

NOBIS 98-1-22
AFBRAAK VAN PER- EN TRICHLOORETHEEN
ONDER SEQUENTIËLE REDOXOMSTANDIG-
HEDEN

Fase 3: Full-scale implementatie gestimuleerde
reductieve dechlorering

drs. A.A.M. Nipshagen (IWACO B.V.)
dr.ir. A.A.M. Langenhoff (TNO-MEP)
dr. J. Krooneman (Bioclear B.V.)
ing. A. van Smaalen (Oosterhof Holman Milieutechniek B.V.)
ing. G. Visscher (Provincie Groningen)

januari 2001

Gouda, CUR/NOBIS

Auteursrechten

Alle rechten voorbehouden. Niets uit deze opgave 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 enige 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, "©"Afbraak van per- en trichlooretheen onder sequentiële redoxomstandigheden - Fase 3: Full-scale implementatie gestimuleerde reductieve dechlorering", januari 2001, 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, "©"Biodegradation of per- and trichloroethylene under influence of sequential reduction/oxidation conditons - Phase 3: Full-scale implementation of stimulated reductive dechlorination", January 2001, 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

Afbraak van per- en trichlooretheen
onder sequentiële redoxomstandigheden
Fase 3: Full-scale implementatie gestimuleerde reductieve dechlorering

CUR/NOBIS rapportnummer

98-1-22

Project rapportnummer

98-1-22 fase 3

Auteur(s)

drs. A.A.M. Nipshagen
dr.ir. A.A.M. Langenhoff
dr. J. Krooneman
ing. A. van Smaalen
ing. G. Visscher

Aantal bladzijden

Rapport: 54
Bijlagen: 82

Uitvoerende organisatie(s) (Consortium)

Provincie Groningen (ing. G. Visscher, 050-3164042)
IWACO B.V. (drs. A.A.M. Nipshagen, 050-5214247)
TNO-MEP (dr.ir. A.A.M. Langenhoff, 055-5493034)
Bioclear B.V. (dr. J. Krooneman, 050-5718455)
Oosterhof Holman Milieutechniek B.V. (ing. A. van Smaalen, 0549-280123)

Uitgever

CUR/NOBIS, Gouda

Samenvatting

In opdracht van NOBIS is een implementatieproject uitgevoerd inzake de afbraak van perchlooretheen (PCE) op de locatie Rademarkt te Groningen.

In het geval van verontreiniging met PCE wordt steeds meer gedacht aan het stimuleren van de intrinsieke afbraakprocessen in bepaalde reactieve zones van de bodem (in ruimte en/of tijd), gericht op het beperken/reduceren van risico's.

In het laboratorium is de aërobe en anaërobe afbraak van PCE en de reductieve dechloreringsproducten gekwantificeerd. De combinatie van deze resultaten met de uitgevoerde veldkarakterisatie heeft het mogelijk gemaakt deze resultaten te vertalen naar de veldsituatie ten behoeve van een veldproef.

De resultaten hebben geleid tot het implementeren van een in situ biorestauratie op een gedeelte van de locatie rond de kern van de verontreiniging. Het doel van deze deelsanering is het binnen de gestelde termijn maximaal verminderen van de verontreiniging in de kern door de biologische activiteit zoveel mogelijk te stimuleren door toevoeging van een mengsel van elektronendonoren.

Trefwoorden**Gecontroleerde termen:**

aëroob, anaëroob, biologische afbraak, bodemsanering, chloorethenen

Vrije trefwoorden:

afbraaksnelheden, dechlorering, elektronendonor, monitoring

Titel project

Afbraak van per- en trichlooretheen
onder sequentiële redoxomstandigheden

Projectleiding

IWACO B.V.
(drs. A.A.M. Nipshagen, 050-5214247)

Dit rapport is verkrijgbaar bij:
CUR/NOBIS, Postbus 420, 2800 AK Gouda

Report title

Biodegradation of per- and trichloroethylene under influence of sequential reduction/oxidation conditions
Phase 3: Full-scale implementation of stimulated reductive dechlorination

CUR/NOBIS report number

98-1-22

Project report number

98-1-22 phase 3

Author(s)

drs. A.A.M. Nipshagen
dr.ir. A.A.M. Langenhoff
dr. J. Krooneman
ing. A. van Smaalen
ing. G. Visscher

Number of pages

Report: 54

Appendices: 82

Executive organisation(s) (Consortium)

Province of Groningen (ing. G. Visscher, 050-3164042)
IWACO B.V. (drs. A.A.M. Nipshagen, 050-5214247)
Netherlands Organization for Applied Scientific Research (dr.ir. A.A.M. Langenhoff, 055-5493034)
Bioclear Environmental Biotechnology B.V. (dr. J. Krooneman, 050-5718455)
Oosterhof Holman Milieutechniek B.V. (ing. A. van Smaalen, 0549-280123)

Publisher

CUR/NOBIS, Gouda

Abstract

An implementation project is being carried out by order of NOBIS with respect to the degradation of perchloroethylene (PCE) on the Rademarkt in Groningen.

In the case of contamination with PCE and TCE increasing attention is being given to the stimulation of the intrinsic degradation processes in certain reactive zones of the soil (in space and/or time) focussed on limiting/reducing risks.

By tests in the laboratory, the aerobic and anaerobic degradation of PCE and reductive dechlorination products are quantified. The combination of these results with the field characteristics made it possible to translate these results to the field situation and perform a pilot-scale field test.

The results led to an implementation of an in situ bioremediation at a part of the location situated around the contamination core. The goal of this partial remediation is to maximally reduce the contamination in the core within the time fixed. This will be achieved by maximally stimulating the biological activity by addition of a mixture of electron donors.

Keywords**Controlled terms:**

aerobic, anaerobic, biodegradation, chloroethylenes, soil remediation

Uncontrolled terms:

dechlorination, degradation rates, electron donor, monitoring

Project title

Biodegradation of per- and trichloroethylene under influence of sequential reduction/oxidation conditions

Projectmanagement

IWACO B.V.
(drs. A.A.M. Nipshagen, 050-5214247)

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

VOORWOORD

De Rademarkt is een voorbeeldlocatie voor veel chloorkoolwaterstofverontreinigingen, ontstaan op terreinen van chemische wasserijen en metaalverwerkende industrieën. Het valt in de categorie 'moeilijke stof - matig-moeilijke bodem'. Deze combinatie is één van de meest voorkomende verontreinigingssituaties in Nederland en elders in Europa. Multifunctioneel saneren is op dit soort locaties vaak slechts te realiseren door middel van een zeer kostbare ontgravingsvariant, zodat in veel gevallen wordt gekozen voor een beheersvariant, gericht op het beperken/reduceren van verdere verspreiding van de grondwaterverontreiniging.

In situ biorestauratie, als onderdeel van een beheersvariant, kan mogelijk geschikt zijn om de humane risico's te reduceren en verdere verspreiding te voorkomen. Hierbij kan gebruik worden gemaakt van het aanwezige microbiologische (anaërobe en aërobe) afbraakpotentieel in de bodem, dat mogelijk kan worden gestuurd en gestimuleerd. Hierbij kan zo mogelijk gebruik worden gemaakt van sequentiële redoxcondities in zowel ruimte als tijd.

Het probleem is dat in situ biorestauratie nog geen bewezen techniek is. Het eenduidig vaststellen dat biologische afbraak verantwoordelijk is voor het verdwijnen van verontreiniging is moeilijk. Het kunnen aantonen van de relatie tussen beide heeft een grote invloed op de acceptatie van biologische in situ saneringen door zowel het bevoegd gezag als door de probleembezitter. Hierbij bestaat de noodzaak om inzicht te krijgen in welke parameters op welk moment het meest geschikt zijn voor de vaststelling van de relatie tussen biologische afbraak en verwijding van de verontreiniging.

Teneinde oplossingen aan te dragen omtrent deze problematiek is in 1995 een consortium gevormd, bestaande uit Provincie Groningen (Dienst Ruimte en Milieu), IWACO B.V., TNO Milieu, Energie en Procesinnovatie, Bioclear Milieubiotechnologie B.V. en Oosterhof Holman Milieutechniek B.V. In april 1996 is dit consortium begonnen met de uitvoering van het door NOBIS gesubsidieerde project "Afbraak van per- en trichlooretheen onder sequentiële redoxomstandigheden".

Voor u ligt het resultaat van fase 3 van dit project, waarin de resultaten zijn opgenomen van de implementatiefase van de deelsanering rond de kern van de verontreiniging, door middel van stimulering van de reductieve dechlorering.

Het was een fantastisch avontuur.

januari 2001



INHOUD

		SAMENVATTING	vii
		SUMMARY	xii
Hoofdstuk	1	INLEIDING	1
Hoofdstuk	2	LOCATIESPECIFIEKE GEGEVENS	3
	2.1	Algemeen	3
	2.2	Bodemopbouw en geohydrologie	3
	2.3	Verontreinigingssituatie	4
	2.4	Redoxkarakterisatie	4
Hoofdstuk	3	ONTWERP EN MONITORING VAN HET BIORESTAURATIE-SYSTEEM	7
	3.1	Principe	7
	3.2	Ontwerp van het onttrekkings- en infiltratiesysteem	8
	3.3	Toetsing van het ontwerp	8
Hoofdstuk	4	MONITORING	9
	4.1	Monitoring van de voortgang van de sanering	9
	4.2	Monitoringssysteem en monitoringsparameters	9
Hoofdstuk	5	REALISATIE EN ONDERHOUD VAN HET BIORESTAURATIE-SYSTEEM	13
	5.1	Communicatie	13
	5.2	Aanleg, opstart en onderhoud van het biorestauratiesysteem	13
	5.3	Diver- en stijghoogtemetingen	16
	5.4	Dosering van de elektronendonor	17
Hoofdstuk	6	RESULTATEN EN INTERPRETATIE VAN DE MONITORING	19
	6.1	Inleiding	19
	6.2	Berekening van verdelingscoëfficiënten (K_d -waarden)	19
	6.3	Modellering	20
	6.4	Macrochemie	25
	6.5	Verontreinigingssituatie	27
	6.6	Tracerexperiment	29
	6.7	Dechloreringsgraad	30
	6.8	Waterstofconcentraties	32
	6.9	Redoxkarakterisering en condities voor reductieve dechlorering	34
	6.10	Dechloreringscondities op basis van redoxomstandigheden	34
	6.11	Resultaten van MPN-PCR	36
	6.11.1	MPN-PCR aan grondwatermonsters: de uitgangssituatie	36
	6.11.2	Effect van stimulatiemaatregelen op de dechlorerende populatie in grondwater	36

	6.11.3	Effect van stimulatiemaatregelen op de dechlorerende populatie in grond	38
	6.11.4	Verband tussen het aantal <i>Desulfitobacterium</i> spp. en het dechlorerend vermogen	39
	6.11.5	Detectie van een onbekende bacteriesoort die betrokken is bij de gestimuleerde microbiële activiteiten	40
	6.11.6	Conclusies	43
	6.12	Anaërobe dechlorering van PCE in een waterbatch en MPN-PCR van <i>Desulfitobacterium</i> spp. en ' <i>Desulfo-sporosinus</i> '-sequentie	43
	6.13	Monitoringsresultaten inzake verspreiding	45
Hoofdstuk	7	CONCLUSIES EN EVALUATIE	49
	7.1	Conclusies	49
	7.2	Evaluatie van de monitoring	51
		LITERATUUR	53
Bijlage	A	ONTWERPTEKENINGEN VAN DE INSTALLATIE	
Bijlage	B	MONITORINGSSCHEMA	
Bijlage	C	ACHTERGRONDINFORMATIE VAN DE MOLECULAIRE DETECTIE VAN MICRO-ORGANISMEN, MET BESCHRIJVING VAN DE METHODE VOOR DE BEPALING VAN MPN-PCR <i>DESULFITOBACTERIUM</i> spp., ALSMEDE EEN OVERDRUK VAN EEN PUBLICATIE VAN NOBIS-PIT-PROJECT 97-4-02	
Bijlage	D	BOORPROFIELEN VAN ONTTREKKINGS-, INFILTRATIE- EN MONITORINGSFILTERS	
Bijlage	E	SONDEERDIAGRAMMEN	
Bijlage	F	ANALYSECERTIFICAAT VAN COMPOSTEXTRACT (TELLUS)	
Bijlage	G	RESULTATEN VAN DIVERMETINGEN EN DEBIETEN IN DE OPSTARTFASE	
Bijlage	H	RESULTATEN VAN DE NULRONDE EN MEETRONDE 1, 2, 3, 4, 5, 6 EN 7	
Bijlage	I	BEREKENINGEN VAN VERDELINGSCOËFFICIËNTEN EN RETARDATIEFACTOREN	
Bijlage	J	RUIMTELIJKE WEERGAVE VAN PCE-CONCENTRATIES VAN MEETRONDE 1 EN 7	
Bijlage	K	RUIMTELIJKE WEERGAVE VAN ETHEEN- + ETHAANCONCENTRATIES VAN MEETRONDE 1 EN 7	

Bijlage	L	RUIMTELIJKE WEERGAVE VAN DE DECHLORERINGSGRAAD VAN MEETRONDE 1 EN 7
Bijlage	M	RESULTATEN VAN DE CARROUSELBEMONSTERING (11 FEBRUARI - 21 MAART 2000)
Bijlage	N	RESULTATEN VAN DIVERMETINGEN IN DE PERIODE VAN 14 DECEMBER 1999 TOT 28 JANUARI 2000
Bijlage	O	FIGUREN 1 T/M 8

SAMENVATTING

Afbraak van per- en trichlooretheen onder sequentiële redoxomstandigheden

Inleiding

In het kader van het NOBIS-programma is een implementatieproject uitgevoerd op de locatie Rademarkt te Groningen, waarin de ontwikkeling van een saneringsconcept, op basis van natuurlijke afbraakprocessen van een verontreiniging met perchlooretheen (PCE), centraal heeft gestaan. Het project is uitgevoerd door een consortium bestaande uit Provincie Groningen, Bioclear B.V., TNO-MEP, Oosterhof Holman Milieutechniek B.V. en IWACO B.V.

In fase 1 van het project is een veldkarakterisatie uitgevoerd (bepaling van de redoxstatus) en zijn batch- en kolomexperimenten uitgevoerd ter bepaling van het afbraakpotentieel en kwantificering van afbraakprocessen. In vervolgfase 2 is een pilotproef uitgevoerd ter bepaling van de mogelijkheden van stimulering van aërobe afbraak van vinylchloride (in de periferie) met behulp van Oxygen Release Compound (ORC).

Uit deze eerste twee fasen is naar voren gekomen dat de anaërobe afbraak van PCE optreedt en gestimuleerd kan worden door de toevoeging van een mengsel aan elektronendonor. De aërobe afbraak van gevormde intermediairen, met name vinylchloride, bleek echter minder succesvol in het veld te kunnen worden uitgevoerd. Deze resultaten hebben in fase 3 aanleiding gegeven voor implementatie van een anaërobe in situ biorestauratie op een gedeelte van de locatie rond de kern van de verontreiniging. Fase 3 is in het voorjaar van 1999 begonnen en is beëindigd in april 2000.

Het doel van het implementatieproject is het instellen/optimaliseren van een gestimuleerde reductieve dechlorering van PCE en afbraakproducten. Diverse monitoringsinstrumenten (parameters) worden gebruikt om de voortgang van het in situ biorestauratie proces te volgen, waarbij het relatieve belang van de verschillende parameters voor het volgen van de gestimuleerde bodemprocessen is vastgesteld.

Ontwerp

Bij het ontwerp van het anaërobe saneringssysteem is gekozen voor een onttrekking aan de oostzijde (5 filters) en een recirculatie/infiltratie aan de westzijde (10 filters) van de verontreinigingskern. In figuur I is een overzicht gegeven van het ontwerp. Hierbij is rekening gehouden met de infrastructuur (kabels, leidingen, bebouwing, nieuwe bestrating) ter plaatse van de Rademarkt.

Door een deel van het opgepompte water zonder zuivering weer te recirculeren is de bodem als bioreactor ingezet. Aan het ongezuiverde gerecirculeerde grondwater wordt een mengsel van elektronendonoren (20 % methanol en 80 % compostextract) en ammoniumchloride (N-bron) toegediend. De bedoeling is dat door deze toevoegingen de reductieve dechlorering van het aanwezige perchlooretheen (PCE) plaatsvindt, achtereenvolgens tot trichlooretheen (TCE), cis-dichlooretheen (cis-DCE), vinylchloride (VC), etheen en ethaan.

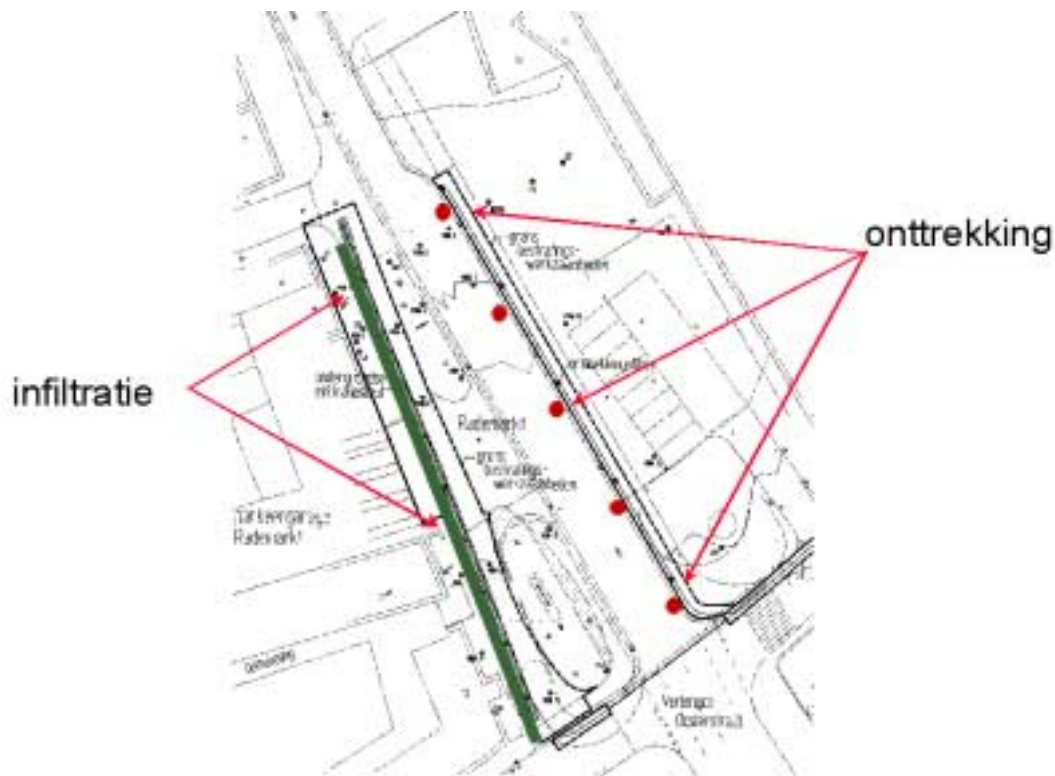


Fig. I. Overzicht van het ontwerp van de locatie Rademarkt.

Monitoring

Bij de monitoring (naast een nulmeting, zeven - maandelijke - ronden) zijn de *macro- en redox-chemie, stijghoogten*, alsmede de *dechloreringsproducten, methanolgehalten en bromidegehalten* bepaald in het grondwater. Ook zijn *H₂-metingen* uitgevoerd, daar waterstof de werkelijke elektronendonator is die bij de dechloreringsreactie is betrokken en bovendien kan de waterstofconcentratie als aanvullende redoxkarakterisatie worden gebruikt.

De *moleculaire detectie* is uitgevoerd op grond- en grondwatermonsters en geeft aanvullende informatie over de (mate van) aanwezigheid van dechlorerende organismen. Tot dusverre zijn een aantal micro-organismen bekend, die verbindingen als PCE kunnen dechloreren. De meeste van deze bacteriën zijn verwant aan *Desulfitobacterium* spp. Met behulp van de moleculaire detectiemethode 'nested MPN-PCR' kunnen bacteriën behorende tot het genus *Desulfitobacterium* specifiek worden aangetoond en geteld in grond- en grondwatermonsters. Daarnaast is een *RT3D-modellering* uitgevoerd, waarbij na de ijking op de kwaliteit van het onttrokken grondwater een voorspelling is gedaan van het verloop van de sanering.

De interpretatie van het afbraakproces op de Rademarkt is geschied op basis van hydrologische metingen, verschuivingen in concentraties, verschuivingen in concentratieverhoudingen met de afbraakproducten (dechloreringsgraad), verschuivingen in redoxchemie, toename in bacterie-aantallen en modelsimulaties. Al deze gegevens worden gecombineerd en geëvalueerd.

Resultaten

Het infiltratie/onttrekkingssysteem is aangelegd in mei/juni 1999 en in september 1999 is begonnen met de infiltratie van het mengsel methanol, compostextract en ammoniumchloride. Al enkele maanden na de start van het systeem werden de redoxcondities in de bodem beïnvloed door de infiltratie. Nitraat was verdwenen in het grondwater van de locatie en sulfaat was sterk afgenomen, en in diverse filters nam het methaangehalte toe. Dit wijst erop dat in de bodem sul-

faatreducerende of methanogene omstandigheden zijn ontstaan. Deze meer gereduceerde condities zijn gunstig voor de gewenste dechloreringsreacties.

Door de infiltratie met methanol is de TOC-waarde gestegen en is derhalve de koolstofbron/elektronendonorlimitatie opgeheven. De TOC-gehalten blijken te correleren met de methanolmetingen.

De verlaging in de redox in de bodem blijkt gepaard te gaan met de stijgende H₂-concentraties. Hoe lager de redoxpotentiaal, hoe gunstiger de condities voor reductieve dechlorering.

In vrijwel alle monitoringsfilters nemen de concentraties aan verontreiniging (PCE en TCE) in de loop van de tijd significant af en de volledig gedechloreerde eindproducten etheen en ethaan worden in toenemende mate geproduceerd (zie fig. II).

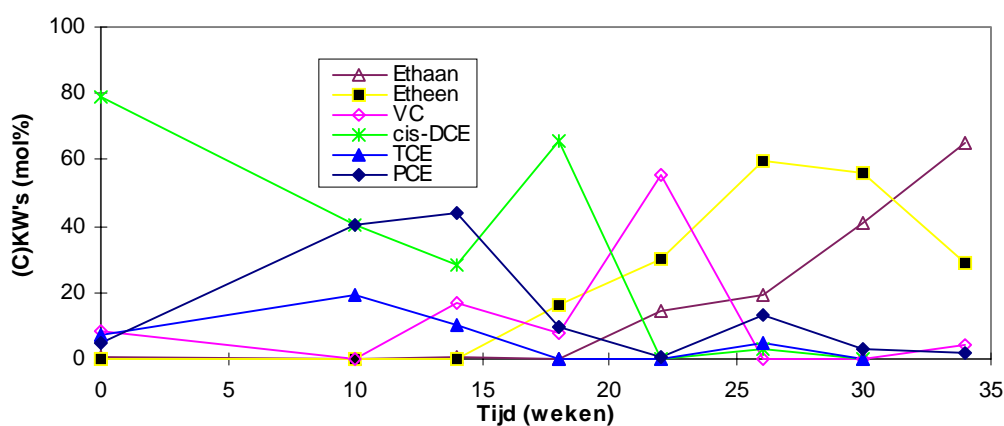


Fig. II. (Chloor)etheenconcentratieverloop in peilbuis MON2 (infiltratie is gestart vanaf week 10).

In de getoonde peilbuis van figuur II zijn concentratiedalingen waargenomen van 380 naar 40 µg/l (PCE) en 3700 naar 350 µg/l (cis-DCE). In andere peilbuizen, waarin de concentratie aan PCE hoger was (5000 µg/l), zijn aan het einde van de infiltratieperiode veel lagere concentraties gemeten dan bij de aanvang van de infiltratie (800 µg/l).

Met behulp van de concentratiemetingen is de dechloreringsgraad berekend. De dechloreringsgraad is gebaseerd op de verhoudingen tussen de oorspronkelijke verontreiniging (PCE) en de gevormde intermediären, en geeft de mate van dechlorering weer. In de meeste monitoringsfilters is de dechloreringsgraad in de tijd gestegen, wat aangeeft dat de afbraakprocessen in het veld zijn opgetreden.

Een hoge dechloreringsgraad (> 75 %) is voornamelijk gevonden in de monitoringsfilters in het noordelijke gebied van de gestimuleerde zone en dicht bij de infiltratiefilters in het zuidelijke gedeelte. De dechloreringsgraad is in de loop van de tijd gestegen, wat erop duidt dat de toenemende dechlorering het gevolg is van de infiltratie en onttrekking op de locatie. Echter, in het middendeel van de activeringszone (rondom MON11) lijkt een stagnante zone aanwezig te zijn, omdat de dechloreringsgraad daar nauwelijks is toegenomen. Ook uit andere metingen is gebleken dat er in de 'stagnante zone' rond MON11 geen grote veranderingen hebben plaatsgevonden. De macrochemie is nauwelijks veranderd en de TOC-, methaan- en methanolgehalten duiden erop dat er onvoldoende elektronendonor aanwezig is. Uit stijghoogtemetingen is echter gebleken dat rondom MON11 wel sprake is geweest van grondwaterstroming.

Het met het simulatiemodel berekende verloop van de chloorethenensamenstelling van het opgepompte grondwater geeft een redelijke fit met de gemeten kwaliteit van het opgepompte grondwater. Op basis hiervan is ook een voorspellende berekening uitgevoerd van de kwaliteit van het onttrokken grondwater, waarbij na circa 2 jaar concentraties worden bereikt tot beneden 10 µg/l. Hierbij zijn relatief hoge afbraaksnelheden gevonden van 0,60 d⁻¹ (PCE), 0,80 d⁻¹ (TCE), 0,10 d⁻¹ (cis-DCE) en 0,15 d⁻¹ (VC).

In grond- en grondwatermonsters zijn *Desulfitobacterium*-soorten geteld met behulp van de MPN-PCR-methode. Uit deze bacterietellingen is gebleken dat binnen het stimuleringsgebied een stijging van het aantal *Desulfitobacterium* spp. waarneembaar is tijdens de gehele stimuleringsperiode, wat duidt op een toename in dechloreringscapaciteit. Dit is bevestigd, doordat tijdens de stimuleringsperiode tevens een toename in dechloreringsgraad is geregistreerd, hetgeen wijst op een positief verband tussen het aantal *Desulfitobacterium* spp. en de dechloreringsgraad. Figuur III geeft het aantal *Desulfitobacterium*-soorten en de dechloreringsgraad weer, zoals deze gemeten zijn in MON15 gedurende de stimuleringsperiode.

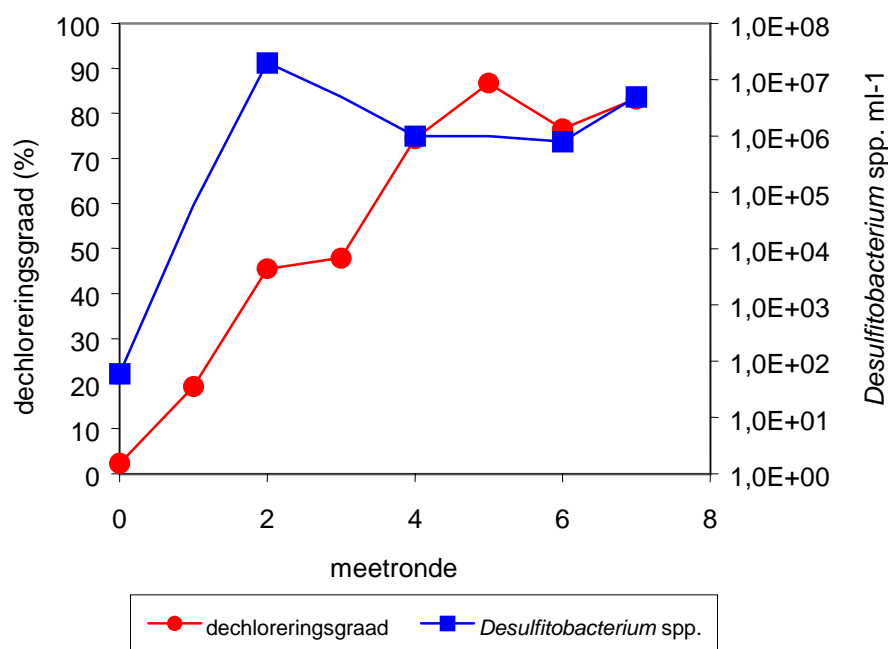


Fig. III. Dechloreringsgraad en aantal *Desulfitobacterium*-soorten gemeten tijdens de infiltratieperiode in monitoringsfilter MON15, een filter gelegen binnen het stimuleringsgebied.

Bij de bacterietellingen is gebleken dat er naast de *Desulfitobacterium*-soorten groei van een andere bacteriesoort (*Desulfosporosinus* spp.) is gestimuleerd.

Om vast te stellen of er een verband bestaat tussen de reductieve dechlorering van PCE en de groei van *Desulfitobacterium* spp. en *Desulfosporosinus* spp. op de locatie Rademarkt, zijn anaërobe waterbatches uitgevoerd. In deze waterbatches blijkt een zeer snelle initiële dechlorering plaats te vinden, waarbij 60.000 µg/l PCE volledig is omgezet naar cis-DCE binnen een periode van 8 dagen (7500 µg/l/dag PCE). Vervolgens is de gevormde cis-DCE met een lagere snelheid omgezet naar etheen via VC. De initiële dechlorering van PCE tot cis-DCE blijkt vergezeld te gaan met een toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. Deze bacteriesoort is/likt dus direct betrokken te zijn bij de omzetting van PCE tot cis-DCE. Of *Desulfitobacterium* spp. een rol spelen bij de verdere omzetting tot etheen en ethaan kan niet worden aangetoond. Er is

tevens nog geen verband gevonden tussen het aantal *Desulfosporosinus* spp. en de dechlorering van PCE, TCE, cis-DCE of VC.

