

**NOBIS  
MONSTERNAME EN MONITORING VAN ACTIEVE  
EN PASSIEVE (INTRINSIEKE) IN-SITU  
BIORESTAURATIE**

**Verslag van een werkbezoek aan de Verenigde  
Staten**

**drs. J.J. van der Waarde (Bioclear Milieubiotechnologie B.V.)  
dr.ir. P. Doelman (IWACO B.V.)**

**mei 1997**

**Gouda, CUR/NOBIS**

### **Auteursrechten**

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

Het is toegestaan overeenkomstig artikel 15a Auteurswet 1912 gegevens uit deze uitgave te citeren in artikelen, scripties en boeken, mits de bron op duidelijke wijze wordt vermeld, alsmede de aanduiding van de maker, indien deze in de bron voorkomt. "©"Monstername en monitoring van actieve en passieve (intrinsieke) in situ biorestauratie - Verslag van een werkbezoek aan de Verenigde Staten", mei 1997, CUR/NOBIS, Gouda."

### **Aansprakelijkheid**

CUR/NOBIS en degenen die aan deze publicatie hebben meegewerkt, hebben een zo groot mogelijke zorgvuldigheid betracht bij het samenstellen van deze uitgave. Nochtans moet de mogelijkheid niet worden uitgesloten dat er toch fouten en onvolledigheden in deze uitgave voorkomen. Ieder gebruik van deze uitgave en gegevens daaruit is geheel voor eigen risico van de gebruiker en CUR/NOBIS sluit, mede ten behoeve van al degenen die aan deze uitgave hebben meegewerkt, iedere aansprakelijkheid uit voor schade die mocht voortvloeien uit het gebruik van deze uitgave en de daarin opgenomen gegevens, tenzij de schade mocht voortvloeien uit opzet of grove schuld zijdens CUR/NOBIS en/of degenen die aan deze uitgave hebben meegewerkt.

### **Copyrights**

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording and/or otherwise, without the prior written permission of CUR/NOBIS.

It is allowed, in accordance with article 15a Netherlands Copyright Act 1912, to quote data from this publication in order to be used in articles, essays and books, unless the source of the quotation, and, insofar as this has been published, the name of the author, are clearly mentioned. "©"Sampling and monitoring of active and passive (intrinsic) in situ biorestation - Report of a technical visit to the United States", May 1997, CUR/NOBIS, Gouda, The Netherlands."

### **Liability**

CUR/NOBIS and all contributors to this publication have taken every possible care by the preparation of this publication. However, it can not be guaranteed that this publication is complete and/or free of faults. The use of this publication and data from this publication is entirely for the user's own risk and CUR/NOBIS hereby excludes any and all liability for any and all damage which may result from the use of this publication or data from this publication, except insofar as this damage is a result of intentional fault or gross negligence of CUR/NOBIS and/or the contributors.

**Titel rapport**

Monstername en monitoring van actieve en passieve (intrinsieke) in situ biorestauratie  
Verslag van een werkbezoek aan de Verenigde Staten

**CUR/NOBIS rapportnummer****Project rapportnummer**

---

**Auteur(s)**

drs. J.J. van der Waarde  
dr.ir. P. Doelman

**Aantal bladzijden****Rapport: 27****Bijlagen: -**

---

**Uitvoerende organisatie(s) (Consortium)**

Bioclear Milieubiotechnologie B.V. (drs. J.J. van der Waarde, 050-5718455)  
IWACO B.V. (dr.ir. P. Doelman, 010-2865587)

---

**Uitgever**

CUR/NOBIS, Gouda

---

**Samenvatting**

Dit rapport bevat een verslag van een werkbezoek aan dr. J. Wilson van de US-EPA op de Dover Air Force Base en aan enkele saneringsprojecten op deze locatie. Het doel van dit bezoek was om praktische ervaring op te doen met EPA-protocollen voor monstername en monitoring van actieve en passieve in situ biorestauratie en om deze kennis beschikbaar te maken voor NOBIS. Naast de juiste protocollen en bemonsteringsapparatuur is de communicatie tussen de veldwerker, het laboratorium en de adviseur van doorslaggevend belang bij het vaststellen van biologische processen in de bodem. Tot slot worden aanbevelingen gedaan over validatie en implementatie van EPA-protocollen in Nederlandse richtlijnen.

---

**Trefwoorden****Gecontroleerde termen:**

biologische afbraak, biologisch zuiveren,  
monitoring, monstername

**Vrije trefwoorden:**

---

**Titel project**

Monstername en monitoring van actieve en passieve (intrinsieke) in situ biorestauratie

**Projectleiding**

Bioclear Milieubiotechnologie B.V.  
(drs. J.J. van der Waarde,  
050-5718455)

---

Dit rapport is verkrijgbaar bij:

CUR/NOBIS, Postbus 420, 2800 AK Gouda

**Report title**

Sampling and monitoring of active and passive (intrinsic) in situ biorestauration  
Report of a technical visit to the United States

**CUR/NOBIS report number****Project report number****Author(s)**

drs. J.J. van der Waarde  
dr.ir. P. Doelman

**Number of pages****Report: 27****Appendices: -****Executive organisation(s) (Consortium)**

Bioclear Milieubiotechnologie B.V. (drs. J.J. van der Waarde, 050-5718455)  
IWACO B.V. (dr.ir. P. Doelman, 010-2865587)

**Publisher**

CUR/NOBIS, Gouda

**Abstract**

This report describes a visit to Dr. J. Wilson from the US-Environmental Protection Agency (EPA) at the Dover Air Force Base, Delaware, and a number of bioremediation projects at this site. The aim of the visit was to gain practical experience with EPA protocols concerning sampling and monitoring of active and intrinsic in situ bioremediation and to make this knowledge available to NOBIS. In addition to the proper protocols and equipment, the communication between the fieldworker, the laboratory and the consultant is of utmost importance when determining the various biological processes in soil and more attention should be paid to this aspect when performing delicate monitoring programs. Recommendations are provided for the validation and implementation of these protocols into Dutch guidelines.

**Keywords****Controlled terms:**

bioremediation, monitoring,  
sampling

**Uncontrolled terms:****Project title**

Sampling and monitoring of active and passive (intrinsic) in situ biorestauration

**Projectmanagement**

Bioclear Milieutechnologie B.V.  
(drs. J.J. van der Waarde,  
050-5718455)

This report can be obtained by: CUR/NOBIS, PO Box 420, 2800 AK Gouda, The Netherlands  
Dutch Research Programme In-Situ Bioremediation (NOBIS)

## VOORWOORD

Monstername en monitoring spelen bij in situ biorestauratie zowel bij actieve als bij passieve (intrinsieke) saneringen een belangrijke rol. Binnen het NOBIS-programma zal hieraan dan ook veel aandacht worden besteed. Binnen de NOBIS-projecten "Rademarkt" en "NAM-Schoonebeek" zullen monstername en monitoring een belangrijke rol gaan spelen bij de interpretatie van de data uit laboratorium- en veldonderzoek.

Vanuit het oogpunt van tijd en kosten is het aantrekkelijk reeds beschikbare kennis en protocollen te gebruiken. Deze kennis is met name voorhanden in de VS, waarbij op diverse locaties gedurende langere tijd (jaren) ervaring is opgedaan bij het monitoren van actieve en intrinsieke biorestauratie.

In dit rapport is een verslag weergegeven van een werkbezoek aan dr. J. Wilson (EPA) en aan enkele in situ bodemsaneringsprojecten op de Dover Air Force Base, Dover, Delaware, VS.

mei 1997

## INHOUD

		SAMENVATTING .....	v
		SUMMARY .....	vi
Hoofdstuk	1	INLEIDING .....	1
	1.1	Achtergrond .....	1
	1.2	Werkzaamheden .....	2
	1.3	Opzet van het verslag .....	2
Hoofdstuk	2	LOCATIEBESCHRIJVING .....	3
	2.1	Het pogramma .....	3
	2.2	De locatie .....	3
	2.3	Cometabole bioventing .....	3
	2.4	Natural attenuation .....	4
	2.5	Gestimuleerde anaërobe dechlorering .....	5
Hoofdstuk	3	MONSTERNAME EN MONITORING .....	6
	3.1	Grond .....	6
	3.2	Water .....	8
	3.3	Lucht .....	8
	3.4	Algemene waarnemingen .....	9
Hoofdstuk	4	INTERVIEW MET DR. J. WILSON .....	10
Hoofdstuk	5	EVALUATIE VAN DE MONSTERNAME EN DE MONITORING IN DE VERENIGDE STATEN .....	14
	5.1	Inleiding .....	14
	5.2	Grondbemonstering .....	14
	5.2.1	Aëroob .....	14
	5.2.2	Anaëroob .....	14
	5.3	Grondwaterbemonstering .....	15
	5.3.1	Aëroob .....	15
	5.3.2	Anaëroob .....	15
	5.4	Bodempluchtbemonstering .....	16
	5.4.1	Aëroob .....	16
	5.5	Analyses .....	16
Hoofdstuk	6	PROTOCOLLEN NATURAL ATTENUATION .....	18
Hoofdstuk	7	DISCUSSIE .....	19
Hoofdstuk	8	CONCLUSIES .....	21
Hoofdstuk	9	AANBEVELINGEN .....	22
		LITERATUUR .....	23

## SAMENVATTING

### **Monstername en monitoring van actieve en passieve (intrinsieke) in situ biorestauratie**

Monstername en monitoring van in situ biorestauratie bepalen in belangrijke mate de efficiëntie van een saneringsproces. Dit rapport bevat een verslag van een werkbezoek aan dr. J. Wilson van de US-EPA op de Dover Air Force Base en aan enkele saneringsprojecten op deze locatie. Het doel van dit bezoek was om praktische ervaring op te doen met EPA-protocollen voor monstername en monitoring van actieve en passieve in situ biorestauratie en om deze kennis beschikbaar te maken voor NOBIS.

