

**EVALUATIE PILOTPROEF FASE 2
BIOLOGISCHE IN SITU SANERING UDEN-CENTRUM**

Evaluatierapport op basis van de monitoringsgegevens

Opdrachtgever: Provincie Noord-Brabant, 's Hertogenbosch
Projecttitel: Evaluatie pilotproef biologische in situ
sanering Uden-centrum
Projectcode: 2000.1389
Documenttype: Evaluatierapport
Publicatiedatum: 13 november 2002
Projectleider: ing. J.E. Dijkhuis
Auteur(s): ing. J.E. Dijkhuis
Trefwoorden: bodem, VOCl, monitoring, gestimuleerd, in-
situ

Bioclear b.v.
Postadres:
Postbus 2262, 9704 CG Groningen
Bezoekadres:
Rozenburglaan 13C, Groningen
Telefoon: 050 571 8455
Fax: 050 571 7920
E-mail: info@bioclear.nl
Website: www.bioclear.nl

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze uitgave mag worden vermenigvuldigd en/of openbaar gemaakt door middel van druk, fotokopie, microfilm of op welke andere wijze dan ook, zonder voorafgaande toestemming van Bioclear.

© Bioclear b.v.

Bioclear adviseert bedrijven, overheden en dienstverlenende organisaties op het terrein van de milieutechnologie.

Op opdrachten aan Bioclear zijn van toepassing de Algemene Voorwaarden voor onderzoeksopdrachten aan Bioclear, zoals gedeponeerd bij de Kamer van Koophandel te Groningen.

INHOUD

1. INLEIDING	1
1.1. Achtergrond	1
1.2. Resultaten nulmeting	1
1.3. Aangepaste uitvoering pilotsanering	2
1.4. Afronding pilotproef	2
2. UITVOERING PILOTSANERING	3
2.1. Keuze locatie proefgebied	3
2.2. Gedoseerde hoeveelheid protamylasse	4
2.3. Opzet monitoringsprogramma	4
2.3.1. Bemonsterde peilbuizen	5
2.3.2. Periodieke monsternamen	5
2.3.3. Uitgevoerde analyses	5
2.3.4. Interpretatie van de resultaten	6
3. RESULTATEN	8
3.1. Analyseresultaten	8
3.2. Redoxomstandigheden	8
3.3. Brandstof	10
3.3.1. Verspreiding substraat	10
3.3.2. Brandstofbalans	12
3.3.3. Afbraak van Protamylasse	12
3.4. Verloop van de anaërobe afbraak van gechloroorede ethenen	15
3.5. Effect substraatinfiltatie op de zuurgraad (pH)	18
4. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN	19

BIJLAGEN

Bijlage 1. Analyseresultaten pilotsanering

Bijlage 2. Gedoseerde hoeveelheid protamylasse

1. INLEIDING

1.1. Achtergrond

Voor het saneren van de VOCl-verontreiniging op de locatie Uden-centrum is gekozen voor een biologische in situ variant waarbij de verontreiniging door stimulatie van de biologische activiteit middels koolstofbrondosering wordt verwijderd. Uit de resultaten van fase 1 (Evaluatierapport fase 1, februari 2001) is gebleken dat volledige omzetting van PER naar etheen/ethaan alleen kan worden gestimuleerd door toediening van een complexe koolstofbron (bijvoorbeeld protamylasse) in combinatie met een geschikte dechlorerende bacteriepopulatie. Gebaseerd op deze resultaten is overwogen om in fase 2 dechlorerende biomassa, afkomstig van het TCE-project te Hoogeveen, te infiltreren om op deze manier afbraakcapaciteit op de locatie aan te brengen.

Op basis van ervaring is gebleken dat met name technische zaken als infiltratie van biomassa en koolstofbron (en eventuele complicaties daarbij) en de ervaringen met het monitoren (welke parameters zijn belangrijk en hoe vaak meten) belangrijk zijn bij het opschalen van een biologische in situ sanering. Voordat wordt overgegaan tot het toepassen van de biologische variant op de gehele locatie is dit eerst op kleinere schaal onderzocht. Hiertoe is in de periode april tot oktober 2002 een pilotsanering uitgevoerd in de omgeving van de voormalige wasserij Diks-Rentex. De resultaten van deze pilotsanering zijn gebruikt voor het opschalen van het concept naar de gehele locatie.

1.2. Resultaten nulmeting

Uit de resultaten van de nulmeting op de locatie (voorafgaand aan de pilotsanering) is gebleken dat het grondwater ter plekke van Diks-Rentex micro-organismen bevat die in staat zijn tot volledige afbraak van perchlooretheen (PER) tot etheen/ethaan. De aanwezigheid van deze zogenaamde dechlorerende micro-organismen is verassend, omdat in fase 1 is vastgesteld dat elders op de locatie, ter plekke van de voormalige wasserij Diwasco, alleen onvolledige afbraak tot cis-1,2-dichlooretheen (c-DCE) plaats vindt. Vastgesteld is dat op deze plek geen geschikte dechlorerende micro-organismen aanwezig zijn. Tot nu toe is ervan uitgegaan dat volledige omzetting van de PER verontreiniging op de locatie alleen mogelijk was na toediening van complexe koolstofbronnen in combinatie met een geschikte dechlorerende bacteriepopulatie.

1.3. Aangepaste uitvoering pilotsanering

De pilotsanering is uitgevoerd conform onderzoeksvoorstel (referentie 2000.1389, 17 oktober 2000). De hierin beschreven opzet is op basis van de nieuwe resultaten (nulmeting) aangepast (referentie 2000.1389/0078, 6 februari 2002). Door de aanwezigheid van dechlorerende micro-organismen ter plekke van het proefgebied is besloten te onderzoeken of volledige afbraak van de gechloreerde ethenen door toediening van alleen protamylase kan worden gestimuleerd. Beënting met dechlorerende biomassa uit Hoogeveen zou alleen plaatsvinden als tijdens de pilotsanering zou blijken dat de afbraak van PER bij c-DCE stagneert.

1.4. Afronding pilotproef

Ter afronding van de pilotproef is een evaluatie van de monitoringsresultaten betreffende de opgetreden biologische (afbraak)processen uitgevoerd, inclusief conclusies en aanbevelingen.

Doel hiervan is te komen tot een goed gedocumenteerde evaluatie van de pilotproef waarin de opgetreden biologische processen zijn beschreven en op basis waarvan het voor fase 2 opgestelde plan van aanpak (referentie 2000.1389/7225, maart 2001) kan worden aangepast/bijgesteld.