Evaluatie van de monitoring

Er is in de opstartfase van Rademarkt een intensieve monitoring uitgevoerd om een gedegen inzicht te verkrijgen in de Ausgangssituatie, uitspraken te doen omtrent het biodegradatiepotentieel en om de voortgang van het bioherstaptingeproses te volgen. Daarbij was een nevendoeel het relatieve belang van de afzonderlijke monitoringinstrumenten te bepalen. Het uitgebreide monitoringpakket bestond uit de redoxparameters (zuurstof, nitraat, ijzer(II), mangaan(II), sulfaat, methaan en waterstof), TOC, alkaliniteit, nutriënten (N en P), verontreinigingen (chloorethenen), chloride, methanol en bacterietellingen van het aantal dechlorerende bacteriën (*Desulfitobacterium*-soorten).

In dit project is aangetoond dat de verschillende gebruikte monitoringparameters allemaal geschikt zijn om de voortgang van het dechloreringsproces te voorspellen. Uit de gemeten parameters is gebleken dat tijdens de stimulering de macrochemie en de redoxcondities zijn veranderd ten gunste van het dechloreringsproces. De gemeten toename in het aantal dechlorerende bacteriën (*Desulfitobacterium* spp.) geeft aan dat de dechloreringscapaciteit eveneens is toegenomen. Dat dechlorering daadwerkelijk optreedt, uit zich in dalende concentraties PCE, de productie van volledig gedechlorerde verbindingen, zoals etheen en ethaan, en de toename in dechloreringsgraad.

Deze uitgebreide monitoring is belangrijk om de Ausgangssituatie goed in kaart te brengen, maar zal voor het monitoren van een sanering in de tijd waarschijnlijk te kostbaar zijn. Veelal zal een beperkt pakket aan monitoringparameters, bestaande uit de redoxparameters, de TOC, de verontreinigingen en de afbraakproducten, voldoende zijn om de voortgang van biosaneringen te volgen. Het is niet noodzakelijk de redoxparameters methaan en waterstof te meten, omdat is gebleken dat sulfaat goed correleert met deze parameters en sulfaat met een eenvoudige colorimetrische methode kan worden bepaald. Als gedurende de sanering componenten, zoals zuurstof, nitraat, ijzer(II) en mangaan(II), volledig verbruikt zijn, kunnen ook deze monitoringparameters vervallen bij een volgende monitoringronde. Om toch een goed inzicht te houden in de voortgang van de sanering op de langere termijn, is het aan te bevelen om ten minste één keer per jaar, of indien sprake is van een strategisch tijdstip (bijvoorbeeld een verandering in het stimuleringsregime) over te gaan tot een uitgebreide monitoring die toegesneden is op de heersende situatie.

Gezien de veelbelovende resultaten uit deze implementatie vindt aansluitend hieraan verdere sanering op de locatie plaats in het Wbb-kader.

SUMMARY

Biodegradation of per- and trichloroethylene under influence of sequential reduction/oxidation conditions

Introduction

As part of the NOBIS program an implementation project was carried out at the location of Rademarkt in the city of Groningen, in which the development of a remediation concept, based on natural degradation processes of a perchloroethylene (PCE) contamination, was the centre point. The project was carried out by a consortium consisting of the Province of Groningen, Bioclear B.V., TNO-MEP, Oosterhof Holman Milieutechniek B.V. and IWACO B.V.

In phase 1 of the project a field characterization was carried out (determination of the redox status) and batch and column experiments were performed in order to determine the degradation potential and quantify the degradation processes. In follow-up phase 2 a pilot test was performed to determine the possibilities of stimulating aerobic degradation of vinylchloride (in the periphery) with the aid of Oxygen Release Compound (ORC).

From these first two phases it emerged that anaerobic degradation of PCE takes place and may be stimulated by addition of a mixture of electron donors. The aerobic degradation of the formed intermediaries, especially vinylchloride, appeared to be performed less successfully in the field. These results gave cause for the implementation in phase 3 of an anaerobic in situ bioremediation at a part of the site around the contamination core. Phase 3 started in the spring of 1999 and finished in April 2000.

The goal of the implementation project is to establish/optimize a stimulated reductive dechlorination of PCE and its degradation products. Several monitoring instruments (parameters) are being used to monitor the progress of the in situ bioremediation process, whereby the relative importance of the different parameters for monitoring the stimulated soil processes was established.

Design

In the design of the anaerobic remediation system is chosen for an extraction on the east side (5 filters) and a recirculation/infiltration on the west side (10 filters) of the contamination core. In figure I an overview of the design is given. Hereby the infrastructure (cables, pipes, buildings, new pavement) at the Rademarkt was taken into account.

By recirculating part of the extracted water without purification, the soil was used as a bioreactor. To the unpurified recirculated groundwater a mixture of electron donors (20 % methanol en 80 % compost extract) and ammoniumchloride (N-source) was added. The aim is that by these additions the reductive dechlorination of the present perchloroethylene (PCE) successively to trichloroethylene (TCE), cis-dichloroethylene (cis-DCE), vinylchloride (VC), ethylene and ethane takes place.

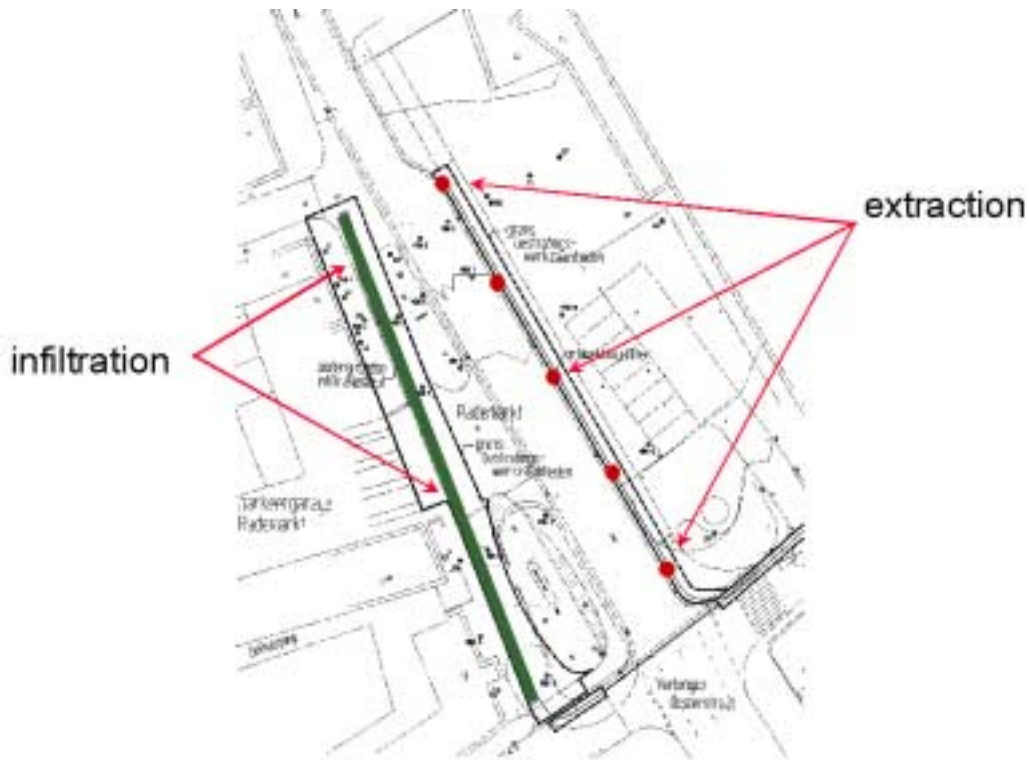


Fig. I. Overview of the design of the location Rademarkt.

Monitoring

In the monitoring (besides a zero measurement, seven - monthly - rounds) the *macro* and *redox chemistry*, *groundwater level*, as well as the *dechlorination products*, *methanol* and *bromide concentrations* were determined in the groundwater. Also *H₂-measurements* were carried out as hydrogen is the actual electron donor involved in the dechlorination reaction and furthermore the hydrogen concentration may be used as an additional redox characterization.

The *molecular detection* was carried out on soil and groundwater samples and provides additional information regarding the (extent of) the presence of dechlorinating organisms. Until now a number of micro-organisms is known to be able to dechlorinate compounds like PCE. Most of these bacteria are related to *Desulfitobacterium* spp. With the aid of the molecular detection method 'nested MPN-PCR' bacteria belonging to the genus *Desulfitobacterium* can be specifically demonstrated and counted in soil and groundwater samples. Next to this an *RT3D-modeling* was carried out with which, after calibration with the quality of the extracted groundwater, a prediction was made regarding the progress of the remediation.

The interpretation of the degradation process at Rademarkt took place based on hydrological measurements, changes in concentrations, changes in the concentrations relative to the degradation products (degree of dechlorination), changes in redox chemistry, increase in the number of bacteria and model simulations. All these data are combined and evaluated.

Results

The infiltration/extraction system was constructed in May/June 1999 and in September 1999 the infiltration of the mixture of methanol, compost extract and ammoniumchloride was started. As early as a few months after start up of the system the redox conditions in the soil were influenced by the infiltration. Nitrate had disappeared in the groundwater at the site and sulphate strongly reduced and in several filters the methane value increased. This indicates that sulphate-

reducing or methanogenic conditions arose in the soil. These more reduced conditions are favourable for the desired dechlorination reactions.

Infiltration of methanol caused the TOC value to rise and therefore the carbon donor/electron donor limitation was lifted. The TOC levels appeared to correlate with the methanol measurements.

The lowering of the redox in the soil appeared to be accompanied by increasing H₂-concentrations. The lower the redox potential, the more favourable the conditions are for reductive dechlorination.

In almost all monitoring filters the concentrations of the contaminants (PCE and TCE) significantly decreased in time, and the completely dechlorinated end products ethylene and ethane were produced to an increasing extent (see fig. II).

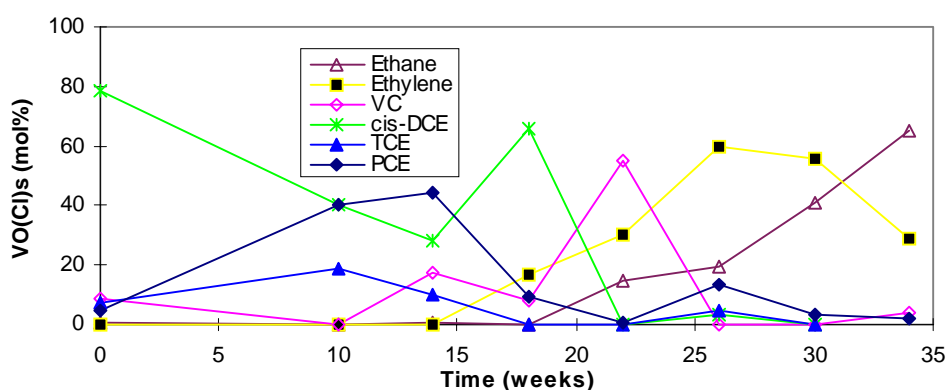


Fig. II. Course of (chloro)ethelyene concentration in filter MON2 (infiltration started from week 10).

In the filter displayed in figure II decreases in concentration were observed from 380 to 40 µg/l (PCE) and 3700 to 350 µg/l (cis-DCE). In other filters, in which the concentration PCE was higher (5000 µg/l), at the end of the infiltration period much lower concentrations were measured than at the beginning of the infiltration (800 µg/l).

With the aid of concentration measurements the degree of dechlorination was calculated. The degree of dechlorination is based on the ratio between the original contamination (PCE) and the formed intermediaries and depicts the extent of the dechlorination. In most monitoring filters the degree of dechlorination rose in time, which indicates that the degradation processes took place in the field.

A high degree of dechlorination (> 75 %) was mainly found in the monitoring filters in the northern part of the stimulated zone and close to the infiltration filters in the southern part. The degree of dechlorination rose in time, which indicates that the increasing dechlorination is the effect of infiltration and extraction on the site. However, in the middle part of the activation zone (around MON11) a stagnant zone seems to be present because the degree of dechlorination has hardly increased there. Other measurements also indicate that in the 'stagnant zone' around MON11 no big changes took place. The macro chemistry hardly changed and the TOC, methane, and methanol values indicate insufficient presence of electron donor. Groundwater level measurements show that around MON11 groundwater flow does take place though.

The course of the composition of the chloroethylenes in the extracted groundwater, as calculated with the simulation model, fits reasonably well with the measured quality of the extracted groundwater. Based on this a predictive calculation was performed of the quality of the extracted groundwater, which showed that after approximately 2 years concentrations are achieved of less than 10 µg/l. Relatively high rates of degradation were found: 0.60 d⁻¹ (PCE), 0.80 d⁻¹ (TCE), 0.10 d⁻¹ (cis-DCE) and 0.15 d⁻¹ (VC).

In soil and groundwater samples *Desulfitobacterium* spp. were counted with the MPN-PCR method. These bacterial counts show that within the stimulated area an increase in the amount of *Desulfitobacterium* spp. was detectable during the whole stimulation period, which indicated an increase of the capacity of dechlorination. This was confirmed, because during the stimulation period likewise an increase of the degree of dechlorination was registered, which indicates a positive connection between the number of *Desulfitobacterium* spp. and the degree of dechlorination. Figure III shows the number of *Desulfitobacterium* spp. and the degree of dechlorination as measured in MON15 during the stimulation period.

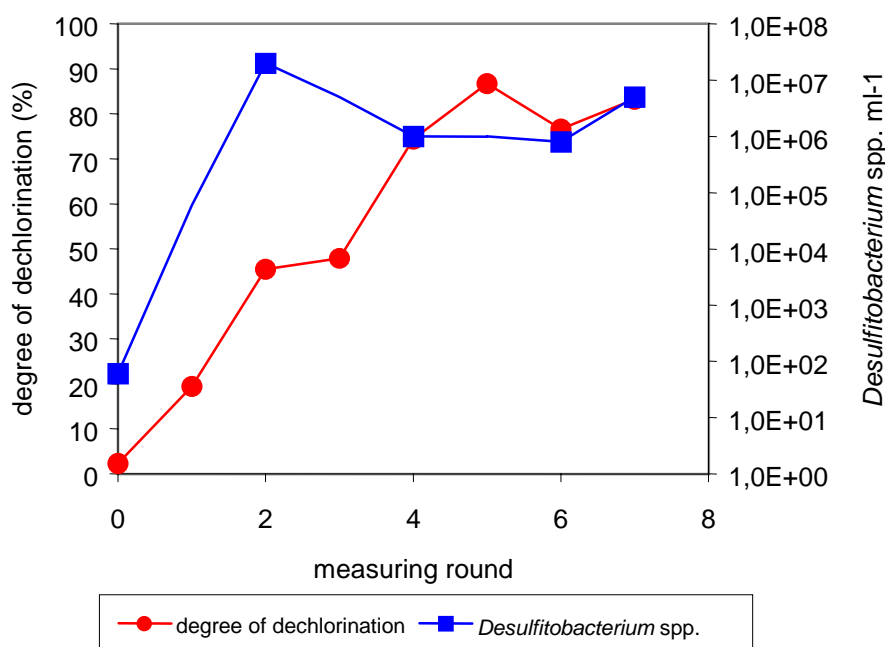


Fig. III. The degree of dechlorination and the number of *Desulfitobacterium* spp. measured during the infiltration period in monitoring filter MON15, a filter situated in the stimulation area.

The bacterial counts show that besides *Desulfitobacterium* spp. the growth of another bacterial species (*Desulfosporosinus* spp.) was stimulated.

To ascertain whether a connection exists between the reductive dechlorination of PCE and the growth of *Desulfitobacterium* spp. and *Desulfosporosinus* spp. at Rademarkt, anaerobic water batches were performed. In these water batches a very fast initial dechlorination appeared to take place in which 60,000 µg/l PCE was completely degraded to cis-DCE within a period of 8 days (7500 µg/l/day PCE). Subsequently the formed cis-DCE was degraded to ethylene via VC at a lower rate. The initial dechlorination of PCE tot cis-DCE appeared to be accompanied by an increase in the number of *Desulfitobacterium* spp. This bacterial species therefor appears to be directly involved in the degradation of PCE to cis-DCE. Whether *Desulfitobacterium* spp. plays a role in the further degradation to ethylene and ethane could not be determined. Also still no

connection was found between the number of *Desulfosporosinus* spp. and the dechlorination of PCE, TCE, cis-DCE or VC.

Evaluation of the monitoring

In the start up phase of Rademarkt an intensive monitoring was carried out to get a thorough insight in the basic situation, to be able to pronounce judgement upon the biodegradation potential and to follow the progress of the bioremediation process. Hereby an additional goal was to determine the relative importance of the different monitoring instruments. The extensive monitoring package consisted of redox parameters (oxygen, nitrate, iron(II), manganese(II), sulphate, methane and hydrogen), TOC, alkalinity, nutrients (N and P), contaminations (chloroethylenes), chloride, methanol and bacterial counts of the number of dechlorinating bacteria (*Desulfitobacterium* spp.).

In this project it was demonstrated that the different monitoring parameters used, are all suited to predict the progress of the dechlorination process. From the measured parameters it follows that during the stimulation of the macro chemistry and the redox conditions are changed in favour of the dechlorination process. The measured increase in the number of dechlorinating bacteria (*Desulfitobacterium* spp.) indicated that the dechlorinating capacity had increased as well. That dechlorination actually takes place is shown by the decreasing concentrations of PCE, the production of completely dechlorinated compounds like ethylene and ethane, and the increase of the degree of dechlorination.

This extensive monitoring is important to map the base situation adequately but will probably be too expensive for monitoring a remediation in time. Mostly a reduced package of monitoring parameters, consisting of redox parameters, TOC, the contaminations and the degradation products will be sufficient to monitor the progress of the bioremediation. It is not necessary to measure the redox parameters methane and hydrogen because sulphate appears to correlate well with these parameters and may be determined with a simple colorimetric method. If components like oxygen, nitrate, iron(II) and manganese(II) are completely consumed during a remediation these monitoring parameters may also be left out during further monitoring rounds. In order to maintain a good insight in the progress of the remediation in the long run, it is recommended to switch to a more extensive monitoring at least once a year or at a strategic point in time (for instance a change in the stimulation regime) which is tailored to the current situation.

Considering the promising results of this implementation a further remediation takes place at the site.

HOOFDSTUK 1

INLEIDING

In het kader van NOBIS is een implementatieproject uitgevoerd op de locatie Rademarkt te Groningen, waarin de microbiële dechlorering van per- en trichlooretheen (PCE en TCE) centraal staat. Op de locatie Rademarkt is sprake van een verontreiniging in het grondwater (en in mindere mate in de grond) met vooral PCE, TCE, en de hiervan afgeleide chloorethenen, cis-1,2-dichlooretheen (cis-DCE), trans-1,2-dichlooretheen en vinylchloride (VC). In figuur 1 van bijlage O is een overzicht gegeven van de locatie. Er is sprake van een ernstig en urgent geval van bodemverontreiniging en op basis daarvan moet een saneringsmaatregel worden uitgevoerd.

In het in fase 1 en 2 van het project uitgevoerde onderzoek is gebleken dat van nature reeds reductieve dechlorering optreedt op de locatie [CUR/NOBIS, 1997 en 1999a]. Deze intrinsieke afbraak is onvoldoende om de verspreiding van de verontreiniging te reduceren. Aanvankelijk was het project gericht op de gestimuleerde afbraak van PCE onder sequentiële redoxomstandigheden. Hierbij is ervan uitgegaan dat volledige reductieve dechlorering tot etheen een moeilijk realiseerbaar proces is op de locatie. Uit in fase 2 uitgevoerde aanvullende kolomexperimenten is echter gebleken, dat bij gebruik van een elektronendonorcumplex (methanol en compostextract) een volledige reductieve dechlorering tot etheen mogelijk is. Bovendien is uit fase 2 gebleken dat stimulering van de aërobe afbraak van cis-DCE en VC moeilijk realiseerbaar is vanwege de grote zuurstofvraag van het sediment. Daarom is besloten in fase 3 van het project de aandacht volledig te richten op de reductieve dechlorering van PCE.

De resultaten van het project tot nu toe hebben aanleiding gegeven tot het (in fase 3) implementeren van een insitu biorestauratie op een gedeelte van de locatie rond de kern van de verontreiniging. Indien blijkt dat met de gebruikte saneringsopzet en de beoogde tactiek een goed resultaat wordt bereikt, zullen deze maatregelen mogelijk worden uitgebreid om de volledige verontreiniging in het eerste watervoerende pakket te saneren.

Het doel van het project is een implementatie van een extensief saneringsconcept, gebaseerd op stimulering van intrinsieke reductieve dechloreringsprocessen. Daarbij zal de monitoring worden geëvalueerd, de samenhang tussen de meetresultaten worden beschreven en de geschiktheid van de monitoringsinstrumenten voor monitoring en bijsturing van het saneringsproces worden vastgesteld.

Deze rapportage beschrijft de resultaten van de implementatie van de gestimuleerde anaërobe dechlorering. In hoofdstuk 2 wordt een beschrijving gegeven van de locatiespecifieke gegevens. In hoofdstuk 3 wordt het ontwerp van het biorestauratie, alsmede de toetsing van het ontwerp aan het consortium van het NOBIS-project "Ontwerp en onderhoud van infiltratie- en onttrekkingsmiddelen" [CUR/NOBIS, 1998] besproken. In hoofdstuk 4 wordt het monitoringssysteem behandeld. In hoofdstuk 5 wordt de realisatie en het onderhoud van het systeem beschreven. In hoofdstuk 6 worden de monitoringsresultaten en de interpretatie hiervan besproken. Tot slot komen in hoofdstuk 7 de conclusies en evaluatie ter sprake.

HOOFDSTUK 2

LOCATIESPECIFIEKE GEGEVENS

2.1 Algemeen

In een pand ter plaatse van de Rademarkt was vanaf 1955 tot 1969 een garage gesitueerd. Naast onderhoudswerkzaamheden heeft ook verkoop van brandstofproducten plaatsgevonden. Vanaf 1969 tot 1990 was er in het betreffende pand een chemische wasserij gevestigd. Bij de bedrijfsvoering van de wasserij is perchlooretheen gebruikt en dit is door lozingen via het ter plaatse van de Rademarkt aanwezige riool in de bodem gelekt. De in de bodem aangetroffen aromaten zijn waarschijnlijk bij de bedrijfsvoering van het brandstofverkooppunt in de bodem terechtgekomen.

Ter plaatse van de voormalige wasserij is momenteel de ingang van een parkeergarage gevestigd. In het kader van de stadsreconstructie is in 1998 ook de Rademarkt geheel voorzien van een nieuwe klinkerbestrating.

2.2 Bodemopbouw en geohydrologie

De lokale bodemopbouw kan als volgt worden beschreven worden. Tot circa 2 m-mv is de bodem vergraven en heterogeen van opbouw. Hieronder wordt keileem aangetroffen, waarbij het leemgehalte gaandeweg toeneemt met de diepte. Vanaf circa 5 - 8 m-mv worden keien en grind aangetroffen. Vanaf circa 8 - 12 m-mv is een droge en zeer vaste laag keileem waargenomen. Onder de keileemlaag wordt fijn zand uit de Peelo-formatie aangetroffen. Bij diverse, maar niet bij alle, meetpunten wordt op circa 17 m-mv potklei aangetroffen, in dikte variërend van 0,2 tot 1 m. Het betreft hier dus een lokale potkleilaag die, ook lokaal gezien, niet als scheidende laag mag worden beschouwd. Onder de keileemformatie bevindt zich tot een diepte van circa 65 m-mv een pakket van fijn tot matig grof zand met hier en daar potklei-inschakelingen. Beneden 65 m-mv worden matig grove tot grove zanden aangetroffen. De geohydrologische basis bevindt zich op 170 m-mv. De geohydrologische schematisatie is weergegeven in tabel 1.

Tabel 1. Geohydrologische schematisatie

diepte m-mv	formatie	lithologie	schematisatie	bodemconstanten
0 - 2	antropogeen	middelfijn tot grof zand met puin	onverzadigde zone	-
2 - 5	Drenthe	keileem, sterk zandig met keien en grind	eerste watervoerende pakket, eerste etage (wvp 1.1)	$K_h = \pm 1 \text{ m/d}$
5 - 8		lokaal ook klei	tweede etage (wvp 1.2)	$K_h = 15 \text{ m/d}$
8 - 12	Drenthe	keileem, zeer vast, droog	eerste scheidende laag	$C = \pm 5000\text{d}$
12 - 65	Peelo	fijn tot matig grof zand, potkleilaagjes	tweede watervoerende pakket eerste etage	$K_h = 5 \text{ m/d}$ $K_v = 1 \text{ m/d}$
65 - 170	Urk, Harderwijk, Scheemda	matig grof tot grof zand, soms slibhoudend, klei-laagjes, grind	tweede watervoerende pakket tweede etage	$K_h = 40 \text{ m/d}$
> 170	Breda	slibhoudend fijn zand en klei	geohydrologische basis	-

Toelichting:

K_h is de horizontale doorlatendheid

K_v is de verticale doorlatendheid

C is de hydraulische weerstand

Het eerste watervoerende pakket bevindt zich van 0 tot circa 8 m-mv. De leemlaag van circa 8 - 12 m-mv fungeert als scheidende laag. Hieronder bevindt zich het tweede watervoerende pakket (12 - 65 m-mv).

De stromingsrichting van het eerste watervoerende pakket (freatisch grondwater) ter plaatse van de kern van de verontreiniging is normaliter oostelijk gericht. De stromingsrichting op het noordelijk deel van de locatie is meer noordoostelijk gericht en de stromingsrichting op het zuidelijk deel van de locatie is meer zuidoostelijk gericht. De stromingsrichting in het tweede watervoerende pakket is overwegend oostelijk. Tussen het eerste en tweede watervoerende pakket is een negatief stijghoogteverschil aanwezig, dat resulteert in een infiltratiesituatie.

In 1997 is ter plaatse (en westelijk) van de Rademarkt een spanningsbemaling in het tweede watervoerende pakket uitgevoerd ten behoeve van de aanleg van een parkeergarage. Als gevolg van de spanningsbemaling is een omkering van de stromingsrichting in het eerste watervoerende pakket opgetreden, van oostelijk naar westelijk. Als gevolg van de geringe voeding van het hydrologische systeem, wordt de oorspronkelijke situatie slechts langzaam hersteld.

In de voorgaande fase (1) van het project zijn putproeven uitgevoerd ter bepaling van de doorlatendheid in het eerste watervoerende pakket. De doorlatendheid is vastgesteld op circa 15 - 20 m/dag. De resultaten van deze proeven zijn beschreven in de rapportage van fase 1 [CUR/NOBIS, 1997].

2.3 Verontreinigingssituatie

Ter hoogte van de Rademarkt bevindt zich een grondwaterverontreiniging van chloorethenen (PCE, TCE, cis-DCE en VC) en vluchtige aromaten (BTEX). De totale vracht aan BTEX omvat echter maar een fractie van de vracht aan chloorethenen. De chlooretheenverontreiniging is duidelijk gerelateerd aan het riooltracé in de Rademarkt, van waaruit de verontreiniging als gevolg van lekkage is ontstaan. De bodemverontreiniging is zowel in het eerste als het tweede watervoerende pakket aangetroffen. In de figuren 2a, 2b en 2c van bijlage O is de omvang van de verontreiniging in het eerste watervoerende pakket weergegeven. De grondwaterverontreiniging in het eerste watervoerende pakket heeft zich vooral verspreid in de grindige laag die zich op circa 5 - 8 m-mv bevindt.

2.4 Redoxkarakterisatie

In fase 1 van het NOBIS-project Rademarkt [CUR/NOBIS, 1997] is reeds een redoxkarakterisatie uitgevoerd van het eerste watervoerende pakket op basis van macrochemische analyses van diverse parameters in grondwater. Op deze wijze kon een ruwe interpretatie worden gemaakt, waarbij ook overgangszones (van lage naar hoge redox) konden worden aangewezen. In de in het kader van een actualisatieonderzoek uitgevoerde karakterisatie [IWACO, 1999] zijn de redoxcondities meer verfijnd geïdentificeerd. Hiertoe is naast de genoemde macrochemie gebruik gemaakt van waterstofmetingen. Deze metingen zijn op twee manieren geïnterpreteerd, namelijk door enerzijds de gemeten waarden te vergelijken met empirisch vastgestelde ranges en anderzijds de partiële evenwichtsbenadering toe te passen.

Op basis van de macrochemie blijkt de redoxconditie van het grondwater te variëren van sulfaat-reducerend/methanogeen in de verontreinigingspluim tot zuurstofreducerend/nitraatreducerend in de perifere pluimdelen. Op basis van de empirische interpretatie van de waterstofmetingen kan een overeenkomstig beeld worden geschetst. Er lijkt echter sprake te zijn van een smallere sulfaatreducerende band in het centrale pluimdeel, in oostelijke en westelijke richting omgeven door nitraatreducerende condities.

De partiële evenwichtsbenadering geeft aan dat de meer gereduceerde condities corresponderen met de bronzone van de verontreiniging. Buiten de pluim overheersen nitraatreducerende omstandigheden en in de perifere pluimdelen zijn overgangszones naar ijzerreducerende omstandigheden zichtbaar. De diverse methoden geven derhalve een consistent beeld van de redoxsituatie. De overgangszones zijn echter alleen met de partiële evenwichtsbenadering aantoonbaar.

Thermodynamische berekeningen laten zien dat dechlorering eerder zal optreden in zones met een hoge waterstofconcentratie, maar een feitelijke relatie is (nog) niet bewezen. Op de locatie Rademarkt is geen sterke correlatie waargenomen tussen dechlorering en redoxcondities. Ook is geen directe relatie zichtbaar tussen dechlorering en waterstofconcentraties. Er is wel een sterke relatie tussen het DOC-gehalte in het grondwater en de waterstofconcentratie.

In het punt met de laagste concentratie chlorine (gebonden chloor) is echter de hoogste waterstofconcentratie aangetroffen onder methanogene omstandigheden. Dit suggereert dat plaatselijk wel een relatie lijkt te bestaan tussen enerzijds waterstofconcentraties en redoxconditie en anderzijds dechlorering.

