

32/446(120) 2^e ex.

BIBLIOTHEEK
STARINGCENTRUM

Structuurveranderingen door toevoeging van kleimineralen aan lemig zand

**D. Schoonderbeek
J.F.Th. Schoute**

Rapport 120

STARING CENTRUM, Wageningen, 1990

CENTRALE LANDBOUWCATALOGUS



0000 0460 2211

19 FEB. 1991

18h 530162 *

REFERAAT

Schoonderbeek, D. & J.F.Th. Schoute, 1990. *Structuurveranderingen door toevoeging van kleimineralen aan lemig zand*. Wageningen, Staring Centrum. Rapport 120. 24 blz.; 4 afb.; 3 tab.

Uit onderzoek blijkt dat toevoeging van het kleimineraal bentoniet aan 'lemig zand' een verbeterde overleving van geïntroduceerde microorganismen te zien geeft, terwijl bij toevoeging van het kleimineraal kaolinit dit effect niet optreedt. Bentoniet zou de vorming van microniches mogelijk maken. Daarom is een onderzoek naar verschillen in microporositeit uitgevoerd aan slijpplaatjes van grondmonsters waaraan respectievelijk 10% kaolinit of bentoniet is toegevoegd. Bij dit onderzoek is gebruik gemaakt van verschillende technieken zoals elektronenmicroscopie, lichtmicroscopie, en beeldanalyse. Naast de microporositeit zijn ook de opake en minerale bestanddelen van de verschillende grondmonsters geanalyseerd. Mogelijke aanbevelingen voor eventueel vervolgonderzoek zijn aangegeven.

Trefwoorden: Microorganismen, Microporositeit, Lemig zand, Lemig zand met 10% kaolinittoevoeging, Lemig zand met 10% bentoniettoevoeging, Slijpplaatjes, Scanning Elektronenmicroscop (SEM), Backscattered Electron Scanning Images (BESI), Beeldanalyse, Lichtmicroscopie.

ISSN 0924-3070

©1990

STARING CENTRUM Instituut voor Onderzoek van het Landelijk Gebied

Postbus 125, 6700 AC Wageningen

Tel.: 08370-74200; telefax: 08370-24812; telex: 75230 VISI-NL

Het Staring Centrum is een voortzetting van: het Instituut voor Cultuurtechniek en Waterhuishouding (ICW), het Instituut voor Onderzoek van Bestrijdingsmiddelen, afd. Milieu (IOB), de Afd. Landschapsbouw van het Rijksinstituut voor Onderzoek in de Bos- en Landschapsbouw "De Dorschkamp" (LB), en de Stichting voor Bodemkartering (STIBOKA).

Het Staring Centrum aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm en op welke andere wijze ook zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van het Staring Centrum.

Project 7118

[WIO/01-91]

INHOUD

SAMENVATTING	blz. 7
1 INLEIDING1	9
2 MATERIAAL EN METHODEN	11
3 METINGEN AAN BACKSCATTERBEELDEN (BESI)	13
4 LICHTMICROSCOPIE EN BEELDANALYSE	15
5 DISCUSSIE	17
6 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	19
LITERATUUR	21

FIGUREN

1 "Backscattered electron scanning images" (BESI), gemaakt met een elektronenmicroscop.	22-23
a 'lemig zand' (vergroting 50x).	
b 'lemig zand met 10% kaolinetbijmenging' (vergroting 50x).	
c 'lemig zand met 10% bentonietbijmenging' (vergroting 50x).	
2 BESI 'lemig zand met 10% bentonietbijmenging' (vergroting 50x). In grijze fase (bentoniet) zijn betrekkelijk grote, afgesloten holten (zwart) zichtbaar.	23

TABELLEN

1 Aantal poriën in Equivalent Cirkel Diameter-klassen	13
2 Oppervlakpercentages, aantallen en gemiddelde diameters van opake bestanddelen	15
3 Meetresultaten aan minerale korrels	16

SAMENVATTING

Bij het Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, vestiging Wageningen, vindt onderzoek naar de overleving van geïntroduceerde microorganismen in de bodem plaats. Uit dit onderzoek komt naar voren dat de overleving van Rhizobiumbacteriën in lemig zand sterk wordt verbeterd door bijmenging van bentoniet. Bijmenging van kaolinite blijkt geen verbeterde overleving op te leveren. Op grond van deze waarneming is de hypothese geopperd dat bentoniet de vorming van microniches mogelijk maakt, waarin bacteriën buiten bereik van hun predatoren kunnen overleven.