2. UITVOERING PILOTSANERING

2.1. Keuze locatie proefgebied

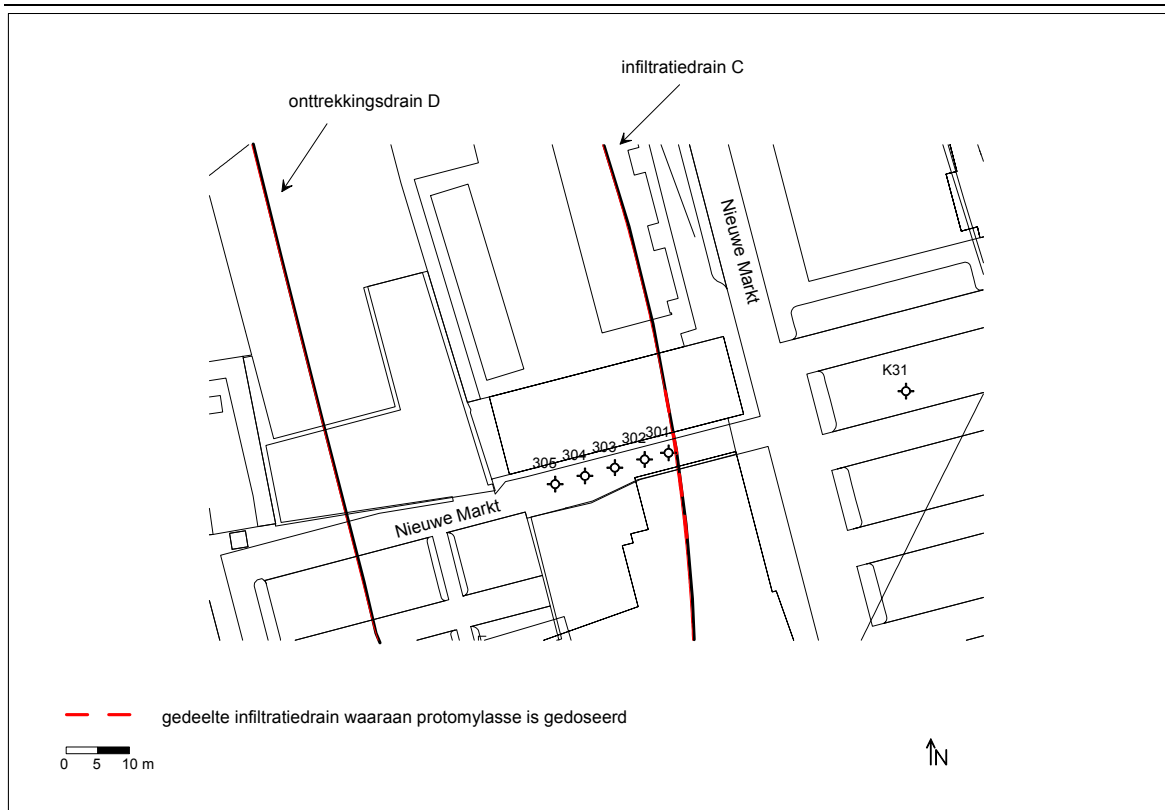
In eerste instantie zou de pilotsanering worden uitgevoerd in het proefgebied van fase 1 (voormalige wasserij Diwasco). Door bouwwerkzaamheden op de locatie (nabij proefgebied) en problemen met één van de drains is uiteindelijk besloten het pilotexperiment uit te voeren in de omgeving van de voormalige wasserij Diks-Rentex (zie voor overzicht figuur 1). Enerzijds vanwege de mogelijkheid tot bijplaatsen van extra monitoringspeilbuizen en anderzijds vanwege de aanwezige concentraties gechloreerde ethenen (circa 500 µg/l) die hoog genoeg zijn om het afbraakproces goed te kunnen volgen.

Voor de infiltratie en onttrekking van grondwater is gebruik gemaakt van respectievelijk drain C (6 m-mv) en D (6 m-mv). Gekozen is voor stimulatie van het ondiepe bodempakket omdat in deze zone, in vergelijking met het diepere grondwater (12 m-mv), minder gereduceerde omstandigheden heersen. Indien stimulatie van het ondiepe bodempakket kan worden gerealiseerd is aanpak van het diepere grondwater (12 m-mv) naar verwachting eveneens mogelijk.

De infiltratie van protamylasse is niet over de gehele lengte van drain C geïnfiltreerd maar over een beperkte lengte van 24 meter (aan weerszijden afgesloten middels speciaal daarvoor geconstrueerde packers). De hoeveelheid te behandelen grondwater in het proefgebied is op basis van onderstaande uitgangspunten geschat op circa 1.400 m³.

Uitgangspunten:

- Afstand tussen drains is 40 meter (L);
- Lengte drain waarop is geïnfiltreerd is 24 meter (B);
- Hoogte van gebied dat wordt gestimuleerd is geschat op 5 meter (H);
- Hoeveelheid te behandelen grondwater is berekend volgens: $(L * B * H) * 0,3$ (porositeit bodempakket).



Figuur 1. Overzicht proefgebied

2.2. Gedoseerde hoeveelheid protamylassse

Vanaf 12 april 2002 is protamylassse gedoseerd, in eerste instantie twee maal per week 45 liter protamylassse (1:3 verdund). Vanaf 31 mei 2002 is dit verhoogd tot 70-100 liter protamylassse (1:2 verdund) per dosering op een drainlengte van 24 meter. Gedurende de pilotsanering is ruim 2.200 liter protamylassse toegediend. Zie voor een overzicht van de gedoseerde hoeveelheden bijlage 2.

2.3. Opzet monitoringsprogramma

De voortgang van de pilotsanering is gevolgd door middel van een monitoringsprogramma. Dit monitoringsprogramma is erop gericht vast te stellen of de omstandigheden voor reductieve dechlorering verbeteren door het toedienen van protamylassse.

Het monitoringsprogramma bestond uit de volgende onderdelen:

1. Veldmetingen en anaërobe bemonstering van het grondwater uit peilbuizen op de locatie;
2. Analyses van de grondwatermonsters op parameters waarmee inzicht wordt verkregen in de heersende redoxomstandigheden, het verloop van het gestimuleerde afbraakproces en de concentraties, samenstelling en verspreiding van het geïnjecteerde substraat;
3. Interpretatie en rapportage van de resultaten.

2.3.1. Bemonsterde peilbuizen

Om de voortgang van de pilotsanering te volgen zijn de in tabel 1 weergegeven peilbuizen bemonsterd. De peilbuizen met codering 301 t/m 305 zijn ten behoeve van het pilotexperiment, in de stroombaan tussen drain C (infiltratie) en drain D (onttrekking) bijgeplaatst.

Tabel 1. Overzicht bemonsterde peilbuizen

Peilbuis	Filterstelling (m-mv)	Omschrijving
Pb K31	6	Referentie (verontreinigd) stroomopwaarts pilot ¹⁾
Pb 301	6	circa 1 meter vanaf drain C
Pb 302	6	circa 5 meter vanaf drain C
Pb 303	6	circa 10 meter vanaf drain C
Pb 304	6	circa 15 meter vanaf drain C
Pb 305	6	circa 20 meter vanaf drain C
Drain D	6	onttrekkingsdrain

1) De (referentie) peilbuis K31 buiten de pilotlocatie dient om veranderingen in de achtergrondwaarden te monitoren die van invloed zijn op de biologische afbraak.

2.3.2. Periodieke monsternamen

De bemonsteringsdata (tabel 2) zijn afgestemd op het ingeschatte verloop van het gestimuleerde afbraakproces in het proefgebied. De tijd benodigd voor het meten van veranderen in redoxpotentiaal, verspreiding van koolstofbron en afbraak van PER is ingeschat op basis van de resultaten uit fase 1. Uitgegaan is van een benodigde tijdsperiode van circa 6 maanden. De bemonsteringen zijn uitgevoerd door Promeco.

Tabel 2. Overzicht monitoringsronden

Bemonsteringsronde	Bemonsteringsdatum	Omschrijving
1	8 januari 2002	Nulmonitoring
2	11 en 25 april 2002	Start infiltratie protamylase
3	13 mei 2002	1 ^e monitoringsronde, 4 weken na aanvang infiltratie
4	11 juni 2002	2 ^e monitoringsronde, 8 weken na aanvang infiltratie
5	6 juli 2002	3 ^e monitoringsronde, 12 weken na aanvang infiltratie
6	20 augustus 2002	4 ^e monitoringsronde, 18 weken na aanvang infiltratie
7	4 en 10 oktober 2002	5 ^e monitoringsronde, 25/26 weken na aanvang infiltratie

2.3.3. Uitgevoerde analyses

In tabel 3 is een overzicht gegeven van de uitgevoerde analyses. Deze analyses zijn uitgevoerd om te beoordelen of voldaan is aan de voorwaarden waaronder volledige reductieve dechlorering van PER en TRI tot etheen/ethaan optreedt. Volledige afbraak treedt pas op als gelijktijdig voldaan wordt aan de volgende randvoorwaarden:

- a) Aanwezigheid van sterk gereduceerde omstandigheden in het proefgebied;
- b) Aanwezigheid van voldoende brandstof voor de biologische afbraak van gechloreerde ethenen en het in stand houden van gereduceerde omstandigheden in het proefgebied;
- c) Aanwezigheid van bacteriën die de chloorethenen verontreiniging kunnen afbreken;
- d) Daarnaast mag de zuurgraad van het grondwater niet lager worden dan een pH-waarde van 5,5.