ONTWERP EN MONITORING VAN HET BIORESTAURATIESYSTEEM

3.1 Principe

Bij het ontwerp van het benodigde saneringssysteem is rekening gehouden met de infrastructuur (kabels, leidingen, bebouwing, nieuwe bestrating) ter plaatse van de Rademarkt. De infrastructuur ter plaatse van de locatie is zeer sturend wat betreft de mogelijke plaatsing van het saneringssysteem. Gezien deze opgelegde beperking en de oriëntatie van de verontreiniging in noord-zuidrichting, is gekozen voor een ontwerp in de noord-zuidlijn. Hierbij is gekozen voor een onttrekking aan de oostzijde van de kern van de verontreiniging en een recirculatie aan de westzijde van de verontreinigingskern. Het systeem is modulair opgezet, zodat de te stimuleren zone in gedeelten kan worden aangestuurd.

Door een deel van het opgepompte water zonder zuivering weer te recirculeren wordt de bodem daarbij daadwerkelijk als bioreactor ingezet. Het surplus aan water wordt gezuiverd over twee in serie geschakelde striptorens, waarna het water deels op het riool wordt geloosd en gedeeltelijk in de bodem wordt teruggebracht. Door aan het ongezuiverde gerecirculeerde grondwater een mengsel van elektronendonoren, namelijk 20 % methanol en 80 % compostextract, toe te dienen, wordt de reductieve dechlorering gestimuleerd. Aan het mengsel is ook een extra stikstofbron in de vorm van ammoniumchloride toegevoegd.

De onderstaande foto geeft een overzicht van de locatie vanuit noordelijke richting, met aanduiding van één van de onttrekkings- en infiltratieputten.



3.2 Ontwerp van het onttrekkings- en infiltratiesysteem

In het ontwerp zijn 10 infiltratiefilters (filterstelling van 5 - 8 m-mv), 5 onttrekkingsfilters (filterstelling van 5 - 8 m mv) en een infiltratiesleuf opgenomen. Het recirculatiesysteem en de aan- en afvoerleidingen zijn geheel ondergronds afgewerkt. De voorraad methanol en compostextract, alsmede de grondwaterzuiveringsinstallatie en de procescontrolunit zijn ondergebracht in een container. In figuur 3 van bijlage O is een overzicht van het systeem weergegeven.

In het ontwerp is uitgegaan van een onttrekking uit de 5 onttrekkingsfilters van maximaal 24 m³/dag. Hiervan wordt maximaal 16 m³/dag met behulp van twee strippers gereinigd en 15 m³/dag hiervan wordt op het riool geloosd. Circa 1 m³/dag wordt in de infiltratiedrain gepompt. De resterende 8 m³/dag wordt in 10 infiltratiefilters geïnfiltreerd. Het grondwater wordt, voorafgaand aan de infiltratie, door middel van een zakkenfilter ontdaan van zwevende stof. Tevens wordt aan het infiltraat met een pulspomp een mengsel van 20 % methanol en 80 % compostextract en 50 g/l ammoniumchloride toegediend met een debiet van 6 l/h.

In bijlage A is respectievelijk het detail van de onttrekkingsbronnen, het detail van een recirculatiefilter en het flowschema weergegeven. De diepe onttrekkingsbronnen, ten behoeve van de in een later stadium uit te voeren sanering van het tweede watervoerende pakket, zijn wel aangelegd, maar nog niet voorzien van een onderwaterpomp.

3.3 Toetsing van het ontwerp

Het ontwerp van het biorestauratiesysteem is door het PIT-team "Infiltratie- en onttrekkingsmiddelen" getoetst. Er zijn een aantal opmerkingen gemaakt aangaande het ontwerp. Er is in principe sprake van mengwater in de bodem, namelijk freatisch grondwater met (weliswaar lage) zuurstofconcentraties < 1 mg/l en anaëroob grondwater. Bovendien is er sprake van wisselende (lage) concentraties nitraat. Het ijzergehalte is relatief laag in het invloedsgebied van de onttrekking. Bij onttrekking van het grondwater zullen de grondwatertypen bovengronds in het leidingstelsel gaan mengen. Dit kan tot problemen leiden in leidingen en infiltratiefilters. De problemen zijn vooral in de hand te houden door de kwaliteit van het zakkenfilter te borgen. Dit filter moet in staat zijn zwevende (ijzer)deeltjes uit het water te filteren. Daarnaast moet regelmatig inspectie van de infiltratiefilters plaatsvinden. Zij moeten bij het teruglopen van de capaciteit worden geregenereerd, waarbij de capaciteit niet tot beneden 50 % mag teruglopen.

Daarnaast moet in verband met mogelijke oververzadiging in het kalkevenwicht een pH-verhoging worden voorkomen. De toevoeging van ammoniumchloride, die een lichte pH-daling kan veroorzaken, kan dit mogelijk opheffen. Opgemerkt is dat extra aandacht moet uitgaan naar de afstelling van de veerbelaste kleppen onder in de infiltratiefilters, zodat gegarandeerd wordt dat het systeem op voldoende overdruk blijft. Ook dit voorkomt eventuele ontgassing en daardoor kalkvorming.

HOOFDSTUK 4

MONITORING

4.1 Monitoring van de voortgang van de sanering

De implementatie is een proces geweest van intensieve monitoring en, indien nodig, opvolgende bijsturing. Het systeem is gemonitord door maandelijkse meting van een aantal relevante parameters aan bestaande en nieuw geplaatste filters. De macro- en redoxchemie, stijghoogtemeting, alsmede de dechloreringsproducten vormen hierbij de primaire sturingsparameters voor het proces. Daarnaast is verondersteld dat de H₂-metingen een sterke ondersteuning van de primaire sturingsparameters kunnen zijn. De moleculaire detectie geeft aanvullende informatie over de (mate van) aanwezigheid van dechlorerende organismen.

Op basis van de data-interpretatie en modellering heeft direct terugkoppeling plaatsgevonden naar het systeem. Het streven hierbij is geweest binnen twee weken na een meetronde het proces zonodig bij te sturen. Hierbij is de aandacht uitgegaan naar de volgende aspecten:

1. Het monitoringsprogramma en/of -systeem is niet voldoende toegerust en behoeft aanpassing (bijplaatsen van peilbuizen, verandering van meetprogramma).
2. Het recirculatiedebiet is onvoldoende, zodat te weinig toestroming is naar de infiltratieputten of er treedt verstopping op van het systeem. In het ontwerp wordt rekening gehouden met de mogelijkheid van regeneratie van het systeem. De mogelijkheid bestaat dat het systeem in de hierop volgende fase wordt uitgebreid.
3. Het onttrekkingsdebiet is onvoldoende of er vindt putverstopping plaats. Ook hier kan regeneratie worden uitgevoerd. Eventueel kunnen putten worden bijgeplaatst.
4. Er treedt voorkeurstroming op en/of er zijn zones aanwijsbaar waar de dechlorering stagneert, omdat de elektronendonoren daar niet doordringt. Enerzijds kan hierop worden gereageerd door aanpassing van de recirculatie/onttrekking. Anderzijds kan in de desbetreffende zones (met behulp van specifieke sonderingen of in bestaande peilbuizen) toediening plaatsvinden van elektronendonoren ter stimulering van het dechloreringsproces.

4.2 Monitoringssysteem en monitoringsparameters

Het monitoringssysteem bestaat uit 15 filters van 6 - 7 m-mv, deels nieuw geplaatst, deels bestaand. De filters zijn zodanig gekozen dat sprake is van een intensieve monitoring in het noordelijk deel van de locatie en een extensieve monitoring in het zuidelijk deel van de locatie. De plaats van de monitoringsfilters is weergegeven in figuur 4 van bijlage O.

De monitoring heeft zich toegespitst op een aantal onderdelen:

1. monitoring van de grondwaterstanden in verband met zettingen en het verkrijgen van extra hydrologische gegevens mede voor de invoer van het simulatiemodel;
2. monitoring van chloorethenen in grondwater en onverzadigde zone (bodemplucht) ter indicatie van het mogelijk optreden van verspreiding van verontreiniging aan de infiltratiezijde van het systeem;
3. monitoring van chloorethenen, etheen, ethaan, methaan, macrochemie, waterstof en MPN-PCR voor het volgen van het verloop van het biorestauratieproces en voor de invoer van het simulatiemodel;
4. monitoring van de chloorethenen in de onttrekkingsfilters voor het volgen van het verloop van de concentraties in het infiltraat en ter ijking van het simulatiemodel.

Daarnaast heeft bemonstering van grond plaatsgevonden tijdens de plaatsing van de monitoringsfilters ter bepaling van de verdelingscoëfficiënten (invoer van het simulatiemodel), alsmede ten behoeve van MPN-PCR-bepalingen, waarbij ook een eindbemonstering is uitgevoerd.

In bijlage B is een monitoringsschema weergegeven, waarin is aangegeven in welke meetronde (meetronde 0 t/m 7), welke parameters aan welke filters zijn gemonitord.

Monitoring van grondwaterstanden

Tijdens de opstartprocedure van de sanering, ter verkrijging van extra informatie aangaande doorlatendheden en stromingspatronen, zijn stijghoogte-dataloggers (zogenaamde 'divers') aangebracht in de 5 onttrekkingsfilters, in de infiltratiefilters B, G en I, alsmede in de monitoringsfilter DEMON. In figuur 4 van bijlage O is de plaats van onder andere deze filters weergegeven.

Na een nulmeting is een aantal uur per dag opvolgend aan één van de onttrekkingsfilters 1 t/m 5 onttrokken, waarna steeds een (nachtelijke) periode van stilstand is ingelast met infiltratie in één of twee tegenoverliggende infiltratiefilters. Uiteindelijk is nog gedurende een aantal uren gemeten onder volledige onttrekking en infiltratie. Tijdens de meetperiode zijn ook handmatige stijghoogteopnamen uitgevoerd aan diverse filters.

Monitoring van macrochemie en microverontreiniging

Tijdens de bemonstering is door middel van doorstroomcellen een on line meting van pH, temperatuur, geleidbaarheid, redox en zuurstof uitgevoerd. De chloorethenen (PCE, TCE, cis-DCE en VC) zijn in 8 (maandelijks) meetronden geanalyseerd in 15 filters met behulp van, in eerste instantie tot en met meetronde 1, de Photovac (draagbare GC) in het veld. De analyse van VC, etheen, ethaan en methaan is uitgevoerd in het laboratorium, waar vanaf meetronde 0 ook de analyses op chloorethenen zijn uitgevoerd. De macroparameters NO₃, SO₄, PO₄, NH₄, alkaliniteit, Fe(II/totaal), Mn(II/totaal), chloride en TOC zijn bepaald in 5 meetronden.

Moleculaire monitoring

Naast het monitoren van chemische en fysische parameters, zoals de verontreinigingen en hun afbraakproducten, pH, organisch koolstofgehalte, nutriëntenconcentraties en macrochemische parameters, vormt het monitoren en kwantificeren van de micro-organismen die betrokken zijn bij de afbraak van verontreinigingen, zoals CKW, een belangrijk onderdeel.

De bacteriën die verantwoordelijk zijn voor biologische dehalogenering van gechloreerde ethenen zijn slechts gedeeltelijk bekend. Tot dusverre zijn nog maar een beperkt aantal micro-organismen geïsoleerd die onder anaërobe condities kunnen groeien waarbij gechloreerde ethenen, zoals PCE, TCE en cis-DCE, worden gedechloriseerd tot lager gechloreerde of volledig gedechlorerde eindproducten. De meeste geïsoleerde reïnculturen behoren tot, of zijn verwant aan, het genus *Desulfitobacterium*. Deze groep bacteriën kunnen goed groeien onder sulfaat-reducerende condities, en blijkt in staat om onder anaërobe condities een verscheidenheid aan organische verbindingen als koolstof- en energiebron te gebruiken, en een aantal gehalogeneerde (waaronder gechloreerde alifaten, zoals CKW) verbindingen als elektronenacceptor te gebruiken.

Voor het kwantificeren van het aantal CKW-dechlorerende bacteriën zijn meerdere manieren van aanpak mogelijk. De conservatieve fysiologische MPN-methode is een kweekafhankelijke techniek. Door verdunningsreeksen in media met voldoende substraat, nutriënten en CKW te maken, kan tot een schatting worden gekomen van het aantal dechlorerende organismen. Een nadeel van deze techniek is dat de incubatietijden over het algemeen erg lang zijn, periodes van een aantal maanden. Een ander nadeel is dat met deze kweekafhankelijke methode alleen de kweekbare fractie wordt geteld. Niet of slecht kweekbare bacteriën, die in de veldsituatie wel

degelijk actief kunnen zijn, worden dus over het hoofd gezien. Het is dus duidelijk dat deze fysiologische MPN voor het monitoren en eventueel bijsturen van saneringen slechts in beperkte mate bruikbaar is. Moderne moleculaire detectietechnieken, die kweekonafhankelijk zijn, kunnen uitkomst bieden. Door gebruik te maken van moleculaire technieken worden de lange incubatietijden omzeild en is het bovendien mogelijk ook de niet-kweekbare fractie te kwantificeren.

Er is in het kader van een NOBIS-PIT-project, getiteld "Moleculaire monitoring van micro-organismen", een moleculaire detectiemethode opgezet specifiek voor de detectie van *Desulfitobacterium*-soorten. Dit project is uitgevoerd door Bioclear in samenwerking met de Rijksuniversiteit Groningen [CUR/NOBIS, 1999b].

Met behulp van de moleculaire detectiemethode 'nested MPN-PCR' kunnen bacteriën behorende tot het genus *Desulfitobacterium* specifiek worden aangetoond en geteld in veldmonsters. In bijlage C is de achtergrondinformatie opgenomen omtrent de moleculaire detectie van micro-organismen met een beschrijving van de methode voor de bepaling van MPN-PCR *Desulfitobacterium* spp., alsmede een overdruk van een publicatie omtrent het bovengenoemde PIT-project.

Door tijdens de infiltratiefase met ruime tijdsintervallen (2 maandelijks) bacterietellingen uit te voeren aan grondwatermonsters kan een indruk worden verkregen of de infiltratie van compost-extract, methanol en ammoniumchloride een toename in het aantal dechlorerende bacteriën tot gevolg heeft. Verondersteld wordt dat een toename in het aantal bacteriën die de capaciteit bezitten chlooralifaten af te breken ook zal leiden tot een toename in het biodegradatiepotentieel.

Grondmonsters zijn genomen op plaatsen waarvan op basis van de eerder uitgevoerde grondwaterkarakterisatie verondersteld is dat volledige dechlorering optreedt. Hierbij is zoveel mogelijk gebruik gemaakt van grond die is vrijgekomen tijdens het plaatsen van de monitoringsfilters en het recirculatie/onttrekkingssysteem. Na de implementatieperiode zijn wederom grondmonsters genomen nabij de plaats waar de grondmonsters bij de aanvang van de sanering zijn genomen. De grondmonsters zijn geanalyseerd volgens de MPN-PCR-methode en vervolgens opgeslagen. Gedurende de implementatieperiode zijn MPN-PCR-analyses uitsluitend uitgevoerd op grondwatermonsters.

Uit de resultaten van de moleculaire monitoring moet blijken of MPN-PCR een geschikt monitoringsinstrument is voor het aantonen van een trend in het dechlorerend vermogen van de bodem. Tevens wordt daarbij onderzocht of de resultaten van de MPN-PCR-analyses in grondwater vergelijkbaar zijn met de resultaten op grond.

De veranderingen in macrochemische en redoxparameters, alsmede waterstofspanning en concentraties chloorthenen kunnen daarbij een bevestiging zijn van de gestelde relatie. Deze analyse moet als aanvullend worden beschouwd op de macrochemische karakterisatie en de waterstofmeting en levert onafhankelijke en complementaire informatie op over het biologische anaërobe dechloreringsproces.

Waterstofmetingen

Bij een aantal dechloreringsreacties is aangetoond dat de waterstof, die uit natuurlijke of toegevoegde organische stof wordt gevormd, de werkelijke elektronendonor is die bij de dechloreringsreactie is betrokken. De elektronen c.q. waterstof worden daarbij overgedragen op het chlooretheenmolecuul (= elektronenacceptor), waarbij een chlooratoom wordt vervangen door een waterstofatoom onder afsplitsing van chloride. Dit proces gebeurt in opeenvolgende dechloreringsstappen. Om uiteindelijk volledige omzetting naar etheen en/of ethaan te krijgen, moeten onder andere de juiste dechlorerende micro-organismen aanwezig zijn en moet de waterstof-

concentratie een voor deze organismen optimale waarde hebben. Deze waterstofconcentratie wordt bepaald door de beschikbare elektronendonor.

De waterstofmetingen geven een beeld van de afbraakcondities zoals deze nu heersen, alsmede van de eventueel wijzigende afbraakcondities als gevolg van de toevoeging van een elektronendonor. Waterstofmeting in grondwater is mogelijk op twee manieren belangrijk bij het inschatten van de intrinsieke dechloreringsconditie van een vervuilde bodem. Allereerst kan wellicht uit de waterstofconcentratie een indicatie worden verkregen of de *in situ* omstandigheden volledige, partiële of geen reductieve dechlorering toelaten. Ten tweede kan de waterstofconcentratie mogelijk als een aanvullende redoxkarakterisatie worden gebruikt, samen met methaan en macrochemische gegevens en dergelijke. Dit is belangrijk bij het inschatten van de haalbaarheid van het inzetten van reductieve en oxidatieve dechloreringsprocessen bij *in situ* sanering/beheersing [CUR/NOBIS, 1999c]. De waterstofmetingen zijn in 8 meetronden (maandelijks) uitgevoerd, waarbij 15 filters zijn bemonsterd.

REALISATIE EN ONDERHOUD VAN HET BIORESTAURATIESYSTEEM

5.1 Communicatie

In verband met een kort voor de planvorming van de biorestauratie uitgevoerde pleinrenovatie met bestratingswerkzaamheden is in de voorbereiding van de sanering met de afdeling Ruimtelijke Ordening van de gemeente Groningen een traject ingezet, waarin adequate informering van de omwonenden en middenstand centraal stond. Gezien het afbreukrisico is besloten om deze betrokkenen in een één op één contact te informeren. Daarin werd enerzijds uiteengezet waarom gelijktijdige renovatie en installering, gezien het stadium van de planvorming, niet tot de mogelijkheden had behoord en anderzijds werd aangegeven hoe de werkzaamheden zouden plaatsvinden en hoe de overlast zou worden geminimaliseerd. Door deze aanpak voelden de betrokkenen zich gehoord, hetgeen leidde tot een projectvoorbereiding zonder noemenswaardige stagnatie, ook niet in de vergunningprocedures. Hierbij is het van belang gebleken om ook tijdens de installatiewerkzaamheden de betrokkenen te informeren en daarbij ook direct te reageren op klachten.

5.2 Aanleg, opstart en onderhoud van het biorestauratiesysteem

Aanleg en opstart

Zoals reeds is aangegeven, is bij de aanleg van het systeem getracht de overlast te minimaliseren. Het bestratingspatroon is mede richtinggevend geweest voor de aanleg van het ondergrondse systeem, waarbij de aanleg van het infiltratie- en onttrekkingsstelsel (met leidingwerk) vaksgewijs is uitgevoerd. De bovengrondse installatie is niet zichtbaar aanwezig geplaatst op een ongebruikt plein achter een muur van een dependance van de Hanzehogeschool.

In de periode van 17 t/m 23 juni 1999 zijn de infiltratiesleuf, alsmede de infiltratie- en onttrekkingsfilters geplaatst. In de periode van 30 juni t/m 8 juli 1999 zijn de monitoringsfilters geplaatst. Hierbij zijn ook grondmonsters genomen voor de bepaling van chlooretheenconcentraties in de grond in verband met de bepaling van de verdelingscoëfficiënten. Ook zijn grondmonsters genomen ten behoeve van de bepaling van MPN-PCR. Om de monsters zo weinig mogelijk in contact te laten komen met zuurstof, is een anaërobe glovebox gebruikt in het veld voor de handling van de monsters.

In bijlage D zijn de boorprofielen van alle uitgevoerde boringen opgenomen. Hierbij zijn ook de boorprofielen opgenomen van de boringen DAPI 1 t/m 3 die zijn uitgevoerd voor de eindbemonstering van grond ten behoeve van de bacterietellingen.

Tijdens de uitvoer van de boringen C, D en E is gebleken dat vanaf circa 3 m-mv vaste leem voorkomt. Daarop is besloten de infiltratiefilters C, D en E te laten vervallen. Voorafgaand aan de uitvoer van de boringen A en B zijn daarop ter plaatse drie sonderingen uitgevoerd ter bepaling van het voorkomen van vaste leem. De sondeerdiagrammen zijn opgenomen in bijlage E. Uit de sondeerdiagrammen blijkt dat ter hoogte van de geplande situering van de filters A en B een zandlaag voorkomt vanaf circa 4 tot 7 m-mv. Daarop zijn de filters A en B alsnog geplaatst. In figuur 4 van bijlage O is de plaats van de onttrekkings-, infiltratie- en monitoringsfilters weergegeven.

In de periode 26 t/m 29 juli 1999 is de zuiverings-/doseerinstallatie geplaatst en aangesloten.

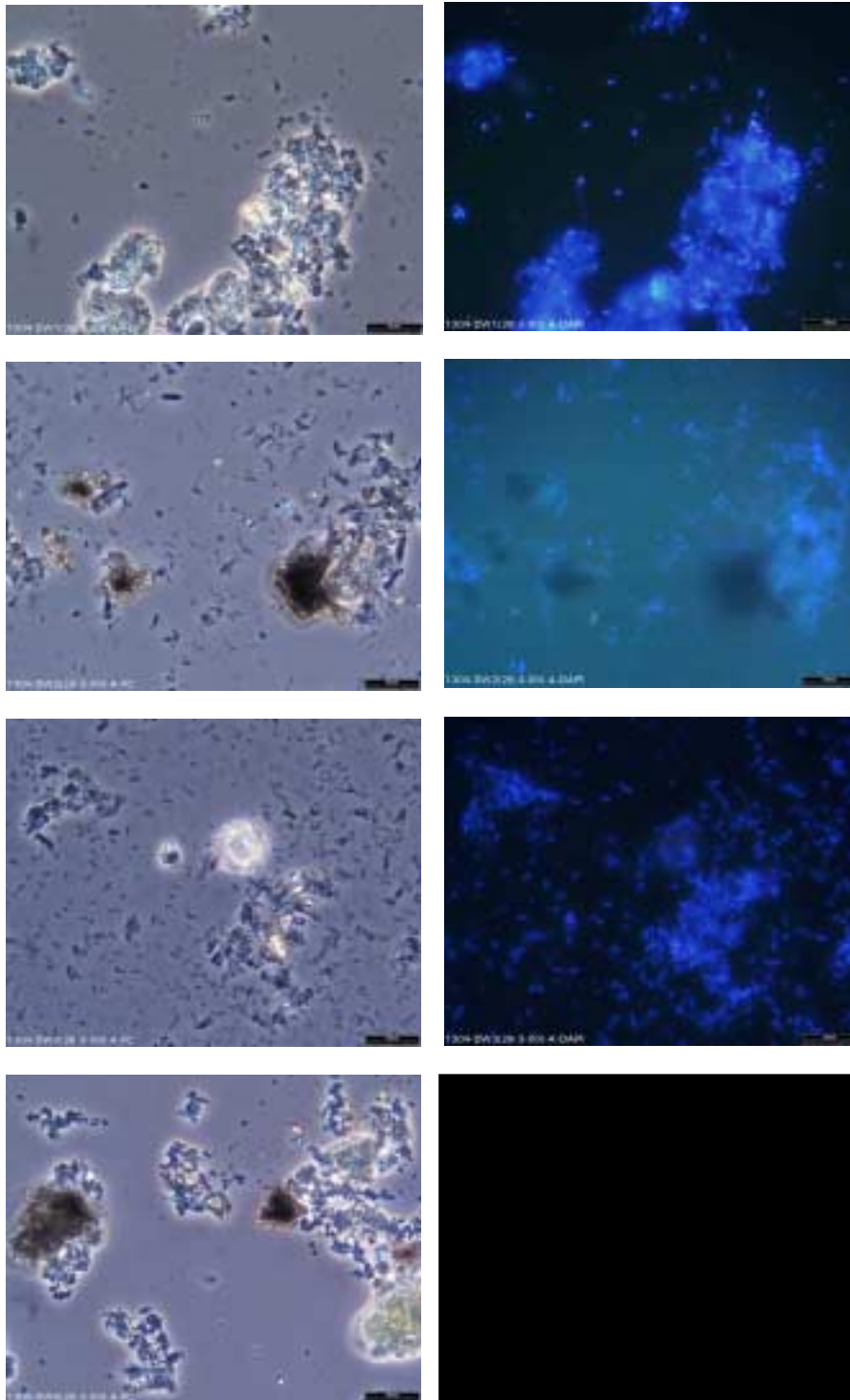


Fig. 1. Resultaten van de DAPI-kleuringen, uitgevoerd door Bioclear, van watermonsters afkomstig uit de deepwells. Fasecontrast opnamen (bovenste foto's) en fluorescent microscopische opnamen (onderste foto's) (vergroting 400x) van ONT1 (a), ONT2 (b), ONT3 (c) en ONT4 (d).

Op 6 september 1999 is begonnen met de uitvoer van de opstartprocedure, waarbij divermetingen zijn uitgevoerd (zie 5.3). Op 13 september 1999 is gestart met een volledige onttrekking en/of infiltratie op alle filters, zonder inzet van de infiltratiedrain. Er is een onttrekkingsdebiet ingesteld van totaal 1,25 m³/h en een totaal infiltratiedebiet van 350 l/h. Op 16 september is de eerste belading elektronendonor ingeschakeld, die is verpompt met een debiet van 10 l/h.

Onderhoud

Op 23 november (de derde belading was toen volledig verpompt) is de installatie stilgezet vanwege de aanwezigheid van vlokvorming (mogelijk biomassa) in het onttrokken water. In de strippers is dan sprake van enige drukopbouw, mogelijk als gevolg van bacteriegroei. Het zakkenfilter is daarop omgebouwd, zodat deze direct achter de onttrekking is geschakeld, waardoor de vlokken reeds voor de strippers (het infiltraat) worden afgevangen. Tot 17 december zijn de strippers doorgeblazen met droge lucht om de aangroei teniet te doen. Op 16 december is een nieuwe belading aangebracht (inclusief 53,1 g/l ammoniumchloride) en is de installatie opnieuw gestart. De vermindering van vlokvorming zou kunnen worden gerealiseerd door het batchgewijs toevoegen van het elektronendonormengsel. Dit werd niet als optie gezien, vanwege de snelle afbraak van methanol, waardoor tussen het batchgewijs toevoegen tekorten aan elektronendonor zouden kunnen optreden. Derhalve is gekozen voor continue toevoeging van het mengsel. Gezien de mate van overmaat (factor 400, bij 10 l/h) is eerst overgegaan op een doseerdebiet van 5 l/h.

Teneinde tot oplossingen te kunnen komen aangaande de vlokvorming, moest antwoord worden verkregen op de vraag of deze vlokken worden gevormd door biomassa, of dat er sprake is van neerslag/kristalvorming. Met behulp van een zogenaamde DAPI-kleuring kan eenvoudig worden aangetoond of de vlokken al dan niet uit biomassa bestaan. Met de DAPI-kleuring worden alle DNA-bevattende deeltjes gekleurd. Met een fluorescentiemicroscopie kan dit eenvoudig zichtbaar worden gemaakt. Is er sprake van alleen neerslagvorming, dan zullen er deeltjes of kristallen zichtbaar zijn bij de fasecontrast-microscopische beelden en niet met de fluorescentiemicroscopische beelden. Is er echter ook biomassa aanwezig, dan wordt dit zichtbaar als blauwe cellen in het fluorescentiemicroscopische beeld.

Op 28 maart 2000 zijn grondwatermonsters genomen van de onttrekkingsbronnen, waarna een DAPI-kleuring is uitgevoerd.

In figuur 1a t/m d zijn de resultaten van de DAPI-kleuringen weergegeven. Het blijkt dat in ONT1, ONT2 en ONT3 sprake is van zowel neerslagvorming als van biomassa in de vlok, terwijl in ONT4 alleen neerslagvorming is opgetreden.

De neerslag wordt mogelijk veroorzaakt door vorming van ijzersulfiden. Dit proces is moeilijk te reguleren, mede omdat het een direct gevolg is van sulfaatreductie.

Vanwege de aanwezigheid van de neerslagen in het onttrokken water en mede op grond van het teruglopen van de infiltratie- en onttrekkingscapaciteit (zie tabel 2 voor de logboekgegevens), is aan het eind van de implementatieperiode besloten het systeem te regenereren met behulp van hoge waterdruk en het toedienen van citroenzuur.

Tabel 2. Logboekgegevens.

datum	onttrekkingsdebieten		infiltratiedebieten		bijzonderheden
	m ³ /h	m ³	m ³ /h	m ³	
6 september 1999					begin van de opstartprocedure
10 september 1999		61		31	
13 september 1999					alle filters in bedrijf
16 september 1999	0,86	187	0,66	126	dosering elektronendonor gestart, 10 l/h
21 september 1999	0,56	254	0,68	208	
28 september 1999	1,06	433	0,81	345	
30 september 1999	1,10	485	0,43	366	
5 oktober 1999	1,25	635	0,67	446	2e belading elektronendonor, 10 l/h
20 oktober 1999	0,84	937	0,42	598	
25 oktober 1999	0,93	1.048	0,95	712	onttrekkingsbron 5 uitgeschakeld
1 november 1999					3e belading elektronendonor (+NH ₄ Cl), 10 l/h
8 november 1999	1,07	1.404	0,68	970	
22 november 1999	0,45	1.554	0,40	1.105	
23 november 1999					installatie stilgezet
16 december 1999	0	1.567	0	1.116	installatie gestart, met 4e belading elektronendonor (+NH ₄ Cl), 5 l/h
13 januari 2000	0,42	1.847	0,42	1.402	
25 januari 2000	0,32	1.939	0,31	1.491	5e belading elektronendonor (+NH ₄ Cl), 1 l/h
7 februari 2000	0,36	2.054	0,25	1.570	
17 februari 2000	0,35	2.138	0,34	1.652	6e belading elektronendonor (+NH ₄ Cl), 5 l/h
6 maart 2000	0,61	2.401	0,26	1.763	
14 maart 2000					7e belading elektronendonor (+NH ₄ Cl), 5 l/h
20 maart 2000	0,65	2.619	0,17	1.821	
10 april 2000	0,77	3.005	0,39	2.017	
25 april 2000	0,69	3.252	0,31	2.129	

5.3 Diver- en stijghoogtemetingen

In bijlage G zijn de resultaten van de divermetingen weergegeven. In deze bijlage is ook een overzicht gegeven van de infiltratie- en onttrekkingsdebieten gedurende de eerste twee weken na de start van de onttrekking.

