

8 Bijlagen

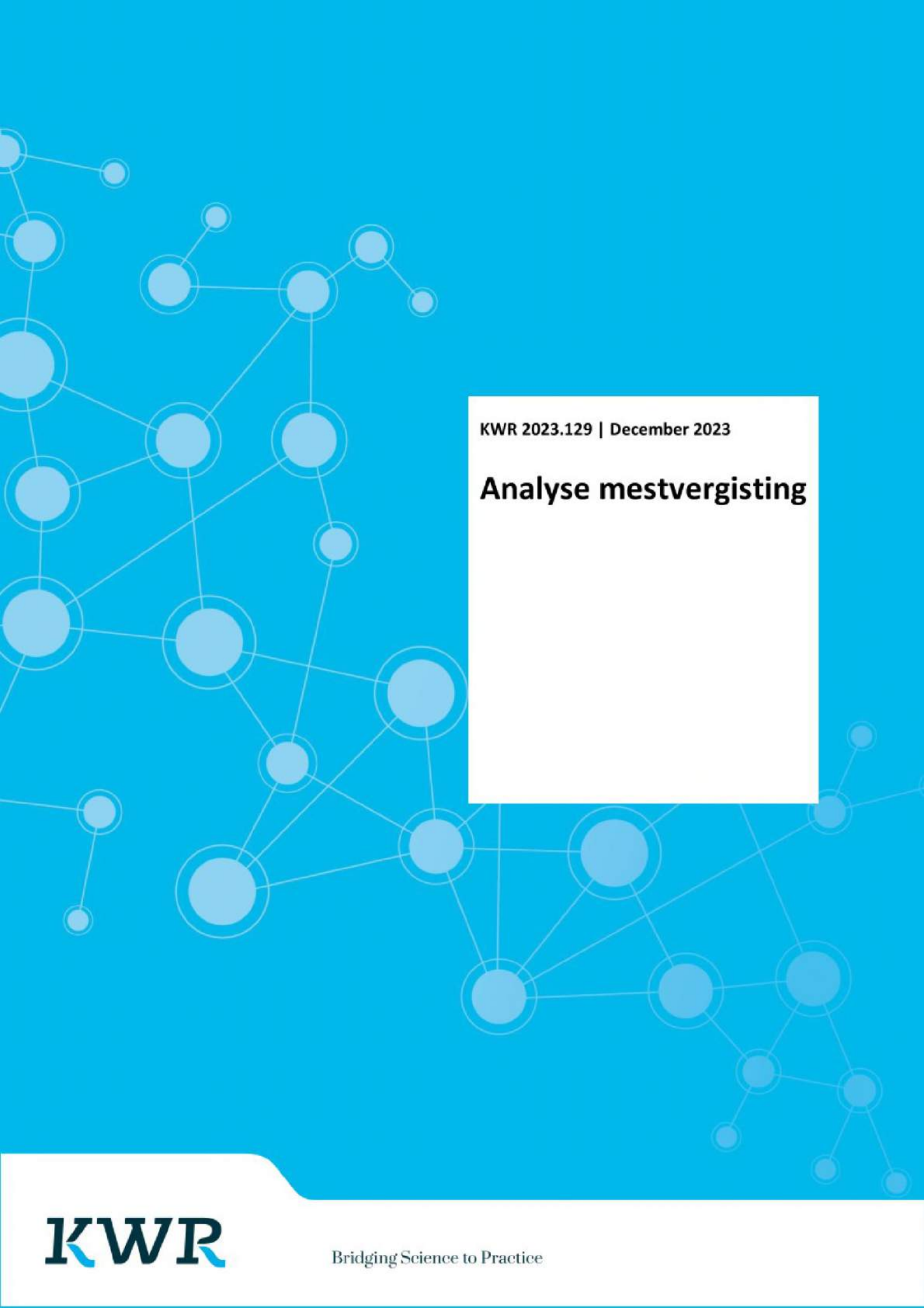
Bijlage 1	Resultaten (eigen) data-onderzoek bronnen	47
Bijlage 2	Onderzoek KWR, drugsafval in digestaat	48
Bijlage 3	Onderzoeksmethode WFSR (WUR)	49
Bijlage 4	Onderzoek notitie TAUW.....	50
Bijlage 5	Rapportage The MOSS Group.....	51
Bijlage 6	Resultaten grondmonster met digestaat met amfetamine bemest perceel	52
Bijlage 7	Onderzoek BioClear Earth - Amfetamine in digestaat.....	53
Bijlage 8	Advies Omgevingsdiensten vervuild digestaat door LNV	54
Bijlage 9	Protocol	55



Bijlage 1 Resultaten (eigen) data-onderzoek bronnen



Bijlage 2 Onderzoek KWR, drugsafval in digestaat

A network diagram consisting of various sized light blue circles connected by thin white lines, set against a solid blue background. The circles vary in size and are scattered across the page, with some larger circles acting as hubs.

KWR 2023.129 | December 2023

Analyse mestvergisting

Colofon

Analyse mestvergisting

KWR 2023.129 | December 2023

Opdrachtnummer

404731

Projectmanager

Opdrachtgever

Auteur(s)

Dit rapport is niet openbaar en slechts verstrekt aan de opdrachtgevers van het adviesproject. KWR zal zich onthouden van verspreiding van dit rapport en het rapport derhalve niet verstrekken aan derden, tenzij partijen anders overeenkomen. Opdrachtgever is gerechtigd het rapport te verspreiden mits KWR daarvoor vooraf toestemming heeft verleend. Aan de toestemming voor de verspreiding van (onderdelen van) het rapport kan KWR voorwaarden verbinden.

Werkwijzen, rekenmodellen, technieken, ontwerpen van proefinstallaties, prototypen en door KWR gedane voorstellen en ideeën alsmede instrumenten, waaronder software, die in het onderzoeksresultaat zijn opgenomen, zijn en blijven het eigendom van KWR. Ook alle rechten die voortvloeien uit intellectuele- en industriële eigendom, alsmede de auteursrechten, blijven bij KWR berusten en derhalve eigendom van KWR.

Keywords

illicit drugs, amphetamine, methamphetamine MDMA, waste, reuse, contamination

Jaar van publicatie
2023

Meer informatie

+31 (0)30 60 69 511
E [redacted]
I www.kwrwater.nl

PO Box 1072
[redacted] Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
E [redacted]
I www.kwrwater.nl

KWR

December 2023 ©

Alle rechten voorbehouden aan KWR. Niets uit deze uitgave mag - zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van KWR - worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier.

Inhoud

Colofon	2
Inhoud	3
1 Context	4
2 Materiaal en methode	4
2.1 Monsterinformatie Serie 1	4
2.2 Opwerking monsters Serie 1	4
2.3 Monsterinformatie Serie 2	5
2.4 Opwerking monsters Serie 2	5
2.5 Analyse Serie 1 en Serie 2: 'suspect screening'	6
3 Resultaten	7
3.1 Resultaten Serie 1 en Serie 2: aantonen en kwantificering drugs	7
3.2 Resultaten Serie 1: Suspect screening	7
4 Duiding van resultaten	8
4.1 Suspect screening	8
4.2 Non target screening (Serie 1)	9
5 Literatuur	10

1 Context

Dit rapport is opgesteld in kader van het aantreffen van amfetamine in producten van mestvergisting. Dit rapport geeft de resultaten weer van het onderzoek met behulp van geavanceerde analysetechnieken (suspect en non target analyse; SNTS) en verwijst naar KWR rapport 2023.089.

2 Materiaal en methode

2.1 Monsterinformatie Serie 1

De bemonstering is in opdracht van de opdrachtgever uitgevoerd door een externe partij. KWR heeft de monsters ontvangen op woensdag 18 oktober 17:00. Volgens de aangeleverde informatie zijn de monsters genomen door de firma Elsinga Beleidsplanning en Innovatie BV op 18 oktober 2023 tussen 11:10 en 11:50 (zie bijlage in KWR 2023.089 voor meer details). Na ontvangst van de monsters bij KWR in Nieuwegein zijn de monsters opgeslagen bij 4 °C.

Tabel 1: Monsterinformatie Serie 1

KWR monstercode	Monster nummer Eisinga	Product beschrijving Eisinga	Tijdstip	Datum
LMC-177152	1. 231018 GRE wij	Liquid digestate (after separation-pre-AR) DECANTER 2	11:32	18-10-2023
LMC-177153	2. 231018 GRE wij	Pellet KORRELPER 1	11:50	18-10-2023
LMC-177154	3. 231018 GRE wij	Unseparated digestate VERGISTER 10	11:24	18-10-2023
LMC-177155	4. 231018 GRE wij	Ammonium sulphate	11:10	18-10-2023

2.2 Opwerking monsters Serie 1

Op 19 oktober zijn de monsters in voorbereiding genomen en op 20 oktober zijn de extracten van de monsters geanalyseerd. De voorbereiding was als volgt:

- Het pellet monster (Pellet) is door middel van een vijzel tot een poeder vermalen. Vervolgens is het monster voorbereid en geëxtraheerd op basis van de AOAC 2007.01 methode van KWR. De toegepaste extractiemethode is gebaseerd op de zogenoemde QuEChERS methode die is ontwikkeld voor de extractie van bestrijdingsmiddelen uit milieumatrices (zie <https://en.wikipedia.org/wiki/QuEChERS>). Deze methode is door KWR eerder toegepast voor de extractie van resten van synthetische drugs(productieafval) uit bodemmateriaal en sediment.
- Aan elk monster is een bekende hoeveelheid gelabelde amfetamine, methamfetamine en MDMA toegevoegd als referentie.
- Alle monsters zijn geëxtraheerd op basis van de AOAC 2007.01 methode van KWR.
- Aan monster LMC-177153 (Pellets) werd 15 ml water toegevoegd na inweeg en toevoegen van de gelabelde verbindingen om een efficiënte extractie mogelijk te maken.

2.3 Monsterinformatie Serie 2

KWR heeft de monsters ontvangen op 25 oktober 2023. Bij ontvangst van de monsters bij KWR in Nieuwegein zijn de monsters opgeslagen bij 4 °C.

Tabel 2: Monsterinformatie Serie 2

KWR monstercode	Monster omschrijving	Oorsprong	Datum
LMC-177589-DW	KW Toilet	GC Wijster - Kraanwater Toilet	25-10-2023
LMC-177590-GW	GW	GC Wijster - Grondwater	25-10-2023
LMC-177591-MEST	Mest	GC Wijster - Bunker 12 (mest)	25-10-2023

2.4 Opwerking monsters Serie 2

Mestmonster

Na beoordeling van het mestmonster is besloten om deze op twee manieren op te werken, gezien de te verwachten complexiteit van het monster. Dit is gedaan volgens de gestandaardiseerde methode zoals beschreven in Paragraaf 2.2 en door een soortgelijke methode waarbij 75% minder extractievloeistof in bewerking is genomen voor de tweede stap (2 milliliter in plaats van 8 milliliter). De later beschreven resultaten zijn van de aangepaste methode. Door de complexe samenstelling bleek het namelijk niet mogelijk om met de standaardmethode zoals beschreven in Paragraaf 2.5 een uitspraak te doen over de bestudeerde stoffen.

Watermonsters

De watermonsters zijn geanalyseerd met een door KWR gevalideerde methode ontwikkeld voor het bepalen van amfetamine, methamfetamine en MDMA in water. Aan deze monsters zijn gelabelde standaarden van de bovengenoemde stoffen toegevoegd en de ratio van de respons ten opzichte van deze gelabelde standaard is bepaald.



Figuur 1: Foto's van de monstervoorbewerking en extractieprocedure (linksboven: pellets / rechtsboven: monsters in centrifuge tubes / linksonder: extractieprocedure met acetonitril / rechtsonder: clean up procedure).

2.5 Analyse Serie 1 en Serie 2: 'suspect screening'

Een combinatie van analysemethoden biedt de mogelijkheid om zowel de concentraties van specifieke drugs te bepalen als een kwalitatieve indicatie te krijgen van de aanwezigheid of afwezigheid van grondstoffen en bijproducten van de synthese van amfetamine of andere synthetische drugs.

De extracten zijn gescheiden met 'vloeistofchromatografie-hoge-resolutie-massaspectrometrie' (LC-HR/MS) volgens een eerder door KWR gevalideerde methode. Met deze techniek kan KWR de aanwezigheid van specifieke drugs vaststellen.

Voorafgaand aan de extractie is aan ieder monster een bekende hoeveelheid gelabelde amfetamine, methamfetamine en MDMA toegevoegd. De complexe samenstelling van deze monsters maakte het noodzakelijk om gebruik te maken van een hoge resolutie massaspectrometer. Deze is in staat zeer nauwkeurig de massa van een verbinding te meten. De verhouding van de gelabelde verbindingen ten opzichte van de standaard maakt het dan mogelijk om monsters onderling te vergelijken en voor stoffen aanwezig in de standaard te kwantificeren (zie KWR 2023.089).

Daarnaast is een zogenaamde 'suspect' screening uitgevoerd, om te zien of een aantal specifieke uitgangs-, tussen- en bijproducten voor de productie van amfetamine aanwezig zijn. Het aantreffen van grondstoffen onzuiverheden en of afvalstoffen van synthetische drugsproductie geeft immers enige duiding of aangetroffen resten van de moederstoffen (de drugs zelf) afkomstig zijn van synthese afval (1).

3 Resultaten

3.1 Resultaten Serie 1 en Serie 2: aantonen en kwantificering drugs

In KWR rapport 2023.089 staan de resultaten van amfetamine en andere synthetische drugs in de verschillende monsters.

3.2 Resultaten Serie 1: Suspect screening

In de monsters van Serie 1 is gezocht naar karakteristieke stoffen die zijn gerelateerd aan de synthese van amfetamine, methamfetamine en MDMA. Dit zijn bijvoorbeeld stoffen die bij bekende syntheseroutes worden gebruikt of vrijkomen, maar ook stoffen die door omzetting kunnen worden gevormd. Omdat voor deze grondstoffen en bijproducten geen referentiestandaarden beschikbaar zijn, is de identificatie van deze stoffen enkel indicatief en kan de concentratie niet worden bepaald. Het niveau van de identificatie wordt uitgedrukt in verschillende identificatieniveaus van 100% identificatie met behulp van een standaard (niveau 1) tot enkel overeenkomstige massa en chromatografische retentietijd (identificatieniveau 5) volgens de definitie van Schymanski et al (2014) (2). De concentratieniveaus kunnen zonder referentiestandaarden niet worden bepaald, dit geldt dus voor alle identificatieniveaus met uitzondering van niveau 1.