In opdracht van bovengenoemd instituut is nu een onderzoek naar verschillen in microporositeit uitgevoerd van monsters 'lemig zand' waaraan 10 gew. % kaolinite of 10 gew. % bentoniet is toegevoegd. Bij dit onderzoek is gebruik gemaakt van slijpplaatjes, elektronenmicroscopie, lichtmicroscopie en beeldanalyse. Naast de microporositeit zijn ook de opake en minerale bestanddelen van de verschillende soorten materialen op hoeveelheden, grootte en vorm geanalyseerd.

Het uitgangsmateriaal dat bij het aanmaken van de diverse soorten grondbmengsels is gebruikt blijkt nogal wat heterogeniteit te vertonen. De monsters met toevoeging van bentoniet laten geen verhoogde microporositeit zien ten opzichte van het uitgangsmateriaal 'lemig zand' en ten opzichte van 'lemig zand met toevoeging van kaolinite'. Wel blijken in het bentonietmateriaal van de monsters 'lemig zand met toevoeging van bentoniet' betrekkelijk grote, afgesloten holten voor te komen, waarin Rhizobiumbacteriën zouden kunnen overleven. Dit soort afgesloten holten is niet aangetroffen in de andersoortige monstermaterialen.

1 INLEIDING

Met het oog op het eventuele gebruik van microorganismen, met name bacteriën, ten behoeve van bevordering van plantaardige productie of afbraak van milieuvreemde stoffen in de bodem vindt bij het Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, vestiging Wageningen, onderzoek plaats naar de overleving van de geïntroduceerde microorganismen in de bodem. Uit onderzoek blijkt dat de overleving van de bacterie *Rhizobium* in lemig zand sterk wordt verbeterd door bijmenging van bentoniet. Bijmenging van kaolinite laat geen verbeterde overleving zien. De hypothese is nu dat bentoniet de vorming van microniches mogelijk maakt, waarin bacteriën kunnen overleven buiten bereik van eventuele predatoren. Deze predatoren, zoals protozoën, zijn groter dan 30 micrometer.

De vraag, gesteld aan de afdeling Micromorfologie & Bodemstructuur, is om aan drie soorten grondmonsters (lemig zand, lemig zand met toevoeging van 10 gewichtsprocenten kaolinite en lemig zand met toevoeging van 10 gewichtsprocenten bentoniet) de verschillen in de microporositeit te onderzoeken. De toevoegingen van kaolinite en bentoniet zijn op basis van gewichtsprocenten op droge grond. Belangrijke grenswaarden van poriëndiameters die bij overleving en predatie van de bacteriën een rol zouden kunnen spelen zijn 30, 15, 6 en 3 micrometer (mondelinge mededeling C.E. Heijnen; Heijnen et al. 1990).

2 MATERIAAL EN METHODEN

Volgens opgave is de samenstelling van het uitgangsmateriaal 83,8 % zand, 14,0% silt/klei en 2,2% organisch materiaal (zie Postma 1989).

Kaolinit (naar Kaolien, naar Chin Kao-ling, Chinese klei- of porceleinaarde) is een phyllosilicaat behorend tot de kandietgroep met de formule $\text{Al}_4(\text{Si}_4\text{O}_{10})(\text{OH})_8$ en ontstaat door verwerking (of hydrothermale omzetting) uit veldspaten, veldspatoiden en andere silicaten. Kaolinit vertoont geen of nauwelijks zwellende eigenschappen. Bentoniet, (naar vindplaats Fort Benton, Wyoming, US), is een tot de smectietgroep behorende ruwe klei met de chemische formule $(\text{Mg,Ca})_0.\text{Al}_2\text{O}_3.5\text{SiO}_2.n\text{H}_2\text{O}$. Bentoniet bezit sterk zwellende eigenschappen, en bij absorbtie van water is een volumetoename tot maximaal achtmaal het oorspronkelijke volume mogelijk (Mason and Bery 1967).