Ongestoorde grondbemonstering is van belang voor anaërobe bemonstering, bemonstering voor microbiologisch onderzoek en bemonstering van vluchtige verbindingen. De methoden en technieken voor anaërobe grondmonstername en monitoring die in de VS worden toegepast zijn in principe ook in Nederland beschikbaar, maar de routine en standaardisatie die in de VS aanwezig is moet in Nederland nog verder worden ontwikkeld en toegepast.

Anaërobe grondwaterbemonstering wordt in de VS met gespecialiseerde apparatuur uitgevoerd. Toepassing van deze of vergelijkbare apparatuur in Nederland verhoogt de kwaliteit van de monstername en analyse bij grondwatermonitoring. Het gebruik van sneltests voor het bepalen van verschillende typen ionen en prescreeningsmethoden en monstervoorbehandeling in het veld verkleint de kans op monsterverstoring of verlies aan gevoelige componenten tussen monstername en analyse en kan kostenbesparend werken.

Standaardisatie van bodemlucht bemonstering en analyse, zoals gezien in de VS, kan de monitoring van bioventing door middel van de stopproef in Nederland verbeteren. Chemische en biologische analyses werden over het algemeen op vergelijkbare wijze als in Nederland uitgevoerd. Een innovatieve analyse, de H<sub>2</sub>-analyse, moet verder worden ontwikkeld en toegepast voor monitoring van anaërobe biodegradatieprocessen.

Naast de juiste protocollen en bemonsteringsapparatuur is de communicatie tussen de veldwerker, het laboratorium en de adviseur van doorslaggevend belang bij het vaststellen van biologische processen in de bodem. Ervaringen van andere onderzoekers kunnen hierbij leerzaam zijn en kennisuitwisseling met onderzoeksprojecten in de VS, zoals het Remediation Technologies Development Forum (RTDF) programma, kan een waardevolle aanvulling vormen op het NOBIS-programma.

Tot slot worden aanbevelingen gedaan over validatie en implementatie van EPA-protocollen in Nederlandse richtlijnen.

## SUMMARY

### **Sampling and monitoring of active and passive (intrinsic) in situ biorestauration**

Sampling and monitoring of in situ bioremediation have a significant impact and largely determine the efficiency of a contaminated soil clean up process. This report describes a visit to Dr. John Wilson from the US-Environmental Protection Agency (EPA) at the Dover Air Force Base, Delaware, and a number of bioremediation projects at this site. The aim of the visit was to gain practical experience with EPA protocols concerning sampling and monitoring of active and intrinsic in situ bioremediation and to make this knowledge available to NOBIS.

Undisturbed soil sampling is important for anaerobic sampling, sampling for microbiological research and sampling of volatile compounds. The methods and techniques that were used in the US for anaerobic soil sampling and monitoring are essentially also available in The Netherlands. However, the routines and standardization practiced in the US can be further developed and applied in The Netherlands.

Anaerobic groundwater sampling in the US is performed with dedicated equipment. Application of this or comparable equipment can increase the quality of sampling and analysis of groundwater sampling in The Netherlands. The use of field tests for ions and prescreening methods and sample pretreatment in the field can decrease the chance of sample disturbance or the loss of volatile components between sampling and analysis and can result in cost savings.

Standardization of sampling and analysis of soil gas as practiced in the US can improve monitoring of bioventing by using the in situ respiration test. Chemical and biological analysis were performed according to comparable protocols in The Netherlands. One innovative analysis, the  $H_2$  analysis, needs to be further developed and applied for monitoring of anaerobic biodegradation processes.

In addition to the proper protocols and equipment, the communication between the fieldworker, the laboratory and the consultant is of utmost importance when determining the various biological processes in soil and more attention should be paid to this aspect when performing delicate monitoring programs. Learning from the experiences of other researchers can be very helpful in this respect and exchange of knowledge with research programs such as the Remediation Technologies Development Forum (RTDF) in the US can form a valuable addition to the NOBIS program.

Recommendations are provided for the validation and implementation of these protocols into Dutch guidelines.



## HOOFDSTUK 1

### INLEIDING

#### 1.1 Achtergrond

Monsternamen en monitoring spelen bij in situ biorestauratie zowel bij actieve als bij passieve (intrinsieke) saneringen een belangrijke rol. Binnen het NOBIS-programma zal hieraan dan ook veel aandacht worden besteed. Binnen de NOBIS-projecten "Rademarkt" en "NAM-Schoonebeek" zullen monsternamen en monitoring een belangrijke rol gaan spelen bij de interpretatie van de data uit laboratorium- en veldonderzoek.

Bij het project "Rademarkt" zal biorestauratie van CKW's worden gestimuleerd. Om dit proces te kunnen volgen, zijn anaërobe monsternamen en monitoring van gechlorideerde ethenen en dechloreringsproducten van belang.

Bij het project "NAM-Schoonebeek" speelt de intrinsieke afbraak van BTEX een belangrijke rol. Er zal een breed scala aan redoxactieve verbindingen moeten worden geanalyseerd, waardoor eveneens anaërobe monsternamen en data-interpretatie van belang zijn.

Op beide locaties is daarnaast een goede monitoringsstrategie van belang.

Daarnaast zijn er nog diverse NOBIS-projecten waarbij op onderdelen gebruik zal worden gemaakt van anaërobe monsternamen en monitoringsinstrumenten. Het belang van monsternamen en monitoring blijkt ook duidelijk uit de hoofdlijnen voor de verdere ontwikkeling van het NOBIS-programma, zoals is gedefinieerd in NOBIS-nieuws nr. 3, oktober 1996 [1]. Enkele hoofdlijnen, die in dit kader relevant zijn, omvatten "meting van geochemische en biologische bodemparameters gekoppeld aan eisen met betrekking tot nauwkeurigheid en variabiliteit in ruimte en tijd", "anaërobe afbraak van BTEX en CKW", en "ontwikkeling van concepten voor monitoring en sturing en de daarvoor noodzakelijke meetapparatuur".

Vanuit het oogpunt van tijd en kosten is het aantrekkelijk reeds beschikbare kennis en protocollen te gebruiken. Deze kennis is met name voorhanden in de VS, waarbij op diverse locaties gedurende langere tijd (jaren) ervaring is opgedaan bij het monitoren van actieve en intrinsieke biorestauratie.

Dr. J. Wilson van het National Risk Management Research Laboratory, Ada, Oklahoma, van het Amerikaanse Environmental Protection Agency (EPA), is een internationaal erkend expert op het gebied van actieve en intrinsieke biorestauratie en onder meer de grondlegger van de in situ respiratiemeting (de stopproef) voor het monitoren van bioventing.

In dit rapport is een verslag weergegeven van een werkbezoek aan dr. J. Wilson (EPA) en aan enkele in situ bodemsaneringsprojecten op de Dover Air Force Base, Dover, Delaware, VS.

Het doel van dit werkbezoek was om:

- up-to-date praktische kennis op het gebied van monsternamen en monitoring te verkrijgen;
- kennis te nemen van praktijkrichtlijnen en protocollen van de EPA;
- een vergelijking te maken tussen de werkwijze in de VS en Nederland op het gebied van monsternamen en monitoring.

## **1.2 Werkzaamheden**

Een werkbezoek is gebracht aan dr. J. Wilson op de Dover Air Force Base en aan enkele onderzoeksprojecten op het gebied van actieve en passieve bioremediatie van BTEX en CKW's op deze locatie. Het werkbezoek had plaats in de periode van 6 tot en met 11 december 1996.

Tijdens dit werkbezoek hebben gesprekken plaatsgehad met diverse onderzoekers op de locatie en is actief deelgenomen aan monsteringsprogramma's van enkele saneringsprojecten op de locatie.

Daarnaast zijn enkele protocollen op het gebied van monsternamen en monitoring besproken en verkregen.

## **1.3 Opzet van het verslag**

In hoofdstuk 2 wordt de locatie en de lopende onderzoeksprogramma's op de Dover-locatie beschreven. Tevens wordt een korte beschrijving van de bezochte saneringen gegeven.

In hoofdstuk 3 wordt een beschrijving gegeven van de wijze van monsternamen en monitoring bij de bezochte saneringen.

Hoofdstuk 4 bevat een verslag van een interview met dr. J. Wilson.

Hoofdstuk 5 geeft een vergelijking van de gebruikte methoden en technieken zoals gebruikt door de EPA met de Nederlandse situatie.

In hoofdstuk 6 worden enkele EPA-protocollen ten aanzien van intrinsieke biorestauratie kort besproken.

In hoofdstuk 7 worden de resultaten van de gehele reis kort bediscussieerd.

Hoofdstuk 8 en 9 bevatten de conclusies en aanbevelingen van dit rapport.

Tot slot is de geraadpleegde literatuur weergegeven. Veel van deze literatuur is nog niet in definitieve versie verschenen, maar kan bij de Amerikaanse EPA worden aangevraagd of is beschikbaar via internet.