ID level 1: Match met een standaard of eerdere gemeten standaarden in de KWR bibliotheek

ID level 2: Match met externe bibliotheek op basis van fragmentatiespectrum

ID level 3: Waarschijnlijke kandidaat op basis van massa en (theoretische) fragmentatie

ID level 4: Eenduidige brutoformule

ID level 5: Massa en retentietijd.

De monsters bleken een zeer complexe chemische samenstelling te hebben. Na de uitgebreide softwarematige analyse van de in drievoud geanalyseerde monsters werden meer dan 10.000 features aangetroffen. Features zijn indicatoren voor stoffen, ze hebben een unieke combinatie van retentietijd bij de chromatografische scheiding en massa bij de massaspectrometrische detectie. In sommige gevallen kan één enkele stof echter meer dan één feature tot gevolg hebben waardoor het aantal features niet exact gelijk staat aan het aantal detecteerbare stoffen in de betreffende monsters.

Alle aangetroffen features werden vergeleken met de karakteristieken van de stoffen in de zogenoemde suspectlijst met grondstoffen en bijproducten van de productie van verschillende synthetische drugs. Er werd, op amfetamine zelf en de toegevoegde gelabelde standaarden na, geen match gevonden tussen de stoffen in de suspect lijst en de features (met een identificatieniveau van 2 of lager) in de verschillende monsters.

4 Duiding van resultaten

4.1 Suspect screening

In het digestaat en de daaruit geproduceerde producten en reststromen is amfetamine aangetroffen (KWR 2023.089). Een aanvullende analyse van de monsters met behulp van niet-doelstofanalyses (=non target screening) in Serie 1 laat zien dat de mest en de digestaat-gerelateerde monsters een breed spectrum aan organische verbindingen bevat. In totaal zijn meer dan 10.000 features (unieke massa retentietijd combinaties indicatief voor verschillende stoffen) aangetroffen in de bestudeerde monsters. Deze features zijn vergeleken met een vooraf samengestelde lijst van stoffen die zijn gerelateerd aan de illegale synthese van amfetamine, MDMA en methamfetamine. Dit heet suspect screening, of wel het zoeken naar 'verdachte' stoffen. Deze suspect screening heeft geen matches met een voldoende identificatieniveau (niveau 1 of 2) opgeleverd.

Ter illustratie staan in Tabel 3 de structuren weergegeven van amfetamine en de uitgangstof (benzylmethylketon) die in Nederland veel gebruikt wordt als startproduct voor de laatste stappen van de synthese.

Tabel 3: Structuur van amfetamine en uitgangproduct BMK

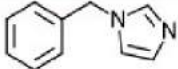
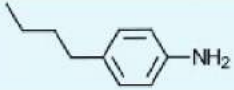

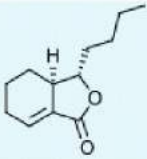
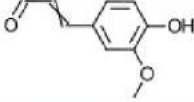
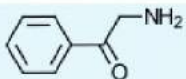
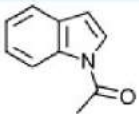
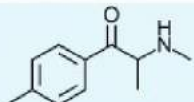
Naam	Structuur	Functie	Resultaat in dit onderzoek
Amfetamine		eindproduct	Bevestigd met standaard, identificatie niveau 1
BMK (benzylmethylketone, phenyl-2-propanon, P2P)		Meest gebruikte uitgangstof (precursor) om amfetamine te maken	Geen eenduidige bevestiging met standaard of externe bibliotheken

Dit betekent dat in de het digestaat en daaruit geproduceerde producten alsook in de mest en watermonsters geen stoffen zijn aangetroffen die met hoge mate van zekerheid te relateren zijn aan de (illegale) synthese van amfetamine, MDMA of methamfetamine. Ook in Serie 2 zijn deze stoffen niet aangetroffen, en op deze serie is dan ook geen verdere analyse uitgevoerd.

4.2 Non target screening (Serie 1)

Een aantal features die bepaald zijn in de monsters van Serie 1 kunnen worden gematcht met externe bibliotheken op basis van massaspectrometrische informatie van deze stoffen, en (tot op zekere hoogte) geïdentificeerd. Deze niet-doelstofanalyse (non target screening) heeft geleid tot een lijst van vermoedelijk aanwezige stoffen die niet te linken zijn aan synthese afval maar wel mogelijk interessant zijn voor verder onderzoek (zie Tabel 4).

Tabel 4: Indicatie van verbindingen en hun mogelijke aanwezigheid (✓) of afwezigheid (✗) op basis van suspect screening in de aangeboden monsters van Serie 1 (zie Tabel 1 voor details).

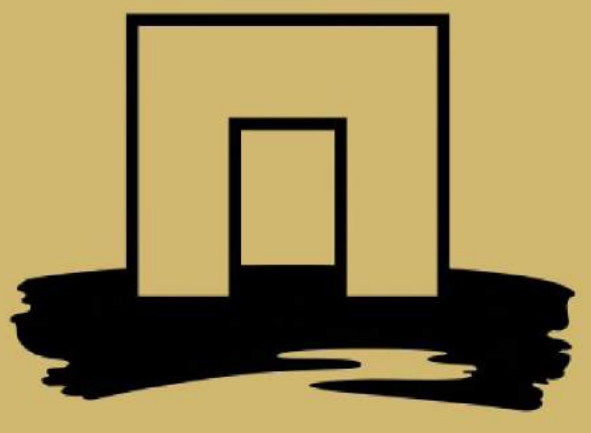
Verbinding	Identificatie niveau (2)	Liquid digestate	Pellet	Unseparated digestate	Ammonium sulphate
1-Benzylimidazole		✓	✓	✓	✓
4-Butylaniline		✓	✓	✓	✗
4-Methoxybenzaldehyde		✓	✗	✓	✗
Sedanolid		✓	✓	✓	✓
Coniferaldehyde/ 4-Hydroxy-3-methoxycinnamaldehyde		✗	✓	✗	✓
2-aminoacetophenone /2-Amino-1-phenylethanone		✓	✓	✓	✗
N-Acetylindole		✓	✓	✓	✗
2-methylamino-1-p-tolylpropan-1-one/ Mepehedrone		✓	✓	✓	✗

5 Literatuur

1. REYMOND N., EMKE E., BOUCHERON T., TER LAAK T., DE VOOGT P., ESSEIVA P. et al. Retrospective suspect and non-target screening combined with similarity measures to prioritize MDMA and amphetamine synthesis markers in wastewater, *Science of the Total Environment* 2022: 811, 152139.
2. SCHYMANSKI E. L., JEON J., GULDE R., FENNER K., RUFF M., SINGER H. P. et al. Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence, *Environmental Science and Technology* 2014: 48: 2097-2098.



Bijlage 3 Onderzoeksmethode WFSR (WUR)



Toelichting gehanteerde analysemethode synthetische drugs in digestaat monsters

3 november 2023, versie 1

Aanleiding ontwikkeling analysemethode

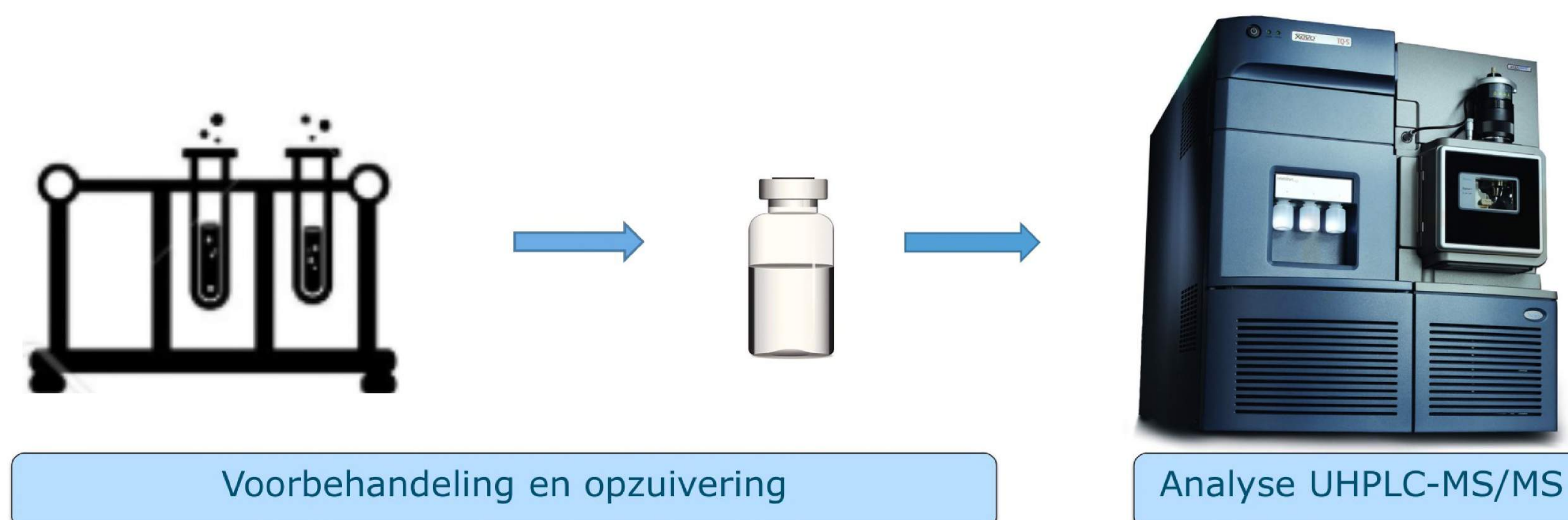
N.a.v. een vermoedelijke dumping van afval afkomstig van de productie van synthetische drugs in een mestkelder (in 2016)¹⁾ is destijds een methode hiervoor ontwikkeld. Er is gekozen om een analysemethode te ontwikkelen voor de detectie van de eindproducten (de actieve stof zelf) van de drugssynthese van 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) en amfetamine, omdat zo een directe link gemaakt kan worden met de productie van synthetische drugs. In een later stadium is de component methylamfetamine aan deze analysemethode toegevoegd. In eerste instantie is de analysemethode toegepast op matrices zoals mais(planten), gras en grasbrok. De methode is volledig gevalideerd voor deze matrices en is daarnaast ook toepasbaar gebleken op matrices zoals mest en digestaat.

Korte omschrijving voorbereiding monstermaterialen

Monsters zoals mest en digestaat dienen te worden voorbehandeld om MDMA, amfetamine en methylamfetamine uit de monsters te kunnen extraheren en vervolgens verder op te zuiveren / concentreren zodat de monsterextracten geschikt zijn voor de instrumentele analytische meting. Het aangeleverde monstermateriaal wordt in eerste instantie gehomogeniseerd en daarna is hiervan een proefeenheid van 2 gram per monster ingewogen. Ten behoeve van de kwaliteitscontrole op de analyse van elk individueel monster zijn aan elk monster de gelabelde interne standaarden MDMA-d5 en amphetamine-d11 toegevoegd. Met behulp van een aangezuurd mengsel van acetonitril en water worden de te bepalen componenten geëxtraheerd uit de monsters. De extracten worden verder opgezuiverd m.b.v. een centrifugestap, gevolgd door een filtratiestap en vervolgens gemeten op een vloeistofchromatograaf gekoppeld aan een tandem massaspectrometrisch systeem (UHPLC-MS/MS) op de aanwezigheid van MDMA, amfetamine en methylamfetamine.



Figuur 1. Voorbeeld van monsterpot



Figuur 2. Schematische weergave voorbereiding en analyse digestaat monsters

Korte omschrijving toegepaste analysetechniek UHPLC-MS/MS

Instrumentele analyse wordt uitgevoerd met de analysetechniek vloeistofchromatografie gekoppeld aan de detectietechniek tandem massaspectrometrie (UHPLC-MS/MS). Dit is gebruikelijke techniek voor de analyse van dit soort componenten in combinatie met dit type onderzoeksmateriaal.

De drugsgelateerde stoffen in de opgezuiverde extracten worden in eerste instantie met vloeistofchromatografie gescheiden van nog aanwezige overige, potentieel storende componenten. Vervolgens worden in de massaspectrometer de componenten waarop geanalyseerd moeten worden geïoniseerd en vervolgens geselecteerd op basis van de massa-ladingverhouding van de geladen component (precursor-ion). Daarna wordt de geladen component onder invloed van botsingsgas en spanningsverschil gefragmenteerd naar specifieke structuurgerelateerde fragmenten (product-ionen). Deze product-ionen zijn karakteristiek voor de individuele component. De aanwezigheid van een component wordt vastgesteld op basis van twee parameters conform geldende Europese wetgeving ²⁾:

- de retentietijd van de component verkregen via de vloeistofchromatografische scheiding ten opzichte van de retentietijd van de gelabelde interne standaarden,
- de onderlinge verhouding in intensiteit (Ion Ratio) van de gedetecteerde product-ionen (gerelateerd aan het precursor ion).

Met behulp van de gemeten intensiteit van de interne standaard en de gemeten intensiteit van de component in elk individueel monster kan de hoeveelheid (concentratie) van de component worden bepaald.



Bijlage 4 Onderzoek notitie TAUW

Notitie

Contactpersoon	[REDACTED]
Datum	14 december 2023
Kenmerk	N001-1294024JUO-V01

1 Inleiding

Deze notitie geeft bullitpointgewijs informatie om te delen tijdens de Aanvullende informatiebijeenkomst co-vergisters dd. 15 december 13.30h - provinciehuis te Leeuwarden. De notitie gaat kort in op 2 onderwerpen, te weten:

1. Formatie van amfetamine in mestvergisters
2. Risico's voor mens en milieu van amfetamine in het digestaat

2 Formatie van amfetamine in mestvergisters

Bij het aantreffen van amfetamine in mestvergisters zijn omgevingsdiensten per definitie uitgegaan van drugsdumpen in mest(kelders) als oorzaak. Er zijn echter aanwijzingen dat de amfetamine eventueel ook gevormd kan zijn in de vergisters via een biologische weg. Deze aanwijzingen zijn:

- De amfetamine is aangetroffen in 23 van de 33 vergisters. Dat zou betekenen dat de drugsdumps bij een heel groot aantal mestkelders moeten hebben plaatsgevonden zonder dat dat op een andere manier aan het licht is gekomen. Dit is onwaarschijnlijk.
- Minimaal één van de vergisters met daarin amfetamine wordt niet gevoed met mest, maar alleen met stromen uit de voedingsmiddelen. Het is onwaarschijnlijk dat in die stromen drugsafval is gedumpt. Die stromen worden namelijk direct vanuit de industrie naar de vergister getransporteerd.
- Ook uit het buitenland is er een casus bekend van een vergister die alleen mest van het eigen bedrijf verwerkt, waardoor het ook onlogisch is dat er amfetamine in het digestaat aanwezig is, en waar toch sporen van amfetamine worden aangetroffen.
- De concentraties amfetamine die zijn aangetroffen in de monsters van voor de zomer en (de eigen analyses) van na de zomer zijn in ordegrootte gelijk. Bij drugsdumps zou je echter pieken in de concentratie verwachten die uitdoven door afbraak en/of verdunning. Dat de

concentraties steeds ongeveer gelijk zijn geeft een aanwijzing dat amfetamine met een steeds gelijke snelheid wordt geproduceerd.