Van elk der drie soorten materialen zijn monsters in tweevoud aangeleverd, waarvan slijpplaatjes (4 x 4 cm) volgens de methode Miedema et al. (1974) zijn vervaardigd.

Voor kwantificering van de microporositeit (< 30 micrometer diameter) worden niet-afgedekte slijpplaatjes gebruikt. Deze worden met een Scanning Elektronen Microscoop (SEM) uitgerust met een Backscatter Detector geanalyseerd.

In fig. 1 zien we voorbeelden van 'Backscattered Electron Scanning Images' (BESI). Op deze beelden zijn poriën (zwart) duidelijk te onderscheiden van de grondmassa door verschillen in grijsniveaus. Het betreft hier Polaroid opnamen van het type 55 P(ositief)/N(egatief). Een negatief van dit type heeft een hoogscheidend vermogen, namelijk 150-160 lijnen per millimeter. Een dergelijk negatief is dan ook uitermate geschikt om beeldanalyse op uit te voeren (Schoonderbeek 1984).

Om te kunnen vaststellen of het uitgangsmateriaal, dat gebruikt is voor de diverse bijmengingen, wel voldoende homogeen van samenstelling is geweest, heeft nader lichtmicroscopisch en beeldanalytisch onderzoek plaatsgevonden. Voor deze analyses zijn afgedekte slijpplaatjes vervaardigd. Het beeldanalysesysteem, Quantimet 970, bestaat uit een scanner, verbonden met een lichtmicroscoop of een epidiascoop. De scanner neemt het optische beeld op en legt er een raster van vierkantjes over. Elk vierkantje, ook wel pixel genoemd, bezit een grijswaarde tussen 0 en 256. 0 is de waarde als de pixel afkomstig is van een zwart object en de waarde 255 behoort tot een wit object. Met behulp van een 2D-detector is het mogelijk om verschillende grijswaarden te detecteren (of te selecteren). Aan het nu ontstane binaire beeld is het mogelijk om verschillende metingen te doen. Er kunnen per meetveld en/of per object parameters als oppervlak, omtrek, aantallen worden berekend (Cambridge Instruments Ltd. 1988). De meetresultaten kunnen in histogrammen worden samengevat.

3 METINGEN AAN BACKSCATTERBEELDEN (BESI)

In fig. 1 zien we voorbeelden van BESI-opnamen. Het scheidend vermogen van de Quantimet 970 op deze foto's komt overeen met 1 beeldpunt = 52,9 nanometer lengte. Het oppervlak van 1 beeldpunt = 0,0028 vierkante micrometer. Per BESI-opname zijn 24 meetvelden geanalyseerd, elk meetveld (625 x 625 pixels) heeft een oppervlakte van 0,010937499 vierkante millimeter. Van elke afzonderlijke porie zijn het oppervlak, omtrek, lengte en breedte gemeten. Verder is een afgeleide grootte rondheid berekend: $\text{Rondheid} = (\text{omtrek} \times \text{omtrek}) / (4 \pi \times \text{oppervlak})$. De grootteverdeling van de poriën is uitgevoerd naar Equivalent Cirkel Diameter (E.C.D.) klassen. De Equivalent Cirkel Diameter = $2 \cdot (\text{oppervlak} / \pi)$. Van elke porie wordt het oppervlak gemeten. Dit oppervlak wordt voorts gerelateerd aan de diameter van een cirkel met een gelijk oppervlak als de porie.

In tabel 1 zijn de grootteverdelingen van de poriën in 6 Equivalent Cirkel Diameter-klassen gegeven.

Tabel 1 Aantal poriën in Equivalent Cirkel Diameter-klassen.

E.C.D. (µm)	Zand		Zand + 10% Kaol.		Zand + 10% Bent.	
	1	2	1	2	1	2
1- 3	207	444	479	696	248	267
3- 6	141	167	168	240	70	94
6-15	38	59	57	8	24	15
Totaal						
<15 E.C.D.	386	670	704	1018	342	376
15- 30	8	12	6	8	4	2
30-100	11	7	2	0	0	1
100-300	1	0	0	0	0	0
Totaal	406	689	712	1026	346	379

Zoals aangegeven in de inleiding was de verwachting dat de monsters met bentonietbijmenging een hogere microporositeit zouden vertonen dan de monsters met kaolinitbijmenging en dan het uitgangsmateriaal. Deze verwachting wordt door de metingen niet ondersteund. Integendeel, het aantal microporiën is het laagst bij de monsters met bentonietbijmenging en het hoogst bij de monsters met kaolinitbijmenging. Een verklaring hiervoor zou kunnen zijn dat bijmenging van kaolinit een meer losse, open pakking veroorzaakt, en deze ook behoudt na bevochtiging. Bijmenging van bentoniet veroorzaakt bij bevochtiging een sterke zwel. Het vormt dan een gelachtige oplossing, die als een modderachtige massa tussen het oorspronkelijke bodemmateriaal gaat zitten.