Op basis van de metingen zijn doorlaatvermogens bepaald rond de onttrekkings- en infiltratiefilters. Hieruit blijkt dat het doorlaatvermogen (kD) afneemt van ONT-1 (95 m² per dag) naar ONT-5 (4 m² per dag) gaande. Het maximaal te behalen debiet in onttrekking 1 t/m 4 ligt op circa 1 m³ per uur (verlaging in put circa 0,5 tot 1,2 m), maar voor ONT-5 op 0,23 m³ per uur (verlaging in put > 1,5 m). Opvallend is dat het doorlaatvermogen in het nabij ONT-5 staande DEMON-filter circa 70 m² per dag bedraagt. Dit bevestigt het heterogene karakter van de locatie. De doorlaatvermogens zullen worden gebruikt als invoer van het simulatiemodel.

Op basis van de stijghoogtemetingen, voorafgaand aan de start van de onttrekking, bij onttrekking en infiltratie aan één filter, alsmede bij onttrekking/infiltratie aan alle filters, zijn met behulp van een interpolatieprogramma (SURFER) isohypsenbeelden bepaald.

In de figuren 5, 6 en 7 van bijlage O zijn voor de genoemde drie onttrekkingsregiems de isohypsenbeelden weergegeven. Uit het stijghoogtepatroon voor de aanvang van de onttrekking (zie bijlage O, fig. 5) blijkt een stagnant gebied in het zuidelijk deel van de Rademarkt en een noordwestelijke stroming, met sterk verhang, in het noordelijk deel van de Rademarkt. Uit het stijghoogtepatroon in bijlage O (zie fig. 6 en 7) komt een scherpe overgang voor naar een minder doorlatend gebied rond filter MON10. Mogelijk bestaat een verbinding van dit gebied met de aangetroffen leemlaag tussen INF-B en INF-F. Het beeld in bijlage O (zie fig. 7) lijkt te wijzen op een min of meer van elkaar gescheiden noordelijk en zuidelijk stromingspatroon. Uit de handmatige stijghoogteopname d.d. 4 en 5 november 1999 lijkt evenwel een beeld naar voren te komen van een aaneengesloten stromingsbeeld (zie bijlage O, fig. 8 voor het isohypsenbeeld van deze opname). Niet duidelijk is hieruit op te maken dat het gebied rond monitoringsfilter 11 ook daadwerkelijk zal 'meedoen' in de grondwaterstroming. Uit de resultaten van de monitoring kan evenwel worden afgeleid dat de stimulering hier vooralsnog geen effect heeft. Derhalve is in de periode van 14 december 1999 tot 28 januari 2000 in acht filters, waaronder MON11, een stijghoogteopname met divers uitgevoerd, teneinde (na hernieuwde start van de onttrekking op 17 december) een goed beeld te krijgen van de (hydrologische) reactie van het systeem. Uit de diveropname (zie bijlage N) is duidelijk te zien dat het aanzetten van de onttrekking direct tot een stijghoogteverlaging leidt ter plaatse van onder andere MON11. Derhalve is hiermee aangetoond dat de stagnantie van deze zone niet van hydrologische maar van biochemische aard is.

5.4 Dosering van de elektronendonor

Voor een mengsel vetzuren geldt dat voor een volledige dechlorering van PCE per gram PCE ten minste 0,28 gram vetzuren nodig is, waarbij is gerekend met een volledige elektronenoverdracht. In de praktijk zal een dergelijke, ideale situatie zich nooit voordoen en moet altijd een ruime overmaat aan elektronendonorend materiaal worden gebruikt. In de bodem en het grondwater zijn namelijk meer elektronenacceptoren aanwezig (b.v. nitraat, ijzer en mangaan), die kunnen leiden tot een aanzienlijke consumptie van elektronendonor. De dosering van vetzuren moet dan ook worden afgestemd op het totale complex van acceptoren. Vooral Fe^{3+} speelt daarbij een rol. Indien bijvoorbeeld per kg bodem 1 gram Fe wordt aangetroffen, dan is circa 0,1 gram mengsel nodig om de volledige reductie van Fe^{3+} te bewerkstelligen. Hetzelfde geldt voor nitraat en sulfaat. De definitieve dosering zou derhalve moeten worden afgestemd op de bodemsamenstelling. De hoeveelheid vetzuur die nodig is voor de dechlorering valt waarschijnlijk in het niet bij de hoeveelheid die nodig is voor de reductie van het aanwezige nitraat en ijzer. Na de eerste doseringen is de bulk van elektronenacceptoren verwijderd en kan de dosering langzaam worden teruggebracht. Dan is alleen nog de hoeveelheid nitraat en ijzer in het grondwater van belang. Gedurende de eerste maanden moeten grotere hoeveelheden worden gedoseerd om de reductiecapaciteit van de grond te 'overwinnen'. De eerste ervaringen hiermee tonen aan dat een factor 100 daarbij een redelijke overmaat lijkt. Dit resulteert derhalve in een gewichtsverhouding van ongeveer 25 : 1 voor vetzuur staat tot PCE. Uitgaande van maximaal 20 mg/l aan PCE op de locatie Rademarkt, zal derhalve 500 mg/l elektronendonor aan het grondwater moeten worden toegevoegd, uitgaande van de aanwezigheid van vetzuren.

Uit de in fase 2 uitgevoerde kolomexperimenten met grond van de Rademarkt blijkt dat de dechlorering van PCE op de Rademarkt met name effectief is bij het gebruik van een mengsel van compostextract en methanol. Het tijdens de experimenten gebruikte compostextract bevatte 2 g/l aan vetzuren en een TOC van 16 g/l.

Als alleen met vetzuren wordt gerekend, zal een hoge concentratie aan vetzuren in de bodem moeten worden toegevoegd. Wordt met een extract gewerkt, dan bevat dat in principe vetzuren met daarnaast nog andere koolstofbronnen (uitgedrukt in CZV of TOC), wat in zijn totaliteit kan zorgen voor de reductie van nitraat, sulfaat en ijzer dat in de bodem en grondwater aanwezig is.

Als een mengsel van extract en methanol wordt gebruikt, wordt dit effect alleen maar versterkt. Het probleem is echter dat compostextract met hoge vetzuurgehalten moeilijk verkrijgbaar is. Daar andere groeifactoren in het extract waarschijnlijk van belang zijn, is bij de Rademarkt toch gekozen voor het inzetten van compostextract. Het compostextract is afkomstig van de composteringslocatie Tellus te Zuidhorn. In bijlage F is het analysecertificaat weergegeven van de eerste belading compostextract. Uit de analyses blijkt een lichte verhoging van de gehalten aan arseen, zink en nikkel. Hierbij moet worden opgemerkt dat na de dosering een verdunning met minimaal een factor 30 optreedt. Er zijn geen vetzuren aanwezig en ook de DOC is laag (110 mg/l).

Om het gemis aan extra vetzuren te compenseren is voorzien in een extra overmaat aan methanol. Het gebruikte mengsel bestaat uit 20 % methanol (200 g/l) en 80 % compostextract. Een bijkomend voordeel van het hoge methanolgehalte is dat de groei van bacteriën in de buffervaten wordt voorkomen. Bij een toediening van 10 l/h extract/methanolemengsel aan 350 l/h te infiltreren grondwater wordt uiteindelijk een concentratie van 2 g/l aan elektronendonoren bereikt. Er is derhalve sprake van een factor 400 overmaat elektronendonoren ten opzichte van de aanwezige concentraties PCE.

Ten behoeve van de groei van de dechlorerende bacteriën is, uitgaande van een katabole C/N-verhouding van 5 : 1, circa 50 g/l ammoniumchloride vanaf de derde belading (1 november 1999) toegevoegd als stikstofbron.

Op 16 september 1999 is de eerste belading (1600 liter) elektronendonormengsel in de twee buffertanks van elk 1 m³ gepompt en is gestart met de dosering met een debiet van 10 l/h. Op 5 oktober heeft een tweede belading plaatsgevonden van 2000 liter. Op 1 november is de derde belading uitgevoerd van 2000 liter, waarbij ook 50 kg ammoniumchloride is toegevoegd als stikstofbron. Op 14 december 1999 en 25 januari 2000 hebben belading 4 en 5 plaatsgevonden, elk 2000 liter (met 50 kg ammoniumchloride). Hierbij is het doseerdebiet bij de herstart op 16 december afgesteld op 5 l/h. Op 25 januari 2000 is de dosering verder verlaagd tot 1 l/h. In verband met de uitvoer van een tracerexperiment is het doseerdebiet bij belading 6 op 17 februari echter weer ingesteld op 5 l/h. Belading 7 heeft plaatsgevonden op 14 maart.

HOOFDSTUK 6

RESULTATEN EN INTERPRETATIE VAN DE MONITORING

6.1 Inleiding

In dit hoofdstuk zijn de resultaten en interpretatie weergegeven van de monitoring en de modellering, uitgevoerd in de periode juli 1999 tot april 2000. De nulronde van de monitoring is uitgevoerd op 21 en 22 juli en vervolgens is na de start van de elektronendonorfiltratie in september maandelijks een meetronde (1 t/m 7) uitgevoerd, waarbij parameters zijn bepaald volgens het schema in bijlage B. Hierbij is voor de chlooretheenanalyses gebruik gemaakt van zowel de Photovac-analyses als de GC-FID in het laboratorium voor de nulronde en meetronde 1, en vanaf meetronde 2 zijn de chloorethenen geanalyseerd met GC-FID. Bij de uitvoer van de PCE-, TCE- en cis-DCE-analyses zijn ook de methaan- en de methanolconcentraties bepaald.

De analyseresultaten zijn per meetronde afzonderlijk weergegeven in bijlage H.

6.2 Berekening van verdelingscoëfficiënten (K_d -waarden)

Tijdens de plaatsing van de filters MON2, 3, 5, 6, 8, 9, 12 en 15 zijn van een diepte van circa 5,0 tot 6,0 m-mv direct uit de puls (zonder gebruik van werkwater) monsters genomen ter bepaling van het organische stofgehalte en het gehalte aan chloorethenen in grond (MON2, 5, 6, 8 en 9).

Op basis van de analyseresultaten van de grondmonsters, en de later met de Photovac bepaalde concentraties in het grondwater ter plaatse, zijn verdelingscoëfficiënten (K_d -waarden) berekend. De verdelingscoëfficiënt is de verhouding van de concentratie aan verontreiniging in grond ten opzichte van de concentratie in grondwater (concentratie grond/concentratie grondwater).

Op basis van het organische stofgehalte en de oplosbaarheid van de verontreiniging kan tevens een K_d worden berekend op basis van de formule van Lagas:

$$K_d = S^{-0.67} \cdot 10^{4.45} \cdot f_{oc}$$

waarin:

S is de oplosbaarheid in mg/l;

f_{oc} is de fractie organische koolstof (= % organisch stofgehalte · 0,0058).

Daarnaast wordt ook de volgende empirische formule veel gebruikt:

$$K_d = f_{oc} \cdot K_{oc}$$

waarin:

K_{oc} is de octanol/watervedelingscoëfficiënt in L/kg;

f_{oc} is de fractie organisch koolstof (= % organisch stofgehalte · 0,0058).

In bijlage I is voor de chlooretheencomponenten voor ieder monster de verdelingscoëfficiënt en de daaruit berekende retardatiefactor op basis van de (weergegeven) analyseresultaten, op basis van de formule van Lagas, alsmede op basis van $f_{oc}K_{oc}$ weergegeven.

Uit de resultaten blijkt dat voor alle componenten de formule van Lagas gemiddeld genomen hogere verdelingscoëfficiënten voorspelt dan de op basis van de analyses berekende verdelingscoëfficiënten. De met de lineaire Freundlich isotherm berekende verdelingscoëfficiënten zijn voor PCE en TCE iets hoger dan de geanalyseerde waarden, terwijl voor cis-DCE en VC de verdelingscoëfficiënt juist lager is dan de geanalyseerde waarden. Hetzelfde beeld geldt voor de uit de verdelingscoëfficiënten berekende retardatiefactoren.

De bepaalde verdelingscoëfficiënten en retardatiefactoren zijn gebruikt voor de uitvoer van de modellering.

6.3 Modelling

Met behulp van het computerprogramma MODFLOW/RT3D onder GMS is de modellering in een aantal stappen uitgevoerd, waarbij het model op basis van de biologische afbraak van de in de bodem aanwezige chloorethenen is gesimuleerd.

De kwaliteit van het onttrokken grondwater is geïjkt. Daarbij is het model doorgerekend met verschillende afbraakconstanten, uitgaande van de op drie manieren verkregen verdelingscoëfficiënten (zie 6.2). In de eerste versie zijn de afbraakconstanten nog voorzichtig ingeschat, uitgaande van 10 maal de voor natuurlijke afbraak uit de literatuur [Van Liere et al., 1999] bekende constanten. In de tweede en derde versie is van hogere afbraakconstanten uitgegaan.

Uiteindelijk diende het model inzicht te verschaffen in het mogelijke verloop van de kwaliteit van het onttrokken en in situ grondwater, alsmede ter bepaling van de afbraaksnelheid van de chloorethenen, uitgaande van een bepaalde verdelingscoëfficiënt.

In figuur 3 van bijlage O is een overzicht gegeven van het ontwerp, zoals dat als uitgangspunt heeft gediend voor de modellering.

Het model is in eerste instantie (versie 1) opgebouwd op basis van de onderstaande (invoer)gegevens:

- Waterdoorlatendheid in de omgeving van de Rademarkt (k) = 1 m/d.
- Waterdoorlatendheid ter plaatse van de Rademarkt (k) = 10 m/d.
- Bovenkant van het watervoerende pakket = NAP +3m.
- Bovenkant van het keileem in de omgeving van de Rademarkt = NAP +0 m.
- Bovenkant van het keileem ter plaatse van de Rademarkt = NAP -3m.
- Onderkant van het keileem = NAP -6 m.
- C-waarde in de omgeving van de Rademarkt = 500 d.
- C-waarde ter plaatse van de Rademarkt = 2500 d (keileemdikte is geringer).
- Porositeit = 0,3.
- Neerslagoverschot = 0,00065 m/d.
- Totaal gemiddeld recirculatie-debiet in de 10 infiltratieputten = 8 m³/dag.
- Totaal gemiddeld onttrekkings-debiet uit de 5 onttrekkingsfilters = 24 m³/dag.
- Concentraties van chloorethenen conform het "Actualisatieonderzoek" [IWACO, 1999] (zoals aangegeven in de in deze rapportage opgenomen figuren 2a en 2b van bijlage O).
- Afbraakconstanten conform rapport TNO-MEP-R99/044 [Van Liere et al., 1999]:
 - PCE = 0,023 d⁻¹;
 - TCE = 0,038 d⁻¹;
 - cis-DCE = 0,020 d⁻¹;
 - VC = 0,015 d⁻¹.
- Bulkdichtheid = 1,7 kg/dm³.
- Watergehalte = 0,3 m³/m³.

- Percentage organische stof = 0,5.
- Verdelingscoëfficiënt (K_d) PCE = 2,85; TCE = 1,8; cis-DCE = 0,57; VC = 0,18.

Op basis van deze invoergegevens zijn de eerste berekeningen uitgevoerd.

Het model is in versie 2 aangepast met betrekking tot de startconcentraties, de afbraakconstanten, de verdelingscoëfficiënten en de ingestelde onttrekkings- en infiltratiedebieten. Hierbij is het op 21 september 1999 ingestelde onttrekkingsdebiet (13,5 m³/d) en infiltratiedebiet (10,6 m³/d) gehanteerd.

In afwijking van versie 1 zijn bij versie 2 verder de volgende invoergegevens gebruikt:

- Afbraakconstanten:
 - PCE = 0,60 d⁻¹ (was 0,023);
 - TCE = 0,80 d⁻¹ (was 0,038);
 - cis-DCE = 0,30 d⁻¹ (was 0,020);
 - VC = 0,24 d⁻¹ (was 0,015).
- Voor de verdelingscoëfficiënten (K_d , dm³/kg) is de 50 % waarde gebruikt van de waarden die zijn berekend volgens Lagas, op basis van analyses in grond en grondwater en volgens $f_{oc}K_{oc}$ (zie 6.2 en bijlage I voor de berekeningen van de verdelingscoëfficiënten):

	Lagas	C_g/C_w	$f_{oc}K_{oc}$
• PCE	4,20	0,49	0,68
• TCE	1,10	0,23	0,43
• cis-DCE	0,40	0,39	0,14
• VC	0,56	0,14	0,05

De in versie 2 gebruikte startconcentraties zijn afgeleid van de nulronde en meetronde 1. Hierbij is met behulp van het programma SURFER van de resultaten van meetronde 0 en 1 een concentratiecontourenkaart gemaakt van de chloorethenen, waarna deze is ingelezen in GMS. Het model kan nu worden geijkt op grond van de kwaliteit van het onttrokken grondwater. Vervolgens kan in de loop van het saneringsproces volgens de vaste SURFER-procedures een contourenkaart worden gemaakt op basis van de monitoringsresultaten, die dan kunnen worden vergeleken met de berekende contourenkaart.

Uitgaande van de startconcentraties en de ingevoerde afbraakconstanten is gekeken wat de uitkomst is van de berekende kwaliteit van het onttrokken grondwater en in hoeverre dit overeenkomt met de gemeten kwaliteit. Met het geijkte model is een voorspelling van het verloop van de concentraties in de tijd uit te voeren.

Simulatiere resultaten van versie 1

Uit de modellering blijkt dat de concentraties aan PCE na 1 jaar stimulering in het binnengebied toenemen. Dit is het gevolg van het infiltreren van mengwater uit alle vijf onttrekkingsfilters met gemiddeld hogere concentraties dan aangetroffen in het middengebied. Na vijf jaar liggen de PCE-concentraties nog steeds op een relatief hoog niveau. De VC-concentraties nemen na 1 jaar eveneens toe. Dit effect is met name het gevolg van vorming van VC vanwege de dechlorering van PCE (en opvolgend TCE en cis-DCE) in combinatie met een langzamere dechlorering van VC naar etheen. Na vijf jaar bevinden de VC-concentraties zich nog op een niveau boven de uitgangssituatie.

De berekeningen zijn uitgevoerd met een afbraakconstante die een factor 10 hoger is gekozen dan die zoals bepaald in NA-omstandigheden. De in de kolomexperimenten vastgestelde k-waarde (met halfwaardetijden < 1 dag) zijn als niet realistisch beschouwd voor de praktijk. In

de praktijk liggen de afbraakconstanten mogelijk op een hoger niveau dan de in versie 1 van het model gehanteerde waarden. Voor versie 2 van de modellering is dan ook gebruik gemaakt van meer praktijkconforme afbraakconstanten die ontleend zijn aan het combiproject Tilburg.

Simulatieresultaten van versie 2

In figuur 2 is de gemeten kwaliteit weergegeven van het onttrokken grondwater. In figuur 3, 4 en 5 is de berekende kwaliteit van het onttrokken grondwater weergegeven op basis van respectievelijk Lagas, C_g/C_w en $f_{oc}K_{oc}$. Uit de resultaten van de berekeningen blijkt dat een hogere verdeelingscoëfficiënt (bij gelijkblijvende afbraakconstante) tot gevolg heeft dat de concentraties in het onttrokken water pas na langere tijd dalen, omdat er relatief meer verontreinigingsmassa aan de vaste fase is geadsorbeerd. Alhoewel in dit stadium nog weinig meetpunten aanwezig zijn waarop kan worden geijkt, is ook duidelijk dat het berekende verloop een slechte fit vertoont met de gemeten concentraties. Derhalve kan worden gesteld dat de gekozen afbraakconstanten te hoog zijn.

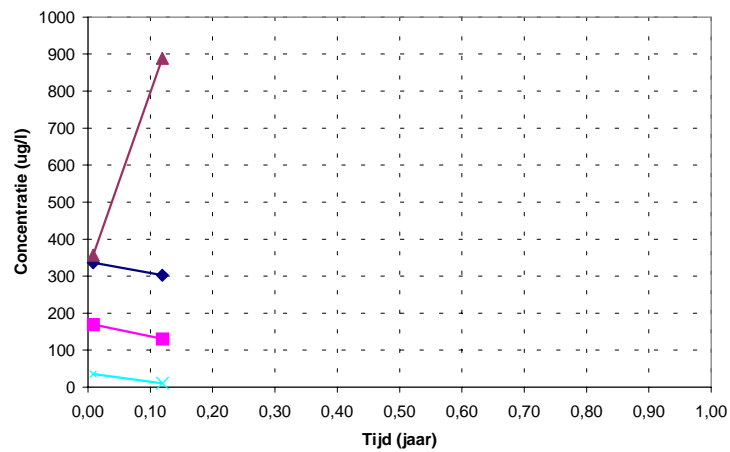


Fig. 2. Gemeten concentratieverloop van het onttrokken grondwater.

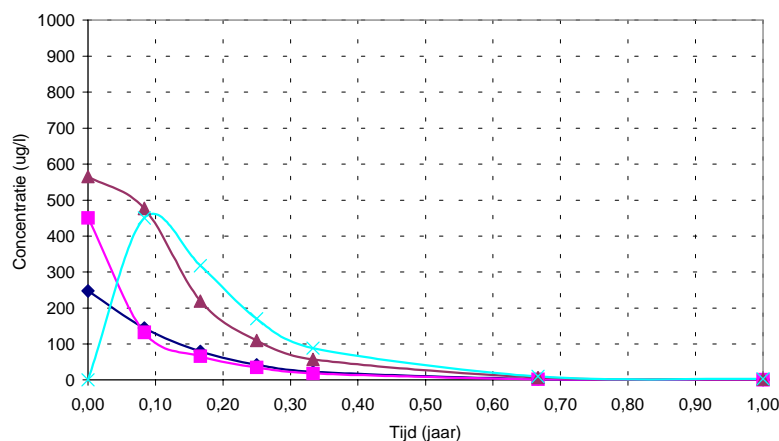


Fig. 3. Berekend concentratieverloop van het onttrokken grondwater (K_d volgens Lagas).

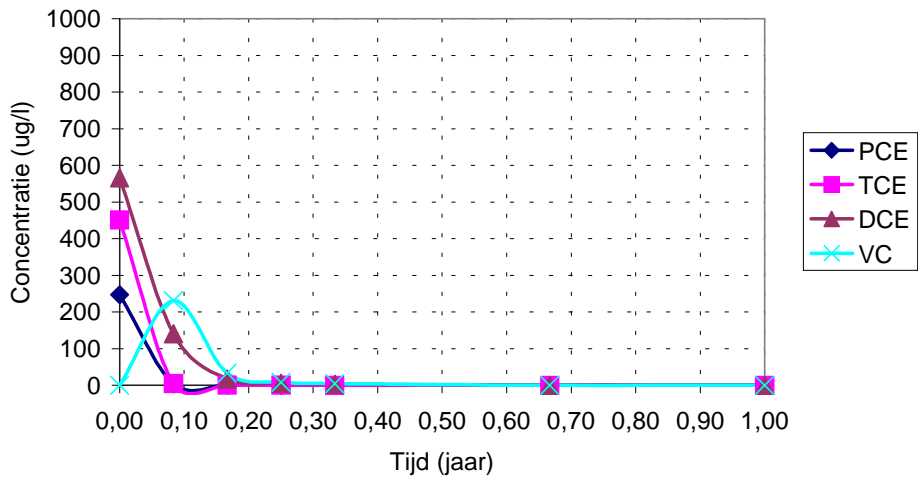


Fig. 4. Berekend concentratieverloop van het onttrokken grondwater (K_d volgens C_g/C_w -methode).

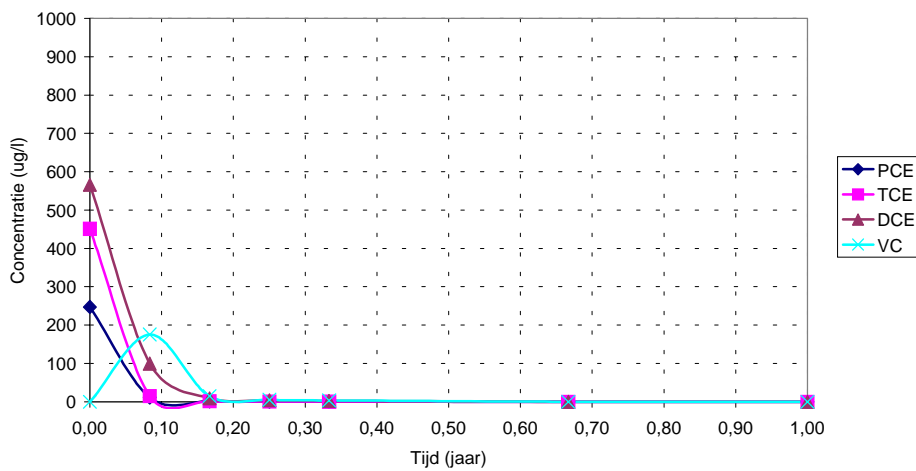


Fig. 5. Berekend concentratieverloop van het onttrokken grondwater (K_d volgens $f_{oc}K_{oc}$ -methode).

Op grond van deze resultaten is vervolgens ook een berekening uitgevoerd met lagere afbraakconstanten (PCE 0,2; TCE 0,2; cis-DCE 0,004 en VC 0,003 (d^{-1})) en met de verdelingscoëfficiënten volgens Lagas. In figuur 6 is het berekende verloop weergegeven van het onttrokken grondwater. Deze berekening lijkt een goede fit te geven met de gemeten concentraties in het onttrokken grondwater.

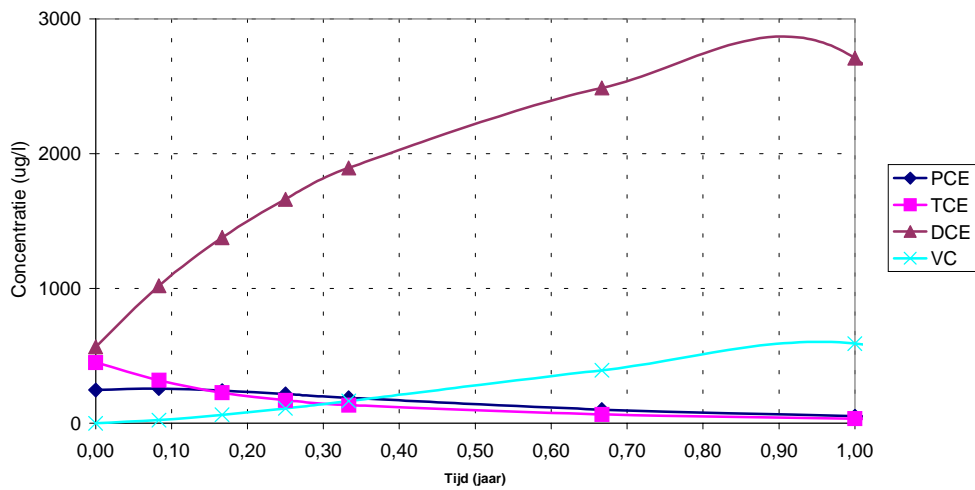


Fig. 6. Berekend concentratieverloop van het onttrokken grondwater (K_d volgens Lagas).

Simulatiresultaten van versie 3

In het verdere verloop van de implementatieperiode is gebleken dat, naast een dalende trend in PCE- en TCE-concentraties, de concentraties aan cis-DCE en VC in het onttrokken grondwater na een aanvankelijke stijging weer zijn afgenomen in de tijd (zie fig. 7). Daarop is in versie 3 van de modellering een nieuwe ijking uitgevoerd, waarbij op basis van de verdelingscoëfficiënten volgens Lagas, in afwijking van versie 2, is gerekend met de volgende afbraakconstanten:

- PCE = $0,60 \text{ d}^{-1}$ (was $0,60$);
- TCE = $0,80 \text{ d}^{-1}$ (was $0,80$);
- cis-DCE = $0,10 \text{ d}^{-1}$ (was $0,30$);
- VC = $0,15 \text{ d}^{-1}$ (was $0,24$).

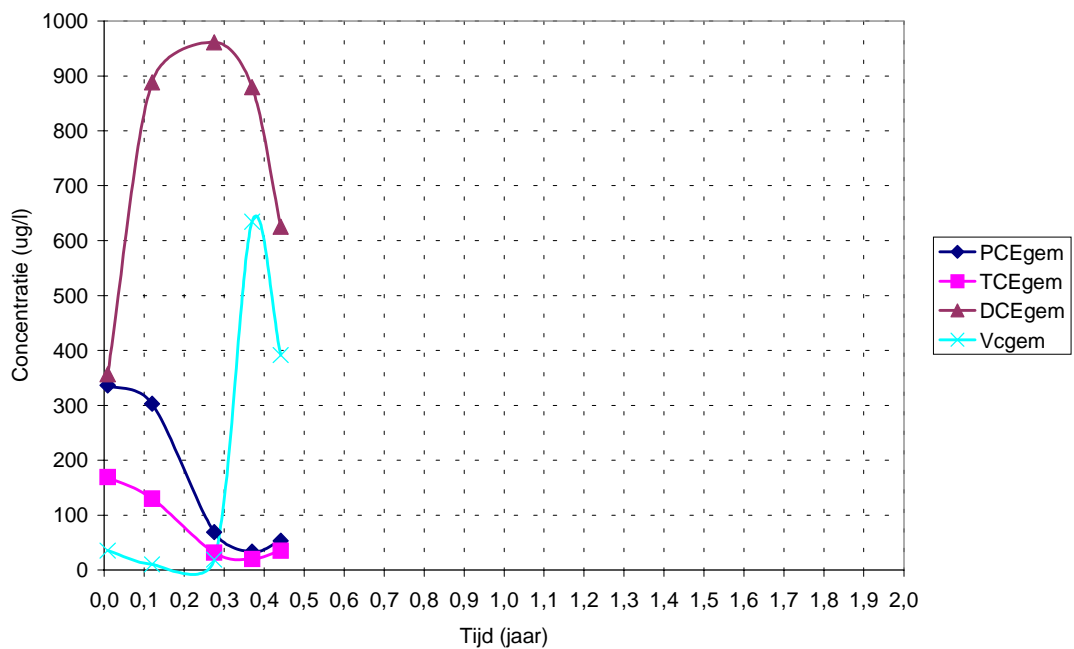


Fig. 7. Gemeten concentratieverloop van het onttrokken grondwater.