- De biologische formatie van amfetamine zal naar verwachting verlopen via meerdere stappen. Enkele van deze stappen zijn in de literatuur aangetoond. Het gehele proces is echter niet bekend.
- In verschillende vergisters wordt wel amfetamine aangetroffen, maar niet de precursoren die men zou verwachten als de amfetamine afkomstig zijn van een drugsdump.
- In mest, dierlijke en plantaardige reststromen zijn stoffen aanwezig die qua structuur sterk lijken op amfetamine. Ook zijn er in een vergister kleinere moleculen aanwezig, zoals aceton, ammoniak die misschien door biologische processen kunnen worden gecombineerd met de op amfetamine lijkende stoffen tot amfetamine.

3 Risicos voor mens en milieu van amfetamine in digestaat

Niet alles is bekend over de risico's voor mens en milieu, maar de volgende dingen weten we wel:

- Amfetamine wordt ook als medicijn gebruikt. De therapeutische dosis voor volwassenen is maximaal 60 mg per dag, voor kinderen jonger dan zes jaar is dat maximaal 20 mg per dag en voor kinderen ouder dan zes jaar is dat maximaal 40 mg per dag⁵. Deze doses hebben (gewenste) effecten op mensen maar zijn niet schadelijk.
- Bij de maximale concentraties die aangetroffen zijn in het digestaat, 769¹ microgram/kilogram, moet een mens dagelijks kilogrammen digestaat binnenkrijgen om te komen aan een concentratie die werkzaam is als medicijn. Dit zijn uiteraard hoeveelheden die een mens nooit binnen zal krijgen.
- Amfetamine breekt vrij snel af in een omgeving als het in een omgeving komt met zuurstof (aeroob). Een en ander is wel afhankelijk van de omgevingstemperatuur. Halfwaardetijden van 1,2 tot 2,3 dagen worden genoemd voor amfetamine. Volledige afbraak tot niet meer detecteerbaar is 28 dagen bij 18°C en 42 dagen bij 4°C. (Notabene, drijfmest mag niet in de winter worden uitgereden)
- Het is onbekend wat de effecten op het bodemleven zijn van amfetamine.
- Omdat we niet weten of amfetamine misschien wel heel goed worden opgenomen door planten weten we ook niet of mensen een hoeveelheid amfetamine via plantaardige voeding binnen kunnen krijgen boven de Aanvaardbare Dagelijkse Inname (ADI). Ditzelfde geldt voor een blootstellingspad via melk of vlees van dieren die planten hebben gegeten van een veld waar amfetamine-houdend digestaat op terecht is gekomen.

¹ Deze hoge concentratie was niet in Friesland, maar ik weet niet wat de maximale concentraties in Friesland waren.



Bijlage 5 Rapportage The MOSS Group

Dinsdag 13 November 2023

Rapport: Amfetamine in anaerobe vergisting

1 Achtergrond en context

1.1 Green Create operations

Green Create exploiteert twee anaerobe vergistingsinstallaties in Nederland, één in Wijster die uitsluitend kippenmest verwerkt en een tweede in Holwerd die een mengsel van kippenmest en andere agrarische restproducten verwerkt tot methaanrijk biogas.

Bij de bewerking Wijster wordt een ammoniumsulfaatproduct verkregen door ammoniakgas uit het digestaat te strippen en te scrubben tot een zwavelzuuroplossing (ammoniumsulfaat) en daarnaast worden nutriënt rijke pellets geproduceerd uit de vaste fractie van het digestaat, die in een decanteercentrifuge worden teruggewonnen en vervolgens worden ingedroogd en gepelletiseerd.

Het digestaat wordt van het terrein gehaald en voornamelijk gebruikt als bodemverbeteraar op landbouwgrond. De verschillende producten worden periodiek getest door de autoriteiten om er zeker van te zijn dat de samenstelling binnen de wettelijke richtlijnen valt.

Onlangs zijn verschillende monsters uit Wijster en Holwerd positief getest op sporen van amfetamine in analyses uitgevoerd door de afdeling Voedselveiligheid van de Universiteit van Wageningen en bevestigd door twee onafhankelijke laboratoria (Sectie 2). Als gevolg hiervan is de classificatie van vloeibaar digestaat gewijzigd van meststof naar afvalmateriaal. De kosten voor de verwijdering van het opnieuw geclassificeerde digestaat zijn onbetaalbaar hoog, dus de toevoer naar de vergisters is met maar liefst 80% verlaagd om het geproduceerde volume digestaat tot beheersbare niveaus terug te brengen. Dit is echter geen haalbare strategie voor de middellange tot lange termijn.

1.2 Amfetamine

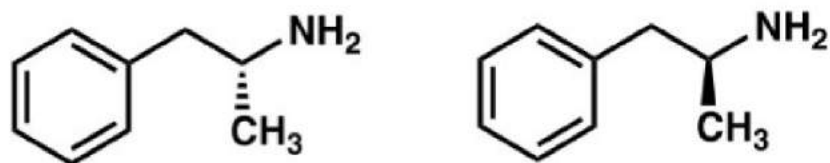
Amfetamine (alfa-methylfenethylamine) is een stimulerend middel voor het centrale zenuwstelsel dat is gebruikt voor de behandeling van ADHD, narcolepsie en obesitas en ook als atletische prestatieverbeteraar en afrodisiacum en euforie.

Amfetamine behoort tot de klasse van fenethylamine. Het is ook de moederverbinding van zijn eigen structurele klasse, de gesubstitueerde amfetaminen die prominente stoffen bevat zoals bupropion, cathinon, MDMA en methamfetamine.

Amfetamine wordt gebruikt als recreatieve drug, meestal in doses die veel hoger zijn dan voorgeschreven voor therapeutische behandeling. Bij hoge doseringen is er een aanzienlijk risico op verslaving, psychose en ernstige bijwerkingen. In de meeste landen is het een voorgeschreven medicijn en is ongeoorloofd bezit, productie en distributie illegaal.

1.2.1 Fysische en chemische eigenschappen

Amfetamine heeft de chemische formule C₉H₁₃N. Het koolstofatoom naast het primaire amine is een stereogeen centrum (er zijn ten minste drie verschillende groepen aan gebonden), dus amfetamine is een chiraal molecuul en bestaat in de enantiomere vormen (S)-amfetamine (d-(+)-amfetamine, dextroamfetamine) en (R)-amfetamine (l-(-)-amfetamine, levoamfetamine), zoals te zien is in Figuur 1. (S)-amfetamine (dextroamfetamine) vertoont een diepgaander effect op het centrale zenuwstelsel dan (R)-amfetamine en wordt vaker voorgeschreven voor therapeutische functies. Illegale drugs zijn eerder een racemisch mengsel.



Figuur 1: Structuren van de twee optische isomeren van amfetamine, Levoamfetamine (links) en Dextroamfetamine (rechts)

Amfetamine is een zwakke base, met een pK_a van 9,8, wat betekent dat het in de vrije basevorm zal bestaan bij pH-waarden boven pH 9,8. De vrije base is vluchtig, slecht oplosbaar in water en heeft een sterke aminegeur.

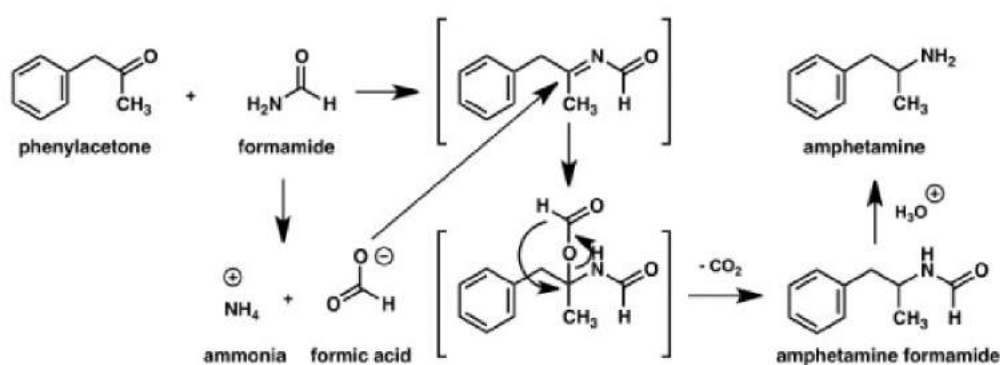
Onder typische omgevingsomstandigheden (d.w.z. pH < 9,8) zal amfetamine in kationische vorm voorkomen. De kationische vorm heeft een lage dampdruk en bestaat als vloeistof onder omgevingsomstandigheden. De dampspanning van kationische amfetamine is 25 mm Hg of 3,33 kPa.

Het kookpunt van amfetamine wordt beïnvloed door het geconjugeerde zuur, met waarden van 280 °C voor amfetaminesulfaat en 300 °C voor amfetaminefosfaat. Het kookpunt vertegenwoordigt de temperatuur waarbij de dampdruk gelijk is aan de atmosferische druk en elke extra temperatuurstijging zal ervoor zorgen dat de vloeistof dampbellen vormt.

1.2.2 Synthese van amfetamine

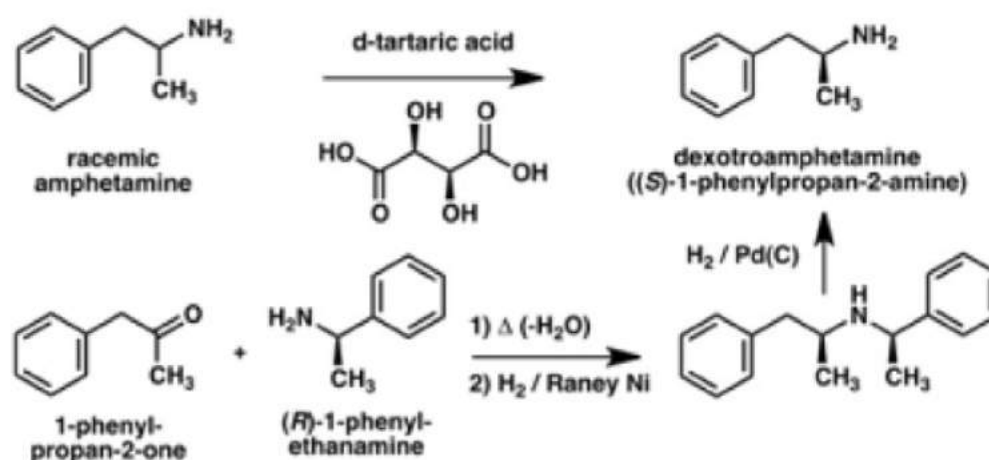
Er zijn een aantal routes voor de chemische synthese van amfetamine, maar de meest gebruikelijke route voor de legale en illegale synthese is de Leukart-reactie die aldehyden of ketonen omzet in aminen door reductieve aminering in aanwezigheid van warmte.

De specifieke reacties worden weergegeven in Figuur 2. De eerste stap omvat een reactie tussen fenylaceton en formamide, waarbij ofwel extra mierenzuur wordt gebruikt, ofwel formamide zelf als reductiemiddel en levert N-formylamfetamine op. Dit tussenproduct wordt vervolgens gehydrolyseerd met zoutzuur, vervolgens gebassiseerd en geëxtraheerd met een organisch oplosmiddel. Het wordt vervolgens geconcentreerd en gedistilleerd om de vrije basis te verkrijgen. De vrije base wordt meestal opgelost in een organisch oplosmiddel en zwavelzuur wordt toegevoegd om de amfetamine als sulfaat zout neer te slaan. De reactie produceert een racemisch mengsel van de S- en R-enantiomeren.



Figuur 2: Mechanisme voor de synthese van amfetamine door de Leukart-reactie

De enantiomeren kunnen worden gescheiden door chirale resolutie, bijvoorbeeld door behandeling met d-wijnsteenzuur. Als alternatief zijn er ook stereospecifieke syntheseroutes beschikbaar (Figuur 3).



Figuur 3: Productie van pure dextroamfetamine door chirale resolutie (boven) of stereospecifieke synthese (onder)

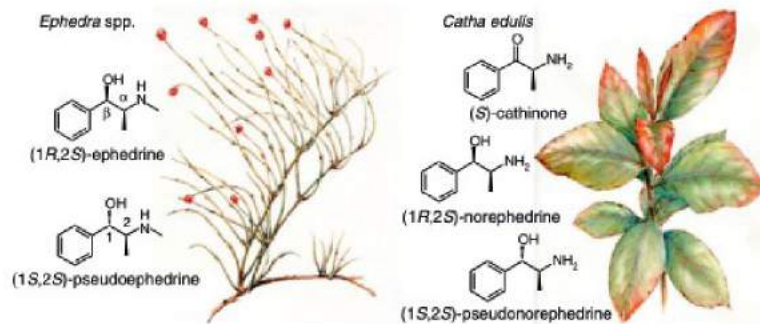
Er zijn een aantal andere synthetische routes op basis van klassieke organische chemische reacties, zoals de Friedel-Crafts-alkylering van benzeen en de Ritter-reactie, waarbij allylbenzeen reageert met acetonitril in zwavelzuur om een organosulfaat te verkrijgen, dat vervolgens wordt behandeld met natriumhydroxide om amfetamine te geven via een acetamide-tussenproduct.