Tabel 3. Overzicht uitgevoerde analyses

Randvoorwaarde	Parameter	Tijdstip uitvoering analyses (weken)						
		0	Start	4	8	12	18	25
a Redoxchemie	Zuurstof		x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
	Nitraat	x	x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
	Sulfaat	x	x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
	Sulfide				x ³⁾			
	Methaan	x	x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
	Redoxpotentiaal		x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾	x ²⁾	x ⁴⁾	x ²⁾
b Brandstof	TOC	x	x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾	x ²⁾	x ⁴⁾	x ²⁾
	Vluchtige vetzuren			x ²⁾	x ³⁾			x ²⁾
	Vluchtige aminozuren							x ²⁾
	Kalium (Interne tracer)					x ²⁾	x ⁴⁾	x ²⁾
c Dechlorerende bacteriepopulatie	PER, TRI, DCE, VC, etheen/ ethaan	x	x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
	MPN-PCR op <i>Dehalococcoides ethenogenes</i>	x ⁵⁾			x ⁵⁾			x
d Zuurgraad	pH		x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
	Alkaliniteit (buffercapaciteit)		x ¹⁾	x ²⁾	x ³⁾		x ⁴⁾	x ²⁾
Nutriënten	Ammonium					x ²⁾		x ²⁾
	Ortho-fosfaat					x ²⁾		x ²⁾

X analyse uitgevoerd op alle peilbuizen

1) uitvoering op K31, 301, 302 en 303

2) uitvoering op K31, 301, 302, 303, 304 en 305

3) uitvoering op K31, 301, 302, 303 en 304

4) uitvoering op 301, 302, 303, 304 en 305

5) uitvoering op peilbuis 302 en 304

2.3.4. Interpretatie van de resultaten

Op basis van de verkregen resultaten is vastgesteld of de biologische afbraak van VOCl op de proeflocatie door het infiltreren van protamylase is gestimuleerd. Daarbij zijn de volgende berekeningen uitgevoerd:

Dechloreringsgraad

Om het verloop van de gestimuleerde afbraak van de VOCl verontreiniging inzichtelijk te maken is gebruik gemaakt van de dechloreringsgraad. De dechloreringsgraad geeft aan in welke mate afbraak van de gechloreerde ethenen heeft plaatsgevonden. De dechloreringsgraad is als volgt geformuleerd (concentraties in mol/l):

$$\frac{[TCE] + 2[DCEs] + 3[VC] + 4[etheen] + 4[ethaan]}{4 * ([PCE] + [TCE] + [DCEs] + [VC] + [etheen] + [ethaan])} * 100\%$$

De dechloreringsgraad is 100% als de oorspronkelijke chloorethenen verontreiniging is omgezet in etheen of ethaan. Voor een betrouwbare uitkomst dient de som van de afbraakproducten van de gechloreerde ethenen groter te zijn dan 5 µg/l.

Brandstofbalans

Om te bepalen of er in potentie voldoende brandstof aanwezig is voor de afbraak van de VOCI verontreiniging is een balans gemaakt tussen de in het grondwater aanwezige elektronenacceptoren en elektronendonoren. Hiervoor is gebruik gemaakt van de methodiek die is opgesteld in het SKB-project SV-513 'Methodiek voor het vaststellen van de duurzaamheid van natuurlijke afbraak (D-NA) van gechloreerde ethenen'.

Op basis van de gemeten gehalten aan elektronenacceptoren (zuurstof, nitraat, sulfaat en gechloreerde ethenen) is voor elke peilbuis berekend hoeveel brandstof (elektronendor) minimaal aanwezig moet zijn voor het reduceren van het grondwater en het volledig afbreken van de gechloreerde ethenen verontreiniging. Deze hoeveelheid is vergeleken met de hoeveelheid organisch materiaal (TOC) die aanwezig is. Op basis van de balans tussen de benodigde en aanwezige hoeveelheid TOC is vastgesteld of er voldoende brandstof aanwezig is voor de afbraak van gechloreerde ethenen (tabel 4) en voor de reductie van het bodempakket.

Tabel 4. Brandstofbalans in relatie tot afbraakpotentie

Brandstofbalans	
Aanwezige brandstof < ½ x benodigd	onvoldoende brandstof aanwezig
Aanwezige brandstof ≥ ½ tot ≤ 2 x benodigd	juist voldoende brandstof
Aanwezige brandstof > 2 x benodigd	ruim voldoende brandstof aanwezig

3. RESULTATEN

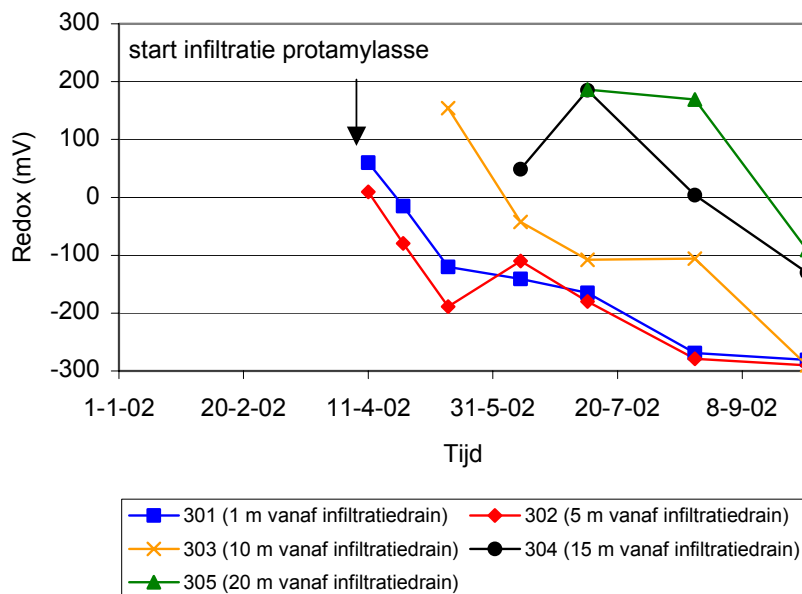
3.1. Analyseresultaten

De resultaten van de uitgevoerde analyses zijn weergegeven in bijlage 1. De bespreking van de resultaten is gedaan aan de hand van de in hoofdstuk 2 beschreven randvoorwaarden.

