

**TOEPASSING VAN EENVOUDIGE BIO-AUGMENTATIE
TECHNIEKEN VOOR CHLOORETHENEN
VERONTREINIGINGEN**

SKB project PT 7436

Eindrapport

Opdrachtgever: SKB
Projectcode: 2007.2973/5840
Datum: 21 november 2008

Opdrachtgever: SKB
Projecttitel: Toepassing van eenvoudige bio-augmentatie technieken voor chloorethenen verontreinigingen (PT 7436)

Projectcode: 2007.2973/5840
Documenttype: Eindrapport
Publicatiedatum: 21 november 2008
Projectleider: Ir. S.H. Lieten
Auteur(s): Ir. S.H. Lieten, Ir. J.B.M. van Bommel

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

Bioclear werkt met het INK kwaliteitssysteem (Instituut Nederlandse Kwaliteit), een managementmodel, dat is afgeleid van het Europese EFQM Excellence model. Bioclear beschikt over het procescertificaat BRL SIKB 6000, VKB-protocol 6002.



De kaft van het rapport is gemaakt van herbruikbaar polypropyleen

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

© Bioclear b.v.

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

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

INHOUDSOPGAVE

1. INLEIDING	1
1.1. Inleiding	1
1.2. Doel van het project	2
1.3. Leeswijzer	2
2. ACHTERGROND INFORMATIE	3
2.1. Meerwaarde van bio-augmentatie	3
2.2. Gekozen technieken voor het inbrengen van hulpstoffen	5
2.3. Gekozen pilotlocaties	5
2.3.1. Hoofdstraat West 92 in Uithuizen	5
2.3.2. Parkstraat 121 in Sappemeer	8
3. OPZET VAN HET PROJECT EN UITGEVOERDE WERKZAAMHEDEN	10
3.1. Inleiding	10
3.2. Opkweken dechlorerende bacteriën	10
3.3. Hoofdstraat West in Uithuizen	11
3.3.1. Nulronde monitoring	11
3.3.2. Pilot	12
3.3.3. Monitoringsrondes volgen verloop van de pilot (1, 2, 3 en 4)	14
3.3.4. Afbraaktest	15
3.4. Parkstraat 121 in Sappemeer	15
3.4.1. Nulronde monitoring	15
3.4.2. Pilot	16
3.4.3. Monitoringsrondes volgen verloop van de pilot (1, 2, 3 en 4)	18
3.4.4. Afbraaktest	18
4. RESULTATEN	20
4.1. Hoofdstraat West 92, Uithuizen	20
4.1.1. Nulronde monitoring	20
4.1.2. Pilot	21
4.1.3. Monitoring voortgang pilot	21
4.2. Afbraaktest	27
4.3. Sappemeer	28
4.3.1. Nulronde monitoring	28
4.3.2. Pilot	29
4.3.3. Monitoring voortgang pilot	30
4.3.4. Afbraaktest	33
5. DISCUSSIE	35
5.1. Discussie Uithuizen	35
5.2. Discussie Sappemeer	36
5.3. Vergelijking van de dechloreringsnelheden van de locaties Uithuizen en Sappemeer	37
5.4. Vergelijking van de toegepaste doseringstechnieken	38
5.5. Verspreiding en groei van <i>Dehalococcoides</i> sp	38
5.6. Vergelijking tussen labtesten en veldtesten Uithuizen en Sappemeer	39
6. TOEGEVOEGDE WAARDE VAN EENVOUDIGE BIO-AUGMENTATIE	40
6.1. Vergelijking van de pilotresultaten met andere in-situ dechloreringsprojecten	40
6.2. Kosten van eenvoudige bio-augmentatie	41
6.3. Benodigde hoeveelheid dechlorerende bacteriën	41
6.4. Toepasbaarheid eenvoudige bio-augmentatie technieken	42
6.5. Saneringsduur	42
6.6. Randvoorwaarden voor toepassen van bio-augmentatie	43
7. SAMENVATTING EN CONCLUSIES	44

BIJLAGEN

Bijlage 1. Pilotlocatie Uithuizen met verontreinigingscontour en uitgevoerde pilot werkzaamheden

Bijlage 2. Pilotlocatie Sappemeer met verontreinigingscontour en de uitgevoerde pilot werkzaamheden

Bijlage 3. Informatie over DNA technologie en berekeningsmethode VC en etheen vormingssnelheid