Nederland is een belangrijk knooppunt voor de illegale synthese van amfetamine en MDMA, met recente volumeschattingen van respectievelijk 307 ton en 153 ton (Reymond *et al.*, 2022). De productie is afhankelijk van de beschikbaarheid van uitgangsmaterialen, waarbij de precursoren gereguleerde stoffen zijn en/of te kampen hebben met natuurlijke tekorten. Tegenwoordig hebben producenten manieren gevonden om regelgeving te omzeilen en nemen ze steeds vaker hun toevlucht tot het gebruik van "(pre)precursoren" of gemaskeerde precursoren die relatief eenvoudig kunnen worden omgezet in de gewenste precursor. Het gebruik van deze chemicaliën voegt echter verdere stappen toe aan de synthese, waardoor steeds meer afval wordt gegenereerd (Tops *et al.*, 2018).

Zo kan de synthese van 1 kg amfetamine uit zijn voorloper fenylaceton 20 tot 30 kg afval opleveren (Emke *et al.*, 2018). Dit complexe mengsel bevat allerlei producten, zoals precursoren, tussenproducten, bijproducten, onzuiverheden en eindproducten.

1.2.3 Biosynthese van amfetamine-analogen

Planten produceren een breed scala aan gespecialiseerde stikstofmetabolieten, waaronder een grote verscheidenheid aan alkaloiden en glucosinolaten. Gesubstitueerde amfetaminen, ook wel fenylpropylamino-alkaloiden genoemd, zijn een diverse groep stikstofbevattende verbindingen met een fenethylamine-ruggengraat met een methylgroep aan de α -positie ten opzichte van de stikstof (Figuur 4). Talloze variatie in functionele groepssubstituties heeft geleid tot een verzameling synthetische drugs met uiteenlopende farmacologische eigenschappen als stimulerende middelen, empathogenen en hallucinogenen. Hoewel amfetamine (1-fenylpropan-2-amine) en de meeste analogen synthetisch zijn, worden verschillende bekende fenylpropylamino-alkaloiden geproduceerd door *Catha edulis*, algemeen bekend als qat, en door leden van het geslacht *Ephedra* (Hagel *et al.*, 2012).



Figuur 4: Natuurlijk voorkomende gesubstitueerde amfetaminen in *Ephedra*-soorten en *Catha edulis* (qat) (Hagel et al., 2012)

Van de plantaardige analogen lijkt (*S*)-cathinon structureel het meest op amfetamine, waarbij de vervanging van een zuurstofatoom in de zijverandering het enige verschil is. Er kon echter geen verwijzing worden gevonden naar de microbiële omzetting van (*S*)-cathinon in amfetamine.

2 Samenvatting van laboratoriumtests

2.1 Universiteit van Wageningen

De eerste reeks analyses werd uitgevoerd door de afdeling Voedselveiligheid van de Universiteit van Wageningen als onderdeel van een bredere bemonsteringscampagne waarbij 33 co-vergisters in Noord-Nederland werden getest. Op 8 juni 2023 werd het digestaatmonster van Wijster genomen.

Het laboratorium heeft zeer beperkte informatie verstrekt over de protocollen voor de voorbereiding van het monster of de analytische methodologie, behalve dat er alleen geaccrediteerde methoden zijn voor de kwantificering van amfetamine, methamfetamine en MDMA, dus de resultaten waren beperkt tot die drie verbindingen. In de mededeling werd opgemerkt dat er nog geen geaccrediteerde methode bestaat voor de kwantificering van precursormoleculen die betrokken zijn bij de synthese van deze geneesmiddelen.

Tabel 1: Samenvatting van de resultaten van het geanalyseerde digestaatmonster. Resultaten uitgedrukt in µg/kg droge stof

Monster	Amfetamine µg/kg	Metamfetamine µg/kg	MDMA µg/kg
Digestaat	25	<1,25	<1.0

2.2 KWR Water

KWR Water heeft ruime ervaring met het testen van omgevingsmonsters op sporen van amfetaminen en aanverwante verbindingen. Zij hebben een aantal onderzoekspapers gepubliceerd over epidemiologische studies van afvalwater in Nederland om het amfetaminegebruik te schatten. Op basis van deze ervaring werden zij geselecteerd om een bevestigende analyse uit te voeren op monsters uit Wijster.

Voor de eerste bemonsteringsronde werden vier monsters verstrekt:

1. Ongescheiden vloeibaar digestaat uit vergister 10
2. Vloeibaar digestaat na verwijdering van vaste stoffen in de decanteercentrifuge
3. Pellets geproduceerd uit de verwijderde vaste stoffen
4. Productstroom ammoniumsulfaat

De monsters werden verwerkt met behulp van een aangepaste versie van het QuEChERS-extractieprotocol, waarbij het gehomogeniseerde monster wordt geëxtraheerd tot een organisch oplosmiddel en vervolgens wordt gereinigd met behulp van een dispersieve vastefase-extractiestap. De gereinigde monsters werden verrijkt met vooraf bepaalde

hoeveelheden gelabelde amfetamine, methamfetamine en MDMA als interne standaarden en vervolgens geanalyseerd door middel van vloeistofchromatografie-hoge-resolutie massaspectrometrie (LC-HR/MS).

Voor de tweede bemonsteringsronde werden de volgende monsters verstrekt:

1. Mest uit een opslagbunker (Bunker 12)
2. Grondwater dat ter plaatse wordt gebruikt
3. Water uit een badkamerkraan ter plaatse

Vanwege de complexiteit van het mestmonster werden twee monstervoorbereidingsprocedures geëvalueerd. De eerste was de standaard gemodificeerde QuEChERS-methode en de tweede waarbij een kleiner volume (2 ml in plaats van 8 ml) werd gebruikt in de tweede fase van de extractie.

De resultaten van de eerste testronde zijn samengevat in onderstaande tabel:

Tafel 2: Samenvatting van de resultaten van de eerste en tweede testronde. N.v.t. = niet gedetecteerd

Monster	Amfetamine µg/kg	Metamfetamine µg/kg	MDMA µg/kg
D 10 digestaat	25	n.v.t.	n.v.t.
Gescheiden digestaat	20	n.v.t.	n.v.t.
Pellets	150	n.v.t.	n.v.t.
Ammoniumsulfaat	15	n.v.t.	n.v.t.
Mest	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Grondwater	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Kraanwater	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.

2.2.1 Screening op verdachte verbindingen

Naast de analyse voor de drie doelverbindingen die zijn opgenomen in Tafel 2 werden gegevens van de monsters van de eerste bemonsteringsronde geanalyseerd om stoffen te identificeren die kenmerkend zijn voor de synthese van de synthetische drugs in kwestie. Dit zijn bijvoorbeeld stoffen die worden gebruikt of vrijkomen in bekende syntheseroutes, maar ook stoffen die door omzetting kunnen worden gevormd. Omdat er geen referentiestandaarden beschikbaar zijn voor deze grond- en bijproducten, is de identificatie van deze stoffen slechts indicatief.

De vier geteste monsters werden gekenmerkt door een uiterst complexe chemische samenstelling. Uitgebreide software-analyse van de monsters bracht meer dan 10 000 kenmerken aan het licht. Kenmerken zijn indicatoren voor stoffen. Ze kunnen een unieke

combinatie hebben van retentietijd tijdens chromatografische scheiding en massa tijdens massaspectrometrische detectie.

Alle gevonden kenmerken zijn vergeleken met de kenmerken van de stoffen in de zogenaamde verdachte lijst van grondstoffen en bijproducten van de productie van verschillende synthetische drugs. Met uitzondering van amfetamine en de geëtiketteerde normen werd er *geen* overeenkomst gevonden tussen de stoffen op de verdachtenlijst. Dit leidde ertoe dat KWR concludeerde dat "in het digestaat en de daaruit geproduceerde producten, alsmede in de mest- en watermonsters, geen stoffen zijn aangetroffen die met een hoge mate van zekerheid in verband kunnen worden gebracht met de (illegale) synthese van amfetamine, MDMA of methamfetamine."

Een aantal kenmerken kon worden gekoppeld aan externe bibliotheken die massaspectrometrie-informatie bevatten, wat leidde tot de vermoedelijke identificatie van een aantal verbindingen, waaronder 1-benzylimidazol, 4-butylaniline, 4-methoxybenzaldehyde, sedanolide en N-acetylidol. Deze stoffen konden niet in verband worden gebracht met syntheseafval, maar hebben structurele overeenkomsten met verdachte verbindingen.

Dit bevestigt dat de matrix in de anaërobe vergisters ongelooflijk complex is en dat er een groot aantal moleculen zijn die enige structurele gelijkenis vertonen met amfetamine die hoogstwaarschijnlijk aanwezig zijn als gevolg van biosynthese of de afbraak van complexere fenolische verbindingen.

2.3 Nutrilab Agro

2.3.1 Wijster stalen

Een tweede set monsters van Wijster werd voor een bevestigende analyse naar Nutrilab Agro gestuurd, een faciliteit die gespecialiseerd is in de analyse van landbouwproducten. De faciliteit heeft uitgebreide ervaring met het kwantificeren van residuen van bestrijdingsmiddelen en herbiciden.

In het rapport werd geen informatie verstrekt over de methode voor de voorbereiding van het monster, maar de kwantificering van de amfetamine en verwante verbindingen werd uitgevoerd door middel van ultra-performance vloeistofchromatografie massaspectroscopie (UPLC-MS).

Zes monsters werden aan Nutrilab Agro verstrekt:

1. Vaste mest
2. Hoofdvergister
3. Ongescheiden digestaat

4. Gescheiden verteerd (centrifuge na decanteren)
5. Pellets
6. Ammoniumsulfaat

De monsters werden getest op zes interessante verbindingen en de resultaten zijn samengevat in de onderstaande tabel.

Tabel 3: *Samenvatting van de resultaten van de Nutrilab Agro-testen. N.v.t. = niet gedetecteerd*

Monster	AMP µg/kg	M-AMP µg/kg	MDMA µg/kg	MDA µg/kg	MDEA µg/kg	n-acetylAMP µg/kg
Mest (ingaand)	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Vergister	20	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Digestaat	20	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Gescheiden digestaat	20	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Pellets	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
AMS	30	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.

AMP = amfetamine, M-AMP = methamfetamine, MDMA = methyleendioxyamfetamine, MDA = 3,4-methyleendioxyamfetamine, MDEA = 3,4-methyleendioxy-N-ethylamfetamine, n-acetylAMP = n-acetylamfetamine, AMS = ammoniumsulfaat

2.3.2 Tweede locatie

Green Create heeft een soortgelijke analyse laten uitvoeren op digestaat van een andere installatie, welke gelegen is buiten de Nederlandse landsgrenzen en waar ook pluimveemest wordt omgezet in biogas. Dit bedrijf is gevestigd binnen de perceelsgrenzen van een veehouder en naastgelegen aan de stallen waar kippen worden gehouden. Mest wordt direct vanaf de veehouder in het bedrijf gebracht en niet via een omweg (of via derden) in de vergister gebracht. Naast kippenmest direct van de veehouder worden daar geen andere producten vergist. Hiermee is de kans op milieuverontreiniging verwaarloosbaar.

Twee monsters vanuit de externe locatie werden aan Nutrilab Agro verstrekt:

1. Vergister sample
2. Digestaat sample

Tabel 4: Samenvatting van de resultaten van het testen van monsters van de tweede locatie door Nutrilab Agro. N.v.t. = niet gedetecteerd

Monster	AMP µg/kg	M-AMP µg/kg	MDMA µg/kg	MDA µg/kg	MDEA µg/kg	n-acetylAMP µg/kg
Vergister	40	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.
Digestaat	30	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.	n.v.t.

AMP = amfetamine, M-AMP = methamfetamine, MDMA = methyleendioxyamfetamine, MDA = 3,4-methyleendioxyamfetamine, MDEA = 3,4-methyleendioxy-N-ethylamfetamine, n-acetylAMP = n-acetylamfetamine

De vergistings- en digestaatmonsters testten alleen positief op amfetamine, in concentraties die vergelijkbaar zijn met die van de Wijster monsters.

3 Interpretatie en conclusies

De aanvankelijke hypothese ging ervan uit dat de bron van de gedetecteerde amfetamine een externe verontreiniging was, hoogstwaarschijnlijk als gevolg van de verwijdering van afval van de synthese van illegale amfetamine. Er is echter weinig bewijs om deze hypothese te ondersteunen, gebaseerd op verschillende factoren:

1. Er werden geen amfetaminen aangetroffen in het opgeslagen mestmonster of het grondwater dat ter plaatse werd gebruikt om de mest voor te bereiden om de vergisters te voeden.
2. Geen van de precursor- of bijproductverbindingen die verband houden met de synthese van amfetamine werden in een van de monsters gedetecteerd.
3. Geen van de monsters testte positief op een van de andere illegale verbindingen.
4. Monsters van een andere operatie, waar de mest afkomstig is van een in wezen gesloten systeem en waar milieuverontreiniging hoogst onwaarschijnlijk is, testten ook positief op amfetamine, maar niet op methamfetamine of MDMA.

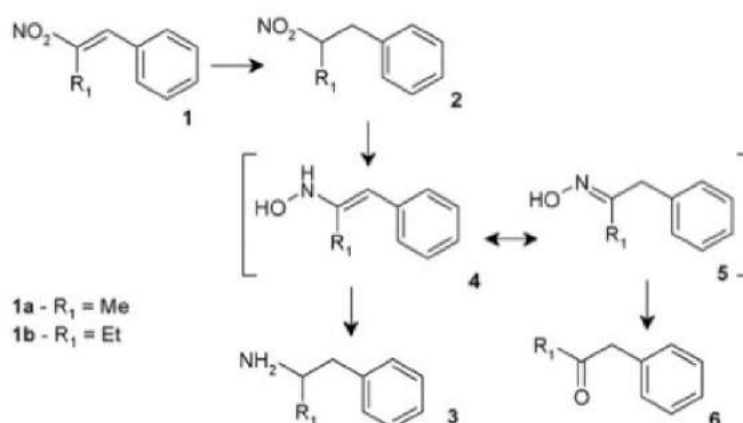
Daarom moet een alternatieve hypothese worden geëvalueerd, namelijk de biosynthese van amfetamine in de anaërobe vergisting.

4 Alternatieve hypothese – biosynthese van amfetamine

Hoewel amfetamine als een synthetische verbinding wordt beschouwd, is er gepubliceerde literatuur die bevestigt dat amfetamine kan worden geproduceerd via de reductie van alifatische nitroverbindingen onder anaërobe omstandigheden.

