutrients in various types of constructed wetlands. *Science of The Total Environment*, 380(1–3), 48–65. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2006.09.014>
- Ziegler, P., Adelman, K., Zimmer, S., Schmidt, C., & Appenroth, K.-J. (2015). Relative *in vitro* growth rates of duckweeds (Lemnaceae) - the most rapidly growing higher plants. *Plant Biology*, 17, 33–41. <https://doi.org/10.1111/plb.12184>

COLOFON

Dit rapport kwam tot stand in het project “De Blauwe Keten” in het Interreg V-programma Vlaanderen-Nederland, het grensoverschrijdend samenwerkingsprogramma met financiële steun van het Europese Fonds voor Regionale Ontwikkeling.

Meer info: <http://www.grensregio.eu/projecten/de-blauwe-keten>