Bijlage 4. Model van de verspreiding van koolstofbron op de locatie Sappemeer

Bijlage 5. Foto's van uitgevoerde werkzaamheden in Uithuizen

Bijlage 6. Uitkomsten koolstofbronbalans en biomassabalans berekeningen

Bijlage 7. Monitoringsresultaten pilot Uithuizen

Bijlage 8. Verloop afbraaktesten locatie Uithuizen

Bijlage 9. Foto's van de uitgevoerde werkzaamheden in Sappemeer

Bijlage 10. Monitoringsresultaten pilot Sappemeer

Bijlage 11. Verloop afbraaktesten van de locatie Sappemeer

Bijlage 12. Kosten berekeningsheet voor het toepassen van bio-augmentatie

Bijlage 13. Berekening van benodigde hoeveelheid dechlorerende bacteriën

1. INLEIDING

1.1. Inleiding

Biologisch in-situ saneren van bodems met PER en TRI wordt de laatste jaren met succes toegepast. Biologisch saneren wordt in de praktijk vaak uitgevoerd door het doseren van koolstofbron, waardoor de van nature aanwezige bacteriepopulatie wordt gestimuleerd. Volgens ervaringen in binnen- en buitenland kan de snelheid en effectiviteit van de sanering positief worden beïnvloed door naast een koolstofbron ook een actieve dechlorerende bacteriepopulatie met *Dehalococcoides* sp. aan de bodem toe te voegen. Deze saneringstechniek wordt bio-augmentatie genoemd. Met bio-augmentatie zijn in Nederland reeds positieve resultaten bereikt middels het TCE-concept.

Het TCE-concept bestaat uit een mobiele bioreactor, aangesloten op een infiltratie- en onttrekkingssysteem, waarmee substraat en bacteriën in de bodem worden aangebracht. De ervaring op meerdere saneringslocaties leert dat met dit concept de verontreiniging snel (binnen een half jaar tot een jaar) en effectief (tot lage eindconcentraties, minder dan de tussenwaarde) kan worden afgebroken. Het is van belang hierbij te vermelden dat in meerdere voorgaande projecten, inclusief SKB project SV-058 en projecten met het TCE-concept, is vastgesteld dat *Dehalococcoides* sp. met het grondwater in de bodem verspreid kan worden en tot afbraak van de verontreiniging leidt.

Er zijn echter ook locaties waar bio-augmentatie wenselijk of noodzakelijk is, maar waar vanwege de lokale situatie het toepassen van het TCE-systeem niet kosteneffectief of mogelijk is. Dit zijn locaties waar bijvoorbeeld sprake is van een compacte (diepe) bronzone, van een matig/slecht waterdoorlatend bodempakket of waar al een grondwateronttrekkings-systeem in bedrijf is, maar waar het nieuw aanleggen van infrastructuur voor een TCE-systeem te kostbaar is. Weinig fysieke ruimte op een locatie kan de toepassing van het TCE-concept ook belemmeren. Op dergelijke locaties is het doseren van een geconcentreerde bacteriekweek (tezamen met een koolstofbron) met eenvoudige technieken een geschikte oplossing. Hierbij kan gedacht worden aan bijvoorbeeld het direct injecteren van de bacteriekweek, het toepassen van push-pull of gebruik maken van doseerfilters in een bestaand grondwateronttrekkings-systeem.

Bioclear heeft in de afgelopen anderhalf jaar een eigen methode ontwikkeld voor het kweken van *Dehalococcoides* sp. in hoge dichtheden (10^8 cellen *Dehalococcoides* sp. per ml). Vanwege deze hoge dichtheid kan de bacteriekweek vele malen worden verdund zonder zijn werkzaamheid te verliezen. Hierdoor kan met een klein volume van de kweek een relatief groot bodemvolume worden gestimuleerd.

In het kader van SKB project "Toepassing van eenvoudige bio-augmentatie technieken voor chloorethenen verontreinigingen" zijn op twee locaties eenvoudige bio-augmentatie pilots uitgevoerd om de haalbaarheid hiervan te testen. Deze werkzaamheden zijn opgestart na opdrachtverlening van SKB (kenmerk PT7436_F_07_23792, d.d. 10 juli 2007). De werkzaamheden zijn uitgevoerd conform het projectvoorstel (kenmerk 2007.2973/4663, d.d. 28 februari 2007) het basisproject plan (kenmerk 2007.2973/4827 d.d. 4 juni 2007).

1.2. Doel van het project

Het doel van het SKB project is het aantonen van de mogelijkheid tot snel, eenvoudig en kosteneffectief biologisch saneren van PER en TRI met behulp van in het laboratorium gekweekte dechlorerende bacteriën (*Dehalococcoides* sp.) op locaties waar de omstandigheden voor biologische afbraak van de VOCl verontreiniging van nature ongunstig zijn. Daartoe zijn twee verschillende doseertechnieken voor het uitvoeren van bio-augmentatie nader beschouwd. Om de toepasbaarheid en effectiviteit van de techniek aan te tonen zijn op twee verschillende locaties bio-augmentatie pilots uitgevoerd.