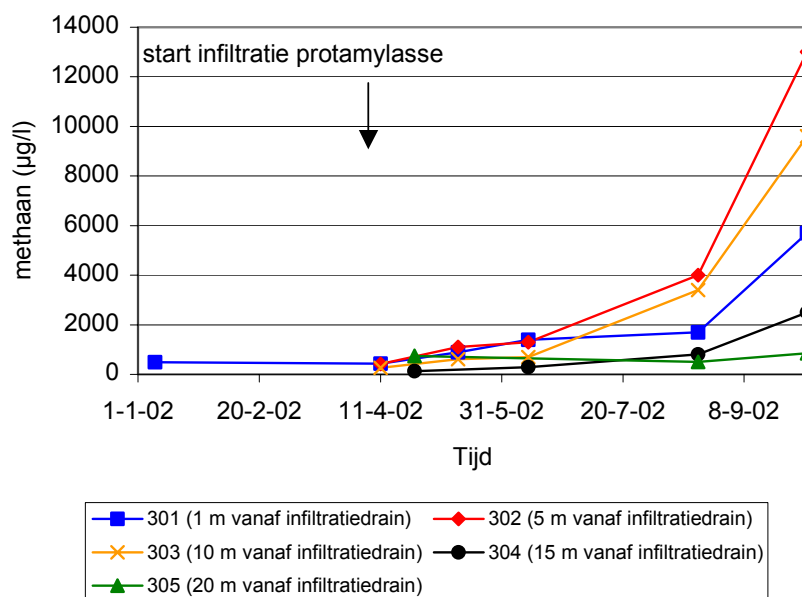
3.2. Redoxomstandigheden

Voorafgaand aan de pilotsanering (08-01-'02 en 11-04-'02) heersen in het proefgebied, gezien het lage methaangehalte (ca. 400 $\mu\text{g/l}$), de aanwezigheid van nitraat (10-20 mg/l) en sulfaat (60-70 mg/l) matig gereduceerde omstandigheden. Deze omstandigheden zijn ongunstig voor het optreden van anaërobe afbraak van de gechloreerde ethenen. Alleen bij afwezigheid van (concurrerende) electronacceptoren als zuurstof, nitraat, ijzer (III) en sulfaat zijn de (redox)condities geschikt voor de volledige afbraak van gechloreerde ethenen. De redoxcondities zijn gunstig als er methanogene omstandigheden heersen. Deze worden gekenmerkt door de afwezigheid van concurrerende electronacceptoren en de aanwezigheid van meer dan 1 mg/l aan methaan.

Om de van nature ongunstige redoxomstandigheden te verbeteren is protamylasse (makkelijk afbreekbare brandstof) geïnfiltreerd. De infiltratie van protamylasse heeft een zeer sterke daling in de redoxpotentiaal (figuur 2) tot gevolg. Hoe verder stroomafwaarts van de infiltratiedrain hoe langer het duurt voordat er sprake is van een meetbare verandering van de redoxomstandigheden. Dit is logisch aangezien protamylasse moet worden getransporteerd maar ook tussentijds wordt afgebroken. De daling in de redoxpotentialen gaat gepaard met afnemende gehalten nitraat en sulfaat en een toenemend gehalte methaan (figuur 3). Zes maanden na aanvang van het infiltreren van protamylasse overheersen in het proefgebied tussen pb 301 en 305 sterk gereduceerde omstandigheden die als sulfaatreducerend (pb 305) tot methanogeen (overige peilbuizen) worden ingeschat. Deze omstandigheden zijn gunstig voor het reductieve dechloreringsproces.



Figuur 2. Verloop redoxpotentialen in het proefgebied



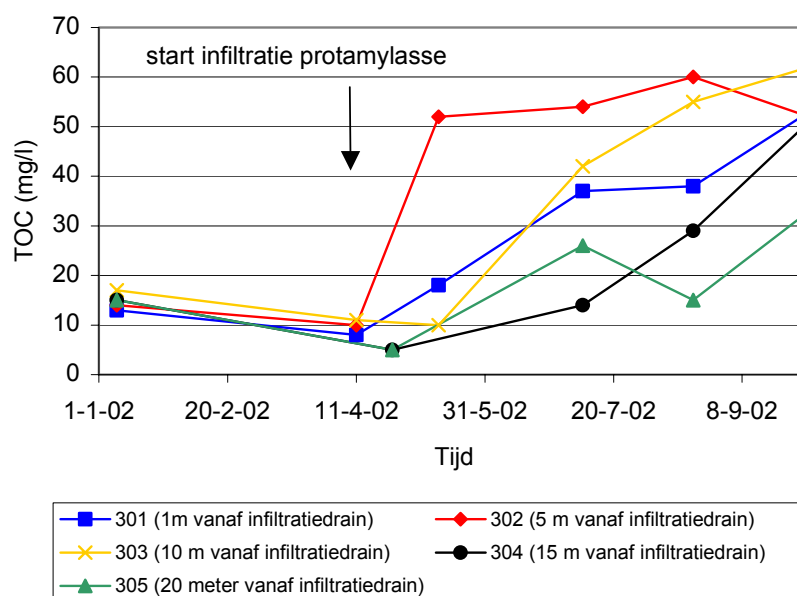
Figuur 3. Verloop methaangehalten in het proefgebied

3.3. Brandstof

3.3.1. Verspreiding substraat

In figuur 4 is het verloop in de TOC (Total Organic Carbon) gehalten in het proefgebied weergegeven. Uit de resultaten blijkt dat voorafgaand aan de pilotsanering er in het proefgebied circa 10 mg/l aan TOC aanwezig is. Uit de aanwezigheid van matig gereduceerde omstandigheden kan worden afgeleid dat dit organische materiaal ongeschikt is als brandstof voor het reduceren van het grondwater. Het natuurlijke organische materiaal (humuszuren) is waarschijnlijk moeilijk afbreekbaar.

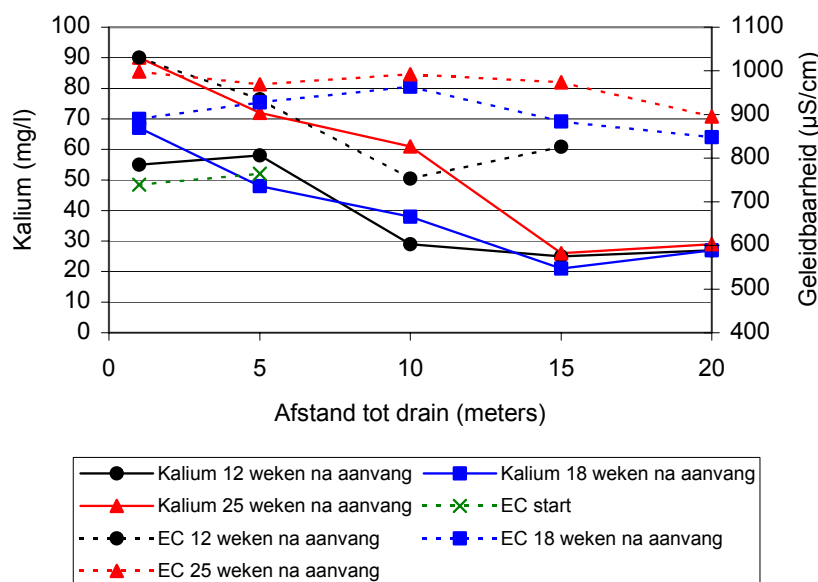
Als gevolg van de infiltratie van protamylase neemt het TOC gehalte in het proefgebied toe met een factor 3 tot 6 tot circa 60 mg/l TOC. Daarbij geldt dat naarmate de afstand tot de infiltratiedrain toeneemt het langer duurt voordat er sprake is van een toename in het TOC-gehalte. Dit is logisch aangezien protamylase niet alleen moet worden getransporteerd maar ook tussentijds wordt afgebroken. Zes maanden na aanvang van het infiltreren van protamylase bedraagt het TOC gehalte in het proefgebied tussen de 30 en 60 mg/l. Aangezien in het gehele proefgebied sprake is van een toename in het TOC gehalte blijkt dat de protamylase zich heeft verspreid, wat gunstig is voor het afbraakproces.