## HOOFDSTUK 2

### LOCATIEBESCHRIJVING

#### 2.1 Het programma

Het DoD/National Environmental Technology Demonstration Program is bedoeld om milieutechnieken te testen en te evalueren op vijf geselecteerde locaties [2]. Op deze locaties zijn de benodigde faciliteiten aanwezig om op praktische schaal goed gefundeerd onderzoek te doen. Deze "national test sites" zijn gevestigd op bases van de luchtmacht, landmacht en de marine. Het programma wordt beheerd door de EPA.

#### 2.2 De locatie

Het Groundwater Remediation Field Laboratory (GRFL) op de Dover National Test Site is gevestigd op de Dover Air Force Base, Dover, Delaware [3]. Het laboratorium wordt beheerd door de milieu-afdeling van de US Air Force, het Armstrong Laboratory. Op de locatie is ruimte voor zogenoemde "controlled release" experimenten. In deze experimenten worden verontreinigingen opzettelijk in de bodem gebracht, waarna het gedrag van de verontreiniging wordt bestudeerd in relatie tot de toegepaste saneringsmethode. Deze experimenten hebben plaats in ongestoorde bodemzones, die met behulp van stalen damwanden en impermeabele kunststoflagen van de omgeving zijn afgesloten. De experimenten worden in de diepte begrensd door een kleilaag. Op de locatie is ten tijde van het bezoek één controlled release experiment uitgevoerd en waren enkele andere experimenten in voorbereiding.

Daarnaast worden enkele demonstratieprojecten uitgevoerd op de locatie die gericht zijn op de verwijdering van reeds aanwezige verontreinigingen. Hieronder worden de bezochte saneringen kort beschreven.

#### 2.3 Cometabole bioventing

Op de Dover Air Force Base wordt in samenwerking tussen het Armstrong Laboratory en de EPA een test met cometabole bioventing uitgevoerd door middel van een controlled release experiment [4].

Cometabole bioventing op deze locatie betreft de gecombineerde biodegradatie van BTEX en gechloreerde verbindingen onder aërobe condities. Bij de afbraak van aromatische verbindingen zijn oxidatieve enzymen betrokken die door hun geringe specificiteit ook een scala aan gechloreerde verbindingen kunnen oxideren.

Deze afbraak van de gechloreerde verbinding levert voor de bacterie geen bruikbare energie op. Het organisme groeit op een cosubstraat zoals BTEX; deze vorm van dechlorering wordt daarom cometabolisme genoemd. Cometabolisme is in het laboratorium en het veld bewezen met behulp van methaan, ammonium, propaan, fenol en een aantal andere aromatische componenten. In dit experiment is een hoeveelheid verweerde JP4 jet fuel (BTEX), perchlooretheen (PCE), trichlooretheen (TCE) en chloorbenzeen in een zandbodem gebracht. Deze bodem wordt actief belucht. Het project is in 1996 gestart en wordt in 1997 beëindigd. Ten tijde van het bezoek waren er nog geen biodegradatiegegevens beschikbaar.

## 2.4 Natural attenuation

Op de Dover-locatie wordt door een consortium van chemische bedrijven, de luchtmacht, het ministerie van energie en de EPA onderzoek gedaan naar "natural attenuation" van BTEX en gechloreerde alifaten, waaronder TCE [5]. Dit onderzoek heeft plaats in het kader van het Remediation Technologies Development Forum (RTDF) waarin, naast enkele overheidsinstellingen, een consortium van chemische bedrijven zitting heeft. Het doel van het consortium is de acceptatie van natural attenuation door het publiek en de autoriteiten te verbeteren. Het doel van het onderzoek is het mechanisme van afbraak van de verontreiniging op de site te achterhalen en om praktische protocollen voor natural attenuation te ontwikkelen en te valideren.

De ondergrond van de luchtmachtbasis in Dover is verontreinigd met PCE en TCE, waardoor het grondwater over een grote afstand verontreinigd is geraakt. Over de gehele verontreinigde pluim zijn grondwatermonitoringspunten geplaatst en worden watermonsters geanalyseerd op een scala aan stoffen. Tijdens het bezoek is er niet bemonsterd uit deze peilbuizen.

Tijdens het bezoek is een presentatie van het project gegeven door dr. D. Ellis van DuPont, waarin enkele resultaten van het project zijn gepresenteerd.

Het monitoringsschema gaat uit van 4 monsterronden per jaar op een totaal van 100 peilbuizen. Aansluitend op het veldwerk worden laboratoriumexperimenten uitgevoerd en worden moleculaire technieken voor de detectie van micro-organismen ontwikkeld en toegepast in samenwerking met enkele universiteiten.

Site karakterisatie en monsternamen is uitgevoerd met de cone penetrometer en Geoprobe. Opmerkelijke resultaten uit dit onderzoek zijn dat op een groot deel van de locatie aërobe condities overheersen in de pluim. Alleen de kern van de pluim kan als methanogeen worden gekarakteriseerd.

Dit heeft geleid tot de vorming van een "omgekeerde" pluim; de kern van de pluim bestaat uit lager gechloreerde dochterproducten die in de anaërobe kern worden gereduceerd, terwijl de rest van de pluim voor het grootste gedeelte bestaat uit hoger gechloreerde componenten die onder aërobe condities nauwelijks afbreekbaar zijn. Blijkbaar is in de kern van de pluim organisch materiaal aanwezig, maar een tekort aan organische substraten voor de dehalogenering in het overgrote deel van de pluim leidt tot stagnatie in de dechlorering [5].

Toch is de waargenomen verdwijning van TCE veel groter dan op grond van de waargenomen hoeveelheden vinylchloride en etheen kan worden verwacht. Er wordt daarom aangenomen dat aërobe afbraakroutes actief zijn in afbraak van de verontreiniging. Men denkt dat reductieve dehalogenering van TCE naar cis 1,2-dichlooretheen (CIS), gevolgd door aërobe metabole en cometabole mineralisatie tot CO<sub>2</sub> de belangrijkste afbraakroutes op deze site zijn. Aanwijzingen voor aërobe metabole afbraak van CIS zijn gevonden in laboratoriumexperimenten met <sup>14</sup>C gelabeld CIS.

Bij veel monsters worden zowel waterstof als zuurstof in hetzelfde monster geanalyseerd. Dit wordt verklaard door bemonstering van een bulkwaterfase die afkomstig is van micromilieus in de grond, waardoor zowel aërobe als sterk reducerende milieus naast elkaar kunnen bestaan.

Er is veel zorg besteed aan een ongestoorde grondwaterbemonstering. Het RTDF heeft een "Guidance Handbook" gepubliceerd, waarin de procedure bij het toepassen van natural attenuation wordt beschreven [6].

## **2.5 Gestimuleerde anaërobe dechlorering**

Binnen de verontreinigde pluim wordt door het consortium onder leiding van DuPont een experiment uitgevoerd naar de mogelijkheid om anaërobe dechlorering van de gechloreerde verontreinigingen te stimuleren. Dit heeft plaats door het oppompen van verontreinigd grondwater, wat na toevoeging van nutriënten (N, P) en een primair substraat (lactaat) weer bovenstrooms wordt ingebracht. Ten tijde van het bezoek zijn de monitoringspunten bemonsterd op grondwater. Deze bemonstering is gebeurd op identieke wijze als de monsterring ten behoeve van intrinsieke biorestauratie.

## HOOFDSTUK 3

### MONSTERNAME EN MONITORING

Bodemmonsters en bodemluchtmonsters zijn tijdens het bezoek alleen in het cometabole bio-venting experiment genomen.

Grondwatermonsters zijn tijdens het bezoek alleen in het gestimuleerde anaërobe dechlorering experiment genomen.

Overigens zijn in de verschillende experimenten vergelijkbare methoden en technieken gebruikt voor monstername en monitoring.

#### 3.1 Grond

##### *Grondmonstername*

Grondmonsters worden genomen met behulp van de "Geoprobe". De Geoprobe is een boorinrichting waarmee ongestoorde grondmonsters kunnen worden genomen zonder atmosferische verstoring (verdamping en aërobie). De Geoprobe bestaat uit stalen boorhulzen waarin een kunststof (PETG) binnenbuis is geplaatst. Deze kunststofbuis wordt met een stalen (open) boorkop in de stalen buis geschroefd. Achter de boorkop is een plastic ring (corecatcher) geplaatst die grond naar binnen laat, maar voorkomt dat grond weer uit de buis naar beneden kan zakken. Deze buisconstructie wordt onder de hamer geplaatst, die op zijn beurt weer op een wagen is gemonteerd. De buis wordt met behulp van de boorinrichting, een elektrische hamer, in de grond getrild. Met behulp van verlengstukken kan de monsterdiepte worden opgevoerd tot maximaal 7 m. Een groot voordeel van de Geoprobe is dat bijna al het geboorde materiaal geschikt is voor analyses en er geen boorafval wordt geproduceerd.

Bij diepere boringen (> 7 m) ontkom je niet aan het boren van een gat met behulp van een auger, gevolgd door het inslaan van een holle buis.

Als binnenbuis wordt gebruik gemaakt van PETG; dit materiaal vertoont in een vergelijkende test de hoogste impermeabiliteit voor vluchtige verontreinigingen.

Als de boorkern wordt opgehaald, wordt de bovenkant en de onderkant van de PETG buis op maat gezaagd en afgedicht met een plastic cap. Deze kern wordt direct naar het veldlaboratorium vervoerd voor deelbemonstering en monstervoorbewerking.

Uit ervaring is gebleken dat, wanneer de kern naar het laboratorium wordt vervoerd en het enige tijd (uren of dagen) duurt voordat de kern wordt bemonsterd, de informatie over verdeling van de verontreiniging over de kern verloren gaat en er een grotere spreiding in de resultaten komt. Bovendien is het voor sommige labiele of uiterst vluchtige verbindingen (bijvoorbeeld vinylchloride) noodzakelijk dat direct deelmonsters worden opgenomen in een extractiemiddel of dat analyses worden uitgevoerd.