De metingen van de diverse slijpplaatjes vertonen een grote onderlinge spreiding. Daardoor is de vraag opgekomen of het uitgangsmateriaal, dat gebruikt is bij de diverse soorten grondmengsels, wel homogeen van samenstelling is geweest. Daarom zijn de monsters aan een verder lichtmicroscopisch en beeldanalytisch onderzoek onderworpen.

4 LICHTMICROSCOPIE EN BEELDANALYSE

Om de mate van heterogeniteit van het uitgangsmateriaal en de heterogeniteit tussen twee slijpplaatjes met overeenkomstig monstermateriaal onderling te kunnen vaststellen, zijn metingen uitgevoerd aan opake bestanddelen en minerale korrels. Met een lichtmicroscop gekoppeld aan de Quantimet 970 zijn de afgedekte slijpplaatjes geanalyseerd. Met doervallend licht zijn de opake bestanddelen in de slijpplaatjes zichtbaar en bezitten een duidelijk contrast (zwart) met de grondmassa en kunnen dan worden gekwantificeerd. De opake bestanddelen kunnen bestaan uit organisch materiaal, opake mineralen en/of ijzerverbindingen. Van de drie soorten monsters (zand, zand + 10% kaolinit en zand + 10% bentoniet) zijn 2 slijpplaatjes gemaakt en geanalyseerd. Per slijpplaatje zijn aselekt, met behulp van lotingstabellen, 64 meetvelden gekozen. Binnen elk meetveld is naast het totaal oppervlak-percentages opake bestanddelen ook het totaal aantal opake bestanddelen gemeten. In tabel 2 zijn de analyses samengevat.

Tabel 2 Oppervlakpercentages, aantallen en gemiddelde diameters van opake bestanddelen.

Monster	Gem. opp. % opaak	Totaal aantal	Gemiddelde diameter (μm)
zand1	5,26	4222	42,32
zand2	7,30	6039	50,50
Zand+10% Kaol.1	8,97	5700	47,86
Zand+10% Kaol.2	15,30	8217	49,71
Zand+10% Bent.1	4,52	4179	38,72
Zand+10% Bent.2	2,11	2430	36,40

Uit tabel 2 blijkt dat de verschillen tussen de twee slijpplaatjes met hetzelfde materiaal onderling groter zijn dan de verschillen in opake bestanddelen tussen de drie soorten monsters (gem. % opaak, totaal aantal opake bestanddelen, en gem. diameter). In de monsters met bentoniet komt, zoals te verwachten was, het laagste percentage en laagste aantal opake bestanddelen voor. Merkwaardig is echter dat de gemiddelde diameter van de opake bestanddelen in de monsters met bentoniet het laagst blijkt te zijn. Tevens is vreemd, dat de monsters met kaolinitbijmenging het hoogste aantal opake bestanddelen blijken te bezitten.

Hieruit blijkt dat het uitgangsmateriaal een grote mate van heterogeniteit vertoont. Om deze conclusie nog eens nader te verifiëren, zijn ook de minerale korrels op aantallen, grootte en vorm geanalyseerd. Om metingen aan korrels te kunnen verrichten, zijn er Polaroid foto's vervaardigd van microscopische opnamen met circulair gepolariseerd licht (Pape 1974). Op een dergelijke foto zijn minerale korrels wit tot grijs terwijl de andere bodembestanddelen en poriën donker grijs tot zwart zijn. Van de korrels is

gemeten: aantal, grootte, oppervlak en omtrek. Met behulp van deze laatste twee parameters is een rondheidsfactor berekend (zie boven).

Tabel 3 Meetresultaten aan minerale korrels.