In figuur 8 zijn de resultaten weergegeven van deze simulatie. Hieruit blijkt dat het berekende verloop een redelijke fit geeft met de gemeten waarden. Wellicht dat een nog betere fit tot de mogelijkheden behoort, door bijvoorbeeld ook rekening te houden met de instroom van grondwater uit de omgeving, maar dit is te vergaand gezien het gestelde doel van de modellering. De simulatie geeft aan dat na circa 1 jaar de concentratie aan PCE en TCE in het onttrokken grondwater tot < 10 µg/l is gedaald en voor cis-DCE en VC treedt dit moment na circa 2 jaar op.

Opgemerkt moet worden dat elke verandering in het onttrekkings- en/of infiltratie- en/of doseerregiem invloed heeft op de kwaliteit van het onttrokken water en dus ook op de te bereiken in situ kwaliteit van het grondwater. Dit trekt een zware wissel op een toekomstige modelleerexercitie. Duidelijk is echter dat bij het nu ingezette regiem sprake is van relatief hoge afbraakconstanten, zodat ondanks een hoge verdelingscoëfficiënt in relatief korte tijd een goed saneringsresultaat kan worden behaald.

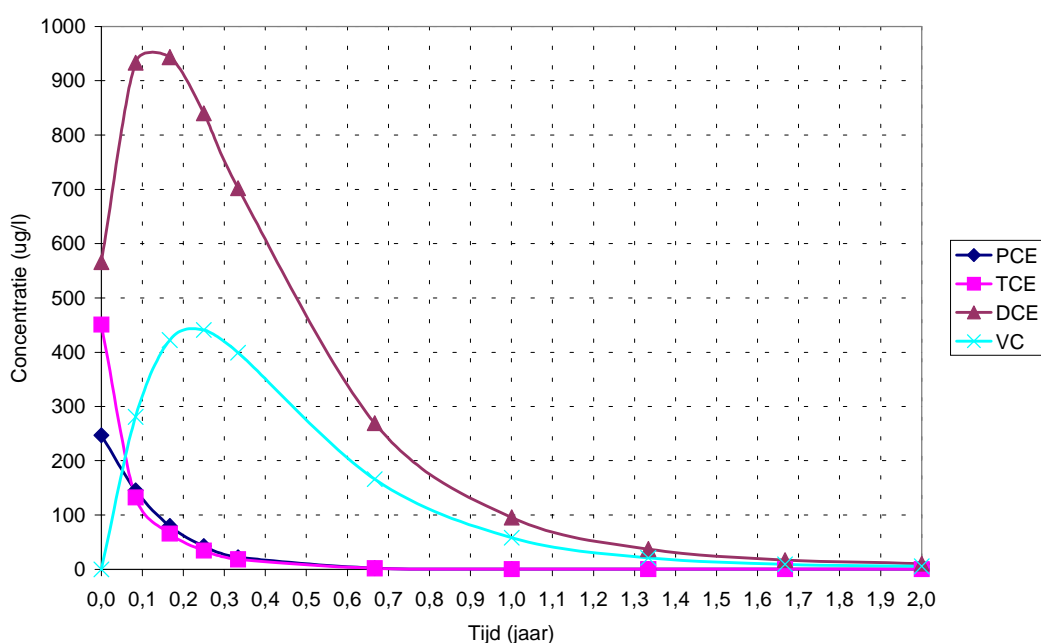


Fig. 8. Berekend concentratieverloop van het onttrokken grondwater (K_a geoptimaliseerd; K_d volgens Lagas).

6.4 Macrochemie

Nitraat

Tijdens de nulronde zijn in de peilbuizen MON2, MON13, MON15 en 241/1 significante nitraatconcentraties aangetroffen (3 tot 45 mg/l). Denitrificerende afbraakprocessen zouden hier dus een rol kunnen spelen. In de overige peilbuizen liggen de gemeten nitraatconcentraties beneden de detectielimiet (< 1 mg/l). Gezien deze lage concentraties aan nitraat spelen nitraatreducerende processen hier vermoedelijk geen rol van betekenis.

Na enkele maanden toevoeging van elektronendonor aan het grondwater wordt het aanwezige nitraat verbruikt als elektronenacceptor en wordt nitraat tijdens meetronde 2, 4, 6 en 7 in vrijwel geen enkele peilbuis meer aangetroffen. Alleen peilbuis MON10, MON13 en G2 bevatten nitraat (1 - 6 g/l), maar deze filters liggen buiten het invloedsveld van het biorestauratiesysteem. Tijdens meetronde 4, 6 en 7 is peilbuis G2 niet meegenomen.

Mangaan en ijzer

Zowel ijzer als mangaan zijn tijdens alle meetronden in de gereduceerde vorm aanwezig (tweewaardig), zoals blijkt uit het feit dat de concentraties ijzer(II) en mangaan(II) nagenoeg gelijk zijn aan de concentraties ijzer(totaal) en mangaan(totaal). Er treedt dus weinig complexvorming op. De aanwezigheid van tweewaardig ijzer en mangaan zou kunnen wijzen op ijzer- en mangaanreducerende processen. Het optreden van hogere concentraties mangaan(II) dan mangaan(totaal) tijdens meetronde 6 is onmogelijk en lijkt te duiden op een analysefout. Dit is echter niet meer te achterhalen.

Sulfaat

Op de locatie is tijdens de nulronde veel sulfaat gemeten, waardoor sulfaatreductie zou kunnen optreden. Dit is niet altijd gunstig voor de dechloreringsprocessen, omdat er een competitie tussen sulfaat en de gechloreerde verbindingen zal optreden voor het aanwezige TOC (van nature aanwezig of toegevoegd in de vorm van elektronendonor). De laagst gemeten sulfaatconcentratie tijdens de nulronde bedraagt 44,9 mg/l in MON15 en de hoogst gemeten concentratie is aangetroffen in peilbuis MON2 (440,8 mg/l).

Tijdens meetronde 2 zijn de sulfaatconcentraties veel lager geworden, met name aan de infiltratiekant van het restauratiesysteem (MON2, MON5, MON6, MON7, MON15 en 241/1). Dit wijst erop dat sulfaatreductie heeft plaatsgevonden en dat de bodem meer gereduceerd wordt, wat gunstig is voor dechloreringsreacties. In de filters MON3, MON11, MON12 en MON13 is na meetronde 2 nog geen afname in de sulfaatconcentratie waargenomen. Dit is met name bij het gebied rond MON11 en MON12 het gevolg van niet of onvoldoende aanwezigheid van elektronendonor. MON13 ligt in het niet-gestimuleerde gebied, dus hier wordt derhalve ook geen sterke daling van de sulfaatconcentratie verwacht.

Tijdens meetronde 4 is alleen in de filters MON3, MON11 en MON13 nog sulfaat gemeten, dezelfde filters als waarin na de tweede meetronde de sulfaatconcentratie nog niet lager was geworden. De overige filters geven alle een sulfaatconcentratie die beneden de detectielimiet ligt. Dit wijst erop dat de bodem in de gehele geactiveerde zone gereduceerd is, wat gunstig is voor dechloreringsreacties.

Tijdens meetronde 6 wordt in een aantal filters (MON7, MON8 en MON10) weer meer sulfaat gevonden dan in meetronde 4. Deze toename correleert met de methaan- en waterstofconcentratie. De toename van sulfaat heeft waarschijnlijk te maken met de afgenomen hoeveelheid elektronendonor die aan het systeem is toegevoegd in deze periode (1 l/h in plaats van 10 l/h). De toegevoegde hoeveelheid was niet voldoende om al het aanwezige sulfaat te reduceren, waardoor weer een competitie zal optreden tussen sulfaat en de gechloreerde verbindingen voor het toegevoegde TOC. De bodem zal hierdoor minder gereduceerd zijn ter hoogte van een aantal filters, waardoor de condities voor dechloreringsprocessen minder gunstig zijn. Voor meetronde 7 is de hoeveelheid elektronendonor weer verhoogd ten opzichte van meetronde 6 (van 1 l/h naar 5 l/h), maar de sulfaatconcentraties zijn tijdens beide ronden vergelijkbaar.

Ammonium en fosfaat

De tijdens de nulronde gemeten ammonium- en fosfaatconcentraties ten opzichte van de aanwezige TOC geven geen aanleiding te veronderstellen dat er N- of P-limitaties optreden. Bij infiltratie met extra koolstofbron (methanol) zou er echter een tekort aan N en/of P kunnen ontstaan indien er geen voldoende N- en P-houdende verbindingen in het extract aanwezig zijn. Extra ammonium wordt sinds 1 november 1999 via het infiltratiesysteem toegevoegd en uit de gemeten concentraties tijdens de overige meetronden blijkt dat er voldoende ammonium aanwezig is voor bacteriegroei.

TOC

Voor biologische dechloreringsreacties, waarbij de gechloreerde koolwaterstoffen als elektronen-acceptor dienst doen, is een organische koolstofbron als elektronendonor nodig. Indien er voldoende natuurlijke organische componenten in het grondwater aanwezig zijn kunnen deze als elektronendonor worden gebruikt.

Voor succesvolle natuurlijke afbraak van CKW-verbindingen wordt algemeen verondersteld dat er ten minste 20 mg/l TOC beschikbaar moet zijn als koolstofbron en waterstofdonor. Tijdens de nulronde is in alle peilbuizen, met uitzondering van MON5, MON9 en 241/1, een TOC-gehalte beneden de 20 mg/l gemeten. De metingen tijdens meetronde 2, 4, 6 en 7 geven weer dat de TOC-gehalten zijn gestegen in alle peilbuizen. Door de infiltratie met methanol stijgt de TOC-waarde en zal de koolstof/donorlimitatie worden opgeheven. De TOC-gehalten correleren bovendien met de methanolmetingen; een hoge methanolconcentratie geeft een hoge TOC-waarde.

Alkaliniteit

De tijdens de nulronde gemeten alkaliniteitswaarden liggen alle boven de 400 mg/l. Zoals verwacht zijn de waarden in de meetronden iets gestegen ten opzichte van de nulronde ten gevolge van gestimuleerde biologische activiteit, wat tot een meetbare toename leidt in de alkaliniteit.

Chloride

In alle peilbuizen zijn hoge chlorideconcentraties gemeten. Doordat de achtergrondconcentraties hoog zijn, kan geen duidelijk verband worden gelegd tussen de aanwezigheid van (gedeeltelijk) gedechloreerde afbraakproducten en chlorideconcentraties in het grondwater.

6.5 Verontreinigingssituatie

De verspreiding van verontreinigingen, afbraakproducten en waterstof op de Rademarkt is zeer heterogeen. Uit de concentratiemetingen is te zien dat de concentraties aan chloorethenen in de tijd afnemen. Dit is voor peilbuis MON2 weergegeven in figuur 9.

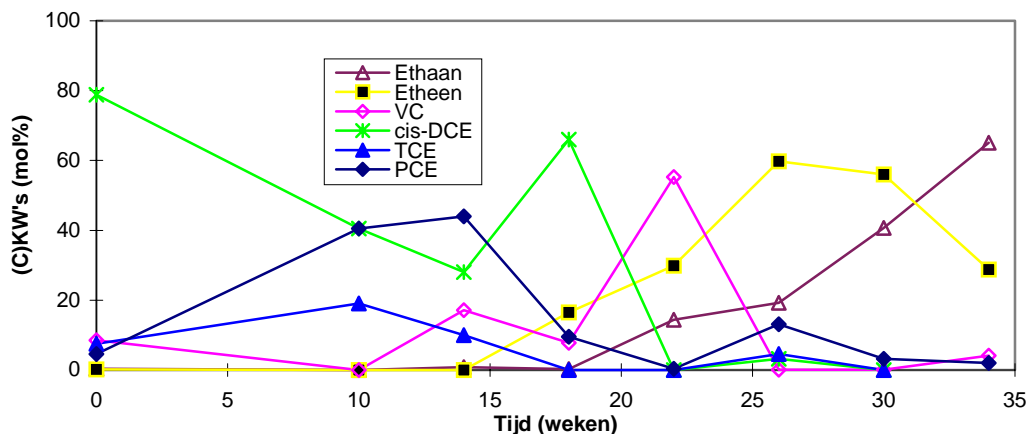


Fig. 9. (Chloor)etheenconcentratieverloop in peilbuis MON2.

In het concentratieverloop komt duidelijk een sequentie van afbraak tot uitdrukking, waarbij bij het verdwijnen van een component weer een volgende verschijnt. Oorspronkelijk is veel cis-DCE (3700 µg/l) op de Rademarkt aanwezig en door het opstarten van het infiltratiesysteem (week 10) zijn ook PCE (850 µg/l) en TCE (560 µg/l) in aanzienlijke concentraties aangetroffen. In de loop van de tijd worden de intermediären vinylchloride, etheen en ethaan geproduceerd en in week 34 is vrijwel alleen nog etheen en ethaan aanwezig.

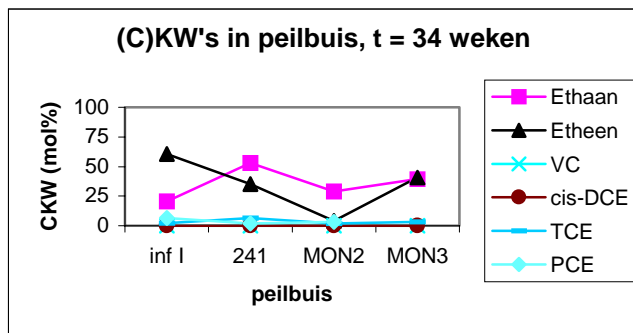
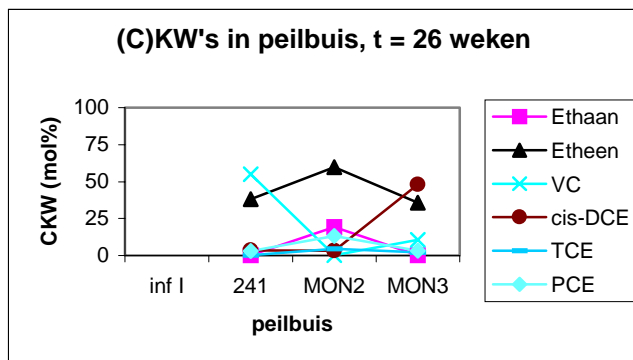
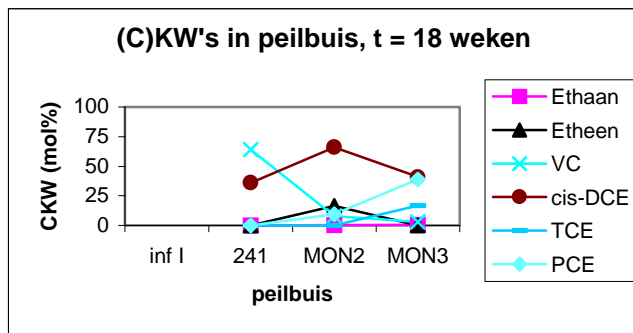
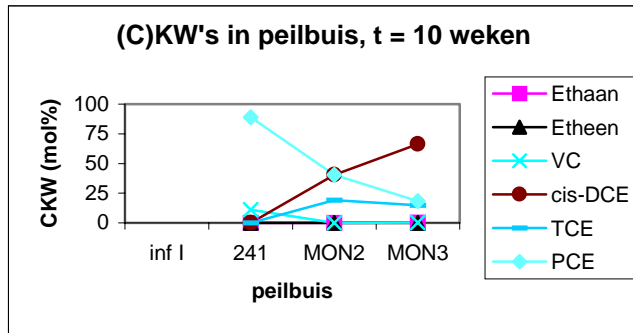


Fig. 10. (Chloor)etheenconcentratieverloop in een profiel.

Naast het uitzetten van de (chlor)etheen concentraties per peilbuis in de tijd, is het ook mogelijk om de concentraties uit te zetten over een profiel in het gestimuleerde gebied, bijvoorbeeld INF I-241/1-MON2-MON3 (zie fig. 10). Uit het verloop is duidelijk zichtbaar dat aanvankelijk vlak na de start van de stimulering in de kernzone (241/1) relatief veel PCE aanwezig is, terwijl meer buiten de kernzone (MON3) relatief meer afbraakproducten aanwezig zijn. In week 18 is al geen PCE meer zichtbaar in het profiel. Er is blijkbaar sprake van daadwerkelijke dechlorering van de PCE. In de periode van week 18 tot week 34 vindt over het hele profiel een verschuiving plaats in het relatieve mol % van hoog naar laag gechlorideerde producten. Uiteindelijk is in week 34 alleen nog sprake van relatief veel etheen en (vooral) ethaan.

Een ruimtelijke vergelijking van de concentraties aan PCE op de Rademarkt bij aanvang van de infiltratie (meetronde 1) en aan het einde van dit project (meetronde 7) is weergegeven in bijlage J. De concentraties aan PCE zijn met een factor 10 afgenomen en de concentratie aan omzettingsproducten, met name de eindproducten etheen en ethaan, zijn van niet detecteerbaar gestegen tot 100 à 1000 µg/l (zie bijlage K).

De productie van etheen en ethaan is het bewijs dat de afname van de PCE-concentraties het gevolg is van de biologische omzetting van PCE. Massabalansen kunnen niet worden gemaakt, omdat het systeem niet als een gesloten systeem kan worden beschouwd en ook verontreiniging van buiten het biorestauratiesysteem wordt aangetrokken. Doordat tijdens de laatste meetronden ook het infiltratiewater is geanalyseerd, is duidelijk geworden dat verontreinigd water wordt geïnfiltreerd, waardoor er geen sprake is van verdringing van het verontreinigde grondwater door geïnfiltreerd relatief schoon water. Dit is ook te zien aan de bromidemetingen tijdens meetronde 7, waaruit blijkt dat in de filters bromide wordt aangetroffen en dat het geïnfiltreerde water dus in deze filters wordt teruggevonden (zie ook de volgende paragraaf).

6.6 Tracerexperiment

Teneinde een direct inzicht te krijgen in de mate van doorstroming van het gestimuleerde gebied is in de beginfase van de implementatie een tracer toegevoegd aan het systeem. Hiervoor is aan de eerste belading van elektronendonor een stockoplossing van 5 liter 192 g/l KBr toegevoegd, resulterend in een concentratie van 0,4 g/l aan bromide en na een factor 40 verdunning in het infiltraat tot circa 10 mg/l. Tijdens elke meetronde is het bromidegehalte in het grondwater ter plaatse van de monitoringsfilters bepaald. In bijlage H zijn de resultaten per meetronde opgenomen in de overzichten van de analyseresultaten.

Uit de resultaten blijkt dat, zoals verwacht, in het niet-gestimuleerde gebied ter plaatse van DEMON, G2 en MON10 geen bromide zichtbaar wordt. In het gestimuleerde gebied is ter plaatse van MON11 duidelijk sprake van een gebied dat niet in de invloedssfeer ligt van de infiltratie. Dit is in overeenstemming met de resultaten van de monitoring, waaruit eveneens blijkt dat bij MON11 niet of nauwelijks veranderingen optreden in macrochemie en dechloreringsproducten.

Omdat bij monitoringsronde 3 en 4 sprake is van een plotselinge sterke daling van de chloor-etheenconcentraties, zonder dat dit samenging met ophoping van etheen en ethaan, is de vraag gerezen of er wel sprake zou zijn van biologische omzettingsreacties, dan wel van verdringing van het verontreinigde grondwater door relatief schoon water dat vanuit de onttrekkingsbronnen wordt geïnfiltreerd. Mede vanwege dit aspect is besloten vooralsnog geen ander onttrekkingsregime ten voordele van het stagnante gebied rond MON11 in te stellen. Daarentegen is nog een bromide-experiment uitgevoerd, waarbij ook het onttrokken grondwater is gemonitord met behulp van een carouselbemonstering van het onttrokken grondwater in de periode 11 februari

tot 21 maart 2000 (zie bijlage M). Hierbij is elke 12 uur een monsterfles gevuld, opgebouwd uit 10 submonsters (om de 72 minuten een submonster).

Het bromide-experiment moest uitsluitsel geven in hoeverre verdringing optreedt. Hierbij zijn bij meetronde 6 en 7 ook de infiltratiefilters bemonsterd voor analyse op het voorkomen van chloorethenen, etheen, ethaan en methaan. Eenzelfde hoeveelheid bromide als tijdens meetronde 1 is aan het methanol/compostextractmengsel toegevoegd. Als gevolg van de verlaagde infiltratiesnelheid (1 l/h) was de toegevoegde hoeveelheid bromide tijdens meetronde 6 echter slechts 1 mg/l in plaats van 10 mg/l. Hierdoor kon tijdens meetronde 6 geen verhoogde bromideconcentraties in de monitoringsfilters worden teruggevonden. Op 14 maart 2000, voorafgaand aan meetronde 7, is de hoeveelheid bromide in het infiltraat gecorrigeerd en was de berekende infiltraatconcentratie 10 mg/l. De metingen in de infiltratiefilters en monitoringsfilters (zie bijlage H) geven aan dat het infiltraat in de monitoringsfilters wordt teruggevonden, want er worden verhoogde bromideconcentraties gemeten. Verder volgt uit de variatie in bromideconcentraties in de verschillende filters dat er geen sprake is van volledige verdringing van het verontreinigde water op de locatie door het infiltraat dat vanuit de diepewells wordt geïnfiltreerd. Ook de resultaten van de carouselbemonstering (zie bijlage M), waarbij naast het bromide- ook het sulfaatgehalte als interne referentie van het systeem is bepaald en waarbij geen grote verschillen in het concentratiepatroon aanwijsbaar zijn, geven aan dat de daling in CKW-concentraties niet volledig door verdringing wordt veroorzaakt, maar dat er sprake is van biologische afbraak. Deze conclusie is overigens ook te trekken uit de waarneming in meetronde 6 en 7 van de productie van etheen en ethaan.

6.7 Dechloreringsgraad

De concentratie aan chloorethenen kan worden uitgedrukt in een zogenaamde dechloreringsgraad. Met de dechloreringsgraad wordt het percentage weergegeven van het chloride dat van het oorspronkelijk aanwezige PCE is afgesplitst. In formulevorm ziet dit er als volgt uit (concentraties in mol/l):

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

Concentraties lager dan 0,1 µM zijn in deze berekeningen niet meegenomen. In de monitoringsfilters ligt de dechloreringsgraad tussen 15 % en 95 % (zie tabel 3).

Na de nulronde lijkt in de meeste peilbuizen een daling van de dechloreringsgraad op te treden. Dit kan komen doordat de afbraak is verslechterd, maar een andere verklaring is het opstarten van het systeem. Doordat de infiltratie en onttrekking is gestart, wordt extra verontreiniging naar het gestimuleerde gebied getrokken. De toevoeging van elektronendonoren (methanol en compostextract) is 12 dagen voor meetronde 1 gestart.

Inmiddels is een steady-state bereikt, qua redoxomstandigheden, en is een meetbare stimulatie van de dechlorering van chloorethenen zichtbaar. In de verschillende peilbuizen is een trend in dechloreringsgraad aantoonbaar. In de meeste peilbuizen is de dechloreringsgraad gestegen in de tijd, wat aangeeft dat de concentratie aan afgesplitst chloride is gestegen. Een grotere concentratie aan hoger gechlorideerde koolwaterstoffen (PCE en TCE) zijn omgezet in lager gechlorideerde koolwaterstoffen (cis-DCE en VC) en in een aantal peilbuizen zelfs tot het niet-gechlorideerde etheen en ethaan.

Tabel 3. Dechloreringsgraad (%) in de verschillende peilbuizen.

peilbuis	nulronde	ronde 1	ronde 2	ronde 3	ronde 4	ronde 5	ronde 6	ronde 7
	21 - 22 juli	29 - 30 sept.	26 - 27 okt.	23 - 24 nov.	21 - 22 dec.	18 - 19 jan.	15 - 16 febr.	20 - 21 maart
MON2	48,1	24,9	29,6	55,4	86,2	81,8	96,8	97,0
MON3	46,6	37,1	32,6	27,1	*	68,3	81,6	79,2
MON5	38,1	38,9	49,6	55,3	92,9	95,5	97,5	77,3
MON6	35,4	28,8	50,2	55,8	81,7	86,6	63,5	65,4
MON7	39,0	*	49,3	50,9	77,4	94,5	79,0	84,1
MON8	*	24,1	45,8	# NB	75,0	55,8	56,8	70,6
MON9	32,9	21,2	# NB	# NB	49,9	46,3	48,8	42,9
MON10	36,3	32,9	# NB	# NB	65,5	50,6	49,4	49,7
MON11	34,6	38,8	40,1	*	14,7	40,7	40,6	44,1
MON12	24,1	20,5	23,5	50,0	50,3	49,6	79,9	89,7
MON13	13,4	20,9	19,5	*	*	25,5	34,8	22,1
MON15	*	*	45,5	47,7	74,2	86,6	76,8	83,5
DEMON	32,7	32,6	28,7	33,2	*	35,1	37,1	52,6
241/1	28,9	*	27,2	50,4	61,9	79,9	97,3	83,0
G2	# NB	20,6	20,0	50,0	50,0	26,5	29,2	36,7

Toelichting:

NB niet bepaald

* geen dechloreringsgraad te berekenen als gevolg van te lage concentraties (< 0,1 µM)

Een hoge dechloreringsgraad (> 75 %) wordt voornamelijk gevonden in de monitoringsfilters in het noordelijke gebied van de gestimuleerde zone (241/1, MON2, MON3, MON5, MON6, MON7 en MON8) en dicht bij de infiltratiefilters in het zuidelijke gedeelte (MON12 en MON15). Een ruimtelijke weergave van de dechloreringsgraad in de tijd is weergegeven in bijlage L. Hieraan is te zien dat de dechloreringsgraad in de tijd aanzienlijk is toegenomen door de dechloreringsreacties te stimuleren als gevolg van infiltratie met methanol en compostextract, maar ook dat er een zogenaamd stagnant gebied is rond MON11. De dechloreringsgraad is in dit filter gedurende de pilotproef nauwelijks gestegen, mogelijk doordat er geen elektronendonor komt. Uit stijghoogtemetingen is gebleken dat er wel een grondwaterstroming is, maar de invloed van de toegevoegde elektronendonor is bij MON11 blijkbaar minimaal. Aangezien de geplande infiltratiefilters C, D en E niet zijn geplaatst (zie 5.2), komt daar nauwelijks elektronendonor, wat zich uit in de mate van afbraak.

De onttrekkingsbronnen (1 t/m 5) zijn ook bij elke meetronde bemonsterd, waarbij analyse heeft plaatsgevonden op chloorethenen. In figuur 11 is het verloop in de tijd van de dechloreringsgraad van de individuele bronnen weergegeven.

Uit het verloop is duidelijk af te lezen dat de dechloreringsgraad in de onttrekkingsbronnen 1 t/m 4, na een aanvankelijke daling, een stijgende trend vertoont tot gemiddeld 70 %. De daling in september/oktober is in overeenstemming met de in die maanden waargenomen daling van de in situ dechloreringsgraad van het grondwater.

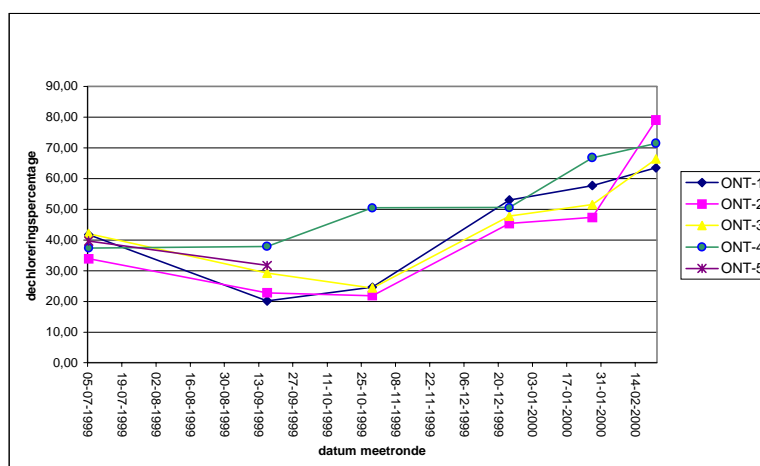


Fig. 11. Verloop van de dechloreringsgraad van de onttrekkingsbronnen.

6.8 Waterstofconcentraties

Bij de afbraak van natuurlijk organisch materiaal in de bodem wordt continu waterstof (H_2) gevormd door anaërobe bacteriën. Tegelijkertijd wordt H_2 geconsumeerd door bacteriën die hierbij in de bodem en het grondwater aanwezige elektronenacceptoren (met name nitraat, Mn(IV), Fe(III), sulfaat, HCO_3 of CKW) reduceren. Waterstof vormt een goede indicator van de in situ redoxomstandigheden en het gunstig zijn van de condities van dechlorering, omdat:

- het een zeer kort levend intermediair is en de H_2 -concentratie in het grondwater dus nagevoel onmiddellijk reageert op veranderende beschikbaarheid van elektronendonoren en elektronenacceptoren;
- de reductie van de verschillende elektronenacceptoren geassocieerd is met specifieke ranges van de H_2 -concentratie.

Op basis van laboratorium- en veldexperimenten zijn empirische ranges van waterstofconcentraties opgesteld voor het optreden van de verschillende redoxprocessen. De achterliggende processen, die zorgen voor de instelling van de concentraties in deze H_2 -ranges, zijn beschreven in een onlangs verschenen rapport [CUR/NOBIS, 1999c]. Door de in monitoringsfilters gemeten waterstofconcentraties te vergelijken met deze ranges van concentraties zijn op empirische wijze de redoxcondities te identificeren. De empirische range van waterstofconcentraties (zie tabel 4), die gebruikt kan worden voor het vaststellen van de redoxomstandigheden, is afkomstig uit het EPA-protocol voor de natuurlijke afbraak van CKW's [EPA, 1998].