##### *Deelbemonstering*

De grondsoort is genoteerd.

Voor de deelbemonstering wordt de kern in stukken gezaagd.

Gedurende de verwerking van zo'n kolomdeel is de kolom zelf aan beide uiteinden afgesloten met Al-folie. De successievelijke verwerking van elke keer een twaalfde deel van de grondkolom heeft plaats door drie personen:

- een persoon noteert;
- een persoon steekt de volumina submonsters;
- een persoon opent en sluit de geprecodeerde monsterflesjes.

Ieder stuk van de buis wordt bemonsterd door met een afgezaagde injectiespuit monsters (10 ml) grond te nemen en in monsterpotjes te doen. De injectiespuiten zijn gesteriliseerd om ook monsters voor biologische analyses (specifieke tellingen) te kunnen nemen.

De monsterpotjes bevatten het extractiemiddel voor de analyse.

Een directe meting van olie in de gasfase is bepaald met de "SNIFFER", een apparaat dat de hoeveelheid vluchtige verbindingen in de bodemlucht meet door een klein gasvolume uit het bodemmonster te zuigen. Deze analyses zijn semi-kwantitatief en geven een redelijke indicatie van de hoeveelheid vluchtige verontreiniging die in de grond aanwezig is. De SNIFFER-metingen worden met name gebruikt als prescreening voor de werkelijke GC-analyses. Monsters die met de SNIFFER een zeer lage meting geven worden niet verder geanalyseerd, hetgeen kostenbesparend werkt. Tijdens deze analyse treden er nauwelijks verdampingsverliezen op en de meting is sneller en goedkoper dan veldanalyses, zoals bijvoorbeeld immunologische testkits.

Monsters worden gekoeld naar het laboratorium vervoerd en opgeslagen. De GC-analyse, die in het laboratorium plaatsheeft, is eveneens een prescreening. De werkelijk interessante monsters worden met behulp van GC-MS geanalyseerd. Dit heeft echter dagen tot weken na de monsternamen plaats.

De standaardextractie in 5 ml methylchloride en 5 ml aangezuurd gedestilleerd water wil men vervangen door extractie in een mengsel van 5 ml m-xyleen in 20 ml  $\text{Na}_3\text{PO}_4$ . Beide extracties zijn toegepast.

#### *Microkosmosstudies*

Biodegradatie van de verontreiniging wordt in kleine (20 ml) incubaties gemeten in het laboratorium. Het doel van deze metingen is om na te gaan wat de biodegradatiesnelheid van de BTEX en de TCE van de grond is. Grond van de locatie wordt in een afgesloten GC-vial geïncubeerd en er wordt BTEX en TCE toegevoegd. In de tijd worden headspace analyses uitgevoerd om het biodegradatiepotentieel van de bodem vast te stellen. Tevens wordt in deze experimenten de toxiciteit van TCE voor de aromaatafbrekende bacteriën vastgesteld.

#### *Dehydrogenase metingen*

De biologische activiteit van de grond wordt ook vastgesteld aan de hand van enzymmetingen, de zogenoemde dehydrogenase test. Dehydrogenases zijn enzymen die betrokken zijn bij de ademhaling. Ademende bacteriën zetten de kleurloze stof TTC om in het rode TPF. De roodkleuring van bodemextracten in het laboratorium na toevoeging van TTC is een maat voor de biodegradatie-activiteit van de bodem. Grond wordt geïncubeerd met TTC, na 24 uur wordt het gevormde formazan geëxtraheerd en de extinctie bepaald [7]. De bacterie-activiteit wordt uitgedrukt in  $\mu\text{g TPF/g ds}$ .

### 3.2 Water

#### *Anaërobe bemonstering van grondwater*

Watermonsters zijn genomen met behulp van een "bladderpomp", een blaaspomp [8]. Deze pomp is  $\pm 1$  m lang en 5 cm diameter. In de blaaspomp zit een kunststofzak die kan worden gevuld met perslucht. Deze zak staat via een slang met een compressor aan de oppervlakte in contact. Als de luchtdruk in de zak wordt verminderd, verdringt het grondwater de lucht in de zak en vult de pomp zich. Als er vervolgens druk op de zak wordt gezet, vult deze zich met lucht en wordt het water omhoog geduwd door een slang naar de oppervlakte. Terugslagkleppen voorkomen het weglopen van het water. Door afwisselend de druk op en af te voeren, wordt het grondwater pulserend omhoog gepompt zonder dat er verstoring of beluchting van het water optreedt.

De meeste pompen zijn voor de duur van het project in een peilbuis geplaatst en worden niet verplaatst om verstoring van de peilbuis te voorkomen.

Boven de grond wordt het water door een doorstroomcel geleid met daarin een aantal elektroden voor het meten van pH, O<sub>2</sub>, geleidbaarheid, temperatuur en redox. Deze elektroden worden iedere dag geijkt. Het is essentieel om geen enkele gasfase meer in de doorstroomcel aanwezig te hebben gedurende de meting. Tijdens het stabiliseren van de elektroden en doorstromen van de cel wordt nauwkeurig vastgesteld dat de gasfase volledig wordt verwijderd.

Bij deze bemonstering is aandacht nodig voor de volgende punten:

- schoon inbrengen van bemonsteringsmateriaal (vermijden van contaminatie);
- lange incubatietijd (na inbrengen wachten tot originele milieu weer overheerst);
- weten van welke diepte (en eigenlijk ook van welk bodemvolume) het water wordt opgepompt;
- langzaam oppompen van het water;
- langs een meetcel enkele milieu-omstandigheden meten (redox, temperatuur, geleidbaarheid, pH en zuurstof). Deze metingen zijn ook een controle op "lekkage" van het pompsysteem;
- opvangen van watermonsters en goed afsluiten;
- conservering van watermonsters;
- analyse van watermonsters.

### 3.3 Lucht

#### *Stopproef*

De bodemlucht is geanalyseerd op O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> en vluchtige verontreinigingen. O<sub>2</sub> en CO<sub>2</sub> zijn geanalyseerd met draagbare meetapparatuur van het merk GasTech. Zuurstof wordt gemeten met een elektrochemische cel, kooldioxide met een infraroodcel. De beide apparaten worden voorafgaand aan een meetronde gecalibreerd met een standaardgas van 10 % CO<sub>2</sub>. Zuurstof wordt aan de atmosfeer op 20,6 % O<sub>2</sub> en aan het CO<sub>2</sub>-standaardgas op 0 % O<sub>2</sub> gecalibreerd. CO<sub>2</sub> wordt aan de atmosfeer op 0,03 % CO<sub>2</sub> en op 10 % CO<sub>2</sub> aan het gasmengsel gecalibreerd. De ijkassen worden geleverd in gascontainers en door middel van Tedlar-gasmonsterzakken aangesloten op de meetapparatuur.

Tijdens het bezoek is een stopproef uitgevoerd. De beluchting van de bodem is gedurende enkele dagen stopgezet en dagelijks zijn bodemluchtmonsters genomen. De GasTech-sensors zijn uitgevoerd met een interne pomp, waarmee met een snelheid van +/- 100 ml/min lucht wordt aangezogen. Gezien de geringe diameter van de bodemluchtmonsterbuizen (1/4 inch) is



de analyse binnen enkele minuten voltooid zonder noemenswaardige verstoring van de bodemluchtsamenstelling in de grond.

#### *Bodemluchtanalyses*

Gehalten van de vluchtige verontreinigingen in de bodemlucht zijn bepaald door middel van twee methoden.

Een GasTech VOC-analyzer, vergelijkbaar met de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>-meter en gebaseerd op infraroodanalyse, is gecalibreerd met een standaardhexaangas. De interne pomp zorgt voor de aanzuiging van het gasmonster. Deze meting geeft een indicatie van de totale hoeveelheid vluchtige organische verbindingen.

Een tweede meting is uitgevoerd met roestvrij stalen vaatjes van de firma Air Toxic. De vaatjes staan onder onderdruk en zuigen na opening aan het gasmonsterpunt een gecalibreerde hoeveelheid gas op tot een druk van 1 bar. Deze gastankjes worden verstuurd naar het bedrijf waar een hele reeks vluchtige organische verbindingen worden geanalyseerd met behulp van GC-MS. Er is nog weinig ervaring met deze methode, maar als deze analyses representatief blijken te zijn voor de samenstelling in grond en grondwater zouden deze een gemakkelijk en goedkoop alternatief kunnen vormen voor veel bodem- en wateranalyses.

#### **3.4 Algemene waarnemingen**

Het personeel dat de bemonstering en analyses uitvoert heeft op een enkele uitzondering na een academische masters- of doctorstitel. Naast het feit dat dit prettig is voor de verschillende onderzoeksleders wordt voor enkele methoden en technieken een dergelijk opleidingsniveau ook wenselijk gesteld. Met name de anaërobe bemonstering van grondwater en de bepaling van waterstof zijn dermate complex dat investering in zowel apparatuur als personeel lonend is.

Daarnaast kan een protocol alleen als handleiding dienen; de uitvoering is volledig afhankelijk van de uitvoerenden. Een goede begeleiding en motivatie is noodzakelijk om de juiste meetdata te verkrijgen.