1.3. Leeswijzer

In hoofdstuk 2 is achtergrond informatie gegeven met betrekking tot het concept bio-augmentatie. Eveneens is in dit hoofdstuk informatie zoals bodemopbouw en verontreinigingssituatie gegeven van de twee pilotlocaties.

In hoofdstuk 3 is de opzet van het project en een beschrijving van de uitgevoerde werkzaamheden gegeven. De resultaten zijn in detail beschreven in hoofdstuk 4. In hoofdstuk 5 zijn de behaalde resultaten voor beide locaties weergegeven. Hierbij is een vergelijking gemaakt tussen beide toegepaste technieken. In hoofdstuk 6 zijn de resultaten van de pilot vergeleken met de resultaten van een aantal andere biologische in-situ projecten. Het laatste hoofdstuk geeft een samenvatting en conclusies van het project.

2. ACHTERGROND INFORMATIE

2.1. Meerwaarde van bio-augmentatie

Bio-augmentatie is het doseren van bacteriën in het grondwater van een verontreinigde bodem. Het betreft specifieke bacteriën die in staat zijn de verontreiniging af te breken. Hierbij dienen naast de benodigde bacteriën voedingstoffen aan de bodem gedoseerd te worden waardoor de optimale omstandigheden voor afbraak van de verontreiniging ontstaan. In het huidige project is VOCl als verontreiniging beschouwd. Voor de volledige afbraak van tetrachlooretheen (PER) is de aanwezigheid van *Dehalococcoides* sp. benodigd. *Dehalococcoides* sp. is voor zover bekend de enige groep micro-organisme die in staat is PER volledig om te zetten in de onschadelijke eindproducten etheen en ethaan. Dit proces wordt reductieve dechlorering genoemd.

Bio-augmentatie van een VOCl verontreiniging kan gebruikt worden indien er op een locatie geen dechlorerende bacteriepopulatie aanwezig is. Deze situatie doet zich vaak voor op locaties waar de VOCl verontreiniging nagenoeg volledig bestaat uit het oorspronkelijk product (PER en/of TRI). Uit ervaring van Bioclear blijkt dat in arme zandbodems vaak geen dechlorerende bacteriën aanwezig zijn. Het toepassen van bio-augmentatie in deze situaties heeft een meerwaarde doordat door toepassen van bio-augmentatie afbraak van de verontreiniging alsnog mogelijk is.

Indien dechlorerende bacteriën in lage concentraties (of slechts plaatselijk) aanwezig zijn kan bio-augmentatie eveneens zinvol zijn. In dat geval kan de saneringsduur eventueel verkort worden door het toepassen van bio-augmentatie. In dit geval is een belangrijke motivatie voor het toepassen van bio-augmentatie dat de afbraak hierdoor sneller verloopt. Dit kan met name van groot belang zijn bij projecten waarin snel resultaat geboekt moet worden; bijvoorbeeld (her)ontwikkelingsprojecten.

Met bio-augmentatie zijn in Nederland reeds positieve resultaten bereikt middels het TCE-concept. Dit concept bestaat uit een mobiele bioreactor, aangesloten op een infiltratie- en onttrekkingssysteem, waarmee substraat en bacteriën in de bodem worden aangebracht. De ervaring op meerdere saneringslocaties leert dat met dit concept de verontreiniging snel (binnen een half jaar tot een jaar) en effectief (tot lage eindconcentraties, minder dan de tussenwaarde) kan worden afgebroken. In meerdere voorgaande projecten, inclusief SKB project SV-058 en projecten met het TCE-concept, is vastgesteld dat *Dehalococcoides* sp. met het grondwater in de bodem verspreid kan worden. Daarbij is vastgesteld dat dit leidt tot volledige afbraak van de verontreiniging.

Het TCE-concept is met name kosteneffectief voor grotere saneringslocaties waarbij de verontreiniging zich in een goed waterdoorlatend zandpakket bevindt. Er zijn echter ook locaties waar bio-augmentatie wenselijk of noodzakelijk is, maar waar vanwege de lokale situatie het toepassen van het TCE-concept niet kosteneffectief mogelijk is. Dit zijn locaties waar bijvoorbeeld sprake is van een compacte (diepe) bronzone, van een matig of slecht waterdoorlatend bodempakket of waar al een grondwateronttrekkingssysteem in bedrijf is, maar waar het nieuw aanleggen van infrastructuur voor een TCE-concept te kostbaar is. Daarnaast kan het gebrek aan voldoende fysieke ruimte ook een belemmering zijn voor het toepassen van het TCE-concept.