Figuur 4. Verloop TOC-gehalte in proefgebied

Tijdens het bemonsteren van de peilbuizen zijn onder andere veldmetingen op geleidbaarheid uitgevoerd. De natuurlijke achtergrondwaarde in het proefgebied bedraagt circa 750 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (figuur 5). Zes maanden na aanvang van de infiltratie van protamylasse (rijk aan kationen en anionen) is de geleidbaarheid in het proefgebied toegenomen tot circa 1.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Alleen in pb 305 (20 m vanaf drain) is de geleidbaarheid met 900 $\mu\text{S}/\text{cm}$ iets lager. De toename in geleidbaarheid duidt er eveneens op dat de protamylasse zich heeft verspreid. De geleidbaarheidsmeting kan als tracer fungeren voor het monitoren van de verspreiding van protamylasse.

Naast veldmetingen op geleidbaarheid is halverwege de pilotproef besloten analyses uit te voeren op kalium. Kalium is in hoge concentraties aanwezig in protamylasse (80 gram per liter). Omdat kalium in tegenstelling tot de eveneens aanwezige organische verbindingen (eiwitten, suikers en zuren) niet wordt afgebroken kan het mogelijk als interne tracer dienen. Het natuurlijke achtergrondgehalte in het proefgebied bedraagt circa 20 mg/l. In figuur 5 is het kaliumgehalte uitgezet tegen de afstand tot de infiltratiedrain. Uit figuur 5 blijkt dat de verspreiding van kalium minder snel verloopt dan op basis van de overige gegevens (TOC en geleidbaarheid) kan worden afgeleid. Zo is het kaliumgehalte op 15 meter afstand tot de infiltratiedrain na zes maanden infiltratie nog gelijk aan het natuurlijke achtergrondgehalte. Dit duidt er mogelijk op dat tijdens het transport door de bodem wordt uitgewisseld tegen andere kationen. Kalium is dus niet geschikt als tracer voor het monitoren van verspreiding van de toegediende protamylasse.,

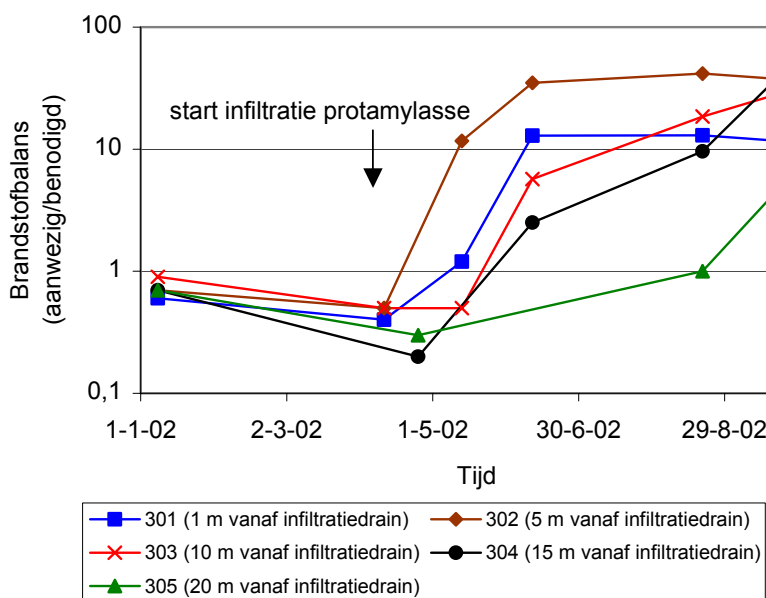


Figuur 5. Verloop kaliumgehalte en geleidbaarheid

3.3.2. Brandstofbalans

Op basis van de gemeten gehalten aan electronacceptoren (zuurstof, nitraat, sulfaat en gechloreerde ethenen) en TOC is voor alle bemonsterde peilbuizen een brandstofbalans opgesteld (gedefinieerd als aanwezige hoeveelheid brandstof gedeeld door benodigde hoeveelheid brandstof). De resultaten hiervan zijn weergegeven in figuur 6.

Uit de resultaten blijkt dat direct voorafgaand aan de substraatinjectie (april 2002) er onvoldoende brandstof (balans is $< 0,5$) aanwezig is voor de afbraak van de gechloreerde ethenen en reductie van het grondwater. Zes maanden na aanvang van het infiltreren van protamylasse is in het gehele proefgebied sprake van meer dan voldoende brandstof (factor 5 tot 35 overmaat).



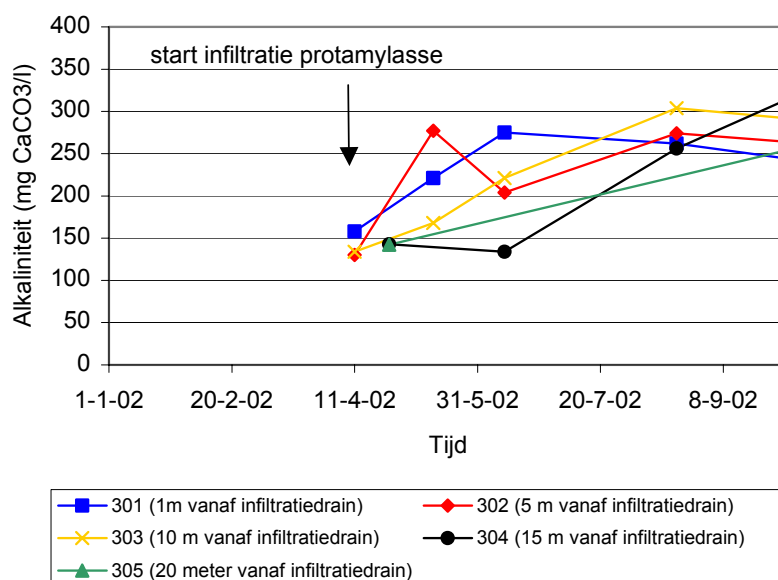
Figuur 6. Verloop brandstofbalans in proefgebied

3.3.3. Afbraak van protamylasse

De infiltratie van protamylasse heeft geleid tot het ontstaan van sterk gereduceerde omstandigheden in het proefgebied. Dit duidt erop dat afbraak van protamylasse is opgetreden. Dit wordt bevestigd door de metingen op alkaliniteit (bijlage 1). De alkaliniteit, een maat voor de hoeveelheid koolstofdioxide die bij de afbraak van protamylasse wordt gevormd, neemt gedurende de proefperiode toe van circa 150 tot gehalten van 300 mg CaCO_3/l (figuur 7).

In het proefgebied zijn tijdens de pilotproef verhoogde concentraties vluchtige vetzuren (VFA) aangetroffen in het grondwater (bijlage 1), voornamelijk bestaande uit azijnzuur. De aanwezigheid van VFA is het gevolg van de infiltratie en afbraak van protamylasse. Bij de biologische afbraak van de in de protamylasse aanwezige suikers en eiwitten worden VFA als intermediaire afbraakproducten gevormd. Opgemerkt wordt dat in protamylasse reeds organische zuren (melkzuur, oxaalzuur, appelzuur, citroenzuur en azijnzuur) aanwezig zijn (8 % van het aanwezige CZV). Uitgezonderd azijnzuur maken deze zuren echter geen deel uit van de analyse op vluchtige vetzuren. De vorming van de vetzuren blijkt sterk samen te hangen met de heersende redoxomstandigheden. Alleen in peilbuizen waar sterk gereduceerde (methanogene) omstandigheden heersen zijn gedurende de pilotproef vluchtige vetzuren aangetroffen. Zes maanden na aanvang van de infiltratie zijn met uitzondering van pb 305 (20 meter vanaf drain) in alle peilbuizen vluchtige vetzuren aangetroffen.