## HOOFDSTUK 4

### INTERVIEW MET DR. J. WILSON

#### *Hoe worden er watermonsters uit een peilbuis genomen?*

Een veel voorkomend probleem is dat water te snel uit een peilbuis wordt gepompt. Als de doorlatendheid van de grond lager is dan  $10^{-4}$  m/sec wordt het weggepompte water te langzaam aangevuld vanuit de bodem en wordt de peilbuis leeggepompt. Op deze manier wordt alleen staand water uit de peilbuis bemonsterd, hetgeen niet representatief is voor de samenstelling van het grondwater. Als vuistregel geldt dat tijdens een bemonstering het waterniveau in de peilbuis niet meer dan 15 % mag dalen. Als er te hard wordt gepompt, wordt tevens water uit een groot gebied rondom de peilbuis bemonsterd, waardoor een gemengd watermonster bovenkomt dat niet representatief is voor de directe omgeving van de peilbuis.

Langzaam pompen is het beste, dit veroorzaakt ook de minste kansen op verstoring van het monster. Daarnaast is het van belang de filterstelling van de peilbuis op verschillende diepten in het watervoerende pakket te plaatsen. Vaak wordt met behulp van een conepenetrometer de doorlatendheid gemeten, of wordt met behulp van hydropunge op verschillende diepten de doorlatendheid van de bodem bepaald. Op deze manier wordt duidelijk waar de belangrijkste waterstroom is en waar dus de filterstelling van de peilbuizen moet komen. Deze peilbuizen hebben geen last van menging met bovenliggende waterfasen, er is minder kans op aëratie in de peilbuis en de peilbuis geeft altijd genoeg water.

#### *Wat voor pomp kan er worden gebruikt bij grondwaterbemonstering?*

Bij een ondiepe bemonstering (tot 6,5 m beneden maaiveld) kan water met een peristaltische pomp worden opgepompt. Bij een diepere bemonstering heeft deze pomp niet voldoende kracht meer en worden door het vacuüm vluchtige verbindingen uit het water gestript.

Het alternatief bij diepe watermonsters bestaat uit het inbrengen van een pomp in de peilbuis die het water omhoog duwt. Een goed voorbeeld is de blaaspomp; deze werkt met een opblaasbare zak die wordt volgepompt met perslucht, waardoor het water omhoog wordt geperst.

Via een terugslagklep wordt voorkomen dat het water terugstroomt in de pomp als de druk van de zak wordt gehaald en de pomp zich weer vult met vers water. Er bestaat bij deze pomp geen contact tussen het water en de lucht. Beide worden via gescheiden slangen naar de oppervlakte gebracht.

#### *Hoe worden er anaërobe grondwatermonsters genomen?*

Het belangrijkste is dat er geen bellen ontstaan tijdens het oppompen. Opgepompt water wordt upflow door een meetkamer geleid met daarin de elektroden (bijvoorbeeld  $O_2$ , redox, pH en geleidbaarheid). Monsters worden zo dicht mogelijk aan de bron genomen, voor de elektroden, in potjes die van onderaf worden gevuld en pas worden gesloten na een paar volumewisselingen zonder de insluiting van zichtbare luchtbelletjes. Voor sommige analyses (bijvoorbeeld vinylchloride) is het noodzakelijk om een fixatief ( $HCl$ ,  $Na_3PO_4$ ) in het monsterpotje te hebben om biodegradatie te voorkomen.

Vinylchloride is zelfs met een tefloncoating moeilijk in de fles te houden. Met een loodcoating kan de vinylchloride tot enkele weken in het monsterpotje bewaard blijven.

### *Hoe worden er aërobe grondmonsters genomen?*

Een oude methode is het vullen van het boorgat met het edelgas argon, waarna monsters in een anaërobe glovebox in het veld verder worden behandeld. Deze methode is erg omslachtig en blijkt onnodig. De Geoprobe geeft prima anaërobe monsters. Met de Geoprobe genomen kernen moeten direct worden verdeeld over flessen die volledig worden afgevuld met grondwater, liefst van dezelfde diepte als het grondmonster. Er mag geen gasfase in de fles blijven. Aan de kleur kan vaak wel worden gezien of er oxidatie is opgetreden. Deze monsters zijn alleen van belang voor het microbiologische werk in microcosms. De flessen worden gekoeld naar het laboratorium vervoerd waar ze in de anaërobe glovebox verder worden behandeld.

Stoffen die instabiel zijn in de aanwezigheid van zuurstof moeten direct in het veld worden gemeten, of monsters worden direct overgebracht in een extractiemiddel voor latere analyse (bijvoorbeeld vinylchloride). Overigens worden de meeste zuurstofgevoelige parameters (Fe(II), S<sup>2-</sup>) in de waterfase bemonsterd en niet in de grondfase.

### *Wat voor bodemluchtpeilbuizen kunnen er het beste worden geplaatst?*

Als het ondiep is (tot enkele meters) moet er niet met een auger een put worden geboord en een peilbuis worden geplaatst, dit geeft teveel verstoring van de bodem. Simpele roestvrij stalen buizen (1/4 inch) worden de grond ingeduwd met op de opening een metalen boorpuntje. Op de gewenste diepte wordt het buisje iets teruggetrokken waardoor de filteropening vrijkomt uit de boorpunt.

### *Kunnen zuurstofmetingen het beste in situ of on site worden gedaan?*

Zuurstofmetingen in water vallen onder de moeilijkste analyses die er zijn. In situ metingen van zuurstof zijn om de volgende redenen niet betrouwbaar:

- als de elektrode via de peilbuis in het grondwater wordt gebracht, komt de elektrode vaak in contact met een drijfslag van verontreiniging waardoor de werking van elektrode wordt verstoord;
- als de elektrode onder de waterspiegel wordt aangebracht, neemt de druk toe waardoor de werking van de referentie-elektrode verandert;
- als de elektrode langdurig in de peilbuis wordt ingebracht voor semi-continu data-aquisitie is het onmogelijk de ijking van de elektrode te controleren en zonodig bij te stellen.

Om deze redenen moeten zuurstofmetingen bovengronds, direct tijdens het monstereven, plaatshebben.

### *Hoe wenselijk is een zuurstofelektrode die geen zuurstof consumeert tijdens de meting?*

Geen mening over de werking van deze elektroden, maar de huidige elektroden volstaan prima en er is veel ervaring mee. Ten allen tijde moet worden voorkomen dat er luchtbellen ontstaan, dat is het belangrijkste.

### *Wat is het nut van redoxmetingen?*

De redoxelektrodepotentiaal wordt standaard gemeten met een AgCl/calomel-elektrode. Deze elektrode is zeer gevoelig voor S<sup>2-</sup> en Fe(II). Als er zowel een lage redoxpotentiaal als een spoortje zuurstof wordt gemeten, duidt dit op een opmenging van een anaëroob milieu met een aëroob milieu. De redoxmeting wordt dan ook met name als een kwaliteitsparameter gebruikt:

- de kwaliteit van de peilbuis. In de pluim ter plaatse van de peilbuis kan menging optreden van de verontreinigde anaërobe grondwaterpluim met aëroob water, vaak infiltratiewater. Deze peilbuis geeft niet goed de samenstelling van de pluim weer;

- de kwaliteit van de monstername. Als een anaëroob watermonster tijdens de monstername in contact komt met de lucht treedt verontreiniging met zuurstof op, waardoor een onjuiste interpretatie van de meetgegevens plaatsheeft.

In het algemeen wordt de redoxmeting gelijktijdig met de zuurstofmeting in een doorstroomcel gedaan, soms gelijktijdig met een geleidbaarheidsmeting. Als alle elektroden een stabiel signaal geven, is het opgepompte water representatief voor het grondwater en kan een monster worden genomen.

#### *Wat is het belang van de H<sub>2</sub>-meting?*

Bij anaërobe omzetting van organisch materiaal wordt waterstofgas gevormd dat in een bepaalde evenwichtsconcentratie aanwezig blijft. De concentratie vrij waterstof is karakteristiek voor een bepaald type metabolisme en neemt toe van Fe(III)-reductie (0,2 - 0,8 nM) via SO<sub>4</sub>-reductie (1 - 4 nM) tot een maximale concentratie bij methanogenese (5 - 15 nM). Dit betekent dat bij een lage waterstofspanning geen actieve methanogenese aanwezig is, maar dat bijvoorbeeld bij een hoge waterstofconcentratie zowel ijzerreductie als methanogenese kan plaatshebben.

De gemeten (bulk) waterstofconcentratie zal dan ook een indicator zijn van het overheersende metabole proces. Op dit moment levert de H<sub>2</sub>-bepaling voornamelijk een indicatie van de dominante omzettingsprocessen en geen kwantitatieve informatie over bijvoorbeeld de dechlorering. Maar, als er voldoende vergelijkende (laboratorium en veld) studies worden gedaan, zou de H<sub>2</sub>-analyse in de toekomst wel informatie kunnen geven over de snelheid van de dechlorering, en daarmee een alternatief vormen voor de uitgebreide geochemische bepalingen waarmee nu massabalansen en snelheden worden afgeleid. De methode vereist deskundige uitvoering en gebruik van relatief dure apparatuur, maar het resultaat is de investering waard.

#### *Kunnen er beter veldanalyses worden gedaan met colorimetrische assays of laboratoriumanalyses met nauwkeurige assays?*

Veel colorimetrische bepalingen zijn nauwkeurig binnen een range van +/- 20 %. Dit is voor veel analyses voldoende. Transport van het veld naar het laboratorium resulteert vaak in veranderingen in het monster waardoor de, weliswaar zeer nauwkeurige, laboratoriummeting niet representatief is voor de veldsituatie. Daarom kunnen de SO<sub>4</sub>, alkaliniteit, geleidbaarheid en overige kationenanalyses het beste in het veld worden uitgevoerd.