Monster	Totaal aantal	Gemiddelde diameter*) (µm)	Rondheidsklassen			
			1-2	2-3	3-4	>4
zand1	497 (100%)	84	360 (72%)	76 (15%)	33 (7%)	28 (6%)
zand2	613 (100%)	72	380 (62%)	170 (28%)	38 (6%)	25 (4%)
Zand+K1	812 (100%)	48	512 (63%)	204 (25%)	55 (7%)	41 (5%)
Zand+K2	534 (100%)	62	324 (61%)	201 (38%)	6 (1%)	3 (0%)
Zand+B1	340 (100%)	79	294 (86%)	39 (11%)	4 (2%)	3 (1%)
Zand+B2	491 (100%)	67	424 (86%)	57 (12%)	5 (1%)	5 (1%)

*) De ondergrens van de meting bedraagt ca. 1 micrometer

Uit tabel 3 blijkt dat, evenals bij de opake bestanddelen (tabel 2), de verschillen tussen de twee slijpplaatjes met hetzelfde materiaal onderling groter zijn dan de verschillen in minerale korrels tussen de drie soorten monsters (aantallen, gemid. diameter en rondheid). Opmerkelijk zijn de lage aantallen korrels en de mate van rondheid in de monsters met bentonietbijmenging.

Ook uit deze meetresultaten kan worden geconcludeerd dat het uitgangsmateriaal een hoge mate van heterogeniteit vertoont. Het lage aantal korrels van de zand met bentonietmonsters kan wederom worden toegeschreven aan de sterke zwelling die bentoniet vertoont, waardoor de ruimte ingenomen door bentoniet relatief groot is.

5 DISCUSSIE

In de backscatterbeelden van de preparaten met 10% bentoniet is een lichtgrijze fase aanwezig, die als een uitgevloeiende massa om de korrels en de poriën ligt.

Deze fase vertegenwoordigt de bentonietbijmenging. In dit bentonietmateriaal komen holten en poriën met variërende diameters voor, die althans in het tweedimensionale vlak geïsoleerd in de grijze massa liggen (zie fig. 1c en 2). Dit soort afgesloten holten en poriën zijn niet aangetroffen in de backscatterbeelden van de andersoortige monstermaterialen (fig. 1a, 1b). Het is voorstelbaar dat *Rhizobium*bacteriën hierin buiten bereik van predatoren als protozoën zouden kunnen overleven.

Het valt overigens te overwegen om ook eens proeven uit te voeren met lagere gehalten aan bentoniet. Dit zou de opschaling van dit soort proeven naar de praktijkschaal kunnen bevorderen.

Uit diverse onderzoeken blijkt namelijk dat de doorlatendheid van zand, waaraan slechts enkele droge gewichtsprocenten bentoniet goed gemengd zijn toegevoegd, sterk afneemt. Dergelijke mengsels kunnen dan ook goed gebruikt worden als afdichtingsmateriaal voor vuilstorten (Glas 1985; Hofkamp 1986; Hoeks et al. 1987; Hoeks et al. 1990).

6 CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

- De resultaten van de metingen aan de diverse slijpplaatjes vertonen grote onderlinge spreiding.
- Ook de monsters met overeenkomstig materiaal vertonen onderling grote verschillen.
- Het uitgangsmateriaal, dat is gebruikt bij het aanmaken van de diverse soorten grondmengsels voor de proeven, vertoont blijkens metingen een grote mate van heterogeniteit in samenstelling.
- De monsters van 'lemig zand met 10% bentonietbijmenging' laten geen verhoogde microporositeit zien ten opzichte van het uitgangsmateriaal 'lemig zand' en ten opzichte van 'lemig zand met 10% kaolinitbijmenging'.
- In het monstermateriaal 'lemig zand met 10% bentonietbijmenging' komen in het bentonietmateriaal betrekkelijk grote, in het tweedimensionale vlak afgesloten holten voor, waarin Rhizobiumbacteriën zouden kunnen overleven. Dit soort afgesloten holten is niet aangetroffen in de andersoortige monstermaterialen.
- Het verdient aanbeveling om voor de verschillende proeven uitgangsmateriaal te kiezen, dat een grotere mate van homogeniteit vertoont dan het voor deze proeven gebruikte uitgangsmateriaal.
- Het verdient aanbeveling te onderzoeken of lagere gehalten aan bijmenging van bentoniet ook verbeterde overlevingskansen voor Rhizobiumbacteriën schept.