Tabel 4. Range van empirisch opgestelde waterstofconcentraties (H_2 -concentraties) die indicatief zijn voor het optreden van verschillende redoxprocessen.

waterstofconcentratie (nM)		redoxproces
< 0,1	→	nitraatreductie
0,2 tot 0,8	→	ijzer(III)reductie
1 tot 4	→	sulfaatreductie
> 1	→	reductieve dechlorering
5 tot 20	→	methanogenese

De waterstofconcentraties, die in de monitoringsfilters zijn gemeten, hebben waarden die variëren van 0,15 tot 2066 nM (nulronde), 0,11 tot 5,00 nM (meetronde 1), 0,013 tot 31,4 nM (meetronde 2) 0,01 tot 3,28 nM (meetronde 3), 0,07 tot 12,91 nM (meetronde 4), 0,04 tot 10,25 nM (meetronde 6) en 0,02 tot 59,55 nM (meetronde 7) (zie tabel 5). In meetronde 5 hebben de waterstofmetingen geen gegevens opgeleverd, vanwege een defect in de meetapparatuur.

Tabel 5. Waterstofconcentraties (nM) in de verschillende peilbuizen.

peilbuis	nulronde	ronde 1	ronde 2	ronde 3	ronde 4	ronde 5	ronde 6	ronde 7
	21 - 22 juli	29 - 30 sept.	26 - 27 okt.	23 - 24 nov.	21 - 22 dec.	18 - 19 jan.	15 - 16 febr.	20 - 21 maart
MON2	2066	1,25	0,93	0,88	3,87	# NB	3,03	1,21
MON3	581	0,14	1,02	0,02	0,26	# NB	0,99	0,67
MON5	260	2,99	3,06	1,59	4,18	# NB	9,10	32,48
MON6	378	5,04	5,25	1,92	0,83	# NB	1,43	59,55
MON7	1848	2,06	31,42	0,60	3,17	# NB	2,60	6,61
MON8	# NB	0,47	1,00	# NB	# NB	# NB	# NB	0,48
MON9	0,95	0,26	# NB	# NB	# NB	# NB	# NB	0,06
MON10	0,81	0,46	# NB	# NB	# NB	# NB	# NB	# NB
MON11	4,72	0,15	0,02	0,08	0,82	# NB	0,34	0,02
MON12	24,23	0,11	0,01	0,45	4,57	# NB	0,59	0,07
MON13	0,15	1,97	0,56	0,02	0,19	# NB	0,26	0,16
MON15	2438	0,96	0,91	3,28	12,91	# NB	3,52	0,80
DEMON	0,24	1,56	0,73	0,03	0,52	# NB	0,23	0,17
241/1	1045	0,09	0,09	2,68	3,16	# NB	10,25	30,59
G2	# NB	0,09	0,05	0,01	0,07	# NB	0,04	0,22

Toelichting:

NB niet bepaald

De hoge concentraties (> 100 nM) in een aantal buizen tijdens de nulmeting zijn niet reëel en waarschijnlijk te wijten aan het vrijkomen van waterstof door de nieuw geplaatste peilbuizen in juni. De verstoring van de bodemstructuur en de bodemcondities hebben voor een tijdelijke verhoging van de waterstofconcentraties gezorgd, waardoor geen correcte concentraties zijn gemeten.

Tijdens meetronde 1, twee weken na de start van de infiltratie, zijn de waterstofconcentraties gestabiliseerd en zijn reëlere waarden gemeten. Op basis van de empirische H₂-ranges (zie tabel 4) zijn de verschillende condities in het veld vast te stellen. De verwachting is dat door de toevoeging van elektronendonoren de redoxcondities steeds gunstiger zullen worden voor reductieve dechlorering, wat onder andere te merken is aan stijgende H₂-concentraties en een dalende redoxpotentiaal. Dit laatste lijkt ook op te treden, gezien de resultaten van meetronde 3, 4, 6 en 7. De macrochemiemetingen laten in ieder geval zien dat nog nauwelijks nitraat aanwezig is in de verschillende peilbuizen. De sulfaatconcentraties zijn in meetronde 2, 4, 6 en 7 aanzienlijk lager dan tijdens meetronde 1. Dit zou erop duiden dat sulfaatreductie optreedt. Ook worden in de meeste peilbuizen hoge concentraties methaan gemeten, wat duidt op methanogene condities.

6.9 Redoxkarakterisering en condities voor reductieve dechlorering

Uit de analysedata van de meetronden is met behulp van twee methoden een inschatting gemaakt van de condities voor reductieve dechlorering in de monitoringsfilters (zie tabel 6). Deze inschattingen zijn uitgevoerd op basis van de macrochemie en op basis van de waterstofconcentratie, gemeten tijdens meetronde 0 tot en met 7.

Tabel 6. Overzicht van redoxomstandigheden en condities voor reductieve dechlorering per monitoringsfilter naar aanleiding van metingen tijdens meetronde 0, 2, 3, 4, 6 en 7.

peilbuis	op basis van macrochemie					op basis van H ₂ -concentratie ¹⁾ (nM H ₂)					condities voor reductieve dechlorering ²⁾
	ronde					ronde					
	0	2	4	6	7	2	3	4	6	7	
MON2	S	M	M	M	M	S/Fe	S/Fe	S	S	S	gunstig
MON3	S	M	S	M/S	S	S	N	Fe	S/Fe	Fe	niet eenduidig
MON5	S	M	M	M	M	S	S	S	M	M	gunstig
MON6	S	M	S/Fe	M	M	M	S	S/Fe	S	M	gunstig
MON7	S	M	M	M	M	M	S/Fe	S	S	M	gunstig
MON8	S	Fe		S/Fe	M/S	S/Fe				Fe	niet eenduidig
MON9	S			S	S					N	ongunstig
MON10	S	N		S	S						niet eenduidig
MON11	S	Fe	S	S	S	N	N	S/Fe	Fe	N	niet eenduidig
MON12	S	Fe	S/Fe	M	M/S	N	Fe	M/S	Fe	N	niet eenduidig
MON13	N	Fe/N	S	N	N	Fe	N	Fe/N	Fe	Fe/N	niet eenduidig
MON15	N	S/Fe	M	M	M	S/Fe	S	M	S	Fe	gunstig
DEMON	S	S	S	S	S	Fe	N	Fe	Fe	Fe/N	niet eenduidig
241/1	S	S	M	S	M	N	S	S	M	M	gunstig
G2	-	S				N	N	N	N	Fe	ongunstig

Toelichting:

¹⁾ N = nitraatreducerend/mangaanreducerend; Fe = ijzerreducerend; S = sulfaatreducerend; M = methanogeen.

²⁾ Aëroob, nitraatreducerend, mangaanreducerend = ongunstig; ijzerreducerend = niet eenduidig; sulfaatreducerend, methanogeen = gunstig.

6.10 Dechloreringscondities op basis van redoxomstandigheden

Uit vele laboratoriumexperimenten en veldanalyses is bekend dat reductieve dechlorering van chloorethenen met name optreedt onder methanogene en sulfaatreducerende omstandigheden. Ijzerreducerende condities zijn minder gunstig voor reductieve dechloreringsprocessen. Hoewel reductieve dechlorering van PCE en TCE wel is waargenomen in ijzerreducerende batchculturen kan onder dergelijke omstandigheden dechlorering van met name cis-DCE en VC vertraagd zijn. Uit wetenschappelijke literatuur is verder bekend dat in aanwezigheid van nitraat en zuurstof de reductieve dechlorering in vrijwel alle gevallen volledig geremd is. De afbraak van vinylchloride is recentelijk gepubliceerd, maar details omtrent de omzetting ontbreken nog [EPA, 1998; Dijk et al., 2000]. Op basis van deze gegevens is de volgende indeling opgesteld voor het classificeren van de dechloreringscondities in de monitoringsfilters:

- zuurstof-, nitraat- en mangaanreducerend = *ongunstig* voor reductieve dechlorering;
- ijzerreducerend = dechloreringscondities *niet eenduidig*;
- sulfaatreducerend, methanogeen = *gunstig* voor reductieve dechlorering.

Gunstige omstandigheden voor dechlorering komen voor in het noordelijke gedeelte van de infiltratiezone in de filters MON2, MON5, MON6, MON7 en MON15 (zie tabel 6). Deze filters liggen voornamelijk aan de infiltratiekant van de stimuleringszone, wat erop duidt dat de infiltratie van elektronendonoren ervoor zorgt dat de condities voor dechlorering verbeterd zijn. In deze filters is in

meetronde 1 en 2 methanol aangetroffen in hoge concentraties (mM). Dit geeft aan dat de infiltratie van methanol en extract werkt. De filters met gunstige condities voor dechlorering op een zekere afstand van de infiltratiezone zijn MON7 en MON15, die aan de onttrekkingskant van de stimuleringszone liggen. Ook hier is methanol gemeten, alleen lijkt de concentratie veel lager te zijn dan aan de infiltratiekant. De omzetting in de bodem van methanol tussen de infiltratie- en onttrekkingsfilters geeft de lagere concentratie van methanol in MON7, gekoppeld aan een verhoogde waterstofconcentratie.

In de overige filters zijn de condities voor dechlorering nog niet eenduidig. De waterstofconcentraties zijn laag en in vele gevallen is (nog) geen methanol aangetroffen. De verblijftijd in de stimuleringszone, alsmede de reactiviteit van de natuurlijk aanwezige elektronenacceptoren die methanol omzetten, zijn hiervoor verantwoordelijk. Naar verwachting zal na verloop van tijd een steady-state situatie worden bereikt. Dit zal te zien zijn aan hogere waterstofconcentraties in de monitoringsfilters aan de onttrekkingszijde van het systeem, een dalende redoxpotentiaal en mogelijk aan het aantreffen van lage concentraties methanol. In MON6 is dit proces al te zien, want op basis van de macrochemie en de waterstofconcentraties in de nulronde zijn de redoxcondities gekarakteriseerd als nitraat- of ijzerreducerend. Tijdens de eerste meetronde is gebleken dat de redoxcondities in dit filter gunstiger zijn geworden voor dechloreringsreacties en zijn deze gekarakteriseerd als sulfaatreducerend.

Het al dan niet gunstig zijn van de condities voor reductieve dechlorering is ook bekeken aan de hand van het EPA-protocol [EPA, 1998]. In dit protocol wordt gebruik gemaakt van analyse-resultaten, zoals macrochemie (zuurstof, nitraat, ijzer(II), sulfaat, sulfide), methaan, alkaliniteit, chloride, TOC, waterstof en (C)KW-concentratie metingen. Elke parameter krijgt een bepaald aantal punten, waarmee uiteindelijk een score wordt vastgesteld en aan de hand van die score wordt bekeken of de condities gunstig zijn voor dechloreringsprocessen. In tabel 7 is een overzicht gegeven van de condities voor de diverse monitoringsfilters.

Tabel 7. Overzicht van condities voor reductieve dechlorering per monitoringsfilter naar aanleiding van metingen tijdens meetronde 0, 2, 4 en 7.

peilbuis	op basis van macrochemie		score op basis van EPA-protocol ¹⁾				condities
	ronde 4	ronde 7	nulronde	ronde 2	ronde 4	ronde 7	
MON2	gunstig	gunstig	14	20	21	24	gunstig
MON3	niet eenduidig	gunstig	12	16	6	20	gunstig
MON5	gunstig	gunstig	14	26	27	28	gunstig
MON6	niet eenduidig	gunstig	12	27	18	28	gunstig
MON7	niet eenduidig	gunstig	14	21	23	26	gunstig
MON8	?	gunstig	10	20	-	22	gunstig
MON9	?	gunstig	12	-	-	13	ongunstig
MON10	?	gunstig	7	-	-	8	ongunstig
MON11	niet eenduidig	gunstig	12	10	7	13	niet eenduidig
MON12	gunstig	gunstig	10	13	19	25	gunstig
MON13	niet eenduidig	ongunstig	7	2	0	6	ongunstig
MON15	gunstig	gunstig	1	17	22	25	gunstig
DEMON	niet eenduidig		7	13	6	16	niet eenduidig
241/1	gunstig		6	17	24	28	gunstig
G2	ongunstig		-	6	-	-	ongunstig

Toelichting:

¹⁾ Beoordeling volgens [EPA, 1998]. H₂-ranges voor het optreden van redoxprocessen. EPA-score: 0 - 5 = onvoldoende bewijs voor het optreden van reductieve dechlorering; 6 - 14 = beperkt bewijs voor reductieve dechlorering; 15 - 20 = voldoende bewijs voor reductieve dechlorering; > 20 = sterk bewijs voor reductieve dechlorering.

In de meeste filters is een toename in EPA-score waar te nemen, wat erop duidt dat de condities voor dechlorering steeds gunstiger worden. Dit is in overeenstemming met de macrochemie, de waterstofmetingen en de stijgende dechloreringsgraad in deze filters.

6.11 Resultaten van MPN-PCR

6.11.1 MPN-PCR aan grondwatermonsters: de uitgangssituatie

De *nultelling* heeft laten zien dat er in alle monitoringsfilters *Desulfitobacterium* spp. aanwezig zijn ($3 \cdot 10^4$ - $3 \cdot 10^7$ bacteriën per ml), met uitzondering van MON15 (beneden de detectielimiet, < 60 bacteriën per ml). Hierbij moet worden opgemerkt dat de aantallen als relatief moeten worden beschouwd en niet als absoluut. Belangrijk is dat zowel binnen de infiltratie/onttrekkingszone als buiten het stimuleringsgebied (MON10) dechlorerders in significante aantallen voorkomen, hetgeen betekent dat er biodegradatiepotentieel aanwezig is. Ten gevolge van de stimulatiemaatregelen wordt een toename in het aantal dechlorerende bacteriën verwacht, alsmede een toename in de dechloreringsgraad. Monitoringsfilter MON10 is gekozen als referentiepunt: er zijn *Desulfitobacterium* spp. aanwezig, maar hun groei wordt niet gestimuleerd. Dit betekent dat in MON10 waarschijnlijk gelijkblijvende of zelfs dalende aantallen *Desulfitobacterium* spp. zullen worden waargenomen gedurende de infiltratieperiode. De lage aantallen *Desulfitobacterium* spp. die gevonden zijn in MON15 kunnen veroorzaakt zijn doordat er denitrificerende omstandigheden heersen; dit zijn redoxcondities die ongunstig zijn voor in situ dechlorering van CKW.

Om een toename van het totaal aantal bacteriën die verwacht wordt tijdens de stimulatie in kaart te brengen, en veranderingen in het aantal *Desulfitobacterium* spp. ten opzichte van de totale populatie vast te kunnen stellen, is aan de grondwatermonsters van de beginsituatie (nulronde) ook een totaal telling gedaan met behulp van een kleuringsmethode (DAPI). In principe zouden de aantallen die gevonden zijn met deze methode hoger moeten zijn dan de telling die specifiek *Desulfitobacterium* spp. telt, maar dit is niet in alle gevallen gemeten (zie bijlage H). De oorzaak moet vermoedelijk worden gezocht in de veel hogere detectielimiet van de DAPI-kleuring ten opzichte van de MPN-PCR-methode. Voor een totaal telling zal dus eigenlijk een MPN-PCR gedaan moeten worden, maar dan met 'universele' primersets. Naast *Desulfitobacterium* spp. worden dan ook alle andere bacteriën aangetoond. De gebruikte MPN-PCR-methode is echter nog niet geschikt voor een zogenaamde 'universele' MPN-PCR, omdat met de huidige methode de controles niet het gewenste resultaat leveren: de negatieve PCR-controle geeft namelijk een positief PCR-resultaat. De oorzaak hiervan ligt in het feit dat er in de commerciële 'beads' het DNA-synthetiserend enzym, Taq-polymerase, vervuild is met bacterieel DNA. Dit is niet verrassend, omdat dit enzym namelijk ook uit een bacterie wordt geïsoleerd. Van alle monsters worden zowel DNA-extracten als gefixeerde monsters bewaard, zodat de 'universele' MPN-PCR van alle monsters nog zal kunnen worden uitgevoerd vanaf het moment dat de PCR-beads verder ontwikkeld zijn door de leverancier en dus de controles de gewenste resultaten leveren.

6.11.2 Effect van stimulatiemaatregelen op de dechlorerende populatie in grondwater

Verwacht werd dat gedurende de infiltratiefase het aantal dechlorerende bacteriën zou toenemen in het stimulatiegebied en dat buiten de stimuleringszone het aantal min of meer onveranderd blijft of zelfs afneemt door een optredende verdunning die vlak buiten het stimulatiegebied zal optreden ten gevolge van grondwateronttrekking.

Bacterietellingen met behulp van MPN-PCR in meetronde 2

Uit de bacterietellingen die uitgevoerd zijn na twee maanden is gebleken dat in het stimulatiegebied het aantal *Desulfitobacterium* spp. met een factor 10 tot 10^3 is toegenomen (zie tabel 8 en fig. 12). Hierbij moet overigens worden opgemerkt dat de aantallen relatief moeten worden gezien. Met name het aantal *Desulfitobacterium* spp. in MON15 is sterk toegenomen. MON15 ligt dicht bij de infiltratiesleuf, waardoor het compostextract + methanolmengsel waarschijnlijk al

snel MON15 heeft bereikt en de groei van *Desulfitobacterium* spp. heeft gestimuleerd. Er wordt in MON15 tevens een verandering waargenomen van de redoxconditie: van denitrificerend naar sulfaatreducerend/methanogeen, condities die gunstig zijn voor dechlorering van CKW (zie tabel 6). Een uitzondering is MON9, waar het aantal is afgenomen. Mogelijk heeft het compost-extract + methanolmengsel MON9 nog niet bereikt, waardoor de groei van *Desulfitobacterium* spp. op deze plaats nog niet gestimuleerd is. Vergeleken met de andere monsters is het aantal *Desulfitobacterium* spp. in MON12 maar weinig toegenomen (factor 10). Een reden hiervoor kan zijn dat het compostextract + methanolmengsel MON12 later heeft bereikt dan de andere monsterpunten, want MON12 ligt ongeveer halverwege de infiltratie- en onttrekkingsfilters. Zoals verwacht blijkt het aantal *Desulfitobacterium* spp. in het 'referentie'filter MON10, gelegen net buiten het stimulatiegebied, nagenoeg onveranderd te zijn.

Tabel 8. Aantal *Desulfitobacterium* spp. gemeten in de verschillende monitoringsfilters tijdens de infiltratieperiode (per ml).

filter	aantallen <i>Desulfitobacterium</i> spp.				
	nulronde	ronde 2	ronde 4	ronde 6	ronde 7
MON2	$6 \cdot 10^2 - 6 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^5 - 2 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^6 - 1 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^5 - 6 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^5 - 4 \cdot 10^6$
MON3	$1 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^6 - 2 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$	$7 \cdot 10^4 - 7 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$
MON5	$6 \cdot 10^3 - 6 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^6 - 2 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^6 - 1 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^5 - 7 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^5$
MON6	$5 \cdot 10^4 - 5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^7 - 1 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^6 - 1 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^5 - 4 \cdot 10^6$
MON7		$1 \cdot 10^7 - 1 \cdot 10^8$			
MON8				$7 \cdot 10^2 - 7 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^5$
MON9	$6 \cdot 10^6 - 6 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^5 - 3 \cdot 10^6$		$4 \cdot 10^2 - 4 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^5$
MON10	$6 \cdot 10^5 - 6 \cdot 10^6$	$2 \cdot 10^5 - 2 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^3 - 1 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^1 - 5 \cdot 10^2$	$4 \cdot 10^3 - 4 \cdot 10^4$
MON12	$6 \cdot 10^3 - 6 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^4 - 4 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$	$5 \cdot 10^2 - 5 \cdot 10^3$	$6 \cdot 10^4 - 6 \cdot 10^5$
MON13			$6 \cdot 10^5 - 6 \cdot 10^6$		
MON15	< 60	$2 \cdot 10^6 - 2 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$	$8 \cdot 10^4 - 8 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^6$

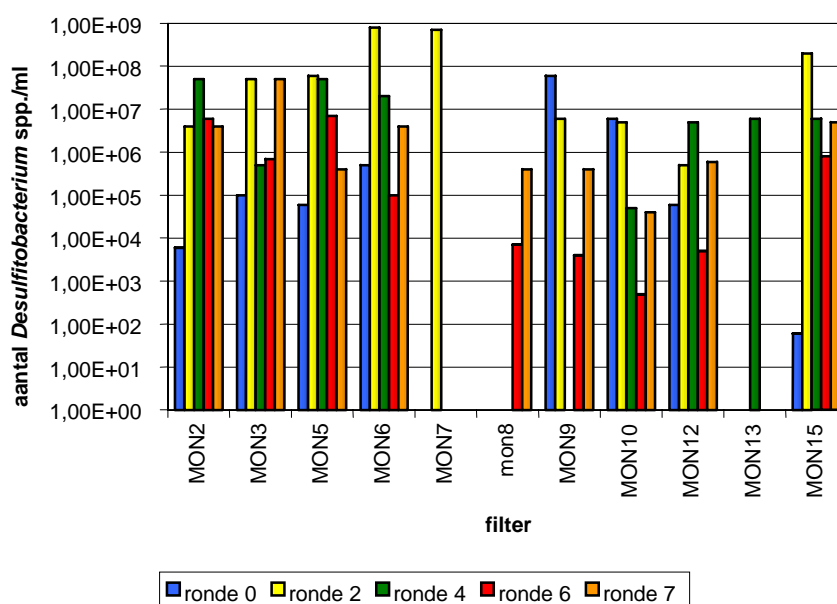


Fig. 12. Grafische weergave van het aantal *Desulfitobacterium* spp. per milliliter grondwater in de verschillende monitoringsfilters tijdens de infiltratieperiode, geteld met behulp van de MPN-PCR-methode.

Bacterietellingen met behulp van MPN-PCR in meetronde 4

Bij de bacterietellingen die uitgevoerd zijn vier maanden na de aanvang van de infiltratie is eveneens een MPN-PCR-telling uitgevoerd. Verwacht werd dat het aantal *Desulfitobacterium* spp. wederom zou toenemen ten opzichte van de tweede meetronde. Dit is echter niet het geval. Alleen in MON2, welke dicht bij de infiltratiesleuf gelokaliseerd is, is een lichte toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. waar te nemen. De overige monitoringsfilters laten een afname zien in het aantal *Desulfitobacterium* spp. Vermoedelijk kunnen deze uitkomsten worden verklaard vanwege het feit dat er verstoppingsproblemen zijn opgetreden, waardoor de stimulatie eind november is gestopt. Het systeem heeft vervolgens 1 maand stilgestaan, waarna de infiltratie (= stimulatie) vanaf de derde week van december hervat is. De volgende monitoringsronde heeft aansluitend plaatsgevonden op 22 en 23 december. Gezien deze lange periode dat het infiltratiesysteem buiten werking is geweest en de korte periode tussen het herstarten van de infiltratie en de bemonstering van de monitoringsfilters, is het niet opmerkelijk dat er een afname in het aantal *Desulfitobacterium*-soorten waargenomen is.

Bacterietellingen met behulp van MPN-PCR in meetronde 6 en 7

In de filters MON6 en MON12 is in meetronde 6 een sterke afname geconstateerd in het aantal *Desulfitobacterium* spp. in het grondwater. In meetronde 7 zijn er weer hogere aantallen gemeten ten opzichte van meetronde 4 en 6. Deze tijdelijke afname kan mogelijk veroorzaakt zijn door de verminderde toevoeging van substraat en nutriënten (met 1 l/h) in de periode voorafgaand aan meetronde 6, waardoor meer concurrentie met andere bacteriën om het substraat is opgetreden. Een andere mogelijkheid is dat een significante fractie van het totale aantal *Desulfitobacterium* spp. zich aan de bodem gehecht heeft, als gevolg van koolstofbron- en/of nutriëntenlimitatie. Hierdoor worden ze niet gedetecteerd in het grondwater. De verlaging in het aantal *Desulfitobacterium* spp. die waargenomen is in MON10 is verwacht. MON10 ligt immers net buiten het stimulatiegebied en dicht bij het grondwateronttrekkingssysteem. Hierdoor vindt er een verdunning plaats, waardoor het aantal bacteriën zal afnemen.

6.11.3 *Effect van stimulatie maatregelen op de dechlorerende populatie in grond*

Bij het plaatsen van de monitoringsfilters zijn grondmonsters genomen. Met behulp van de MPN-PCR-methode is in deze monsters het aantal *Desulfitobacterium* spp. bepaald (zie tabel 9). De bacterietellingen die gedaan zijn aan grondmonsters geven aantallen die over het algemeen hoger liggen (factor 10 - 1000) ten opzichte van de tellingen van de nulronde die gedaan zijn aan grondwatermonsters. Dit is niet verwonderlijk, omdat in het grondwater de vrij-levende cellen worden geteld. Over het algemeen geldt dat de meeste bodembacteriën gehecht zijn aan bodemdeeltjes, wat vermoedelijk wordt veroorzaakt door koolstofbron- en/of nutriëntenlimitatie. Net als bij de tellingen in het grondwater worden in de grondmonsters ook bij MON15 erg lage aantallen bacteriën gevonden (< 60 cellen/ml). Deze lage aantallen *Desulfitobacterium* spp. in dit monitoringsfilter zijn overeenkomstig de verwachting, gelet op de nitraatreducerende omstandigheden rond dit filter.

Aan het einde van de infiltratieperiode zijn opnieuw grondmonsters genomen om de invloed van de stimulering op de gehechte bacteriefractie te bepalen. Er zijn drie monitoringsfilters geselecteerd wegens kostenbesparende redenen. Dicht bij MON5, MON10 en MON12 zijn boringen verricht en anaërobe grondmonsters genomen. Het aantal *Desulfitobacterium* spp. blijkt in deze monitoringsfilters sterk verlaagd ten opzichte van de uitgangssituatie. Dit duidt erop dat de toename in de vrij-levende fractie, zoals gemeten in de grondwatermonsters, ten koste gaat van de gehechte bacteriefractie, gemeten aan de grondmonsters. Het is bekend dat bacteriën minder sterk hechten indien substraten en nutriënten voldoende aanwezig zijn. Pas als er sprake is van groeilimiterende condities wordt de tendens om biofilms te vormen en om aan vaste stoffen te hechten vergroot.

Tabel 9. Overzicht van aantallen *Desulfitobacterium* spp. in grondmonsters (aantallen per gram).

filter	nulronde	ronde 7
MON2	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	
MON3	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	
MON5	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^4 - 3 \cdot 10^5$
MON6	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	
MON7	$5 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^6$	
MON8	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	
MON9	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	
MON10	$5 \cdot 10^6 - 5 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^4 - 1 \cdot 10^5$
MON12	$5 \cdot 10^7 - 5 \cdot 10^8$	$3 \cdot 10^4 - 3 \cdot 10^5$
MON15	$< 1 \cdot 10^4$	

6.11.4 *Verband tussen het aantal Desulfitobacterium spp. en het dechlorerend vermogen*
 Monitoringsfilter MON10 laat géén toename zien in het aantal *Desulfitobacterium* spp. Dit beeld komt overeen met de dechloreringsgraad die slechts een zéér beperkte toename laat zien. Deze resultaten werden wat betreft MON10 ook verwacht. MON10 is immers gesitueerd buiten het stimulatiegebied, waardoor geen toename wordt verwacht, zowel niet in het aantal *Desulfitobacterium* spp. als ook niet in de dechloreringsgraad. Wat betreft het aantal *Desulfitobacterium* spp. is zelfs een afname gemeten. De oorzaak hiervan kan zijn dat MON10 onderhevig is aan een verdunning vanwege het grondwateronttrekkingssysteem, dat nabij gelegen is.

Binnen het stimuleringsgebied is de algemene tendens dat er ten opzichte van de beginsituatie in de monitoringsfilters MON2, MON3, MON5, MON6, MON12 en MON15 een stijging van het aantal *Desulfitobacterium* spp. is waargenomen tijdens de gehele infiltratieperiode (ronde 0 - 7). Soms is de toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. niet heel erg groot (< factor 10), zoals bijvoorbeeld gemeten in MON5, terwijl er wel een forse toename in de dechloreringsgraad is waar te nemen. Mogelijke oorzaken hiervoor zijn dat:

- op deze plek andere dechlorerende bacteriën dan *Desulfitobacterium* spp. een belangrijke rol spelen bij de dechlorering;
- de behaalde resolutie van de MPN-PCR-methode niet toereikend genoeg is om een toename in het aantal dechlorerders te meten en deze derhalve niet zichtbaar kan worden gemaakt;
- de toename in dechlorerende activiteit van de *Desulfitobacterium* spp. per cel sterk verhoogd is, waardoor het aantal *Desulfitobacterium* spp. nagenoeg gelijk blijft maar de dechloreringscapaciteit toch wordt verhoogd.

Er is geen toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. gemeten in MON9, terwijl MON9 midden in het stimulatiegebied gesitueerd is. Ook is er geen significante toename waar te nemen in de dechloreringsgraad. Hier zou dus wel een toename van het aantal *Desulfitobacterium* spp. en de dechloreringsgraad verwacht zijn. Mogelijk dat in MON9 andere, niet-dechlorerende organismen een competitief voordeel hadden ten opzichte van de dechlorerende populatie. Deze niet-dechlorerende populatie zou dan de koolstofbron en de nutriënten al geconsumeerd hebben voordat de dechlorerende bacteriën de kans gekregen hebben.

In MON12 is een toename in de dechloreringsgraad gemeten, terwijl er een afname in het aantal *Desulfitobacterium* spp. is waargenomen. In dit geval zouden (tot nog toe onbekende) dechlorerende micro-organismen, die ook in staat zijn te dechloreren, de competitie gewonnen kunnen hebben van *Desulfitobacterium*-soorten.

Samenvattend kan worden gesteld dat er een positief verband bestaat tussen het dechlorerend vermogen van, en het aantal *Desulfitobacterium* spp. in, de bodem op de locatie Rademarkt. In figuur 13 is dit verband weergegeven, gemeten in een peilbuis gelegen in het stimulatiegebied (MON15).