#### *Welke analyses moeten er worden gedaan in het veld?*

De analyses voor O<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, S<sup>2-</sup>, Fe(II), pH en temperatuur kunnen alleen in het veld worden gemeten. Voor de overige analyses moet de afweging worden gemaakt wat het beste is. Alkaliniteit, chloride en sulfaat zijn bijvoorbeeld goed te meten in het veld, maar kunnen ook in het laboratorium worden bepaald.

#### *Welke intermediären van anaërobe BTEX-afbraak kunnen er worden bepaald?*

Vetzuren zijn in algemeen producten van anaërobe fermentatie. Na verestering zijn deze componenten met behulp van GC-MS te detecteren en kunnen als bewijs dienen voor anaërobe afbraak van BTEX. Zowel lange als korte keten vetzuren zijn geschikt. Alifatische koolwaterstoffen (minerale olie) zijn persistent onder anaërobe condities.

#### *Wat zijn goede conservatieve tracers voor BTEX-afbraak?*

Methylbenzeen en hexaan zijn moeilijk afbreekbaar onder anaërobe condities en zijn vaak geassocieerd met BTEX. Deze stoffen kunnen dus worden gebruikt om het aandeel van biodegra-

datie in de afname aan verontreiniging te schatten. Laagmoleculaire vertakte alkenen zijn ook geschikt, maar dit zijn moeilijke en kostbare analyses.

Methaan kan als tracer dienen, onder de aanname dat alle benzeen is omgezet naar methaan. Op deze manier kan er op locaties waar de BTEX grotendeels is verdwenen toch een inschatting worden gemaakt van de omvang en afbraaksnelheid van de oorspronkelijk verontreiniging. Chloride is een goede tracer voor biodegradatie van gechloreerde koolwaterstoffen; deze analyse geeft alleen kwalitatieve informatie.

#### *Wat is het belang van biologische analyses?*

Er kan niet worden gerekend met biologische analyses. Daarom worden er geen saneringsbeslissingen genomen op basis van deze informatie. Dehydrogenasemetingen worden regelmatig toegepast. Het is wel noodzakelijk deze analyse zo snel mogelijk na monsternamen uit te voeren. Dehydrogenasemetingen zijn geen meting van de actuele activiteit, maar geven de potentiële activiteit van de bacteriën weer.

Biologische analyses dienen als indicator voor de aanwezigheid van een bepaalde bacteriële populatie. Er wordt hiermee echter geen extra kennis ingebracht, aangezien de microbiële activiteit ook kan worden afgeleid uit de geochemie. Er kan met bacterietellingen wel worden aangetoond dat bodems die niet actief zijn wel de juiste bacteriën bezitten.

#### *Wat voor laboratoriumonderzoek is het best geschikt?*

"Never do column studies, they are worse than a sick baby". Er gaat veel energie zitten in het genereren van één getal, de afbraaksnelheid. Daarnaast zijn kolommen toch ook heterogeen, zodat de vertaalslag naar het veld moeilijk blijft. Uit batchstudies kan er met dezelfde inspanning veel meer data worden gegenereerd.

In situ microcosms, grond die in de bodem wordt afgesloten van zijn omgeving en waarin milieu-omstandigheden kunnen worden gemanipuleerd en gemonitord, lijken interessant. Dr. Wilson heeft hier echter geen ervaring mee.

Batchstudies voor *intrinsieke* biodegradatie (dus niet voor actieve biorestauratie) onder aërobe of denitrificerende condities hebben weinig zin, omdat de afbraaksnelheid in vergelijking met de aanvoer van zuurstof en nitraat altijd groter is. In modellen wordt daarom uitgegaan van een momentane reactie tussen beschikbaar zuurstof of nitraat en de verontreiniging. Deze snelheid is onafhankelijk van de biodegradatie-activiteit en hoeft daarom ook niet in batchproeven te worden bepaald.

Batchproeven met geoxideerd ijzer zijn vaak niet representatief, omdat de geoxideerde amorfe ijzerkristallen die worden gebruikt niet representatief zijn voor de vorm waarin het ijzer in de bodem voorkomt.

Batchstudies voor *intrinsieke* biodegradatie onder sulfaatreducerende of methanogene condities zijn wel zinvol en resultaten van deze studies dienen als derde bewijsvorm voor het optreden van intrinsieke biorestauratie [zie 9, pag. 22]. In modellen voor intrinsieke biorestauratie worden snelheden, zoals bepaald in deze studies, gebruikt om het gedrag van de pluim te beschrijven. Hierover is een ruime hoeveelheid referentiemateriaal aanwezig [9 en 10].

#### *Kunnen bio-assays worden toegepast bij risicobeoordeling?*

Microtox is niet representatief omdat de ATP-productie, waar de methode op is gebaseerd, slechts 5 % van de fysiologie uitmaakt. Bij de EPA en andere instituten in de VS is wel onderzoek gedaan naar andere testorganismen, zoals de Afrikaanse klauwpad *Xenopus laevis*. De larven van dit organisme bleken erg gevoelig voor JP4 jet fuel, maar hoe is dit te vertalen in een risico? Toxiciteit voor bacteriën in de grond is waarschijnlijk niet te bepalen, omdat de bacteriën zich kunnen aanpassen aan de meest extreme milieus.

## HOOFDSTUK 5

### EVALUATIE VAN DE MONSTERNAME EN DE MONITORING IN DE VERENIGDE STATEN

#### 5.1 Inleiding

"Wat zegt de peilbuis" (dr. J. Wilson, maart 1995) betekent in ruimere zin "hoe juist kan op een bepaald moment de werkelijke waarde worden gemeten van een variabele (een parameter) in de gas-, de vloeistof- en de vaste fase van de bodem en wat kan daaruit worden geconcludeerd."

In deze korte evaluatie wordt de opgedane ervaring tijdens het werkbezoek ("EPA" en "DuPont") gepresenteerd en vergeleken met de werkwijze zoals die gangbaar is in Nederland. Daarbij dient de IWACO-ervaring als referentie. De aërobe (onverzadigde zone) en anaërobe (verzadigde zone) grond-, water- en gasmonstername en verwerking van bodemmilieus staat hier centraal. In tabel 1 wordt het te bespreken schema weergegeven.

Tabel 1. Bespreking van de onderdelen van de monstername en de verwerking.

fase	aërobe monstername	anaërobe monstername
bodem	x	x
water	x	x
gas	x	n.v.t.

#### 5.2 Grondbemonstering

##### 5.2.1 Aëroob

###### *EPA*

Het bemonsteren van grond heeft plaats over de gehele diepte van het bodemprofiel en wel via het nemen van ongestoorde monsters met behulp van een Geoprobe. Nadat de kolom naar boven is getrokken, wordt deze direct verwerkt voor nadere analyses. De kolom is naar het ingerichte verwerkingslaboratorium gebracht, dat twintig meter van de monstername plek is. Daar zijn deelmonsters genomen van de grondkolommen voor analyse ter plaatse (total petroleum hydrocarbons, dehydrogenase) of zijn extracties ingezet voor latere analyse in het laboratorium.

Deze grondbemonstering is een ideale wetenschappelijke methode, aangezien het gehele bodemprofiel van circa 5 m per 10 cm diepte wordt gekarakteriseerd.

###### *Nederland*

Ook in Nederland wordt op deze manier gewerkt. Grondmechanica Delft (GD) heeft geen Geoprobe maar werkt met vergelijkbare apparatuur. Ook het bedrijf Wiertsema (NOBIS-project Rademarkt) werkt met vergelijkbare apparatuur.

##### 5.2.2 Anaëroob

###### *EPA*

In principe hebben is er geen anaërobe bodemmonstername ervaren.

De Geoprobe monstername wordt echter ook gebruikt voor anaërobe bemonstering en handhaving van de milieucondities vanwege het hermetisch afgesloten zijn van de kolom. Alleen aan

het uiteinde van de kolommen kan het redoxmilieu veranderen over een afstand die sterk wordt bepaald door de compactheid van de grond; hoe compacter de grond hoe dunner het laagje dat wordt beïnvloed. Dit laagje wordt in het laboratorium verwijderd.

#### *Nederland*

Anaërobe grondmonstername (uit de verzadigde zone) gebeurt in Nederland nog maar sporadisch. Gebruikte methoden gaan uit van flushen van het boorgat met N<sub>2</sub>-gas, verbuizing om het boorgat vrij te houden en het inbrengen van een steekbus op de gewenste diepte. De steekbus bevat een zuiger die ervoor zorgt dat geen gasfase ontstaat en dat de grondkolom in de buis blijft. Boven de grond wordt de buis afgezaagd en naar het laboratorium vervoerd, net zoals in de VS is gezien.

Het direct verwerken van grondmonsters in het veld tot en met het toevoegen van het extractiemiddel is redelijk uniek en wordt in Nederland waarschijnlijk niet of nauwelijks toegepast.

### **5.3 Grondwaterbemonstering**

#### **5.3.1 Aëroob**

##### *DuPont*

Het verzamelen van grondwater heeft plaats via specifieke peilbuizen, met perforaties op die plaats in de buis waar water moet worden verzameld. Het omstorten met bentoniet en afdichten van die peilbuizen wordt niet als een probleem ervaren. (Het kiezen van de juiste plaats en het werken met een beperkt aantal monitorbuizen is een probleem van een andere orde.)

Er is geen aërobe grondwaterbemonstering uitgevoerd tijdens het bezoek.