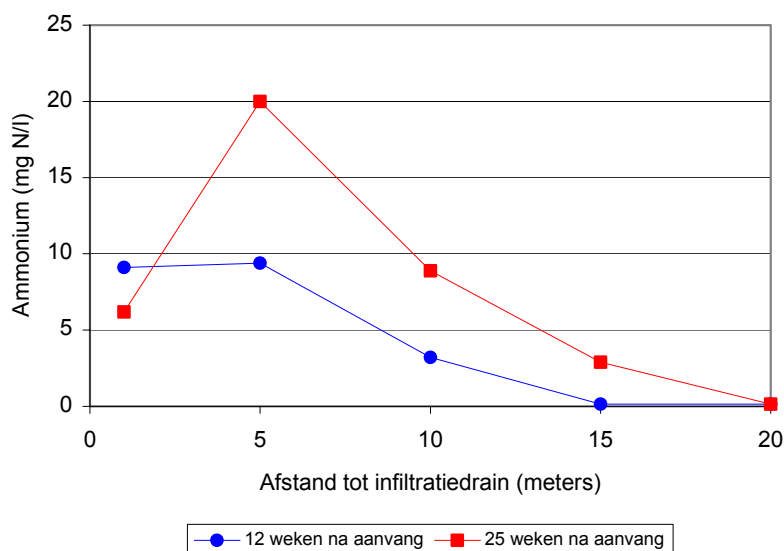
Op basis van de gemeten gehalten aan vetzuren is een theoretisch organisch koolstof gehalte berekend (T_cOC). Het berekende T_cOC gehalte (zie bijlage 1) bedraagt zes maanden na aanvang van de infiltratie circa 65 tot 125% van het gemeten TOC-gehalte. In peilbuis 301 en 302 is dit percentage gedurende de pilotproef opgelopen van 40-50% tot 70-90%. Deze hoge percentages duiden erop dat het aanwezige TOC momenteel grotendeels bestaat uit vluchtige vetzuren. Dit betekent ook dat de als substraat toegediende protamylasse grotendeels afgebroken is tot vetzuren. Deze vetzuren zijn zeer geschikt als brandstof voor de afbraak van de gechlloreerde ethenen.



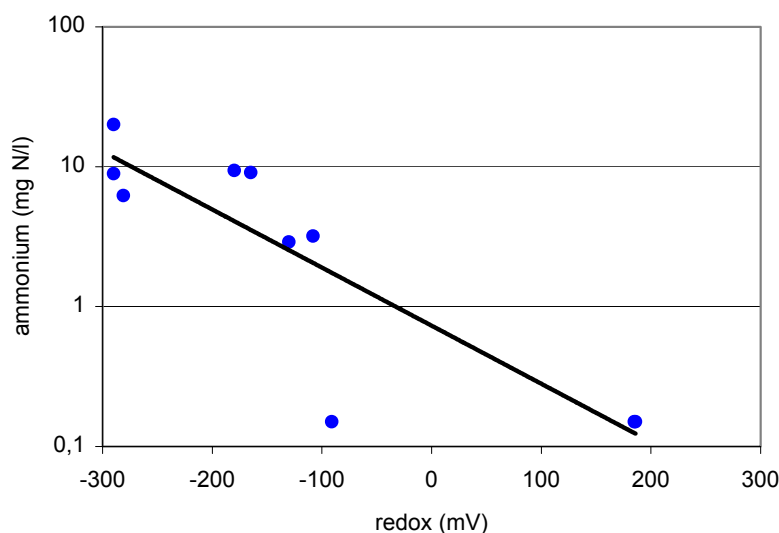
Figuur 7. Verloop alkaliniteit in proefgebied

Naast de analyses op VFA zijn er bij de laatste analyseronde, zes maanden na aanvang, ook analyses uitgevoerd op vrije aminozuren. Deze analyses zijn uitgevoerd omdat protamylasse naast suikers en organische zuren ook ruwe eiwitten en aminozuren bevat. In geen van de bemonsterde peilbuizen zijn aminozuren aangetroffen (gehalten beneden detectielimiet van 0,5 mg/l). Dit duidt er waarschijnlijk op dat de in de protamylasse aanwezige eiwitten en aminozuren zeer snel worden afgebroken tot vluchtige vetzuren (door afsplitsing amine-groep).

De amine-groep wordt onder zuurstofloze omstandigheden verder afgebroken tot ammonium. Het grondwater op de locatie bevat van nature minder dan 0,15 mg N/l aan ammonium. Zes maanden na aanvang van de infiltratie is het ammoniumgehalte in de bemonsterde peilbuizen toegenomen tot maximaal 20 mg N/l (peilbuis 302). Aangezien er naast protamylasse geen additionele nutriënten aan het grondwater zijn toegevoegd, is de stijging in ammonium-N het gevolg van de dosering van protamylasse. De afbraak van de eiwitten en aminozuren zal onder zuurstofloze omstandigheden leiden tot een stijging van het ammoniumgehalte. In figuur 8 is het ammonium gehalte uitgezet tegen de afstand tot de infiltratiedrain. Het ammoniumgehalte is het hoogst op 5 meter afstand tot de infiltratiedrain. Er is een duidelijk verband tussen het ammoniumgehalte en de redoxcondities (figuur 9). Hoe sterker gereduceerd hoe hoger het ammoniumgehalte.



Figuur 8. Verloop ammonium gehalte in proefgebied, respectievelijk 12 en 25 weken na aanvang infiltratie



Figuur 9. Relatie tussen redoxcondities en amniumgehalte

3.4. Verloop van de anaërobe afbraak van gechloreerde ethenen

Verloop afbraak gechloreerde ethenen

Om het verloop van de biologische afbraak van de gechloreerde ethenen in het proefgebied inzichtelijk te maken is in figuur 10 het verloop in de dechloreringsgraad weergegeven. Hoe hoger de dechloreringsgraad hoe verder het afbraakproces is gevorderd.

Beginsituatie

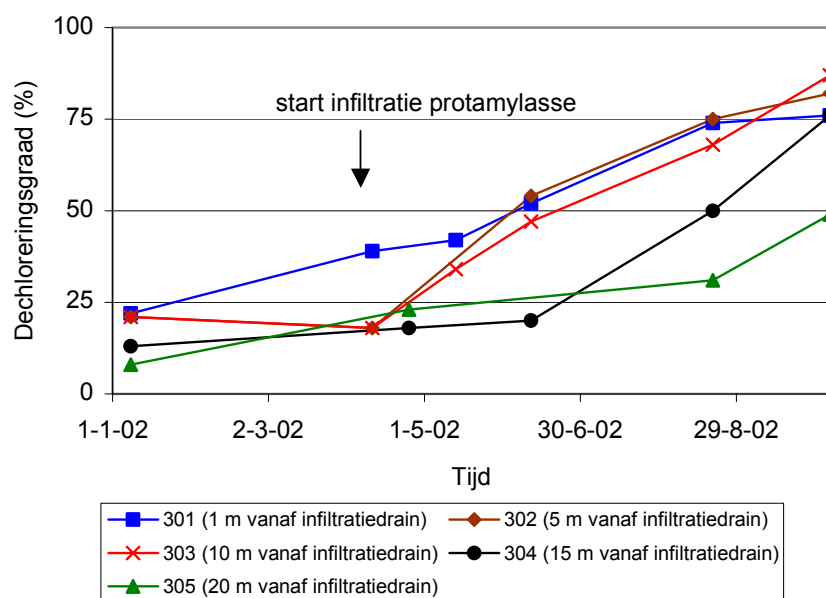
Bij aanvang van de pilotproef bestond de verontreiniging voornamelijk uit PER (circa 500 $\mu\text{g/l}$) en in mindere mate uit c-DCE (circa 100 $\mu\text{g/l}$). Vinylchloride, etheen en ethaan (afbraakproducten van PER) zijn niet aangetroffen (gehalten onder de detectielimiet). De dechloreringsgraad (maat voor de hoeveelheid PER die is afgebroken) in het grondwater op de locatie bedraagt voorafgaand aan de pilotsanering (08-01-'02 en 11-04-'02) ongeveer 20-40%. Dit betekent dat er slechts onvolledige afbraak van PER tot c-DCE is opgetreden. Deze situatie is vergelijkbaar met fase 1, waarbij ter plekke van de voormalige wasserij Diwasco eveneens een relatief lage dechloreringsgraad is vastgesteld.