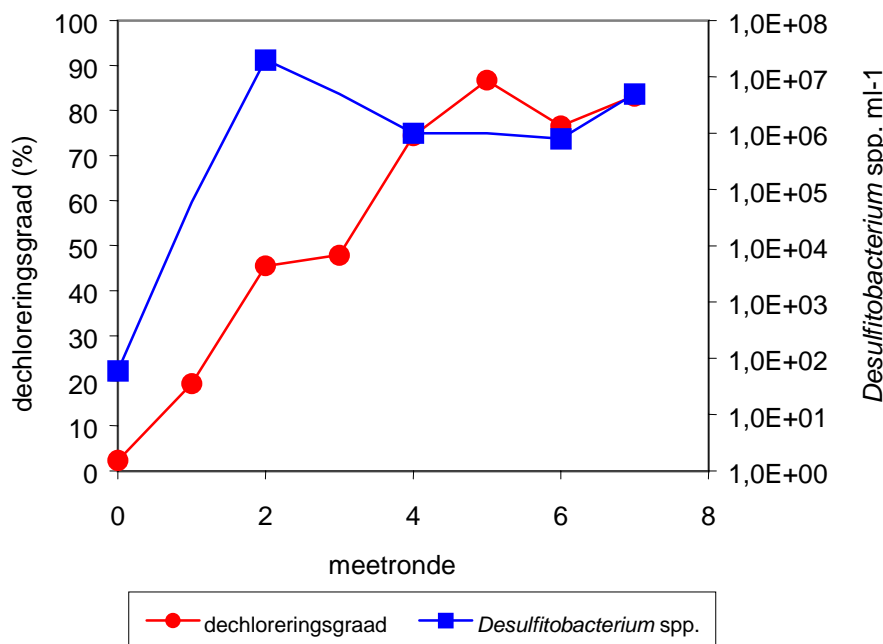


Fig. 13. Verloop van de aantallen *Desulfitobacterium* spp. en de dechloreringsgraad gemeten in MON15 tijdens de infiltratiefase.

6.11.5 Detectie van een onbekende bacteriesoort die betrokken is bij de gestimuleerde microbiële activiteiten

Bij de bacterietellingen, die 4 maanden na de aanvang van de infiltratie op de grondwatermonsters zijn uitgevoerd, is tevens gebleken dat er naast de *Desulfitobacterium*-soorten groei van een andere, aan *Desulfitobacterium* nauw verwante, bacteriesoort wordt gestimuleerd. Er is namelijk gebleken dat er naast het PCR-fragment van 225 bp, wat specifiek is voor *Desulfitobacterium* spp., een ander, groter, fragment (circa 560 bp) is verkregen. Het verschijnen van dit fragment van 560 bp, nadat op de locatie Rademarkt de stimulatie met compostextract + methanol is gestart, is een indicatie dat het een bacterie betreft die een belangrijke rol speelt bij de gestimuleerde microbiële activiteiten. Het is daarom wenselijk de identiteit van deze bacterie te achterhalen en te onderzoeken of er een verband bestaat tussen de gestimuleerde groei van dit organisme en de toename van het dechlorerend vermogen in de bodem.

Normaliter wordt een fragment van deze grootte (560 bp) toegewezen aan de eerste PCR-reactie van de 'nested PCR' voor specifieke detectie van *Desulfitobacterium*-soorten (zie fig. C1 en C2 van bijlage C). Bij de tweede PCR op dit fragment (met wederom specifieke primers) wordt dan vervolgens het kleinere fragment van 225 bp verkregen, dat gebruikt wordt voor de kwantificering van het aantal *Desulfitobacterium* spp. Als *Desulfitobacterium* spp. inderdaad aanwezig zijn in het monster, zal dit kleine fragment van 225 bp in *ten minste* dezelfde hoeveelheid aanwezig zijn als het fragment van 560 bp. Indien nu bij het zichtbaar maken van de fragmenten op een agarose gel het fragment van 225 bp eerder verdwijnt met de verdunningen dan het fragment van 560 bp, wordt dit grotere fragment toegeschreven aan een andere bacteriesoort dan *Desulfitobacterium*. Gezien het feit dat bij de eerste PCR ook al soort-specifieke

primers worden gebruikt, kan dan ook worden geconcludeerd dat het dan een aan *Desulfitobacterium* verwante bacteriesoort betreft die overeenkomsten op DNA-niveau vertoond.

Bij de tellingen is bij de resultaten van de MPN-PCR gebleken dat het fragment van 560 bp in hogere aantallen wordt gevonden dan het kleinere fragment van 225 bp. Dit is het geval bij monitoringsfilters MON2, MON3 en MON5 (zie fig. 14).

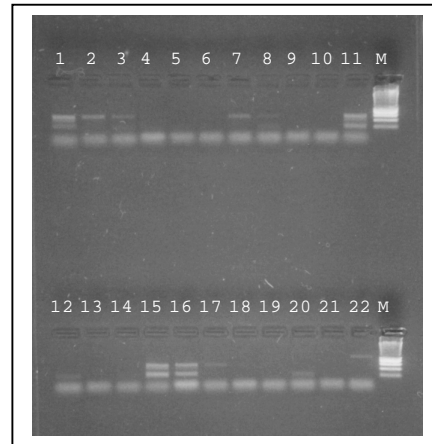


Fig. 14. Resultaten van de MPN-PCR van MON2, MON3 en MON5. Laan 1 - 6: nested PCR, respectievelijk 10^2 - 10^7 keer verdund van het DNA-extract afkomstig uit MON2; laan 7 - 9: nested PCR, respectievelijk 10^2 - 10^4 keer verdund van het DNA-extract afkomstig uit MON3; laan 10: negatieve controle; laan 11: positieve controle; M = marker; laan 12 - 14: nested PCR, respectievelijk 10^4 - 10^7 keer verdund van het DNA-extract afkomstig uit MON3; laan 15 - 20: nested PCR, respectievelijk 10^2 - 10^7 keer verdund van het DNA-extract afkomstig uit MON5; laan 21 - 22: negatieve controle en positieve controle; M = marker.

Doordat het fragment van 560 bp tijdens de infiltratiefase met compostextract + methanol is verschenen, betreft het vermoedelijk een DNA-sequentie van een bacterie die een belangrijke rol speelt bij de gestimuleerde microbiële activiteiten. Daarom is getracht de identiteit van deze bacterie te achterhalen en te onderzoeken of er een verband bestaat tussen de gestimuleerde groei van dit organisme en de toename van het dechlorerend vermogen in de bodem. Indien specifieke primers ontworpen zijn voor de detectie van deze onbekende bacterie, kan in een modelsysteem zoals een waterbatch een eventueel verband worden gelegd tussen de dechlorerende activiteit, het aantal *Desulfitobacterium*-soorten en het aantal van de onbekende bacterie. Dit onderzoek wordt in 6.12 in detail beschreven.

Identiteit van de onbekende bacteriesoort + primer design

De identiteit van de onbekende bacterie, die in de monitoringsronde op 4 maanden na de aanvang is uitgevoerd, is achterhaald door de DNA-base-volgorde van het fragment van 560 bp te bepalen. Hiertoe is het bandje uit de gel gesneden en is de DNA-base-volgorde van het soortspecifieke stukje DNA bepaald. Hieruit is al gebleken dat het inderdaad gaat om een ander 16S rDNA dan dat van *Desulfitobacterium* spp. Het blijkt te gaan om een DNA-sequentie die overeenkomt met het DNA van een *Desulfosporosinus*-bacterie. Er zijn inderdaad veel overeenkomsten met het 16S rRNA van *Desulfosporosinus orientus* en *Desulfotomaculum luciae* (zie fig. 15). Het organisme blijkt ook verwant te zijn aan *Desulfitobacterium* spp. Dit werd ook verwacht, omdat de partiële sequentie van de aan *Desulfosporosinus* verwante stam ook uit grondwatermonsters werd 'opgepikt' met behulp van primers die specifiek zijn voor *Desulfitobacterium* spp. (primerpaar A1F/A4R).

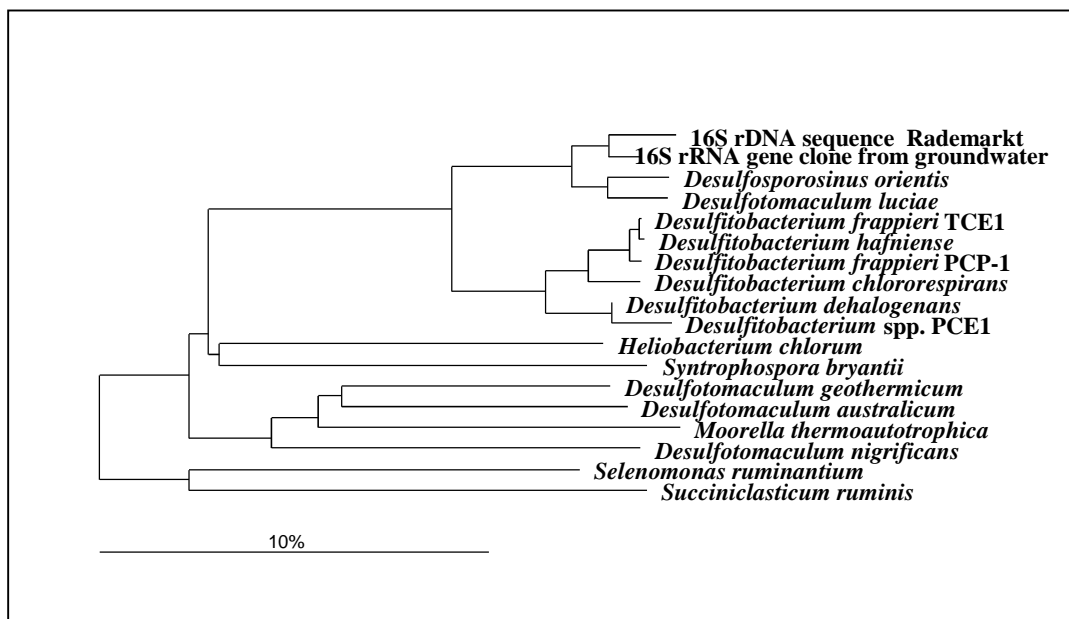


Fig. 15. Weergave van een dendrogram met de fylogenetische-taxonomische positie (verwantschap) van de nieuwe 16S rDNA-sequentie die opgepikt is uit grondwatermonsters afkomstig van de locatie Rademarkt ten opzichte van referentieorganismen. De schaal geeft het percentage homologie aan.

Recentelijk is in de literatuur een sporenvormende sulfaatreducerende bacterie beschreven die nauw verwant is aan *Desulfosporosinus*. Deze bacterie is geïsoleerd uit een ondiep watervoevend pakket, verontreinigd met minerale oliecomponenten en blijkt in staat te zijn de afbraak van toluen in mesocosms te versnellen [Robertson et al., 2000]. Ook op de locatie Rademarkt zijn BTEX-componenten in de bodem aanwezig. De gestimuleerde groei van deze *Desulfosporosinus* zou dus evenwel in verband kunnen staan met het gunstiger worden van de redoxcondities door het toevoegen van de koolstofbron en de nutriënten en de afbraak van BTEX. Op basis van de huidige literatuur blijkt dat deze bacteriesoort nog niet eerder in verband gebracht is met de dechlorering van gechlorideerde alifatische verbindingen, zoals CKW. Aangezien de stijging van het aantal '*Desulfosporosinus*'-sequenties op de locatie Rademarkt een aanzienlijke toename betreft, zou het wenselijk zijn toch een eventuele correlatie van de toename in deze bacteriesoort met de toegenomen dechloreringsgraad aan te tonen. Hiertoe zijn specifieke primers ontwikkeld voor de detectie van deze '*Desulfosporosinus*'-sequentie (zie tabel 10). Vervolgens zijn waterbatches uitgevoerd met grondwater afkomstig uit MON2. Deze waterbatches zijn gespiked met methanol, compostextract en PCE. Voor, tijdens en na de incubatie zijn zowel de CKW-componenten (PCE, TRI, CIS-DCE, VC, etheen, ethaan en methaan) als ook MPN-PCR-analyses uitgevoerd, specifiek voor *Desulfitobacterium* spp. en specifiek voor de '*Desulfosporosinus*'-sequentie.

Tabel 10. Primers, specifiek voor het 16S rRNA van de '*Desulfosporosinus*'-sequentie.

primer	lengte (bp)	annealing temperatuur (°C)	positie (E.coli nummering)	sequentie (5' → 3')
DSS227f	21	63	227 - 247	GCTACCGATTATGGATGGACC
DSS429r	21	63	409 - 429	CTTCATCATAACGCGGCGTT

6.11.6 Conclusies

Er bestaat een goede correlatie tussen het aantal *Desulfitobacterium* spp. geteld met behulp van de MPN-PCR-methode en de toename in dechlorerend vermogen binnen het stimuleringsgebied gemeten gedurende de gehele infiltratieperiode.

Gelijkblijvend dechlorerend vermogen gemeten in monitoringsfilter MON10, gelegen net buiten het stimuleringsgebied en dicht bij de onttrekkingsfilters, en derhalve onderhevig aan verdunning, laat tevens een afname zien in het aantal *Desulfitobacterium* spp.

Bij de aanvang van de infiltratieperiode heersen in MON15 voor dechlorering ongunstige denitrificerende omstandigheden en zijn tevens lage aantallen *Desulfitobacterium* spp. aanwezig. Gedurende de infiltratieperiode zijn de redoxcondities in MON15 gunstig voor dechlorering (van nitraatreducerend naar sulfaatreducerend/methanogeen) en is zowel een toename in het dechlorerend vermogen, als ook een toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. in het grondwater zichtbaar.

Voor de infiltratieperiode is de fractie van het aantal aan de bodem gehechte *Desulfitobacterium* spp. over het algemeen hoger (factor 10 - 1000) dan de fractie vrij-levende cellen gemeten in het grondwater, terwijl aan het einde van de stimulering het omgekeerde het geval is. Dit kan mogelijk in verband worden gebracht met het opheffen van substraat- en/of nutriëntlimiterende condities in de bodem.

Tijdens de implementatieperiode blijkt de groei van een andere bacteriesoort, die aan *Desulfitobacterium* spp. verwant is, eveneens gestimuleerd te worden. Uit 16S rRNA-sequentie-analyse is gebleken dat deze bacterie nauw verwant is aan *Desulfosporosinus orientus*.

Samenvattend kan worden gesteld dat de kwantificering van specifieke dechlorerende bacteriesoorten door middel van de MPN-PCR-methode een bruikbaar monitoringsinstrument is voor het aantonen van het biodegradatiepotentieel en een trend in het dechlorerend vermogen van de bodem tijdens gestimuleerde afbraak op de locatie Rademarkt.

6.12 Anaërobe dechlorering van PCE in een waterbatch en MPN-PCR van *Desulfitobacterium* spp. en '*Desulfosporosinus*'-sequentie

Het doel van de ingezette waterbatches was om vast te stellen of er verbanden bestaan tussen de reductieve dechlorering van chloorethenen, de afzonderlijke dechloreringsstappen van PCE tot etheen en de groei van *Desulfitobacterium* spp. en de aan *Desulfosporosinus* verwante bacteriesoort op de locatie Rademarkt. Deze (in drievoud uitgevoerde) batches met grondwater afkomstig van MON2 zijn op $t = 0$ gespiked met PCE (60.000 $\mu\text{g/l}$), methanol (2.500 mg/l) en compostextract (10.000 mg/l). Op regelmatige tijdsintervallen zijn de chlooretheencomponenten bepaald door middel van GC-analyses en zijn monsters genomen ten behoeve van de MPN-PCR-analyses.

In de waterbatches is direct na het toevoegen van de koolstofbron en elektronendonor methanol, de nutriënten (compostextract) en PCE, de reductieve dechlorering van PCE op gang gekomen en is alle PCE binnen 8 dagen volledig omgezet tot cis-DCE. Vervolgens is de gevormde cis-DCE met een lagere snelheid omgezet naar VC. Na drie weken zijn voor het eerst lage concentraties etheen gemeten, hetgeen betekent dat er inderdaad volledige dechlorering optreedt van PCE (zie fig. 16).

Nadat dechlorering van PCE tot cis-DCE heeft plaatsgevonden, worden significante hoeveelheden methaan geproduceerd, hetgeen impliceert dat de microbiële populatie PCE als elektro-

nenacceptor prefereert ten opzichte van CO₂. De dechlorering van cis-DCE tot etheen is echter veel langzamer verlopen dan de dechlorering van PCE tot cis-DCE. Mogelijk wordt voor de dechlorering van cis-DCE een andere koolstofbron, bijvoorbeeld acetaat wat onder anaërobe condities uit methanol kan worden gevormd, als elektronendonor gebruikt. Dit kan echter niet worden bevestigd, omdat er geen acetaatconcentraties zijn gemeten gedurende de looptijd van het experiment. Wel kan worden uitgesloten dat dechlorering van cis-DCE tot etheen eventueel wordt gestimuleerd door methanol. Op t = 49 dagen is extra methanol aan de waterbatches toegevoegd en dit heeft niet geresulteerd in een positief effect op de dechloreringsnelheid. Na een incubatieperiode van 62 dagen zijn de waterbatches afgebroken.

Uit de waterbatches zijn op 4 verschillende momenten (t = 0, t = 8, t = 49 en t = 62, zie fig. 16) monsters genomen ten behoeve van MPN-PCR-bacterietellingen van *Desulfitobacterium* spp. en de aan *Desulfosporosinus* verwante soort. Eventuele correlaties tussen de groei van één van beide bacteriesoorten en de afzonderlijke dechloreringsreacties zouden hierdoor in kaart kunnen worden gebracht, omdat op t = 8 dagen PCE volledig is omgezet tot cis-DCE en daarna cis-DCE pas verder wordt omgezet tot VC en etheen.

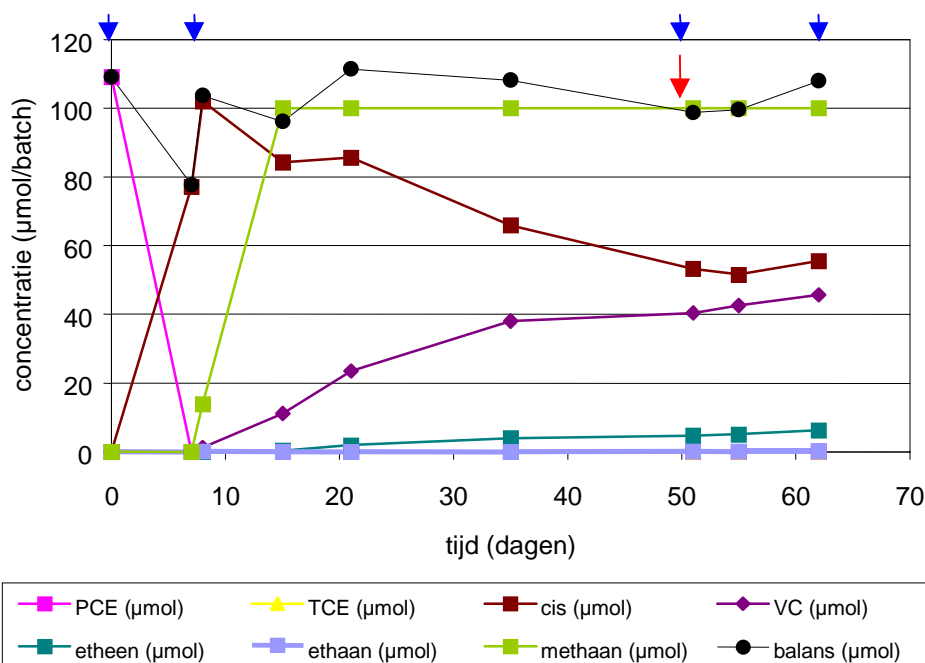


Fig. 16. Reductieve dechlorering van PCE in anaërobe waterbatch met grondwater afkomstig uit MON2 (9/03/2000), op t = 0 gespiked met 60.000 µg/l PCE, 2,5 g/l methanol en 10,0 g/l compostextract. De blauwe pijltjes geven de momenten aan waarop monsters zijn genomen ten behoeve van de MPN-PCR en de rode pijl geeft het moment aan waarop opnieuw g/l methanol is toegevoegd. De weergegeven data zijn gemiddelden van drie verschillende batches en de standaarddeviatie is altijd < 7,5.

De resultaten van de bacterietellingen, die zijn uitgevoerd in de waterbatches, zijn weergegeven in tabel 11. Tijdens de initiële dechlorering van PCE tot cis-DCE is het aantal *Desulfitobacterium* spp. met een factor 10 tot 100 toegenomen. Het lijkt er dus op dat de groei van deze bacteriesoort correleert met deze dechloreringsstap. De toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. zou echter ook alleen in verband kunnen staan met de consumptie van het toegevoegde substraat (methanol) en eventuele afbraakproducten ervan (acetaat); er zijn immers alleen aantallen organismen bepaald en niet de specifieke metabole activiteit die met dechlorering in verband zou kunnen worden gebracht. Nadat de gevormde cis-DCE voor circa 50 % is omgezet tot VC en

kleine hoeveelheden etheen, is de populatiegrootte nog ongewijzigd. Dit betekent niet dat de *Desulfitobacterium*-populatie niet betrokken is bij deze dechlorering. Enerzijds geven de bacterietellingen op zich geen informatie omtrent de bacteriële activiteiten, dus de activiteit die verantwoordelijk is voor de omzetting van cis-DCE tot VC en etheen kan wel degelijk door deze populatie worden uitgevoerd. Anderzijds kan er toch een toename in de populatiegrootte hebben plaatsgevonden, maar zolang deze toename kleiner is dan de resolutie van de meting kan dit onzichtbaar gebleven zijn. Na het toevoegen van de extra methanol is een zeer beperkte toename te zien in het aantal *Desulfitobacterium* spp, maar worden cis-DCE en VC niet versneld gedechlorerd. Dit duidt erop dat de *Desulfitobacterium*-populatie wel groeit en dat de dechlorering van cis-DCE tot VC en etheen niet wordt gestimuleerd door de toevoeging van methanol en de populatievergroting van het aantal *Desulfitobacterium* spp.

Tabel 11. Specifieke MPN-PCR-bacterietellingen van aan *Desulfosporosinus* spp. verwante bacteriën (16S rDNA-sequentie Rademarkt) en *Desulfitobacterium* spp. in waterbatches met grondwater afkomstig uit MON2 en gespiked met methanol, compostextract en PCE (60.000 µg/l).

incubatietijd waterbatch (dagen)	<i>Desulfitobacterium</i> spp. (aantal.ml ⁻¹)	16S rDNA-sequentie Rademarkt (aantal.ml ⁻¹)
0	5·10 ⁴ - 5·10 ⁵	5·10 ⁶ - 5·10 ⁷
8	5·10 ⁵ - 5·10 ⁶	5·10 ⁴ - 5·10 ⁵
49	5·10 ⁵ - 5·10 ⁶	5·10 ⁴ - 5·10 ⁵
62	6·10 ⁵ - 6·10 ⁶	6·10 ⁵ - 6·10 ⁶

Het aantal detecteerbare *Desulfosporosinus*-sequenties neemt zelfs af gedurende de initiële dechloreringsfase van PCE tot cis-DCE. Hiervoor is geen duidelijke reden aanwijsbaar. Immers, als de *Desulfosporosinus*-populatie niet groeit zou een gelijk aantal DNA-kopiën moeten worden gedetecteerd met behulp van de MPN-PCR-methode. Een afname kan alleen worden gemeten indien cellen lyseren (uit elkaar vallen), zodat het 16S rDNA niet meer kan worden gebruikt bij de PCR-reacties. Vervolgens blijft de populatie nagenoeg stabiel en is, net als bij de tellingen van *Desulfitobacterium* spp., pas na de toevoeging van extra methanol op t = 49 een toename te zien in de populatie met een factor 10 - 100. Dus ook wat betreft de *Desulfosporosinus*-sequenties geldt dat niet duidelijk is of, en in welke mate, deze bacteriesoort betrokken is bij de dechlorering, omdat de bacterietellingen geen informatie bevatten betreffende de metabole activiteiten. Daarnaast geldt ook in dit geval dat er toch een toename in de populatiegrootte kan hebben plaatsgevonden, maar dat deze niet meetbaar is vanwege de beperkte resolutie die gehaald wordt met de huidige opzet van de MPN-PCR-techniek.

Concluderend kan worden gesteld dat in waterbatches met grondwater afkomstig uit MON2, gespiked met methanol, compostextract en PCE, snelle initiële dechlorering plaatsvindt van PCE naar cis-DCE, waarna langzamere volledige dechlorering plaatsvindt van cis-DCE via VC tot etheen. De initiële dechlorering van PCE tot cis-DCE gaat vergezeld met een toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. Er is geen verband aangetoond tussen het aantal *Desulfosporosinus*-16S rDNA-sequenties en dechlorering van PCE, TCE, cis-DCE of VC.

6.13 Monitoringsresultaten inzake verspreiding

In tabel 12, 13, 14 en 15 zijn de resultaten weergegeven van de meetronden betreffende de chloor-etheenanalyses in de luchtfilters 213, L2, 203, L4 en L5, alsmede van de grondwaterfilters MON1, 215/1, 206 en 403. Deze filters zijn gemonitord teneinde zicht te kunnen houden op eventueel optredende verspreiding van verontreiniging in westelijke richting (onder de woonhuizen/winkels) als gevolg van de infiltratie.

Tabel 12. Overzicht van chlooretheenconcentraties van de nulmeting en meetronde 1 (concentraties lucht in mg/m³ en in grondwater in µg/l).

	nulronde				ronde 1			
	PCE	TCE	cis-DCE	VC	PCE	TCE	cis-DCE	VC
luchtfilter:								
213	38	9,3	4,1	< 0,3	-	-	-	-
L2	10	4,2	< 0,3	< 0,3	-	-	-	-
203	200	30	12	< 0,3	-	-	-	-
L4	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	-	-	-	-
L5	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	-	-	-	-
grondwaterfilter:								
MON1	290	250	1.100	7,3	260	230	620	2,5
215/1	1.600	500	890	< 2,0	160	88	140	5,8
206	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0	< 1,0	5,4	< 1,0	< 2,0
403	-	-	-	-	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0

Tabel 13. Overzicht van chlooretheenconcentraties van meetronde 2 en 3 (concentraties lucht in mg/m³ en in grondwater in µg/l).

	ronde 2				ronde 3			
	PCE	TCE	cis-DCE	VC	PCE	TCE	cis-DCE	VC
luchtfilter:								
213	140	33	25	2,5	140	30	19	< 0,3
L2	1,1	0,2	< 0,3	< 0,3	90	21	14	< 0,3
203	440	130	58	3,8	450	120	73	1,2
L4	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
L5	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
grondwaterfilter:								
MON1	600	570	1.700	< 2,0	920	750	1.400	5,2
215/1	26	9	1.800	7,2	7,8	5,1	1.400	5,2
206	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0
403	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0

Tabel 14. Overzicht van chlooretheenconcentraties van meetronde 4 en 5 (concentraties lucht in mg/m³ en in grondwater in µg/l).

	ronde 4 (24/12/1999)				ronde 5 (27/01/2000)			
	PCE	TCE	cis-DCE	VC	PCE	TCE	cis-DCE	VC
luchtfilter:								
213	110	21	9,1	< 0,3	77	15	13	0,4
L2	55	18	4,5	< 0,3	170	40	37	0,8
203	370	112	58	0,81	230	66	65	0,5
L4	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
L5	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
grondwaterfilter:								
MON1	610	480	2.700	< 2,0	150	140	1.400	39
215/1	< 1,0	< 1,0	1.600	8,9	< 1,0	< 1,0	15	< 1,0
206	< 1,0	1,1	1,9	< 2,0	< 1,0	2,3	6,2	< 2,0
403	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0

Tabel 15. Overzicht van chlooretheenconcentraties van meetronde 6 (concentraties lucht in mg/m³ en in grondwater in µg/l).

	ronde 6			
	PCE	TCE	cis-DCE	VC
luchtfilter:				
213	20	4,4	4,8	< 0,3
L2	52	10	10	1,9
203	24	7,5	9,6	< 0,3
L4	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
L5	< 0,3	< 0,3	< 0,3	< 0,3
grondwaterfilter:				
MON1	15	11	400	1.100
215/1	< 1,0	< 1,0	2,8	150
206	< 1,0	< 1,0	1,8	< 2,0
403	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 2,0

Uit de analyseresultaten van de meting in de onverzadigde zone (luchtfilters) blijkt dat er mogelijk risico bestaat voor overschrijding van de toelaatbare concentratie lucht (TCL-waarden) in de winkel en/of woonruimten ter hoogte van de luchtfilters 213, L2 en 203. Het verdient aanbeveling hier in een nader binnenluchtonderzoek aandacht aan te besteden. Er is ook aanvankelijk een toename te zien van de concentraties in meetronde 3 ten opzichte van meetronde 0 in de luchtfilters 213, L2 en 203. Met name bij luchtfilter L2 neemt de concentratie sterk toe. In meetronde 4 en 5 nemen de concentraties in de luchtfilters 213 en 203 weer af ten opzichte van de voorgaande meetronden en in meetronde 6 is de afname nog sterker. Dit is gerelateerd aan het verloop van de concentraties in het grondwater ter plaatse. In luchtfilter L2 neemt de concentratie in meetronde 5 toe, na een aanvankelijke daling in meetronde 4, maar in meetronde 6 is het niveau van meetronde 5 weer bereikt. Bij de luchtfilters L4 en L5 is geen sprake van een toename van concentraties.

Op basis van de concentraties in het grondwater kan worden gesteld dat deze na het opstarten van de infiltratie/onttrekking niet of nauwelijks zijn toegenomen, maar eerder zijn afgenomen. Bij de grondwaterfilters 206 en 403 is geen sprake van toename van concentraties in het grondwater.