##### *Nederland*

De aërobe grondwatermonstername is in principe geen probleem, daar het in het algemeen geen grote diepten betreft en er geen rekening hoeft te worden gehouden met grote drukverschillen en daarmee met veranderingen van vooral gemakkelijk te vervluchtigen componenten. Het omgaan met de monsters en het verliezen daaruit van componenten die gemakkelijk vervluchtigen, heeft te maken met de kennis en de toewijding van de technicus die bemonstert. Het willen en kunnen meten van bijvoorbeeld etheen (als afbraakproduct van PER en TCE) is een extra kwalitatieve garantie dat er bewust met de monstername wordt omgegaan.

Monstername op grote diepte is wel een probleem ten gevolge van mogelijke ontgassing van het water bij het wegvallen van de druk.

#### **5.3.2 Anaëroob**

##### *DuPont*

In de monitorpeilbuizen is met behulp van een "bladderpomp" water naar boven gepompt. Anaërobie is vermeden door het juiste gebruik van deze pomp en een strenge controle op zichtbare gasbellen in de afgevulde monsterfles na de afsluiting.

##### *Nederland*

Waarschijnlijk is in Nederland dezelfde apparatuur beschikbaar zoals is gezien op de DuPont-site. Onbekend is of deze wordt toegepast.

Een andere wijze van bemonsteren die in Nederland wordt toegepast (van bijvoorbeeld 80 m diepte), heeft plaats met behulp van een slangstelsel met gewicht. Deze slang wordt lang geïncubeerd en water wordt voorzichtig langzaam opgepompt. De milieu-omstandigheden kunnen dan direct worden gekarakteriseerd en dienen als controle op verantwoord bemonsteren.

De laboratoriumbepalingen van de waterfase hebben plaats volgens gangbare voorschriften (protocollen).

Verder is in Nederland de chemosonde (GD) beschikbaar. Deze geeft een directe meting van redox, pH, geleidbaarheid en temperatuur.

Het meten van de H<sub>2</sub>-concentratie wordt, voor zover bekend, niet in het veld uitgevoerd.

Dr. Wilson meent dat de H<sub>2</sub>-meting uiteindelijk de beste indicatie wordt voor microbiële activiteit. Volgens Lovley, op een congres in Davos 1996, zijn H<sub>2</sub>-elektroden in Amerika beschikbaar. De kosten voor de totale meetapparatuur bedragen circa \$ 25.000.

#### **5.4 Bodemluchtbemonstering**

##### **5.4.1 Aëroob**

###### *EPA*

Het luchtbemonsteringssysteem bestaat uit 24 peilbuizen van 1/4 inch diameter. Bodemlucht is direct via een "klik" koppeling door een elektrochemische cel of infraroodcel gezogen voor de bepaling van O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> en vluchtige organische verbindingen. Tevens is de lucht in vacuüm containers gezogen, waarna analyse plaatsheeft op een uitgebreide reeks gasvormige componenten.

###### *Nederland*

De meting van O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> en vluchtige organische verbindingen heeft in Nederland plaats met vergelijkbare apparatuur. Het meten van bodemluchtmonsters heeft in Nederland plaats in kruipruimten, landfarming- en bioventingsystemen.

Het monstern van bodemlucht via zeer dunne peilbuisjes heeft in Nederland waarschijnlijk niet plaats.

De luchtbemonstering in containers wordt, voor zover bekend, niet in Nederland uitgevoerd.

De meeste kritiek over bodemluchtmonsters betreft het "niet weten waar de lucht vandaan komt". Het aanzuigen van de lucht gaat ook altijd via preferente stroomwegen. Vandaar dat gemeten concentraties ook als zodanig moeten worden beschouwd: ze zijn kwalitatief.

#### **5.5 Analyses**

Er is een beperkt aantal analyses uitgevoerd tijdens het werkbezoek.

De microkosmosstudies die zijn uitgevoerd, worden op een andere manier toegepast dan bij Bioclear. De microkosmosstudies op de Dover-locatie zijn ingezet als monitoringsinstrument om tijdens de sanering het biodegradatiepotentieel vast te stellen. In Nederland is het gebruikelijk om dit soort studies, batchincubaties, alleen aan het begin van een sanering toe te passen als een soort haalbaarheidsstudie. Batchincubaties in Nederland maken doorgaans gebruik van grotere (van honderden grammen tot enkele kilo's) hoeveelheden grond in plaats van de 20 gr die in Dover de standaard was. Incubatie en monitoring van de proef heeft wel op vergelijkbare wijze plaats.

Kolomstudies zijn niet uitgevoerd en dr. Wilson heeft daar slechte ervaringen mee. De ervaring in Nederland is dat technische problemen in een grondkolom goed zijn te beheersen. Afbraaksnelheden, die met kolomstudies voor actieve biorestauratie worden verkregen, komen redelijk overeen met de velddata, hetgeen niet geldt voor batchstudies. Voor passieve biorestauratieprocessen worden ook in Nederland geen kolomstudies gebruikt.



De dehydrogenase meting wordt op identieke wijze uitgevoerd als door Bioclear. De waarden die door dr. Wilson en zijn medewerkers worden gegenereerd, kunnen daarom goed als referentiemateriaal worden gebruikt voor de metingen die in Nederland worden uitgevoerd.

De elektroden voor pH, O<sub>2</sub>, redox, geleidbaarheid en temperatuur in de doorstroomcel van DuPont zijn alle vergelijkbaar of identiek aan (glas)elektroden die in Nederland voor dit doel worden gebruikt.

De GasTech-apparatuur voor bodemluchtanalyse voor O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> en TPH is vergelijkbaar met apparatuur die in Nederland wordt gebruikt. Deze apparatuur wordt direct op de peilbuis aangesloten via een gasdicht kliksysteem dat via dunne tubing het meetapparaat aansluit op de dunne (1/4 inch) peilbuis. Dit laatste voorkomt atmosferische verontreiniging, gebruikt zeer weinig monster en wordt in Nederland waarschijnlijk niet standaard toegepast.

## HOOFDSTUK 6

### PROTOCOLLEN NATURAL ATTENUATION

*Protocol "Technical protocol for evaluating natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater"*

Het protocol is in een eerste revisie van een draft versie beschikbaar [9]. Het protocol bevat een beslissingsschema bij het vaststellen van het optreden van natural attenuation van gechloreerde koolwaterstoffen en biedt een procedurele en praktische handleiding bij het implementeren van een lange termijn monitoringsprogramma.

Het aantonen van natural attenuation is gebaseerd op drie onafhankelijke bewijspunten:

1. Waargenomen reductie in de verontreinigingsconcentratie langs het stroomprofiel vanaf de verontreinigingsbron.
2. Waargenomen verlies aan massa van de verontreiniging in het veld volgens:
  - a) chemische en geochemische analytische data inclusief:
    - verminderde concentratie van de oorspronkelijke verontreiniging;
    - toenemende concentratie van de afbraakproducten;
    - afname van de elektronenacceptoren en -donoren;
    - toename van de metabole bijproducten;
  - b) een conservatieve tracer en een goed onderbouwde schatting van de verblijftijd langs het stroomprofiel om massaverwijdering van de verontreiniging te berekenen en de biologische afbraaksnelheid in het veld te bepalen.
3. Microbiologische laboratorium- of velddata die het optreden van biodegradatie ondersteunen en die snelheden van biodegradatie geven.

Het protocol geeft een beslissingsschema voor de implementatie van natural attenuation. Er wordt een uitgebreid monitoringsschema, inclusief de wijze van monsternamen, analyse en frequentie gegeven voor grond en grondwater (zie tabel 2.1 in [9]). Daarnaast worden de kwaliteitseisen per analyse weergegeven (zie tabel 2.2 in [9]).

Dit protocol en deze tabellen geven praktische informatie en richtlijnen op de volgende kennisvelden uit het onderzoeksvoorstel:

- anaërobe monsternamen voor grond en grondwater;
- chemische analyses van gechloreerde ethenen, Fe(II), Mn(IV), H<sub>2</sub>S en CH<sub>4</sub>;
- data-interpretatie.

Daarnaast staat in het protocol nog een schat aan gegevens aangaande analytische methoden, veel gemeten velddata van biodegradatiesnelheden en uitvoeringswijze van data-interpretatie en modellering.

*Protocol "Technical protocol for implementing intrinsic remediation with long-term monitoring for natural attenuation of fuel contamination dissolved in groundwater"*

Het protocol bevat in essentie dezelfde opbouw en inhoud van het voorgaande protocol [10]. Dit protocol is bedoeld voor biodegradatie van BTEX. Minerale oliën (alifatische koolwaterstoffen) krijgen relatief weinig aandacht.

## HOOFDSTUK 7

### DISCUSSIE

De methoden en technieken voor anaërobe monsternamen en monitoring die in de VS worden toegepast, zijn in principe ook in Nederland beschikbaar. De mate van routine en standaardisatie die in de VS gezien is ten aanzien van het gebruik van deze protocollen is in Nederland echter nog niet aanwezig. Ook de veelheid en detaillering van de protocollen voor anaërobe monsternamen en analyse is groter in de VS.

Als anaërobe monsternamen en monitoring in Nederland standaard volgens deze of vergelijkbare protocollen wordt uitgevoerd, zal dit naar verwachting leiden tot een meer effectieve inzet van middelen en een verhoging van de kwaliteit. Het werken met dezelfde protocollen maakt een vergelijking van de meetgegevens mogelijk, waardoor gebruik kan worden gemaakt van elkaars referentiewaarden.