Mori en collega's (1990) screenen 40 stammen van anaërobe darmbacteriën op het vermogen om de alifatische nitroverbinding 1-fenyl-2-nitropropan te reduceren tot amfetamine en ontdekten dat 12 van de stammen in staat waren om ten minste 10 µg amfetamine te produceren uit een startconcentratie van 10 mg van het substraat. Van de 12 stammen waren er zes van het type *Clostridium*, waarbij *Clostridium perfringens* 100 µg amfetamine produceerde (1% opbrengst). Clostridia zijn Gram-positieve, endosporenvormende bacteriën die vaak worden geassocieerd met pluimvee en de functie vervullen van het fermenteren van koolhydraten in de darm tot vetzuren met een korte keten. Een aantal studies hebben de aanwezigheid van Clostridia bevestigd, waaronder *Clostridium perfringens* in pluimveemest (Crippen et al., 2021) en verteerde pluimveedrijfmest (Muhmood et al., 2021).

Korbekandi en collega's (2008) merkten op dat de reductie van aromatische nitrogroepen tot amine is aangetoond met behulp van een aantal hele cel- en enzymsystemen, maar de biokatalytische reductie van alifatische nitrogroepen is zeldzaam en waar waargenomen vertoonden de biokatalysatoren zeer slechte snelheden en opbrengsten (Mori et al., 1990). Het onderzoek het vermogen van *Peptostreptococcus productus* U-1 om (E)-2-nitro-1-fenyl-1-propeen en (E)-2-nitro-1-fenyl-1-buteen te reduceren tot hun respectievelijke aminoalkanen in een reactiesysteem met twee vloeibare fasen. De voorgestelde reactiemechanismen worden hieronder weergegeven.



Figuur 5: Voorgesteld schema voor reductie van nitroalkeen door *P. productus* (Korbekandi et al., 2008)

Ze behaalden significant hogere opbrengsten (47%) voor de omzetting van 2-nitro-1-fenyl-1-propeen in amfetamine, met een snelheid tot $154 \text{ mmol.kg}_{\text{droog gewicht}}^{-1}$.

Daarnaast is amfetamine aangetroffen in twee recente onderzoeken in de spier (Yuan et al., 2020) en kieuwweefsel (Taranzo Carillo et al., 2022) van krabben. De publicaties merken op dat het onwaarschijnlijk is dat de aanwezigheid van amfetamine in verband wordt gebracht met milieuverontreiniging en dat het waarschijnlijker is dat het endogeen is gesynthetiseerd, mogelijk door commensale bacteriën.

Concluderend is er bewijs ter ondersteuning van de hypothese van biosynthese van amfetamine in anaërobe vergisters via de biokatalytische reductie van alifatische nitroverbindingen door bacteriën die gewoonlijk worden geassocieerd met pluimveemest. Van deze organismen is aangetoond dat ze onder typische bedrijfsomstandigheden blijven bestaan in mesofiele anaërobe vergisters. Onder deze omstandigheden zouden tientallen jaren sporen van amfetamine op landbouwgrond zijn afgezet.

Bioclear Earth heeft een gedetailleerde metagenomische analyse uitgevoerd op monsters van Wijster en de tweede locatie, waarnaar in paragraaf wordt verwezen 2.3.2, om de bacteriële en archaeale microbiële gemeenschappen te karakteriseren. De resultaten hebben bevestigd dat de gemeenschappen structureel vergelijkbaar zijn met betrekking tot de belangrijkste klassen van bacteriën en dominante soorten. Deze datasets kunnen gedetailleerder worden onderzocht om specifieke soorten van belang te identificeren.

5 Voortbestaan van amfetamine in het milieu

Humane farmaceutische en illegale drugs zijn opkomende contaminanten omdat hun lot en effecten in het milieu niet volledig worden begrepen. Veel van dergelijke verbindingen worden onvolledig verwijderd tijdens de afvalwaterzuivering en zijn gedetecteerd in gezuiverd afvalwater en biosolids. Hoewel het meeste onderzoek zich heeft gericht op het lot van geneesmiddelen in het aquatisch milieu, zijn irrigatie van landbouwgrond met gezuiverd afvalwater en toepassing van biosolids als meststof teeltpraktijken die geneesmiddelen in het terrestrische milieu introduceren. Van farmaceutische geneesmiddelen is aangetoond dat ze toxiciteit uitoefenen op blootgestelde organismen en dat bioaccumulatie mogelijk is, wat een risico vormt voor organismen in hogere trofische niveaus (Bertin *et al.*, 2020).

Meer dan 50% van de farmaceutische geneesmiddelen op de markt, waaronder amfetamine, zijn chiraal en bestaan als twee of meer enantiomeren. Chirale geneesmiddelen kunnen op de markt worden gebracht als racemische mengsels (equimolaire concentratie van enantiomeren) of als enkelvoudige enantiomeerpreparaten. Chirale geneesmiddelen zijn echter vaak onderhevig aan enantiospecifieke afbraak en toxiciteit in het milieu. Petrie en medewerkers (2018) vonden bijvoorbeeld aanzienlijke veranderingen in de enantiomere distributie van amfetamine en de bètablokker atenolol in bodemmikrosystemen, waarbij een initiële amfetamine-enantiomere fractie (EF) van 0,5 (racemisch) veranderde in 0,1 na 3 dagen incubatie. De verrijking van R(-)-amfetamine werd verondersteld het resultaat te zijn van de relatief snellere afbraak van S(+)-amfetamine.

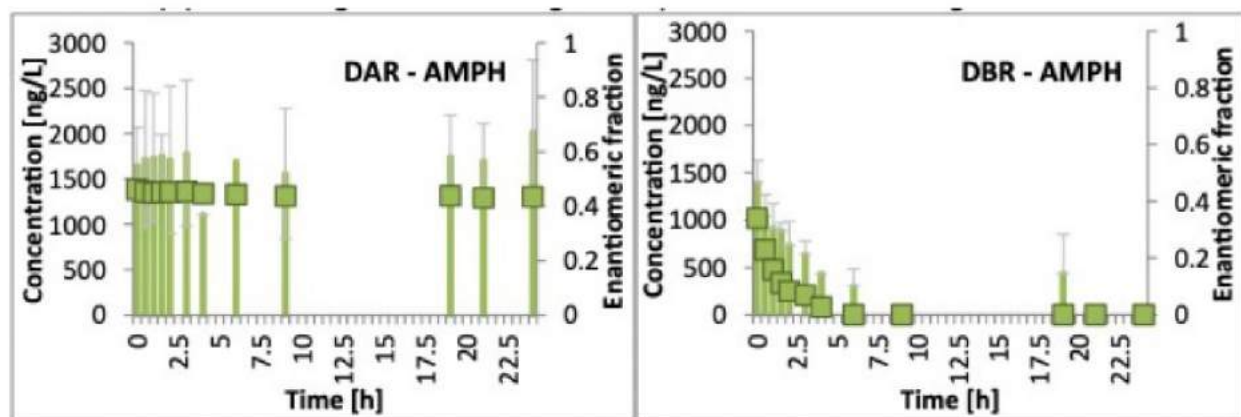
Een recente studie (Bertin *et al.*, 2020) gebruikte bodemmikrosystemen om het effect van temperatuur op de afbraaksnelheid van chirale geneesmiddelen te evalueren en de processen te bepalen die verantwoordelijk zijn voor enantioselectieve geneesmiddeltransformatie (d.w.z. selectieve enantiomeerafbraak of chirale inversie). Ze ontdekten dat stimulerende amfetamine snel en enantioselectief werd afgebroken in biotische microsystemen. Verrijking met R(-)-amfetamine was aanzienlijk met EF's <0,2 na 3 dagen, in overeenstemming met eerdere studies die een grotere persistentie van R(-)-amfetamine in het milieu aantoonde (Bagnall *et al.*, 2013), inclusief bodem (Petrie *et al.*, 2018). Dit is belangrijk omdat S(+)-amfetamine twee keer zoveel stimulerende werking heeft als R(-)-amfetamine. Volledige afbraak van het enantiomeer werd waargenomen binnen 28 dagen bij 18 °C en binnen 42 dagen bij 4 dagen.

Een vergelijkbare reeks experimenten werd uitgevoerd door Evans en collega's (2016) met behulp van microsystemen van ontvangend water en actief slib. Ze bevestigden dat er een

bepaalde abiotische afbraak van amfetamine was, maar een snelle en enantiomeerselectieve afbraak van amfetamine onder zowel lichte als donkere omstandigheden.

Resultaten van de microkosmos van het enkelvoudige ontvangende water wezen op een volledige afbraak van amfetamine in minder dan 3 dagen in het licht en minder dan een week in het donker. In beide gevallen werd de S-(+)-amfetamine eerst afgebroken, wat resulteerde in een enantiomere fractie van bijna 0 voordat deze volledig werd verwijderd.

In microkosmosen van actief slib met één verbinding werd amfetamine in steriele omstandigheden niet significant afgebroken (Figuur 6 DAR-reactor). Biologische processen bleken echter verantwoordelijk te zijn voor snelle en stereoselectieve afbraak, resulterend in slechts R-(-)-amfetamine binnen 6 uur.



Figuur 6: Afbraaksnelheid van amfetamine en enantiomere fractie voor microkosmosexperimenten met actief slib. DAR = donker abiotisch, DBR = donker biotisch

6 Conclusies

Analyse van de gegevens die tijdens de verschillende testprogramma's zijn gegenereerd, de meningen van het KWR-team en de omgang met relevante literatuur ondersteunen de conclusie dat de amfetamine die in de monsters van Wijster is aangetroffen, niet afkomstig is van milieuverontreiniging. De aanwezigheid van amfetamine, in vergelijkbare concentraties, in een vergister die geografisch ver weg is en wordt geëxploiteerd onder omstandigheden waarin milieuverontreiniging hoogst onwaarschijnlijk is, ondersteunt dit standpunt.

Een plausibele alternatieve hypothese is dat het een product is van microbiële activiteit in de vergisters, mogelijk de vermindering van alifatische nitrogroepen en dat deze niveaus van amfetamine reeds jarenlang op landbouwgrond zijn verspreid.

Het is aangetoond dat de biologische afbraak van amfetamine snel verloopt, zowel in het water als in de bodem, waarbij de actievere S-(+)-amfetamine bijzonder snel wordt afgebroken. Als zodanig is het risico voor de landbouw en de menselijke gezondheid waarschijnlijk insignificant.

7 Verwijzingen

- Bagnall, J., Malia, L., Lubben, A. en Kasprzyk-Hordern, B. (2013) Stereoselectieve biologische afbraak van amfetamine en methamfetamine in riviermicrokosmosen. *Wateronderzoek* **47**: 5708-5718
- Bertin, S., Yates, K. en Petrie, B. (2020) Enantiospecifiek gedrag van chirale geneesmiddelen in de bodem. *Milieuvervuiling* **262**: 114364
- Crippen, T.L., Sheffield, C.L., Singh, B., Byrd, J.A., Beier, R.C. en Anderson, R.C. (2021) Pluimveestrooisel en het milieu: Microbieel profiel van strooisel tijdens opeenvolgende koppelrotaties en na verspreiding op weiland. *Wetenschap van het totale milieu* **780**: 146413
- Emke, E., Vughs, D., Kolkman, A. en de Voogt, P. (2018) Epidemiologie op basis van afvalwater genereerde forensische informatie: amfetaminesyntheseafval en de impact ervan op een kleine rioolwaterzuiveringsinstallatie. *Forensische Wetenschap Internationaal* **286**: e1-e7
- Hagel, J.M., Krizevski, R., Marsolais, F., Lewinsohn, E. en Facchini, P.J. (2012) Biosynthese van amfetamine-analogen in planten. *Trends in Plant Science* **17:7** 404-412
- Korbekandi, H., Mather, P., Gardiner, J. en Stephens, G. (2008) Reductie van alifatische nitrogroepen met behulp van een obligaat anaërobe biokatalysator voor hele cellen. *Enzymen en microbiële technologie* **42**: 308-314
- Mori, A., Ishiyama, I., Akita, H., Suzuki, K., Mitsuoka, T. en Oishi, T. (1990) Vorming van amfetamine uit zijn nitro-analoog door anaërobe darmbacteriën. *Xenobiotica* **20**: 629-634
- Muhmood, A., Wang, X., Dong, R., Xiao, H. en Wu, S. (2021) Kwantitatieve karakterisering en effectieve inactivering van biologische gevaren in struviet teruggewonnen uit verteerde pluimveedrijfmest. *Wateronderzoek* **204**: 117659
- Petrie, B., Mrazova, J., Kasprzyk-Hordern, B. en Yates, K. (2018) Multi-residuanalyse van chirale en achrale organische verontreinigingen in de bodem door versnelde oplosmiddelextractie en enantioselectieve vloeistofchromatografie tandem-massaspectrometrie. *Tijdschrift voor chromatografie A* **1572**: 62-71
- Reymond, N., Emke, E., Boucheron, T., ter Laak, T., de Voogt, P.E. en Been, F. (2022) Retrospectieve screening van verdachten en niet-doelwitten in combinatie met gelijkensmaatregelen om prioriteit te geven aan MDMA- en amfetaminesynthesemarkers in afvalwater. *Wetenschap van het totale milieu* **811**: 152139
- Tarazona Carrillo, K., Béziat, N.S., Cebrián-Torrejón, G., Gros, O., de la Mata, A.P. en Harynuk, J.J. (2022) Metabolomische analyse van secundaire metaboliëten uit Caribische krabkieuwen

met behulp van uitgebreide tweedimensionale gaschromatografie - time-of-flight massaspectrometrie - Nieuwe ingangen voor een beter begrip van symbiotische associaties in schaaldieren. *Tijdschrift voor Chromatografie Open* **2**: 100069

Yuan, Y., Wang, X., Jin, M., Jiao, L., Sun, P., Betancor, M.B., Tocher, D.R. en Zhou, Q. (2020) Wijziging van voedingswaarden en smaakkwaliteiten van spier van zwemkrab (*Portunus trituberculatus*): toepassing van een voedingsstrategie voor lipidenvoeding. *Voedselchemie* **308**: 125607

Bijlage 6 Resultaten grondmonster met digestaat met
amfetamine bemest perceel

Eurofins Agro Testing Wageningen B
 Binnenhaven 5
 6709 PD Wageningen
 NEDERLAND

Brugge,
 7 december 2023

Geachte,
 Gelieve hierbij de resultaten van de door U aangevraagde analyses te willen vinden.