In figuur 17 en 18 is het verloop van de concentratie in grondwater aan chloorethenen weergegeven in grondwaterfilter 215/1 en MON1. Bij grondwaterfilter 215/1 is een directe daling van de PCE- en TCE-concentraties waarneembaar, met een toename van de concentratie cis-DCE. Tussen meetronde 4 en 5 neemt de concentratie cis-DCE af, waarna VC sterk toeneemt. Bij grondwaterfilter MON1 is in meetronde 3 sprake van een stijging van de concentraties aan PCE, TCE en cis-DCE. Dit verklaart mogelijk ook de sterke toename van dezelfde verbindingen in het (hier dichtbij gelegen) luchtfilter L2. In meetronde 4, 5 en 6 daalt zowel de PCE-, TCE-, als cis-DCE-concentratie, onder vorming van VC. Bij beide filters is duidelijk een sequentieel patroon van reductieve dechloreringsproducten zichtbaar. Waarschijnlijk is hier ook sprake van een sterk dechlorerend effect als gevolg van het feit dat ook in het gebied rond deze filters elektronendonoren komen.

De aanvankelijk optredende verspreiding van verontreiniging in westelijke richting is waarschijnlijk 'gecorrigeerd' door reductieve dechlorering en hoeft derhalve niet tot directe verandering van het onttrekkings- en/of infiltratieregime te leiden.

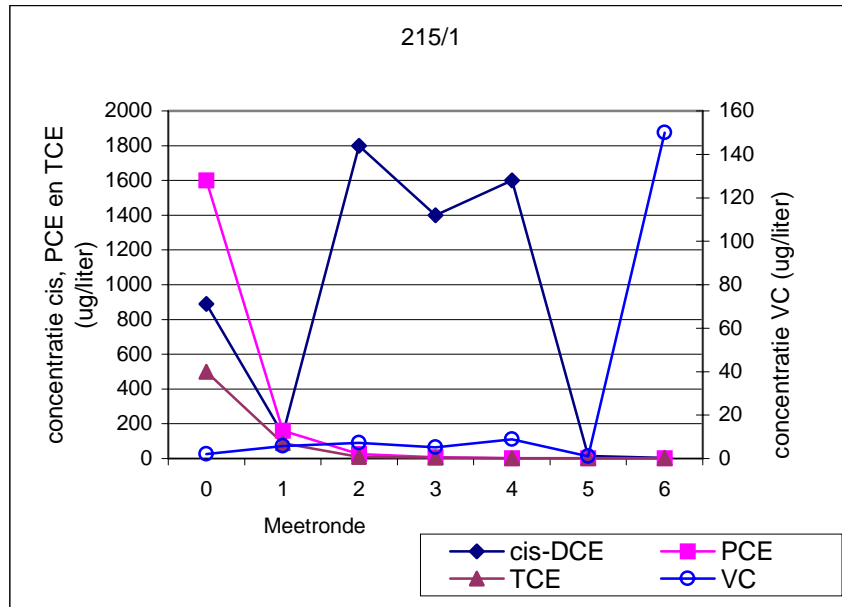


Fig. 17. Concentratieverloop van chloorethenen in grondwaterfilter 215/1.

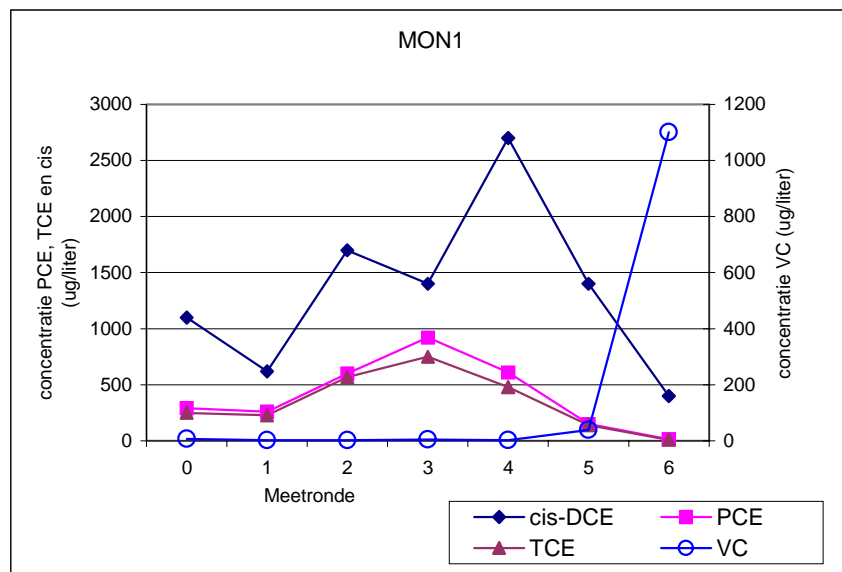


Fig. 18. Concentratieverloop van chloorethenen in grondwaterfilter MON1.

CONCLUSIES EN EVALUATIE

In dit rapport is verslag uitgebracht van de implementatiefase van het biorestauratieproject Rademarkt (juli 1999 tot april 2000). Het project heeft tot doel afbraak van de chlooretheenverontreiniging te realiseren door stimulering van de reductieve dechlorering door middel van het toevoegen van elektronendonoren aan het grondwater. Hiertoe is water van de locatie onttrokken, gemengd met een mengsel van methanol, compostextract en ammoniumchloride en vervolgens geïnfiltreerd in de chlooretheenverontreiniging.

De interpretatie van het afbraakproces op de Rademarkt is geschied op basis van verschuivingen in: concentraties, concentratieverhoudingen met de afbraakproducten (dechloreringsgraad), redoxchemie, bacterie-aantallen en een combinatie van deze gegevens.

Het neven doel van het project is de geschiktheid van de gebruikte monitoringsinstrumenten, en hun relatieve belang, voor monitoring en bijsturing van het stimuleringsproces aan te geven.

7.1 Conclusies

Ontwerp, sturing en onderhoud

De infrastructuur ter plaatse van de locatie is zeer sturend geweest wat betreft de mogelijkheden van plaatsing van het saneringssysteem, zowel boven- als ondergronds. Regelmatige informatieverstrekking van omwonenden van de locatie is hierbij van cruciaal belang gebleken voor een gestroomlijnde voorbereiding en uitvoering van het implementatieproject

In het centrale deel van systeem is een gebied aanwezig dat weliswaar doorstroming ondervindt als gevolg van de onttrekking, maar dat niet in de invloedssfeer ligt van de infiltratie. Het onttrekkingsregime zal worden aangepast, zodat dit gebied alsnog in de invloedssfeer komt van de elektronendonorvoorziening.

Uit de monitoringsresultaten tot nu toe is gebleken dat de infiltratie van grondwater met methanol/compostextract heeft geleid tot een zichtbare terugloop van de onttrekkings- en infiltratiecapaciteit van de filters, mede als gevolg van (mogelijk ijzersulfide-) neerslagen en vorming van biomassa. Deze terugloop in capaciteit is waarneembaar na circa 5 maanden infiltratie. Na afloop van de implementatieperiode (april 2000) zijn alle filters geregenereerd.

Rond het noordelijk deel van de infiltratie vindt verspreiding van verontreiniging plaats in westelijke richting. Uit de monitoringsresultaten blijkt echter dat hier eveneens dechlorering plaatsvindt met afname van de concentraties tot gevolg.

Redox- en dechloreringscondities

De redoxomstandigheden in de monitoringsfilters lopen bij de aanvang van het project uiteen van methanogeen, sulfaatreducerend, ijzerreducerend tot nitraatreducerend.

De redoxcondities veranderen als gevolg van de infiltratie van elektronendonor en worden sterker gereduceerd en zijn hierdoor gunstiger voor reductieve dechlorering.

De waterstofconcentraties zijn tijdens de infiltratie na meetronde 2 niet meer sterk gestegen. Dit zou er op kunnen wijzen dat qua redoxconditie een steady-state is bereikt, waarbij continu waterstof vrijkomt, zij het in lage concentraties.

Verontreinigingssituatie

In vrijwel alle monitoringsfilters in het invloedsgebied van de stimulering nemen de concentraties aan verontreiniging (PCE en TCE) in de loop van de tijd significant af en de volledig gedechlorerde eindproducten etheen en ethaan worden in toenemende mate geproduceerd.

De dechloreringsgraad stijgt in de tijd, ook in de onttrekkingsfilters, wat erop wijst dat afbraakprocessen optreden.

Modellering

Het met het simulatiemodel berekende verloop van de chloorethenensamenstelling van het opgepompte grondwater geeft een redelijke fit met de gemeten kwaliteit van het opgepompte grondwater. Op basis hiervan is ook een voorspellende berekening uitgevoerd van de kwaliteit van het onttrokken grondwater, waarbij na circa 2 jaar concentraties worden bereikt tot beneden 10 µg/l. Hierbij zijn relatief hoge afbraaksnelheden gevonden van 0,60 d⁻¹ (PCE), 0,80 d⁻¹ (TCE), 0,10 d⁻¹ (cis-DCE) en 0,15 d⁻¹ (VC).

Hierbij moet worden opgemerkt dat elke verandering in het onttrekkings- en/of infiltratie- en/of doseerregiem invloed heeft op de kwaliteit van het onttrokken en in situ grondwater en daarmee ook op de te bereiken nauwkeurigheid van de modellering. De modellering kan dan ook slechts worden gebruikt om een globaal beeld van de saneringsduur te schetsen.

Duidelijk is dat bij het nu ingezette regiem sprake is van relatief hoge afbraakconstanten zodat, ondanks een hoge verdelingscoëfficiënt, in relatief korte tijd een goed saneringsresultaat kan worden behaald. Nu de macrocondities gunstig zijn, kan mogelijk op korte termijn worden overgegaan op het toedienen van een lage onderhoudsdosis aan elektronendonor om het proces in gang te houden.

Bacterietellingen

Er bestaat over het algemeen een positief verband tussen het aantal *Desulfitobacterium* spp. geteld met behulp van de MPN-PCR-methode en de toename in dechlorerend vermogen binnen het stimuleringsgebied gemeten gedurende de gehele infiltratieperiode. Mogelijk dat andere micro-organismen ook zijn toegenomen door de aanwezigheid van elektronendonor, maar de totaalstellingen zijn niet uitgevoerd wegens het ontbreken van de geschikte primers.

Tijdens de implementatieperiode blijkt de groei van een andere bacteriesoort, die aan *Desulfitobacterium* spp. verwant is, eveneens gestimuleerd te worden. Uit 16S rRNA-sequentie-analyse is gebleken dat deze bacterie nauw verwant is aan *Desulfosporosinus orientus*.

Voor de infiltratieperiode is de fractie van het aantal aan de bodem gehechte *Desulfitobacterium* spp. over het algemeen hoger (factor 10 - 1000) dan de fractie vrij-levende cellen gemeten in het grondwater, terwijl aan het einde van de stimulering het omgekeerde het geval is. Dit kan mogelijk in verband worden gebracht met het opheffen van substraat- en/of nutriëntlimiterende condities in de bodem, omdat micro-organismen onder limiterende omstandigheden de neiging hebben zich te hechten.

In waterbatches met grondwater afkomstig van Rademarkt, gespiked met methanol, compost-extract en PCE, treedt een snelle initiële dechlorering op van PCE naar cis-DCE, waarna een langzamere dechlorering plaatsvindt van cis-DCE via VC tot etheen. De initiële dechlorering van PCE tot cis-DCE gaat vergezeld met een toename in het aantal *Desulfitobacterium* spp. Er is geen verband waargenomen tussen het aantal *Desulfosporosinus*-16S rDNA-sequenties en dechlorering van PCE, TCE, cis-DCE of VC.

7.2 Evaluatie van de monitoring

Er is in de opstartfase van Rademarkt een intensieve monitoring uitgevoerd om een gedegen inzicht te verkrijgen in de uitgangssituatie, uitspraken te doen omtrent het biodegradatiepotentieel en om de voortgang van het biorestauratieproces te volgen. Daarbij was een neven doel het relatieve belang van de afzonderlijke monitoringsinstrumenten te bepalen. Het uitgebreide monitoringspakket bestond uit de redoxparameters (zuurstof, nitraat, ijzer(II), mangaan(II), sulfaat, methaan en waterstof), TOC, alkaliniteit, nutriënten (N en P), verontreinigingen (chloorethenen), chloride, methanol en bacterietellingen van het aantal dechlorerende bacteriën (*Desulfitobacterium*-soorten).

Wat is nu de geschiktheid en het relatieve belang van de gebruikte monitoringsinstrumenten voor de monitoring en sturing van het stimuleringsproces? Er kan hierbij een tweedeling worden gemaakt in het hydrologische en het biologische systeem.

Hydrologische systeem

Voor kennis omtrent het hydrologische systeem is het van belang in de beginfase doorlatendheden te hebben bepaald en stijghoogtemetingen te hebben uitgevoerd. Daarbij is het nuttig een tracer te laten meelopen ter bepaling van het invloedsgebied van de infiltratie. Tijdens de stimuleringsfase moeten periodiek stijghoogtemetingen worden uitgevoerd, omdat daarmee verstoppingsproblemen kunnen worden getraceerd. Ook periodieke debietmetingen zijn hiervoor uiteraard van belang.

De bepaling van het organische stofgehalte op een aantal plaatsen in de verzadigde zone is onontbeerlijk voor de bepaling van verdelingscoëfficiënten. De hieruit voortkomende kennis omtrent het hydrologische systeem kan worden gebruikt als basis van een afbraakmodel, wat als voorspellend instrument voor het saneringsverloop kan worden toegepast.

Biologische systeem

Voor kennis omtrent het biologische systeem is het van belang vooral **voorafgaand** aan de stimulering breed te meten, omdat dan een goede indruk wordt verkregen van de heersende condities en het afbraakpotentieel. Dit betekent meting van (C)KW, macrochemie, nutriënten, waterstof en een MPN-PCR-bacterietelling in combinatie met een batchexperiment met grond, zowel in het te stimuleren gebied als in een referentiegebied.

Tijdens de stimuleringsfase zal in de eerste paar maanden nog een complete screening moeten worden uitgevoerd, waarbij steeds met name een macrochemische parameter kan komen te vervallen als blijkt dat deze componenten zijn verdwenen (nitraat, ijzer(II), mangaan(II)). Alkaliniteit is bij stimulering een ondergeschikte parameter en hoeft derhalve niet te worden bepaald.

Vervolgens kan worden overgegaan op een periodieke compacte screening met TOC (als tracer toe te passen voor de bepaling van het invloedsgebied van de elektronendonor), chloorethenen (en etheen, ethaan) en sulfaat. Hierbij zijn met name de macrochemische parameters sturend voor het systeem. Sulfaat kan met een eenvoudige colorimetrische methode worden bepaald. Bovendien correleert deze goed met methaan en waterstof, zodat deze laatste niet hoeven te worden bepaald.

De waterstofmeting blijkt in gestimuleerde omstandigheden minder geschikt te zijn voor het doen van uitspraken over de redox (en derhalve over de geschiktheid voor dechlorering) dan in natuurlijke (niet-gestimuleerde) omstandigheden.

In de compacte screening moet ook zo nu en dan een ijzerbepaling worden uitgevoerd in verband met mogelijke neerslagvorming. Als dit zichtbaar wordt kan een DAPI-kleuring worden uitgevoerd om te bekijken of er sprake is van chemische dan wel biologische vlokvorming.

Eén keer per jaar of bij een grote verandering in het stimuleringsregiem moet een complete meetronde worden uitgevoerd, waarbij ook voor de bepaling van de afbraakcapaciteit een waterbatch met MPN-PCR-bacterietelling moet worden meegenomen.

Nawoord

Door de combinatie van het meten van de verontreiniging, de afbraakproducten, de redoxchemie, het biodegradatiepotentieel en de bacteriesoorten die betrokken zijn bij de afbraak van de verontreiniging, zowel in veldmonsters als in waterbatches, kunnen uitspraken worden gedaan over de saneringsvoortgang. Mogelijk dat in de toekomst, door het monitoren van meerdere locaties, een gedegen referentiekader kan worden opgebouwd waarmee een link kan worden gelegd tussen de dechloreringsactiviteit en de aantallen specifieke bacteriën, de in situ waterstofgehalten en de macrochemie. Daarnaast wordt het mogelijk correlaties te leggen tussen de aantallen dechlorerende bacteriën, de afbraakcapaciteit, de redoxcondities en de afbraakactiviteit.

LITERATUUR

CUR/NOBIS, 1997.

Afbraak van per- en trichlooretheen onder sequentiële redoxomstandigheden - Fase 1: Deelresultaat 2-6: Veldkarakterisatie en laboratoriumexperimenten.

CUR/NOBIS-rapport 95-1-41, CUR/NOBIS, Gouda.

CUR/NOBIS, 1998.

Ontwerp en onderhoud van infiltratie- en onttrekkingsmiddelen - Eindrapport.

CUR/NOBIS-rapport 96-3-06, CUR/NOBIS, Gouda.

CUR/NOBIS, 1999a.

Afbraak van per- en trichlooretheen onder sequentiële redoxomstandigheden - Fase 2: Aanvullende kolomexperimenten en aërobe pilotproef.

CUR/NOBIS-rapport 95-1-41, CUR/NOBIS, Gouda.

CUR/NOBIS, 1999b.

Molecular monitoring of dechlorinating micro-organisms - Final report.

CUR/NOBIS-rapport 97-4-02, CUR/NOBIS, Gouda.

CUR/NOBIS, 1999c.

Hydrogen as indicator for in situ redox condition and dechlorination - Phase 1.

CUR/NOBIS-rapport 96.024, CUR/NOBIS, Gouda.

Dijk, J., J.A.M. de Bont, X. Lu, P. Becker, T.N.P. Bosma, H.H.M. Rijnaarts en J. Gerritse, 2000.

Anaerobic oxidation of (chlorinated) hydrocarbons.

Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds, Monterey.

EPA, 1998.

Technical protocol for evaluating natural attenuation of chlorinated solvents in groundwater.

600/R-98/128, Environmental Protection Agency, United States.

IWACO, 1999.

Actualisatieonderzoek grondwaterverontreiniging Rademarkt Groningen (GR-036-059).

IWACO, rapportnummer 2246980.

Liere, H. van, J. Gerritse en H.H.M. Rijnaarts, 1999.

Gecombineerde biologische afbraak van PER en BTEX - laboratoriumexperimenten in multiportkolommen.

TNO-rapport no. 99/044.

Robertson, W.J., P.D. Franzmann en B.J. Mee, 2000.

Spore-forming, *Desulfosporosinus*-like sulphate-reducing bacteria from a shallow aquifer contaminated with gasoline.

J. Appl. Microbiol. 88: 248-259.

BIJLAGE A

ONTWERPTEKENINGEN VAN DE INSTALLATIE

In deze bijlage zijn de volgende ontwerptekeningen opgenomen:

- Detail van de onttrekkingsbronnen 0798-DA-3-A
- Detail van het recirculatiefilter 0798-DA-2-B
- Flowsheet 0798-FA-3-C

BIJLAGE B

MONITORINGSCHEMA

BIJLAGE C

ACHTERGRONDINFORMATIE VAN DE MOLECULAIRE DETECTIE VAN MICRO-ORGANISMEN, MET BESCHRIJVING VAN DE METHODE VOOR DE BEPALING VAN MPN-PCR *DESULFITOBACTERIUM* spp., ALSMEDE EEN OVERDRUK VAN EEN PUBLICATIE VAN NOBIS-PIT-PROJECT 97-4-02

Technische achtergrond van moleculaire detectie

De moleculaire detectiemethode maakt gebruik van de voor iedere soort unieke DNA-base-volgorde van het 16S ribosomale RNA-gen, welke codeert voor het ribosomale RNA (rRNA), een bouwsteen van het ribosoom. Ribosomen zijn betrokken bij de eiwitsynthese en worden dus in grote hoeveelheden aangemaakt door actief groeiende (= eiwitsynthetiserende) micro-organismen. Zijn de cellen actief, dan kan met een fluorescent gelabelde moleculaire probe dit rRNA zichtbaar worden gemaakt. Dat wil zeggen dat we na hybridisatie in staat zijn hele fluorescerende cellen waar te nemen met de fluorescentiemicroscopie. Deze probes zijn korte stukjes complementair DNA, zogenaamde oligonucleotiden, die precies op de unieke code (door middel van waterstof-brugvorming) van het rRNA plakken. In de bodem groeien de cellen over het algemeen heel langzaam, doordat de micro-organismen slechts in beperkte mate kunnen beschikken over substraten en/of nutriënten. Ten gevolge hiervan is de concentratie rRNA sterk verlaagd in verband met de beperkte eiwitsynthese die in de cellen plaatsvindt. Met behulp van specifieke PCR (het kopiëren van geselecteerde stukjes DNA) kan dan het 16S rRNA-gen (= 16S rDNA) van het organisme waarin we geïnteresseerd zijn eerst worden vermeerderd. Vervolgens kan het PCR-product als bandje op een gel zichtbaar worden gemaakt. Door vóór deze specifieke PCR-reactie het uitgangsmateriaal (= DNA-extract uit veldmonster) te verdunnen, en alle verdunningen apart te onderwerpen aan de PCR-reactie, kan toch tot een goede inschatting worden gekomen van het aantal DNA-kopieën dat aanwezig was in het originele monster (Most Probable-Number-PCR).

Ten behoeve van de specifieke detectie van *Desulfitobacterium*-soorten is voor een zogenaamde 'nested PCR-aanpak' gekozen. Er wordt tweemaal een specifieke PCR uitgevoerd, zodat enerzijds de detectiegrens wordt verlaagd en anderzijds de specificiteit wordt verhoogd. De eerste PCR resulteert in een groot fragment (560 bp), met primers specifiek voor *Desulfitobacterium* spp. De eerste PCR wordt gevolgd door een tweede PCR op het onstane PCR-product, resulterend in een fragment van 225 baseparen (wederom met behulp van soort-specifieke primers). Door de PCR-producten van deze tweede PCR op agarose gel te elektroforeren kan zichtbaar worden gemaakt tot en met welke verdunning een product wordt verkregen. Afhankelijk van de gehanteerde detectielimiet en de pipetteerschema's die gevolgd zijn, kan dan worden uitgerekend hoeveel DNA-kopieën er aanvankelijk per gram (grondmonsters) of per milliliter (grondwatermonsters) aanwezig waren in het veldmonster. De detectielimiet kan echter per type monster (bodemtype, organisch stofgehalte, pH, enz.) verschillen, doordat de efficiëntie van de DNA-extractiemethode kan verschillen. Hierdoor moeten de uitkomsten uitsluitend als relatief worden beschouwd. Veranderingen in de tijd, bijvoorbeeld ten gevolge van een stimuleringsprogramma, kunnen echter wel in kaart worden gebracht. Significante toenames of afnamen in aantallen micro-organismen (> factor 10) kunnen dan worden gekwantificeerd, omdat bij onderlinge vergelijking van monsters waarbij dezelfde detectielimieten worden gehanteerd dezelfde 'meetfouten' zullen worden gemaakt. In figuur C1 is het basisprincipe van de 'nested PCR' weergegeven en in tabel C1 zijn details van de gebruikte primersets weergegeven.

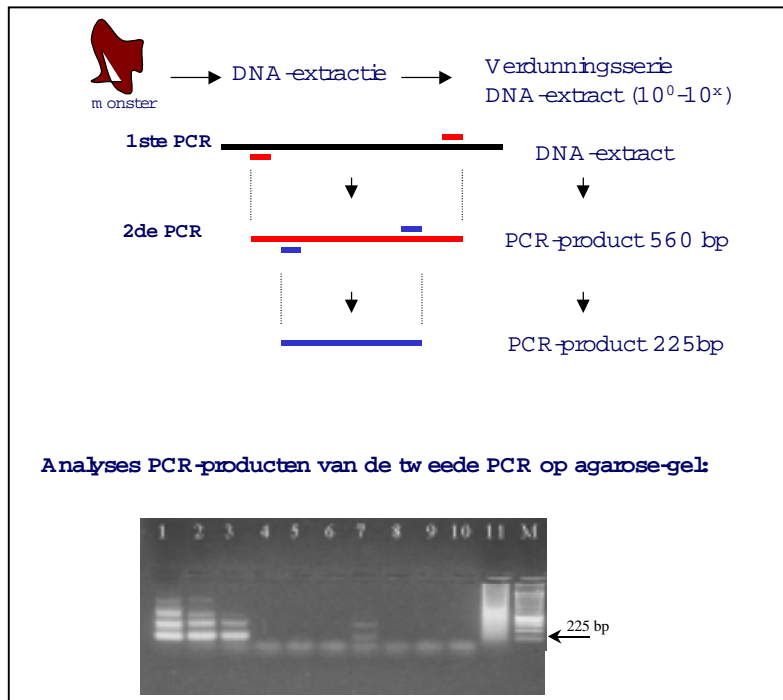


Fig. C1. Schematische weergave van een 'nested PCR' voor de specifieke detectie van *Desulfitobacterium* spp.

Tabel C1. Primers specifiek voor het 16S rRNA van *Desulfitobacterium* spp.

primer	lengte (bp)	annealing temperatuur (°C)	positie (E.coli nummering)	sequentie (5' → 3')
A1F	20	59	114 - 133	TAACGCGTGGATAACCTACC
A4R	20	59	648 - 667	CCTCTCCTGTCCTCAAGATA
N3F	21	63	406 - 426	GTACGACGAAGGCCTTCGGGT
N1R	20	63	610 - 619	CCCAGGGTTGAGCCCTAGGT

In figuur C2 is een vergrote weergave van een agarose gel te zien waarop in laan 1 t/m 6 de PCR-producten zijn gebracht van de eerste 6 verdunningen van een grondwatermonster.

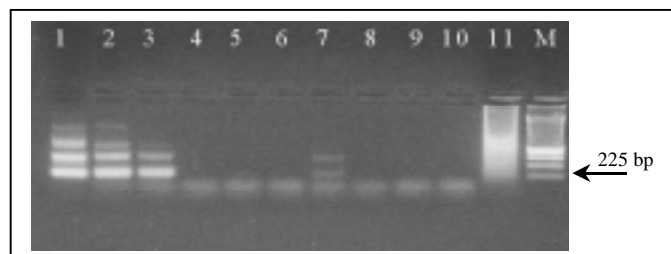


Fig. C2. Voorbeeld van een ethidium-bromide gekleurde agarose gel. Laan 1 t/m 6: PCR-producten van verdunning 100 - 105 van grondwatermonster 1; laan 7 t/m 9: PCR-producten van verdunning 100 - 102 van grondwatermonster 2; laan 10: negatieve controle; laan 11: positieve controle; M = marker.

Het is goed te zien dat bij de verdunningen 1 t/m 3 PCR-producten zijn verkregen en dat bij de verdunningen 4 t/m 6 geen PCR-producten worden gedetecteerd. Maximaal zijn er 4 bandjes

waar te nemen per laantje. Alleen het bandje ter grootte van 225 bp wordt gebruikt voor de telling van het aantal *Desulfitobacterium*-soorten. De overige 3 bandjes, die alle groter zijn dan 225 bp, ontstaan tijdens de PCR ten gevolge van 'kruisreacties' van de twee primersets. Dus een PCR-product van primerpaar A1F/A4R, een PCR-product van de primers A1F/N1R en van de primers N3F/A4R, en een PCR-product van primerpaar N3F/N1R.

Binnen het NOBIS-PIT-project (97-4-02) is deze MPN-PCR-techniek met succes uitgevoerd op reïnculturen van *Desulfitobacterium* spp. en op grondmonsters die zijn beënt met *Desulfitobacterium* spp. Daarnaast zijn monsters van enkele NOBIS-locaties, waaronder de locatie Rademarkt, geanalyseerd met deze techniek. De eerste resultaten waren veelbelovend en gaven aan dat de methode in met PCE verontreinigde grond toepasbaar is.

BIJLAGE D

**BOORPROFIELEN VAN ONTTREKKINGS-, INFILTRATIE- EN
MONITORINGSFILTERS**

BIJLAGE E

SONDEERDIAGRAMMEN

BIJLAGE F

ANALYSECERTIFICAAT VAN COMPOSTEXTRACT (TELLUS)

BIJLAGE G

RESULTATEN VAN DIVERMETINGEN EN DEBIETEN IN DE OPSTARTFASE

BIJLAGE H

RESULTATEN VAN DE NULRONDE EN MEETRONDE 1, 2, 3, 4, 5, 6 EN 7

BIJLAGE I

BEREKENINGEN VAN VERDELINGSCOËFFICIËNTEN EN RETARDATIEFACTOREN

BIJLAGE J

RUIMTELIJKE WEERGAVE VAN PCE-CONCENTRATIES VAN MEETRONDE 1 EN 7

BIJLAGE K

**RUIMTELIJKE WEERGAVE VAN ETHEEN- + ETHAANCONCENTRATIES VAN
MEETRONDE 1 EN 7**

BIJLAGE L

**RUIMTELIJKE WEERGAVE VAN DE DECHLORERINGSGRAAD VAN
MEETRONDE 1 EN 7**

BIJLAGE M

**RESULTATEN VAN DE CARROUSELBEMONSTERING
(11 FEBRUARI - 21 MAART 2000)**

BIJLAGE N

**RESULTATEN VAN DIVERMETINGEN IN DE PERIODE VAN
14 DECEMBER 1999 TOT 28 JANUARI 2000**

BIJLAGE O

FIGUREN 1 T/M 8

In deze bijlage zijn de volgende figuren opgenomen:

- Fig. 1. Overzicht van de locatie 22.4579.0-T-005, versie A.
- Fig. 2a. Perchlooretheen en trichlooretheen in het eerste watervoerende pakket 22.4579.0-T-008, versie A.
- Fig. 2b. Dichlooretheen en vinylchloride in het eerste watervoerende pakket 22.4579.0-T-007, versie A.
- Fig. 2c. BTEX en benzeen in het eerste watervoerende pakket 22.4579.0-T-006, versie A.
- Fig. 3. Overzicht van het ontwerp 22.4579.0-T-009, versie A.
- Fig. 4. Overzicht van monitorings-, onttrekkings- en infiltratiefilters 22.4579.0-T-010, versie C.
- Fig. 5. Stijghoogte van het grondwater (m + NAP) voor de aanvang van de proefonttrekking en proefinfiltratie d.d. 6 september 1999.
- Fig. 6. Stijghoogte van het grondwater (m + NAP) tijdens de proefonttrekking en proefinfiltratie d.d. 10 september 1999.
- Fig. 7. Stijghoogte van het grondwater (m + NAP) tijdens de proefonttrekking en proefinfiltratie d.d. 13 september 1999.
- Fig. 8. Stijghoogte van het grondwater (m + NAP) tijdens de onttrekking en infiltratie d.d. 4 en 5 november 1999.