Er is een trend waarneembaar om chemische en biologische analyses zo dicht mogelijk bij de oorsprong, in het veld, te meten. Dit is al gebruikelijk bij bodemluchtanalyse, maar wordt nu ook meer de standaard bij grondwateranalyses door het gebruik van sneltests en bodemanalyses door het toepassen van prescreeningsmethoden en monstervoorbehandeling in het veld. Veldanalyses en monstervoorbehandeling in het veld verkleinen de kans op monsterverstoring of verlies aan gevoelige componenten tussen monsternamen en analyse. Het verdient aanbeveling om te inventariseren welke analyses, die nu nog in het laboratorium worden gedaan, beter in het veld kunnen worden uitgevoerd.

De aandacht die aan kwetsbare monsters wordt gegeven bij het bemonsteren moet doorlopen tot en met monstertransport, opslag en analyse. De analysevoorbewerking moet rekening houden met de gevoeligheid van het monster. Een goede communicatie tussen veldwerker, laboratorium en adviseur is hierbij essentieel.

In de VS zijn enkele analyses ontwikkeld ( $H_2$ , bodemluchtsamenstelling) die nog niet worden toegepast in Nederland. De  $H_2$ -meting moet worden ontwikkeld met gebruikmaking van de reeds ontwikkelde EPA-protocollen voor deze meting. De analyse voor bodemluchtsamenstelling met gasmonsternamen in gascilinders lijkt aantrekkelijk en kan door middel van een validatieonderzoek worden vergeleken met bijvoorbeeld actief koolabsorptie en laboratoriumanalyse of directe veld-GC-analyse.

In de VS zijn universiteiten (zoals Ann Arbor University, Adriaens et al.; Oklahoma University, Sufliata et al., EPA laboratorium Kerr institute te Ada Oklahoma) vaak betrokken bij saneringen en veldonderzoek daaromheen (b.v. Savannah River Project). Men is direct betrokken bij het onderzoek en het veldwerk, hetgeen een positief effect heeft op de toepassing van ontwikkelde methoden en technieken.

De kwaliteit van de technische persoon in het veld is hoog en deze is zich bewust van het belang van de juiste uitvoering. Hij is zich bewust van de achtergrond van het project en weet hoe er verder met "zijn of haar getallen" gaat worden gerekend. Hier moet in Nederland meer aandacht aan worden besteed.

Het is van belang om een eventuele ontwikkeling van methoden voor monsternamen, laboratoriumonderzoek en analyse, die in Nederland nog onvoldoende zijn uitgewerkt, af te stemmen op de reeds beschikbare protocollen uit de VS. Dit bespaart niet alleen tijd en geld, maar maakt tevens dat resultaten onderling vergelijkbaar worden. Alleen op deze manier kan goed gebruik worden gemaakt van de uitgebreide referentiewaarden die in de diverse EPA-projecten en gerelateerde projecten zijn behaald.

Het RTDF-programma is gericht op het vergroten van publieke acceptatie van biorestauratie en heeft daarom een zeer open houding ten aanzien van het uitwisselen van kennis. Binnen het RTDF zijn enkele voor NOBIS interessante projecten gestart of worden binnenkort gestart. Het is interessant om de kennisuitwisseling met dit forum verder uit te werken om zodoende projectteams met vergelijkbare onderzoeksvragen met elkaar in contact te brengen.

## HOOFDSTUK 8

### CONCLUSIES

Uit het werkbezoek en de gevoerde gesprekken kunnen de volgende conclusies worden getrokken:

- Onderzoekers en veldwerkers op de Dover-locatie zijn allen goed getraind in de achtergrond van zowel onderzoek als procedures om in het traject van monstername tot data-interpretatie een goede onderlinge afstemming te waarborgen.
- De Geoprobe voorkomt verstoring van de grond, het grondmonster, verliezen van vluchtige verbindingen en blootstelling aan zuurstof.
- Deelbemonstering uit boorkernen in het veld heeft een positief effect op de kwaliteit van gevoelige analyses, zoals vluchtige verbindingen, zuurstofgevoelige analyses en biologische analyses en maakt het tevens mogelijk nauwkeurige de stratificatie van de verontreiniging te bepalen.
- Prescreening en selectie van grondmonsters in het veld werkt kostenbesparend op de laboratoriumanalyses en de totale analysekosten.
- Microkosmosstudies worden ook als monitoringsinstrument tijdens de sanering toegepast, hetgeen in Nederland niet gebruikelijk is.
- Biologische analyses, zoals bacterietellingen en enzymassays, zijn indicatief voor het biodegradatieproces.
- Anaërobe en ongestoorde grondwatermonstername heeft plaats met gespecialiseerde apparatuur, de zogenoemde "bladderpomp". Deze pomp voorkomt beluchting van het monster en werkt niet met een onderdruk waardoor vervluchtiging wordt voorkomen en is commercieel beschikbaar.
- Geleidbaarheid, alkaliniteit, redox, temperatuur, pH, CH<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, Fe(II) en sulfide moeten in het veld worden bepaald.
- Gevoelige analyses, zoals redox en zuurstof, kunnen het beste in een doorstroomcel worden bepaald. Deze apparatuur is commercieel beschikbaar. Deze analyses zijn vooral belangrijk als kwaliteitsparameter voor de peilbuis en de monstername.
- De waterstofconcentratie is specifiek voor een bepaald biologische proces en kan wellicht in de toekomst worden gebruikt voor een kwantificering van het biodegradatieproces.
- Diverse colorimetrische veldtesten voor ionen voldoen beter dan monstertransport en analyse in het laboratorium.
- De stopproef voor bioventing wordt uitgevoerd met gebruikmaking van zeer dunne peilbuisjes en directe koppeling aan analyse-apparatuur voor bepaling van O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> en totaal koolwaterstoffen om verstoring van de bodem en het monster te voorkomen.

## HOOFDSTUK 9

### AANBEVELINGEN

Op basis van dit werkbezoek kunnen de volgende aanbevelingen worden gedaan:

- Inventariseren van de behoefte aan werkvoorschriften en protocollen (bijvoorbeeld door middel van discussie in PIT-teams) en aanvragen van relevante EPA-protocollen.
- Initiëren van een evaluatie-onderzoek, waarbij verschillende methoden en technieken uit de EPA-protocollen worden vergeleken met de huidige praktijk in Nederland. Aandacht kan worden gegeven aan de volgende aspecten:
  - anaërobe grondbemonstering;
  - deelbemonstering en monstervoorbehandeling in het veld;
  - prescreening van monsters als voorselectie;
  - gebruik van batchstudies als monitoringinstrument;
  - anaërobe grondwaterbemonstering;
  - doorstroomcel met O<sub>2</sub>, pH, redox, geleidbaarheid en temperatuurmeting;
  - colorimetrische veldanalyses;
  - uitvoering van stopproef;
  - toepassing van gascilinders voor bodemluchtbemonstering en analyse.
- Operationeel maken van de H<sub>2</sub>-meting in grondwater, op basis van het EPA-protocol.
- Initiëren van een standaardisatie van protocollen in samenwerking met bijvoorbeeld het NNI.
- Opzetten en valideren van monsternamen en analyseprotocollen, zoals is beschreven in de protocollen voor intrinsieke biorestauratie.
- Operationeel maken van laboratoriumvooronderzoek intrinsieke biodegradatie, op basis van het EPA-protocol.
- Onderzoek intrinsieke biodegradatie initiëren op basis van de EPA-protocollen "practical protocols natural attenuation".
- Bij de ontwikkeling en validatie van nieuwe protocollen bij in situ biorestauratie moet gebruik worden gemaakt van EPA-protocollen om onderlinge vergelijking van data mogelijk te maken.
- Meer aandacht geven aan educatie en communicatie bij monsternamen en monitoring van anaërobe en passieve biorestauratie bij het opstellen en uitvoeren van dit soort projecten.
- Leggen van contacten tussen NOBIS-projectgroepen en RTDF-projectgroepen.

## LITERATUUR

1. NOBIS-nieuws nr. 3.  
CUR/NOBIS, Gouda, oktober 1996.
2. DoD/National Environmental Technology Demonstration Program.  
AL/EQW, Tyndall AFB, VS.
3. Groundwater Remediation Field Laboratory (GRFL) National Test Site.  
AL/EQW, Tyndall AFB, VS.
3. In Situ Co-Oxidation of Chlorinated Solvents During Bioventing of Petroleum Hydrocarbons.  
AL/EQW, Tyndall AFB, VS.
5. Remediation Technology Development Forum Intrinsic Remediation Project at Dover Air Force Base, Delaware - version 2.  
RTDF, VS (WWW.RTDF.ORG.), september 1996.
6. Guidance Handbook on Natural Attenuation of Chlorinated Solvents - version 2.  
RTDF, VS (WWW.RTDF.ORG.), september 1996.
7. DHA experimental.  
US EPA, NRMRL, Ada, VS.
8. QED GroundWater Specialists 'How to get the best samples at the lowest cost'.  
Groundwater specialist, Ann Arbor, VS.
9. Technical protocol for evaluating natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater - draft-revision 1.  
Parsons Engineering Science, Denver VS, US.EPA, NRMRL, Ada, VS, USAF Brooks AFB, Texas, VS, november 1996.
10. Technical protocol for implementing intrinsic remediation with long-term monitoring for natural attenuation of fuel contamination dissolved in groundwater - revision 0.  
Parsons Engineering Science, Denver VS, US.EPA, NRMRL, Ada, VS, USAF Brooks AFB, Texas, VS, november 1995.