LITERATUUR

Cambridge Instruments Ltd. 1988. Quantimet 970 Image Analysis System 1988; Operator manual. Cambridge England.

Hoeks, J., A.H. Ryhiner en J. van Dommelen, 1987. Onderzoek naar de praktische uitvoerbaarheid van bovenafdicthting op afvalstortterreinen. Wageningen, ICW. Rapport 21.

Hoeks, J., H.P. Oosterom, D. Boels, J.F.M. Borsten, K. Strijbis en W. ter Hoeven, 1990. Richtlijnen voor ontwerp en konstruktie van eindafdekkingen van afval- en reststofbergingen. Wageningen, Staring Centrum. Rapport 91.

Heijnen, C.E., C.H. Hok-A-Hin en J.A. van Veen, 1990. De relatie tussen de overleving van geïntroduceerde rhizobia in een zandgrond in aan/afwezigheid van bentoniet en de poriegrootteverdeling van die grond. Abstract in Programma 3e Nationaal Symposium Speerpunt Programma Bodemonderzoek, C7-2.

Mason, B., and L.G. Bery, 1967. Elements of mineralogy. San Francisco, Freeman.

Miedema, R., Th. Pape, and G.J. van de Waal, 1974. A method to impregnate wet soil samples, producing high quality thin sections. *Neth. J. Agric. Sci.*, 22, 37-39.

Pape, Th., 1974. The application of circular polarized light in soil micromorphology. *Neth. J. Agric. Sci.*, 22, 32-36.

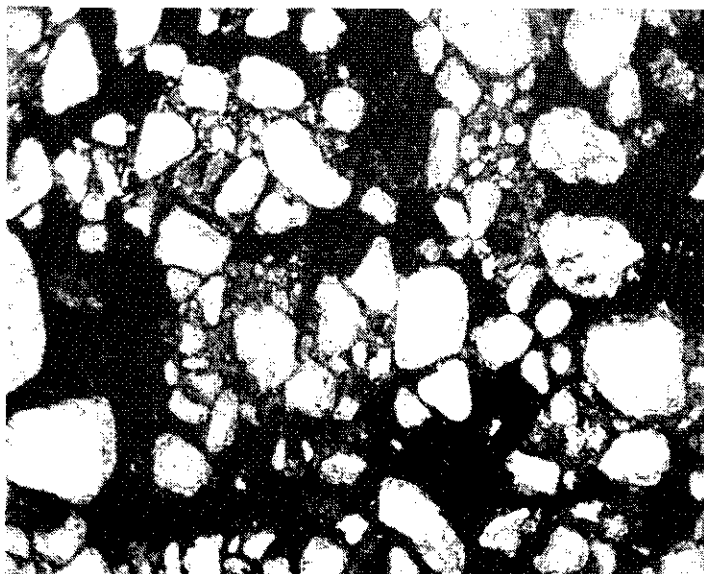
Postma, J., 1989. Distribution and population dynamics of *Rhizobium* Sp. introduced into soil. Wageningen, Thesis Agricultural University.

Schoonderbeek, D. en M.J. Kooistra, 1984. Werkwijze en gebruik van beeldanalyseapparatuur (Quantimet 720) bij de Stichting voor Bodemkartering. Wageningen, STIBOKA; afd. Bodemstructuur en Micromorfologie. Rapport 2.