Tijdens pilotproef

Als gevolg van de, door infiltratie van protamylasse, verbeterde omstandigheden (voldoende brandstof, sterk gereduceerde omstandigheden) neemt de dechloreringsgraad in het proefgebied toe. Daarbij geldt dat naarmate de afstand tot de infiltratiedrain toeneemt het langer duurt voordat er sprake is van een toename in de dechloreringsgraad.

De dechloreringsgraad in het proefgebied bedraagt na zes maanden infiltreren van protamylasse 50 (pb 305) tot circa 80%. Dit duidt erop dat volledige afbraak tot ongechloreerde eindproducten (etheen/ethaan) door alleen toediening van protamylasse kan worden gerealiseerd.

Zes maanden na aanvang van de infiltratie bestaat de verontreiniging voornamelijk uit c-DCE (100 tot 600 $\mu\text{g/l}$) en VC (10 tot 100 $\mu\text{g/l}$). Daarnaast is etheen in sterk verhoogde concentraties (tot 100 $\mu\text{g/l}$) aanwezig. De oorspronkelijke PER verontreiniging is grotendeels afgebroken, de concentraties aan het eind van de pilotproef bedraagt maximaal nog 30 $\mu\text{g/l}$ (pb 305), in de overige peilbuizen ligt de concentratie onder de 2 $\mu\text{g/l}$.

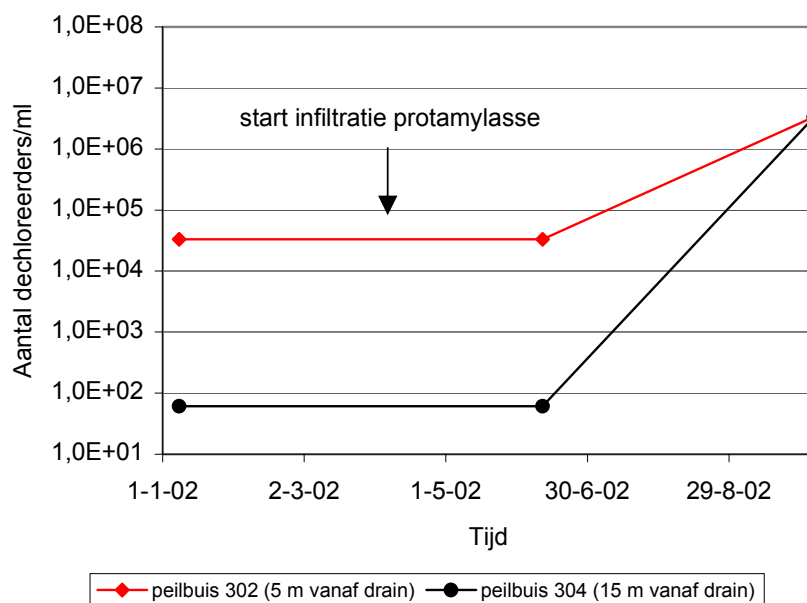


Figuur 10. Verloop dechloreringsgraad in proefgebied

Ontwikkeling chloorethenen afbrekende bacteriepopulatie

De ontwikkeling van de specifiek chloorethenen afbrekende bacteriepopulatie wordt gemonitord door het uitvoeren van kwantitatieve analyses (MPN-PCR) op *Dehalococcoides ethenogenes*. De aanwezigheid van dit (gids)organisme in het proefgebied duidt op de aanwezigheid van een microbiële populatie die in staat is tot volledige afbraak van de gechloreerde ethenen verontreiniging. Dit is verassend omdat in fase 1 van het project geen *Dehalococcoides ethenogenes* is aangetroffen in grondwatermonsters uit de omgeving van de voormalige wasserij Diwasco. Waarschijnlijk dat er ter plekke van de voormalige wasserij Diks-Rentex, het huidige proefgebied, in het verleden gunstige omstandigheden hebben geheerst voor de afbraak van de gechloreerde ethenen.

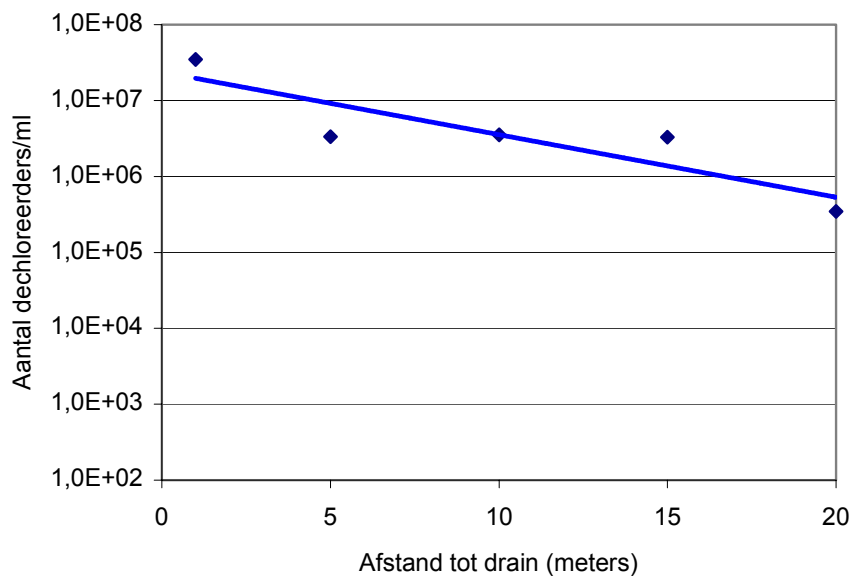
Dit kan bijvoorbeeld door de aanwezigheid (in het verleden) van andere antropogene verontreinigingen die als brandstof hebben gediend voor het reduceren van het grondwater en de afbraak van de gechloreerde ethenen. Door de continue instroom van nitraat en sulfaat is de brandstofvoorraad in de tijd verdwenen en zijn de omstandigheden in het proefgebied in de loop van de tijd (weer) ongunstig geworden.



Figuur 11. Ontwikkeling dechlorerende bacteriepopulatie in pb 302 en 304

Ontwikkeling van dechlorerende micro-organismen

Zes maanden na aanvang van de substraatinfiltatie is het aantal dechlorerende bacteriën in peilbuis 302 en 304 toegenomen tot aantallen van circa $5 \cdot 10^6$ per ml grondwater (figuur 11). Het aantal dechlorerende micro-organismen is het hoogst in peilbuis 301 ($3,5 \cdot 10^7$ /ml) en neemt af met toenemende afstand tot de infiltratiedrain (figuur 12). In peilbuis 305, die op 20 meter afstand van de infiltratiedrain is gelegen, ligt het aantal dechlorerende micro-organismen met circa $3,5 \cdot 10^5$ /ml een factor 100 lager. Uit ervaring van Bioclear (onder andere TCE-project te Hoogeveen) is bekend dat met een aantal van circa 10^6 dechlorerende micro-organismen per ml een snelle en efficiënte omzetting van PER naar etheen mogelijk is. Dit blijkt ook op te treden, zoals geschetst in paragraaf 3.3. Dit duidt erop dat het aantal 'slappend aanwezige' dechlorerende micro-organismen in vrij korte tijd (half jaar) sterk kan toenemen als gevolg van verbetering van de redoxcondities en de aanwezigheid van voldoende brandstof. Dit betekent dat de snelheidsbeperkende stap niet is gelegen in de ontwikkeling van de dechlorerende bacteriepopulatie maar eerder in de snelheid waarmee de juiste omstandigheden kunnen worden gecreëerd.