Uw referentie: zie detail analyseresultaten
Onze referentie: F.1593.23-12
Staalname door: klant
Stalen ontvangen op: 23/11/2023 – transport door klant
Aanvang analyse: 24/11/2023
Analysemethode: UPLC-MS/MS
Pagina: 1/1

BEPROEVINGSVERSLAG

Analyse :

Analyse op de aanwezigheid van amfetamine, methamfetamine, N-acetylamfetmine, MDA, MDMA en MDEA met behulp van vloeistofchromatografie tandem massaspectrometrie UPLC-MS/MS (FX039)

Uw referentie klant:	920463		
Ons subnummer:	F.1593.23-12		
Matrix product:	/		
Monsternaam:	3 ^e kruisdiep maps 6.96439 Grond		
Component	Resultaat	Rapporteringsgrens	Eenheid
Amfetamine	niet gedetecteerd	circa 0,02	mg/kg
Methamfetamine	niet gedetecteerd	circa 0,02	mg/kg
N-acetylamfetamine	niet gedetecteerd	circa 0,02	mg/kg
MDA	niet gedetecteerd	circa 0,02	mg/kg
MDMA	niet gedetecteerd	circa 0,02	mg/kg
MDEA	niet gedetecteerd	circa 0,02	mg/kg

De toevoeging circa benadrukt dat er altijd een onzekerheid in de kwantitatieve meetwaarde is.
 De resultaat is van toepassing op het staal zoals ontvangen. Een drogestofgehalte werd niet bepaald.

Eurofins Forensics Belgium is niet aansprakelijk voor de staalname en de representativiteit van het staal.

Het resultaat van de analyse werd vrijgegeven door Vera Coopman/Lisa Delahaye op 7 december 2023.



Bijlage 7 Onderzoek BioClear Earth - Amfetamine in digestaat

Betreft: Amfetamine in digestaat uit biovergisting
Opdrachtgever: Vereniging Platform Groen Gas
Auteur: 
Collegiale toets: 
Kenmerk: 
Status: Vertrouwelijk
Datum: 22 december 2023
Aantal bijlagen: 2

1 Achtergrond

In juni 2023 hebben de omgevingsdiensten in de drie noordelijke provincies digestaat van een 33 agrarische biovergisters gesampled en onderzocht op de aanwezigheid van drugs(afval). Er is gevonden dat 23 van de 33 onderzochte vergisters positief testen op amfetamine boven de detectielimiet van 10µg per kilogram digestaat. De analyses zijn uitgevoerd door de WFSR (WUR) middels een UHPLC-MS/MS techniek, specifiek ontwikkeld voor het aantonen van de eindproducten amfetamine, methylamfetamine en 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in moeilijke matrices zoals mest en digestaat. De analysemethode is opgezet op basis van de aanname dat de aanwezigheid van deze eindproducten een directe link legt naar de productie van synthetische drugs en daarmee naar de aanwezigheid van drugsafval. De resultaten van dit onderzoek zijn in oktober 2023 naar buiten gebracht. Het digestaat uit de betreffende biovergisters is op basis van deze positieve analyses, in combinatie met de veronderstelling dat de amfetamine aan de input van de vergister moet zijn toegevoegd, door de omgevingsdiensten als afval bestempeld. Door de kwalificatie als afval is het digestaat niet meer als meststof toe te passen. De omgevingsdiensten hebben vervolgens in de periode oktober / november 2023 een tweede bemonsterings- en analyseronde uitgevoerd waarvan de uitkomsten vergelijkbaar waren met de eerste analyseronde.

2 Impact

Als gevolg van het bestempelen van digestaat als afval, is de biogas productie sector logistiek op slot gezet. Zonder afvoer van digestaat is er geen verwerking van reststromen, geen transport en is er geen productie van groene energie. Dit brengt directe financiële consequenties met zich mee voor eigenaren van biovergisters. Mocht het digestaat met daarin amfetamines definitief als afval worden bestempeld, dan zal dit tot tal van faillissementen leiden in de sector. Ook wordt het imago van de sector (die beoogt op een circulaire manier reststromen te verwerken tot groene energie en meststoffen) geschaad door de associatie met drugsdumping in de dagbladen. Aangezien deze berichtgeving vooralsnog niet kan worden hardgemaakt, zijn de overheid en ondernemers tegenover elkaar komen te staan en in een 'lose-lose situatie' beland. Door samen te werken kan de ontstane situatie mogelijk worden opgelost. Belangrijke aandachtspunten zijn hierin het achterhalen van de herkomst van de gevonden amfetamine, de risico's voor het milieu en de juridische status van het digestaat.



3 Herkomst

Sinds het ontdekken van de amfetamine in digestaat zijn diverse organisaties bezig met het achterhalen van de herkomst van de gevonden amfetamine. De mogelijkheid van een vals positieve analyse is op basis van de gebruikte methodiek en validatie van deze methodiek zeer onwaarschijnlijk. Het is dus vrijwel zeker dat amfetamine inderdaad in de meeste biovergisters aanwezig is. Er is echter geen enkel bewijs gevonden voor de aanwezigheid van drugsafval. De voornaamste verifieerbare redenen hiervoor zijn het groot aantal getroffen vergisters, de afwezigheid van andere drugs of druggerelateerde componenten, de afwezigheid van amfetamine in de inputstromen en de concentratie van amfetamine in digestaat die laag is en relatief constant blijft. Meer achtergrond met betrekking tot de uitgesloten mogelijkheden staat beschreven in Bijlage 2. De overblijvende hypothese die een sluitende verklaring geeft voor alle observaties is dat amfetamine onder de zuurstofloze condities in vergisters wordt gevormd uit plantaardig materiaal. In de wetenschappelijke literatuur staat echter nog niets beschreven wat deze hypothese ofwel kan bevestigen ofwel kan ontkrachten.

Amfetamine wordt gekenmerkt door een aromatische groep en een amine verbinding. In biovergisting zijn verschillende typen aromatische verbindingen aanwezig die afkomstig zijn uit eiwitten en lignocellulose, beide aanwezig in plantaardig materiaal. Op basis van deze moleculen ligt het voor de hand om drie mogelijke opties verder te onderzoeken om natuurlijke productie aan te tonen. Voor één van deze drie opties heeft Bioclear earth wel al een nieuwe metabole route kunnen opstellen die de natuurlijke productie van amfetamine in biovergisters goed kan verklaren. Deze route is op dit moment puur hypothetisch omdat deze nog niet in de wetenschappelijke literatuur beschreven is en nog nooit via gecontroleerde testen is aangetoond. De enzymen, die als biokatalysator dienen in deze route, zijn echter wel bekend vanuit de literatuur en volgens een eerste verkenning aan de hand van microbiom data zeer waarschijnlijk aanwezig in biovergisters. De grondstoffen voor deze productieroute zijn in een vergister ook allemaal voorhanden.

Bioclear earth b.v. is expert op het gebied van biologische processen binnen de werkhema's bodemgezondheid, waterkwaliteit en bio-energie. Onder het motto 'Creating with the Power of Nature' is het onze missie om de wereld schoner en duurzamer te maken met behulp van de kracht van de natuur. Bioclear is een innovatief adviesbureau waar teams van analisten, bio-informatici, moleculair biologen, bioproces- en chemisch technologen samen aan projecten werken met als doel om onze biologische kennis te vertalen naar nieuwe inzichten en concrete handelingsperspectieven voor de praktijk. We beschikken niet alleen over een eigen onderzoekslaboratorium voor het bestuderen en ontwikkelen van deze biologische processen maar ook over een eigen moleculair laboratorium voor de uitvoering van state-of-the-art DNA analyses. In het EU project Micro4Biogas heeft Bioclear de afgelopen jaren uitgebreid onderzoek gedaan naar het in vergisters aanwezige microbiom en de microbiologische processen die in vergisting optreden met als doel om deze verder te kunnen optimaliseren. We zijn daarom goed in staat om natuurlijke productieroutes in kaart te kunnen brengen en op wetenschappelijk wijze te documenteren.



4 Risico's

Dit hoofdstuk geeft op basis van beschikbare informatie een initiële risico inschatting voor het toepassen van digestaat met daarin amfetamine als meststof. Aangezien er naast amfetamine geen andere drugs of druggereleerde componenten zijn aangetroffen, zijn de risico's ingeschat enkel op de aanwezigheid van amfetamine. Deze risico inschatting is gebaseerd op de aanwezige concentraties, de verspreiding in het milieu, de farmacologische dosis bij gebruik als medicatie, de ecotoxiciteit en de biologische afbreekbaarheid onder zuurstofrijke condities.

4.1 Aanwezigheid amfetamine in digestaat

Aanwezige concentraties amfetamine

In alle digestaten is het gemeten amfetamine gehalte lager dan 1000 µg/kg digestaat, ofwel 1 mg/kg digestaat. Deze waarde kan daarom als absolute maximale concentratie worden aangehouden in de risico afweging. De hoogst gemeten concentratie is circa 700 µg/kg, echter dit betreft een uitschieter. De meest voorkomende amfetamine concentratie is ordegrrootte 10 tot 40 µg amfetamine per kilogram digestaat. Onderstaande tabel geeft een overzicht van de amfetamine gehalten in digestaten en de frequentie van voorkomen.

Tabel 1. Amfetamine gehalten aanwezig in digestaat.

Categorie	Amfetamine niet aanwezig	Meest voorkomende amfetamine gehalten	Hoogst gemeten amfetamine gehalten
<i>Percentage van de gemeten digestaten</i>	Circa 30%	Circa 50 - 60%	Circa 10 - 20%
<i>Amfetamine gehalte (µg/kg digestaat)</i>	<10	10 – 100	100 - 1000

Inschatting risico aanwezigheid amfetamine in vergisters

Op dit moment is het nog niet bekend wat het effect van de aangetroffen amfetamine is op de effectiviteit en robuustheid van het biologische proces in vergisters. Mocht amfetamine bepaalde groepen micro-organismen blijken te remmen dan brengt dit mogelijk een procesrisico met zich mee. Aangezien geen van de vergisters last had van productieproblemen wordt dit risico op laag ingeschat. Tegenovergesteld kan het ook zijn dat amfetamine micro-organismen in vergisters juist stimuleert. De humane risico's worden in de volgende paragraaf besproken.

4.2 Humane risico's

Humaan gebruik

Om te achterhalen wat mogelijk humane risico's zijn van blootstelling aan amfetamines als gevolg van (in-)direct contact via digestaat is gekeken naar het gebruik van medicijnen in dezelfde stofklasse. Momenteel zijn er geen richtlijnen aanwezig voor de blootstellingsvorm waar het in dit onderzoek over gaat.



Dexamfetamine, het optisch rechtsdraaiende stereo-isomeer van amfetamine, is in Nederland geregistreerd als geneesmiddel. Dexamfetamine wordt als medicatie toegepast bij ADHD met als doel om het concentratie vermogen te verbeteren en hyperactiviteit te verminderen. De overheid informeert artsen over het gebruik¹. Voor kinderen met een leeftijd van 6 – 17 jaar is de geadviseerde dosering 5 – 20 mg amfetamine per dag, met een absoluut maximale dosering van 1 mg amfetamine per kilogram lichaamsgewicht per dag en een maximale dosering van 40 mg amfetamine per dag voor kinderen oplopend tot maximaal 100 mg amfetamine per dag voor volwassenen.

In het lichaam heeft amfetamine een terminale halfwaardetijd van 10,2 uur. Dit houdt in dat 51 uur vanaf het moment dat er in het lichaam geen absorptie van amfetamine meer plaatsvindt, de amfetamine voor 97% het lichaam weer heeft verlaten. Een klein gedeelte van de amfetamine wordt in de lever omgevormd tot componenten die het lichaam nog makkelijker verlaten, het grootste gedeelte van de amfetamine wordt onveranderd uitgescheiden via de urine². De halfwaardetijd voor linksdraaiend amfetamine (11-14 uur) is net iets langer dan die van rechtsdraaiend amfetamine (range 9-11 uur). Verder is de halfwaardetijd ook afhankelijk van de pH van urine (range 7 tot 34 uur)³. Reguliere medicatie is vaak stereo-specifiek, maar vanwege kosten zijn er ook racemische preparaten beschikbaar als reguliere medicatie⁴. Voor behandeling van ADHD bij volwassenen wordt door de Federatie Medisch Specialisten naast dexamfetamine ook het optisch linksdraaiende stereo-isomeer van amfetamine alsmede een racemisch mengsel van beide stereo-isomeren genoemd in de medicatie richtlijnen⁵. Verder wordt amfetamine ook recreatief gebruikt als stimulerende drug⁶.

Inschatting humane risico's

De humane risico's zijn vrijwel afwezig als het gaat om blootstelling aan amfetamine via digestaat. De aangetroffen concentraties zijn dermate laag dat deze geen risico vormen voor de menselijke gezondheid. Er zijn verschillende blootstellingsroutes mogelijk, waarbij gezien de stoffeigenschaften van amfetamine alleen het oraal innemen van toepassing lijkt.

Stel dat het lichaamsgewicht van een mens volledig uit digestaat zou bestaan en stel dat deze hoeveelheid digestaat in ons lichaam ook nog eens dagelijks wordt ververst, dan blijft de daarin aanwezige hoeveelheid amfetamine in principe nog onder de medisch maximaal verantwoorde dosering van amfetamine voor deze persoon. Dit kan eenvoudig worden afgeleid door de maximaal verantwoorde dosering bij gebruik als medicatie (1 mg amfetamine per kilogram lichaamsgewicht per dag) te vergelijken met de maximale concentratie van amfetamine in digestaat (altijd <1mg amfetamine per kilogram digestaat, meestal <<1 mg amfetamine per kilogram digestaat). Vanwege deze extreem lage hoeveelheden en vanwege het feit dat we digestaat niet consumeren worden de humane risico's daarom ingeschat op afwezig.



4.3 Verspreiding in het milieu

Bij gebruik van digestaat als meststof wordt de amfetamine verspreid in het bodem-water-lucht ecosysteem. Als een gevolg van verschillende natuurlijke processen zal amfetamine in concentratie verder dalen in het milieu. De processen die zorgen voor verlaging van de concentratie amfetamine in het milieu zijn verspreiding van digestaat in tijd en ruimte bij aanwending, binding van amfetamine aan het bodemcompartiment, uitspoeling van amfetamine door regenval, verdunning van amfetamine in het oppervlaktewater gecombineerd met natuurlijke afbraakprocessen.