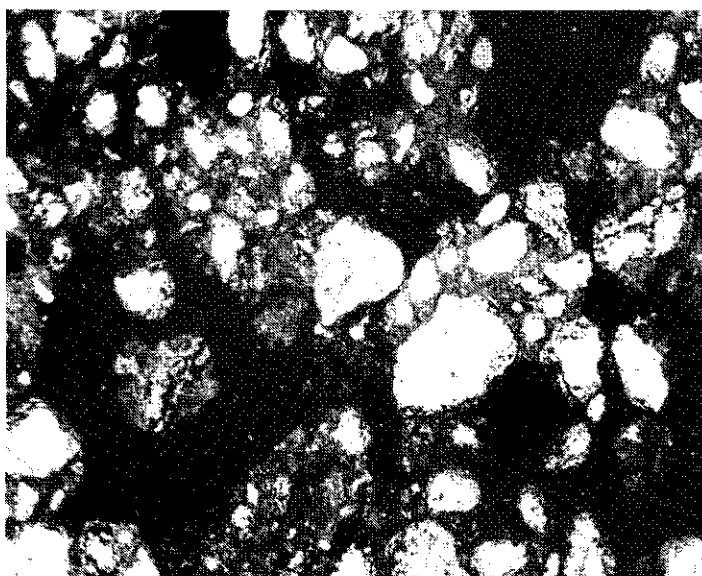
Niet-gepubliceerde bronnen

Glas, H., 1985. Bentoniet-grondlagen als afdicthting op stortplaatsen. Wageningen, ICW. Nota 1630.

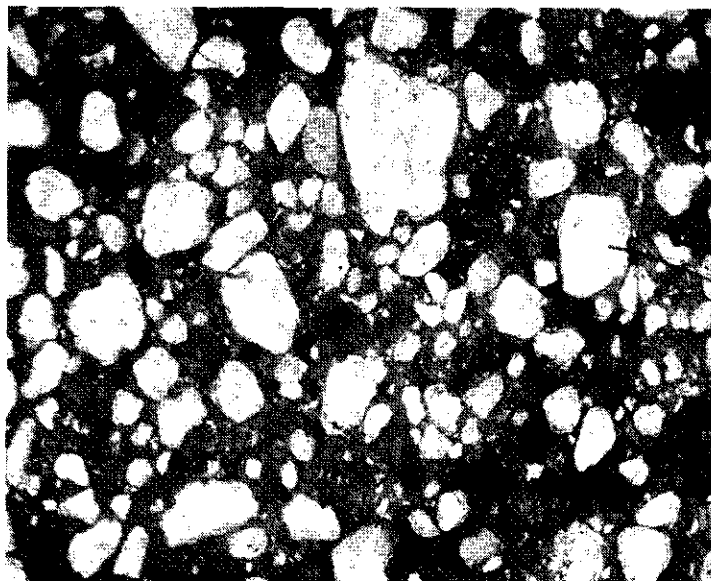
Hofkamp, J.R., 1986. Zand-bentoniet mengsels als afdichtingsmateriaal voor vuilstortplaatsen. Wageningen, ICW. Nota 1722.



a



b



c

Fig. 1 "Backscattered electron scanning images" (BESI), gemaakt met een elektronenmicroscop.

a 'lemig zand' (vergroting 50x).

b 'lemig zand met 10% kaolinetbijmenging' (vergroting 50x).

c 'lemig zand met 10% bentonietbijmenging' (vergroting 50x).

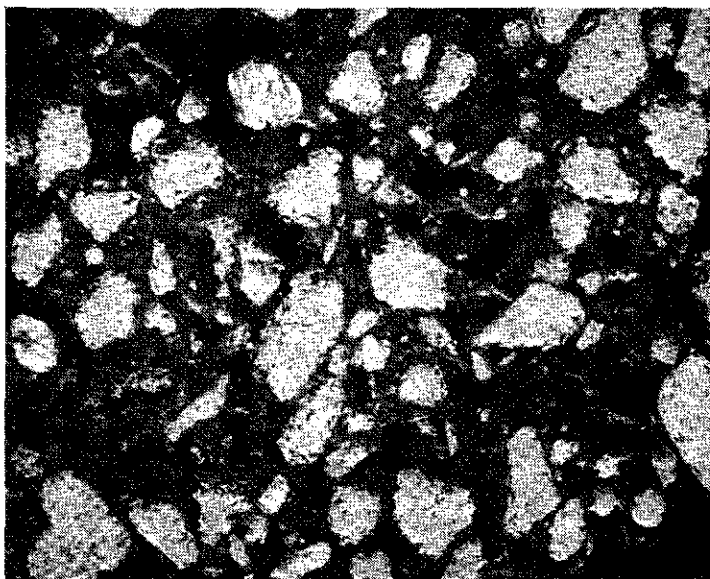


Fig. 2 BESI 'lemig zand met 10% bentonietbijmenging' (vergroting 50x). In grijze fase (bentoniet) zijn betrekkelijk grote, afgesloten holten (zwart) zichtbaar.