Figuur 12. Aantal dechlorerende micro-organismen in relatie tot de afstand tot de infiltratiedrain. Situatie zes maanden na aanvang infiltreren

3.5. Effect substraatinfiltatie op de zuurgraad (pH)

Het grondwater uit de bemonsterde peilbuizen in het proefgebied heeft voorafgaand aan de infiltatie van protamylase een zwak zure zuurgraad (pH) van ongeveer 6,0. Door de substraatinfiltatie neemt, als gevolg van de vorming van koolstofdioxide dat fungeert als carbonaatbuffer, de zuurgraad in het proefgebied toe tot 6,2. De aanwezigheid van een carbonaatbuffer voorkomt ongewenste verzuring als gevolg van de productie van vluchtige vetzuren bij de afbraak van protamylase. Door verzuring kan het dechloreringsproces namelijk sterk worden geremd. Verzuring van het grondwater is bij de toegepaste dosering niet opgetreden.

4. CONCLUSIES EN AANBEVELINGEN

Uit de resultaten van de pilotproef kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

Infiltratie van protamylasse

- Het infiltreren van substraat (protamylasse) is conform plan verlopen. In totaal is circa 2.200 liter protamylasse in het proefgebied geïnfiltreerd. De discontinue toediening, twee maal per week op een drainlengte van 24 meter, heeft binnen de proefduur van zes maanden niet geleid tot verstopping van de infiltratiedrain.

Verspreiding van protamylasse

- De infiltratie van protamylasse heeft geleid tot een toename van het TOC gehalte in het proefgebied van circa 10 tot 30-60 mg/l. Zes maanden na aanvang van het infiltreren van protamylasse is in het gehele proefgebied sprake van meer dan voldoende brandstof (factor 5 tot 35 overmaat) voor het gereduceerd houden van het grondwater en de afbraak van de gechloreerde ethenen;
- Het substraat heeft zich binnen de proefduur van zes maanden verspreid tot op 20 meter afstand van de infiltratiedrain. Dit blijkt niet alleen uit de toegenomen TOC gehalten maar ook uit de toename in geleidbaarheid (van 750 naar 1.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$). De toename in geleidbaarheid wordt veroorzaakt door de in de protamylasse aanwezige kat- en anionen. De geleidbaarheidsmeting kan daarmee als tracer worden gebruikt voor het monitoren van de verspreiding van protamylasse;
- Kalium, dat in hoge concentraties aanwezig is in protamylasse, is niet geschikt gebleken als tracer voor het monitoren van de verspreiding van de toegediende protamylasse.

Reductie van het grondwater

- De infiltratie van protamylasse leidt tot een zeer sterke daling in de redoxpotentialen. Dit gaat gepaard met afnemende gehalten nitraat en sulfaat en een toenemend gehalte methaan. Zes maanden na aanvang overheersen in het proefgebied sterk gereduceerde (methanogene) omstandigheden die gunstig zijn voor de afbraak van de gechloreerde ethenen;

Afbraak van protamylasse

- Het ontstaan van sterk gereduceerde omstandigheden duidt er samen met de toename van de alkaliniteit (maat voor de bij afbraak gevormde hoeveelheid koolstofdioxide) op dat afbraak van protamylasse is opgetreden;
- Het organische koolstofgehalte, gemeten als TOC, in het proefgebied bestaat na zes maanden infiltreren voor meer dan 65% uit vluchtige vetzuren (voornamelijk azijnzuur). Vetzuren zijn intermediaire afbraakproducten van protamylasse en zijn zeer geschikt als brandstof voor de afbraak van de gechloreerde ethenen;

- Aminozuren (bouwstenen van eiwitten) zijn tijdens de pilotproef niet aangetroffen. Dit duidt er waarschijnlijk op dat de in de protamylasse aanwezige eiwitten en aminozuren snel worden afgebroken tot vluchtige vetzuren (door afsplitsing aminegroep). Deze aminegroep wordt, gezien de toenemende gehalten aan ammonium, snel verder afgebroken;
- Het grondwater in het proefgebied heeft voorafgaand aan de infiltratie van protamylasse een zwak zure zuurgraad (pH) van ongeveer 6,0. De substraatinfiltatie heeft bij de toegepaste dosering niet geleid tot een voor het afbraakproces ongewenste verzuring (als gevolg van de vorming van vetzuren) van het grondwater.

Verloop afbraak van de gechloreerde ethenen verontreiniging

- Bij aanvang van de pilotproef bestond de verontreiniging voornamelijk uit PER (circa 500 $\mu\text{g/l}$) en in mindere mate uit c-DCE (circa 100 $\mu\text{g/l}$). Vinylchloride, etheen en ethaan (afbraakproducten van PER) zijn niet aangetroffen. Dit betekent dat slechts onvolledige afbraak van PER tot c-DCE is opgetreden;
- De dechloreringsgraad (maat voor de hoeveelheid PER die is afgebroken) neemt gedurende de pilotproef toe van 20-40% (bij aanvang) toe tot 50-80% (na zes maanden infiltreren);
- De verontreiniging bestaat na afloop van de pilotproef voornamelijk uit c-DCE (100 tot 600 $\mu\text{g/l}$) en VC (10 tot 100 $\mu\text{g/l}$). De oorspronkelijke PER verontreiniging bedraagt maximaal nog 30 $\mu\text{g/l}$ (pb 305). Daarnaast is etheen in sterk verhoogde concentraties (tot 100 $\mu\text{g/l}$) aanwezig. Dit duidt erop dat volledige afbraak van PER tot ongechloreerde eindproducten (etheen/ethaan) door alleen toediening van protamylasse kan worden gerealiseerd.

Ontwikkeling dechlorerende micro-organismen

- In het proefgebied (de voormalige wasserij Diks-Rentex) is in tegenstelling tot het proefgebied van fase 1 (voormalige wasserij Diwasco) het micro-organisme *Dehalococcoides ethenogenes* aangetroffen. De aanwezigheid van dit (gids)organisme duidt erop dat er plaatselijk een microbiële populatie voorkomt die in staat is tot volledige afbraak van de gechloreerde ethenen verontreiniging;
- Na aanvang van het infiltreren van protamylasse neemt het aantal dechlorerende micro-organismen in het proefgebied sterk toe van 10^2 - 10^4 dechlorerende micro-organismen per ml (bij aanvang) tot een aantal van 10^5 - 10^7 /ml (na zes maanden infiltreren). Uit de resultaten van de pilotproef blijkt dat met een aantal van circa 10^6 /ml een snelle en efficiënte omzetting van PER naar etheen mogelijk is;
- De sterke toename in het aantal dechlorerende micro-organismen duidt erop dat de snelheidsbeperkende stap in het afbraakproces wordt gevormd door de snelheid waarmee de juiste omstandigheden kunnen worden gecreëerd.

Concluderend kan worden gesteld dat de pilotproef succesvol en conform het voorop gestelde plan is verlopen. Met het infiltreren van protamylasse is het gewenste effect bereikt, namelijk stimulatie van de afbraak van de gechlloreerde ethenen tot ongechlloreerde eindproducten.

Op basis van de uitkomsten van deze pilotproef zal het plan van aanpak voor fase 2 (Bioclear rapport 2000.1389/7225, maart 2001) worden aangepast.

BIJLAGEN

Bijlage 1. Analyseresultaten pilotsanering

Bijlage 2. Gedoseerde hoeveelheid protamylasse