Verspreiding van amfetamine in het milieu

Amfetamine heeft een hoge pKa (9,9 - 10,1) en een hoog kookpunt (203 °C) en dus een lage dampspanning. Digestaat heeft een pH van 7,5 - 8,3 en amfetamine zal bij deze pH waarde volledig geprotoneerd (positief geladen) zijn. Door deze positieve lading is amfetamine in het geheel niet vluchtig en de amfetamine zal bij verspreiding dan ook niet in de lucht terecht komen⁷. De bodem pH is lager dan die van digestaat en amfetamine zal in het bodem-water ecosysteem daarom geprotoneerd blijven. Deze positieve lading van het molecuul zal er voor zorgen dat amfetamine in principe goed wateroplosbaar is, maar dat amfetamine juist ook kan binden aan meer negatieve klei of sediment deeltjes. Afhankelijk van het bodemtype en de bodemkarakteristieken zal amfetamine dan juist mobiel aanwezig zijn in de waterfase of juist niet mobiel zijn en op zijn plek blijven in de bodem⁷.

Om de concentraties die in het milieu terechtkomen in te schatten kunnen we wat aannames doorrekenen. Aangenomen dat een gemiddeld digestaat circa 4,25 kg/ton aan stikstof bevat, en een voor dierlijke mest geldende gebruiksnorm voor stikstof van 170 kg per hectare per jaar, dan mag er per jaar per hectare circa 40 ton digestaat worden aangewend. In deze hoeveelheid zit dan volgens de in paragraaf 4.1 vastgestelde concentraties altijd minder dan 40 gram amfetamine in deze 40 ton digestaat, maar zeer waarschijnlijk minder dan 4 gram amfetamine. Jaarlijks wordt er dan in alle gevallen minder dan 40 g amfetamine per hectare, oftewel 4 mg amfetamine per vierkante meter bodem aangewend. In de praktijk zal dit in de meeste gevallen minder dan 0,4 mg amfetamine per vierkante meter zijn.

Stel dat bij gebruik op kleigrond de amfetamine volledig bindt aan het bodempakket, dan is op basis van het gewicht van het bodempakket (geschat op circa 1.000 kg per vierkante meter) in ieder geval minder dan circa 0,4 tot 4 µg per kg bodem aanwezig. Amfetamine is dan niet meer detecteerbaar met de huidige methode.

Stel dat op zandgronden deze amfetamine volledig terecht komt in het regenwater (circa 800 liter per vierkante meter per jaar) dan wordt de gemiddelde concentratie in het water lager dan circa 0,5 tot 5 µg per liter water. Amfetamine is dan niet meer detecteerbaar met de huidige methode. Naast deze gemiddelde waarde kunnen er natuurlijk wel piekconcentraties optreden bij een eerste regenbui direct na aanwending. In het algemeen is het zo dat bij uitspoeling de amfetamine terechtkomt in het oppervlaktewater waar door verdunning de concentratie verder verlaag wordt en snelle uitspoeling uit het watersysteem plaatsvindt.



Natuurlijke afbraak in het milieu

De aanwezigheid van amfetamine in anaerobe (zuurstofarme) systemen onder methanogene condities zoals biovergisters duidt erop dat amfetamine in deze milieus niet tot beperkt afbreekbaar is. Dit wordt bevestigd in de literatuur waar Evans et al.(2016)⁸ beschrijven dat in een anoxisch gehouden 'river microcosm', een biologisch actief gecontroleerd mini-ecosysteem gelijkend op dat in een rivier, amfetamine op een concentratie van 1,5 µg per liter voor circa 40% afbreekt. Verdere testdetails ontbreken voor dit systeem en deze test.

Bij gebruik van digestaat als meststof in de bodem zal de daarin aanwezige amfetamine echter in contact komen met zuurstof in het biologisch actieve bodem-water ecosysteem. Bij bovengronds uitrijden zal het digestaat ook met licht in contact komen. Het is uit de wetenschappelijke literatuur bekend dat beide stereo-isomeren van amfetamine onder voor de praktijk relevante omstandigheden goed en volledig biologisch afbreekbaar zijn onder aerobe (zuurstofrijke) condities in een periode van uren tot dagen en maximaal weken. Het is ook bekend dat licht de afbraak versnelt. De resultaten uit alle drie bestudeerde artikelen, hieronder beschreven, komen onderling met elkaar overeen waardoor een goed beeld ontstaat van afbraak in het milieu.

Evens et al. (2016)⁸ beschrijven dat amfetamine in abiotische omstandigheden (zonder aanwezigheid van microbiologie) niet afbreekt. In een actief slib systeem als model voor een waterzuivering breekt amfetamine op een concentratie van 1,5 µg per liter en een temperatuur van 21 tot 29 °C in enkele uren af. De halfwaardetijd voor het optisch rechtsdraaiende vorm S(+) is een kwartier, voor het optisch linksdraaiend isomeer, R(-) circa vijftig minuten. Als gevolg van afbraak van een racemisch mengsel zal eerst de enantiomeer ratio veranderen voordat de amfetamine volledig verdwijnt. Voor een rivier model systeem bleek dat amfetamine goed afbrak onder zowel lichte als donkere condities. Onder lichte condities was de amfetamine na drie dagen volledig verdwenen. Onder donkere condities bleek dat het S(+) enantiomeer na drie dagen volledig was afgebroken en het R(-) enantiomeer na tien dagen.

Bagnall et al. (2013)⁹ geven vergelijkbare resultaten in testen op basis van een amfetamine concentratie van 1 µg amfetamine per liter en temperaturen van 20 tot 30 °C . Onder abiotische condities breekt ook hier de amfetamine niet af, ook blijkt uit de testen dat amfetamine licht stabiel is. In de aanwezigheid van microbiologie breekt amfetamine wel goed af. Na 15 dagen is de amfetamine in belichte systemen volledig verdwenen en is de amfetamine in donkere systemen grotendeels verdwenen. Ook in deze studie is waargenomen dat het S(+) enantiomeer, de vorm met het hoogste stimulerende effect, sneller en vollediger biologisch afgebroken wordt dan het R(-) enantiomeer.

Tenslotte beschrijven Bertin et al. (2020)¹⁰ amfetamine afbraak in een bodem microcosmos op temperaturen die relevant zijn voor de praktijk. Als model voor de zomer is een temperatuur van 18 graden Celsius bestudeerd en als model voor de winter een temperatuur van 4 graden Celsius. Er zijn twee amfetamine concentraties getest: 0,1 µg per gram bodem en 0,01 µg per gram bodem. Onder zomerse condities was de amfetamine na 28 dagen volledig afgebroken, onder winterse condities was de amfetamine na 42 dagen volledig afgebroken. Ook in deze test brak het S(+) enantiomeer weer sneller af dan het R(-) enantiomeer.



In deze studie zijn verder ook de individuele stereo-isomeren getest op een concentratie van 0,05 µg per gram bodem om te onderzoeken of het ene stereo-isomeer door chirale inversie in het andere stereo-isomeer kan overgaan. Deze chirale inversie is voor amfetamine niet waargenomen. De halfwaardetijd in deze test was circa één dag voor S(+) amfetamine en circa 2,3 dagen voor R(-) amfetamine.

Inschatting milieu risico's

Bij het gebruik van digestaat als meststof is het op basis van de lage concentraties na verspreiding onwaarschijnlijk dat amfetamine uit het digestaat nog in het milieu kan worden gedetecteerd. Op basis van enkele berekeningen blijkt echter dat de concentraties in het milieu niet geheel te verwaarlozen zijn. Het is daarom een belangrijk gegeven dat amfetamine onder zuurstofrijke milieucondities goed afbreekbaar is. Op basis van deze goede afbreekbaarheid is het waarschijnlijk dat amfetamine in de loop van dagen en weken tot maximaal maanden weer uit het milieu zal verdwijnen en is het onwaarschijnlijk dat er over tijd ophoping in het milieu zal plaatsvinden.

In een studie naar de ecotoxiciteit van amfetamine uitgevoerd op de zebra mossel door Parolini et al. (2016)¹¹ kwam naar voren dat er bij een concentratie van 0,5 µg amfetamine per liter water in een periode van 14 dagen geen negatieve invloed was op het organisme. Bij een concentratie van 5 µg amfetamine per liter water werden wel negatieve effecten waargenomen. De lange termijn effecten van amfetamine op aquatische organismen zijn nog onbekend.

Door deze beperkte ecotoxiciteits-data te combineren met de berekende amfetamine waarden op basis van binding aan de bodem, uitspoeling naar het oppervlaktewater, verdere verdunning in het oppervlakte water en de goede biologische afbreekbaarheid wordt het milieu risico initieel ingeschat op laag tot zeer laag. Wel zal hier in de toekomst nog verder naar gekeken moeten worden aan de hand van metingen in bijvoorbeeld het oppervlaktewater.

Tenslotte kan op basis van de leidende hypothese van in-situ productie aangenomen worden dat ecosystemen wereldwijd al langdurig blootgesteld moeten zijn geweest aan de amfetamine afkomstig uit digestaat, zonder dat hieruit ooit negatieve gevolgen voor mens en dier naar voren zijn gekomen.

5 Advies

Op basis van alle beschikbare en beschreven informatie en met oog voor de druk op de sector is het advies van Bioclear earth als volgt.

Het nemen van de beslissing om op zeer korte termijn (binnen een aantal weken) te stoppen met het classificeren van digestaat uit biovergisting met daarin amfetamine als afval. Deze beslissing kan de overheid onderbouwen aan de hand van de volgende argumenten:

- de aanwezigheid van amfetamine in digestaat uit biovergisting;
- de lage concentraties van amfetamine in digestaat uit biovergisting;
- de inschatting gedaan op basis van beschikbare informatie dat de aanwezige gehalten van amfetamine zeer waarschijnlijk niet schadelijk zijn voor mens en milieu;



- de goede afbreekbaarheid van amfetamine onder zuurstofrijke milieucondities op basis van wetenschappelijke literatuur;
- de afwezigheid van andere druggerelateerde componenten;
- de aanname die in de WFSR methodiek beschreven staat dat de aanwezigheid van amfetamine automatisch gerelateerd is aan de aanwezigheid van drugsafval, op basis van dat dit een aanname zonder bronvermelding betreft en dat deze aanname niet geverifieerd kan worden voor digestaat uit biovergisting;
- de door de overheid eerder gedane aanname dat amfetamine aan het digestaat is toegevoegd, op basis van dat deze aanname bij nader inzien niet geverifieerd kan worden;
- de leidende hypothese dat amfetamine onder zuurstofloze condities in-situ in biovergisting gevormd wordt.

Verder is het wenselijk om acties in te zetten die op korte termijn (binnen een aantal maanden) deze beslissing verder kunnen onderbouwen:

- het bevestigen van de hypothese van in-situ amfetamine vorming in biovergisting via het uitvoeren van gecontroleerde experimenten;
- het verder bestuderen en uitsluiten van de mogelijke risico's voor mens en milieu.

Daarnaast is het wenselijk om op middellange termijn (binnen de komende twee jaar) het precieze werkingsmechanisme van in-situ vorming te achterhalen en de bevindingen te publiceren in een peer-reviewed wetenschappelijk tijdschrift. Verder kunnen overheidsorganisaties zoals het RIVM een uitspraak doen over de milieu risico's. Indien het inderdaad in-situ productie betreft dan heeft dit altijd al plaatsgevonden en speelt historische bewijsvoering mogelijk een rol in het uitsluiten van mogelijke risico's.

Mocht de overheid in de toekomst de noodzaak voelen om te toetsen op de aanwezigheid van synthetisch drugsafval in digestaat uit biovergisting via de WFSR methode dan is het aanbevolen om alleen te analyseren op de aanwezigheid van 3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA) en methylamfetamine.

Een algemeen advies richting overheid voor toekomstige projecten is om niet te meten aan nieuwe componenten zonder eerst scenario's op te stellen van alle mogelijke analyse uitkomsten en ook niet zonder vooraf voor elk van deze scenario's een actie- en communicatie strategie op te stellen met betrokken actoren.



Bijlage 1 Bronnenlijst

Onderstaande lijst geeft een overzicht van de geraadpleegde bronnen.

1. <https://www.farmacotherapeutischkompas.nl/bladeren/groepsteksten/amfetaminen>
2. <https://www.farmacotherapeutischkompas.nl/farmacologie/farmacokinetiek>
3. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3007#section=Pharmacology-and-Biochemistry>
4. Persoonlijke communicatie van een expert toxicoloog aan Bioclear earth.
5. https://richtlijndatabase.nl/richtlijn/adhd_bij_volwassenen/medicamenteuze_behandeling_adhd.html
6. <https://www.ggzstandaarden.nl/richtlijnen/stoornissen-in-het-gebruik-van-cannabis-cocaine-amfetamine-ecstasy-ghb-en-benzodiazepines/amfetamine>
7. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/3007#section=Ecological-Information&fullscreen=true>
8. Sian E. Evans, John Bagnall, Barbara Kasprzyk-Hordern, Enantioselective degradation of amphetamine-like environmental micropollutants (amphetamine, methamphetamine, MDMA and MDA) in urban water, *Environmental Pollution*, Volume 215, 2016, Pages 154-163, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.103>
9. John Bagnall, Louis Malia, Anneke Lubben, Barbara Kasprzyk-Hordern, Stereoselective biodegradation of amphetamine and methamphetamine in river microcosms, *Water Research*, Volume 47, Issue 15, 2013, Pages 5708-5718, <https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.06.057>
10. Sophie Bertin, Kyari Yates, Bruce Petrie, Enantiospecific behaviour of chiral drugs in soil, *Environmental Pollution*, Volume 262, 2020, 114364, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114364>
11. Marco Parolini, Stefano Magni, Sara Castiglioni, Andrea Binelli, Amphetamine exposure imbalanced antioxidant activity in the bivalve *Dreissena polymorpha* causing oxidative and genetic damage, *Chemosphere*, Volume 144, 2016, Pages 207-213, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.08.025>

Alle internetbronnen zijn het laatst bezocht op 21-12-2023.



Bijlage 2 Herkomst - uitgesloten mogelijkheden

Deze bijlage geeft onderbouwing van de mogelijkheden die verkend zijn, maar die geen sluitende verklaring hebben kunnen bieden voor de aanwezigheid van amfetamine.

- 1) **Kruisbesmetting met de RWZI-keten** middels transporteurs die met dezelfde tanks zowel mest, ijzerwater en RWZI-slib vervoeren. Deze mogelijkheid is ondertussen uitgesloten.
- 2) **Vals positieve analyse** op basis van een op amfetamine gelijkende component aanwezig in biovergisting die een positionele isomeer van amfetamine is. Positionele isomeren van amfetamine hebben een identieke molecuulformule (C₉H₁₃N), maar een andere molecuulstructuur. Deze hypothese lijkt onwaarschijnlijk aangezien de gebruikte analysemethodiek en -techniek zeer gevoelig is. NMPEA is een positionele isomeer van amfetamine die qua structuur erg op amfetamine lijkt en die op basis van de plantaardige componenten aanwezig in vergisting via twee omzettingstappen gesynthetiseerd kan worden. De WUR heeft als validatie van haar methode NMPEA negatief getest op amfetamine. BMPEA is een positionele isomeer van amfetamine die nog meer op amfetamine lijkt, maar waarvan het zeer onwaarschijnlijk is dat deze in vergisting aanwezig is. Een lid van het Platform Groen Gas heeft bij Eurofins Brugge middels dezelfde UHPLC-MS/MS techniek zowel NMPEA als BMPEA zonder de digestaat matrix negatief getest op amfetamine.
- 3) **Indirecte dumping van drugsafval middels ingaande grondstoffen.** Deze mogelijkheid is zeer onwaarschijnlijk. Er zijn, door onderzoek van een ondernemer, naast amfetamine geen componenten aangetroffen die gerelateerd worden aan de productie van synthetische drugs. Ook zijn er, behoudens één onderzochte vergister, geen andere synthetische drugs aangetroffen. De omgevingsdiensten hebben geen relatie met alleen mest of met alleen co-producten kunnen leggen. Zowel mest-covergisters als mest-monovergisters als puur plantaardige vergisters zijn positief getest. Verder hebben een aantal getroffen ondernemers hun ingaande grondstoffen geanalyseerd, hierin is geen amfetamine aangetroffen.
- 4) **Directe dumping van drugsafval in de vergister.** Dit is onwaarschijnlijk gezien de aangetroffen componenten (zie punt 3). Bij directe dumping verwacht men in een vergister fluctuerende concentraties aangezien er dagelijks digestaat uit de vergister verwijderd wordt en er vers inputmateriaal wordt toegevoegd. De tweede analyse ronde liet zien dat de concentratie van amfetamine in vergisters door de tijd heen relatief constant blijft, wat dumping onwaarschijnlijk maakt. Verder draagt de brede verspreiding (2/3 van de vergisters test positief) niet bij aan de waarschijnlijkheid van de optie van drugsdumping.

Op basis van deze uitgesloten mogelijkheden is natuurlijke productie van amfetamine in biovergisting daarom een hypothese die een logische verklaring geeft voor het groot aantal vergisters dat positief test, voor het ontbreken van andere types drugs en aan drugsafval gerelateerde componenten en voor de relatief lage, relatief constant blijvende amfetamine concentraties.



Bijlage 8 Advies Omgevingsdiensten vervuld digestaat door
LNV



Aan Omgevingsdiensten Noord Nederland

Directoraat-generaal Agro

Datum
24 november 2023

Kenmerk
DGA / 41083057

Kopie aan

Bijlage(n)

memo

Waarom met amfetamine verontreinigd digestaat moet worden aangemerkt als afvalstof en niet langer kan worden gekwalificeerd als verhandelbare meststof

Vanuit de Meststoffenwet geldt dat dierlijke mest waaraan amfetaminen zijn toegevoegd geen verhandelbare meststof is. De voorschriften voor de verhandeling en het gebruik van meststoffen zijn opgenomen in het Uitvoeringsbesluit Meststoffenwet (Ubm), de Uitvoeringsregeling Meststoffenwet (Urm) en het Besluit gebruik meststoffen (Bgm). In het Ubm, artikel 5 eerste lid, is bepaald dat meststoffen, met uitzondering van zuiveringsslib, compost en herwonnen fosfaten, niet geheel of gedeeltelijk zijn geproduceerd uit afvalstoffen of uit reststoffen, tenzij het gaat om de bij een ministeriële regeling aangewezen stoffen (Bijlage Aa van de Urm). In die bijlage kunnen conform artikel 5, tweede lid, van het Ubm afvalstoffen of reststoffen, categorieën afvalstoffen of reststoffen of eindproducten van bij die regeling omschreven bewerkingsprocédés worden aangewezen indien er naar het oordeel van de minister van LNV geen landbouwkundige en milieukundige bezwaren bestaan dat deze stoffen als meststof worden verhandeld of bij de productie van meststoffen worden gebruikt. In de uitwerking van de landbouwkundige en milieukundige eisen is voor stoffen die zijn opgenomen in onderdeel G van de Bijlage Aa van de Urm onder andere voorzien in maximale waarden voor bepaalde zware metalen. Voor veel andere stoffen (zoals amfetamine) bevatten het Ubm en de Urm echter geen norm. Het kan voorkomen dat er in de afvalstoffen of reststoffen van bijlage Aa afwijkende stoffen aanwezig zijn die niet zijn toegevoegd, maar waarvan het te verwachten is dat die in beperkte mate in de toegestane reststof zitten. Indien de reststof is vervuild met stoffen waarvan het te verwachten is dat die in de gevonden mate in de reststof aanwezig zijn, is het verdedigbaar dat daarmee (impliciet) rekening is gehouden bij de aanwijzing en daarom is toegestaan. Daarbij komt dat in het oordeel van de Commissie Deskundigen Meststoffenwet (CDM) ten behoeve van de toetsing of een reststof of afvalstof gebruikt kan worden bij covergisting, rekening wordt gehouden met dergelijke vervuiling. Voor de toelaatbaarheid en dus verhandelbaarheid van meststoffen die met behulp van dergelijke vervuilde reststoffen zijn geproduceerd is artikel 6, derde lid, Ubm, bepalend, hetgeen betekent dat het digestaat onder normale gebruiksomstandigheden geen schadelijke gevolgen mag hebben voor de gezondheid van mens, dier of plant of voor het milieu. Bij het toevoegen van vervuilende stoffen aan dierlijke meststoffen, aan de toegestane reststoffen of aan digestaat is er sprake van het toevoegen van stoffen

die niet in bijlage Aa zijn opgenomen. Dit betekent dat er dan sowieso geen sprake is van een verhandelbare meststof.

Een meststof die niet verhandeld mag worden, mag volgens het Bgm ook niet op of in de bodem worden gebracht. Als een meststof niet verhandeld en (dus) niet op of in de bodem gebracht mag worden en de houder zich ervan wil ontdoen omdat de stof voor hem geen nut meer heeft, is er sprake van een afvalstof in de zin van de Wet milieubeheer.

Naast hetgeen hiervoor is aangegeven, is amfetamine een middel dat is opgenomen op lijst I bij de Opiumwet. Dit betekent dat bij de vraag of er sprake is van een bruikbare meststof niet alleen gelet moet worden op de Meststoffenwet en daarop gebaseerde regelgeving, maar ook op de Opiumwet. Nu amfetamine is opgenomen in lijst I bij de Opiumwet mag dat middel op grond van artikel 2 van de Opiumwet onder meer niet worden verkocht, afgeleverd of verstrekt. De Opiumwet kent hierbij geen ondergrens, dus ook het verkopen e.d. van stoffen met een lage concentratie aan amfetamine is verboden.



Bijlage 9 Protocol

Tijdelijk Protocol voorkomen amfetamine risico's van digestaat

Herkomst/achtergrond protocol

Op basis van de verzamelde informatie en inzichten het meest voor de hand liggend dat de amfetamine een proces-technische herkomst heeft. In dat geval kan ook gesteld worden dat amfetamines al zolang als er vergisting bestaat gevormd zijn. Zowel in Nederland als wereldwijd. Het is dan niet reëel om alle groen gasproductie te stoppen, als risico's ten gevolge daarvan niet waarschijnlijk zijn.

In geval van vermoeden van een dumping moet tevens specifiek gekeken wordt naar de mogelijke oorsprong.

Toelaatbaarheid/ schadeverwachting milieu en omgeving

Hoewel amfetamine als niet-milieuschadelijk te boek staat conform de REACH kan voor de benadering van nu op basis van de kennis van nu een milieutechnische grenswaarde gesteld worden voor de toelaatbaarheid van de amfetamine in de grond, waaruit een waarde kan worden gedestilleerd voor de toelaatbaarheid in digestaat.

Bij de bepaling van de toelaatbaarheid op een veilige grens is vooralsnog aangesloten bij de benadering van door Bioclear Earth. Het is te verwachten dat een ruimere benadering mogelijk is of dat op basis van verder uitgewerkte kennis blijkt dat een protocol niet (of niet meer) nodig is.

Uitwerking:

De gift op het land is afhankelijk van de waarde gevende bestanddelen. Zoals door Bioclear Earth is aangegeven levert het toepassen van een waarde van 1 mg/L bij een stikstofgehalte van ca 4 kg op basis van de huidige kennis geen gevaar op voor het milieu. Gezien de snelle afbraak in aerobe condities daalt de waarde na uitrijden als meststof daarna binnen enkele dagen tot weken naar een onmeetbare waarde, waardoor effecten of schade in zijn geheel zijn uitgesloten. Dit wordt ondersteund door de gegevens uit REACH waarin amfetamine niet als schadelijk voor het milieu te boek staat in de EU-regelgeving.

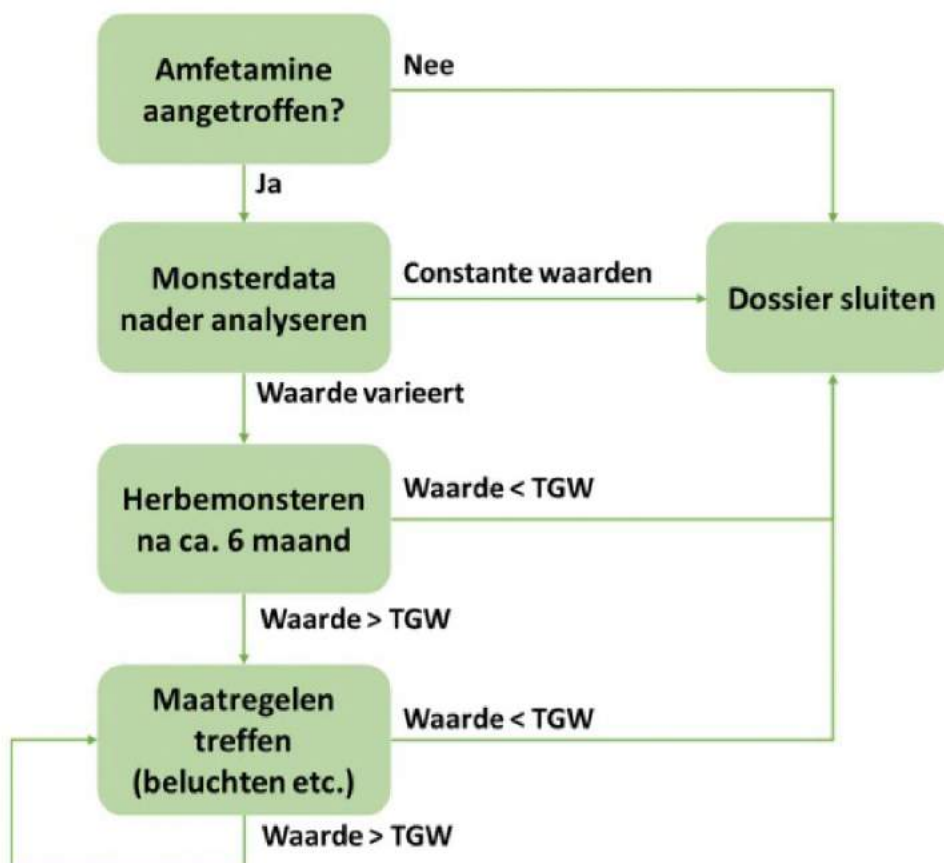
Als er risico is dat de grenswaarde van 1 mg/L bij een gift op het land van 4 kg/ton N in digestaat wordt overschreden kan dat op basis van periodiek meting worden vastgesteld. Dit geldt voor het overgrote deel van de installaties niet, aangezien daar slechts een fractie van die waarde is gevonden. Als er waarden in het af te voeren digestaat zijn gevonden die groter zijn dan de grenswaarde, gerelateerd aan de stikstofgift is het zinvol om een periodieke hercontrole uit te voeren en maatregelen te overwegen. Hierbij moet er rekening me gehouden worden dat het afdwingen van een TGW moeilijk is, omdat schade niet is verwacht.

Uitgaande van de in situ herkomst/procesafhankelijk voorkomen van amfetamine in digestaat wordt het protocol dan als volgt:

PROTOCOL AMFETAMINE IN DIGESTAAT

1. Is amfetamine aangetroffen in af te voeren digestaat? J/N; N => geen verdere maatregelen, dossier afsluiten, J => naar 2;
2. Zo ja: Data van de monsters, analyses, en wat zijn de aangetroffen waarden voor amfetamine en stikstof in digestaat opnemen;
3. Beoordeling van info uit 2: Is de waarde constant of is de laatste meting lager dan de eerdere meting? Is de waarde kleiner dan de tijdelijke grenswaarde (TGW) ten opzichte van de stikstofgift? Zo ja: rapportage afsluiten. Zo Nee: => 4/5;
4. Bij significant toenemende waarde: Herbemonstering na ca. 6 maanden;
5. Bij waarde hoger dan TGW: Bewaren/ beluchten of andere maatregelen treffen om waarde in digestaat naar beneden te brengen. Periodiek (na 6 maanden) herbemonsteren. Tevens nader onderzoek naar de mogelijke oorzaak.

Het protocol is niet opgesteld om amfetamine te voorkomen, daar is geen reden toe. Er wordt met het protocol voorkomen dat eventuele concentraties van amfetamine onvoorzien hoog oplopen. Het is niet verplicht of noodzakelijk het protocol toe te passen. Voor het voorkomen van drugsafval zou gezocht moeten worden naar precursoren. Een grafische weergave van het protocol is hieronder weergegeven.



Figuur 8. Grafische weergave (tijdelijk) protocol