Samenvattend is met name een toegevoegde waarde van eenvoudige bio-augmentatie technieken te verwachten in de volgende situaties:

- aanpak van kleinere locaties (wasserijen bijvoorbeeld), bijvoorbeeld intensieve aanpak van een kleine pluim met hoge concentraties VOCl;
- aanpak van diepe VOCl verontreinigingen van beperkte omvang, waarin geen natuurlijke afbraak optreedt, door toepassing van eenvoudige doseersystemen;
- locaties waar de afbraak bij CIS stopt, zodat de sanering stagneert;
- "upgrade" van stagnerende of langzaam verlopende biologische saneringen;
- locaties waar afbraak snel op gang gebracht moet worden (ontwikkelingslocaties);
- locaties die op korte termijn bebouwd zullen worden en waar een hoge slagingskans voor de bodemsanering benodigd is;
- sterk naleverende restverontreinigingen op nazorglocaties.

Op dergelijke locaties is het doseren van een geconcentreerde bacteriekweek (samen met een koolstofbron) met eenvoudige technieken een geschikte oplossing. Hierbij kan gedacht worden aan bijvoorbeeld het direct injecteren van de kweek, het toepassen van push-pull van een oplossing of gebruik maken van infiltratiefilters in een bestaand grondwateronttrekkingssysteem. Bij de push-pull techniek wordt grondwater onttrokken, er worden bovengronds hulpstoffen (bijvoorbeeld koolstofbron en bacteriën) aan toegevoegd en het grondwater wordt op dezelfde plek weer geïnfilteerd.

De met reductieve dechlorering te behalen terugsaneerwaarde ligt erg laag, aangezien de biologische processen doorgaan totdat de verontreiniging weg is. In de praktijk is gebleken dat concentratiereductie tot tussenwaarde-niveau vaak haalbaar is. VOCl verontreinigingen bevinden zich niet alleen in het grondwater, maar zijn in meer of mindere mate ook aan de bodem gehecht. Daarbij bestaat er een evenwichtsrelatie tussen de verontreiniging in grond en grondwater. De afbraak van de verontreiniging vindt plaats in de waterfase. Hierdoor neemt de concentratie in de waterfase af, waardoor de geadsorbeerde verontreiniging versneld in oplossing gaat. Door dit effect van versnelde adsorptie heeft biologische afbraak van VOCl ook een sanerend effect op de grondverontreiniging. Uiteraard geldt dit alleen voor grondverontreiniging met VOCl in de verzadigde zone van de bodem.

Hoge concentraties PER en TRI kunnen worden afgebroken en zijn geen belemmering voor de techniek. Uit de praktijk is gebleken dat zelfs de aanpak van beperkte hoeveelheden residueel puur product tot de mogelijkheden van biologische afbraak behoort. Met reductieve dechlorering is dus een aanzienlijke risico-reductie te behalen.

Het positieve milieu-effect van het toepassen van bio-augmentatie komt vooral tot uiting in het saneringsresultaat dat behaald kan worden. Ten opzichte van alternatieve technieken (pump&reat, in-situ chemische oxidatie of electroreclamatie) is de techniek duurzaam en energiezuinig en er worden geen andere milieucompartimenten verontreinigd. De techniek is duurzaam omdat de energiebehoefte erg laag is en chemicaliën gebruikt worden die niet toxisch, agressief of milieubelastend zijn. In veel gevallen kan de overlast voor de omgeving beperkt blijven en zijn de risico's op contact met de verontreiniging of andere gevaarlijke stoffen gering. In het algemeen is biologische sanering zeer kosteneffectief ten opzichte van andere saneringswijzen (pump&reat, ISCO, electroreclamatie). Door de toepassing van bio-augmentatie wordt de toepasbaarheid en effectiviteit van biologisch in-situ saneren verder vergroot.

2.2. Gekozen technieken voor het inbrengen van hulpstoffen

Bioclear heeft in de afgelopen twee jaren een eigen methode ontwikkeld voor het opkweken van *Dehalococcoides* sp. in hoge dichtheden (10^8 cellen *Dehalococcoides* sp. per ml). Vanwege deze hoge dichtheid kan de bacteriekweek vele malen worden verdund zonder zijn werkzaamheid te verliezen. Hierdoor kan met een klein volume van de kweek een relatief groot bodemvolume worden gestimuleerd. Hierbij zijn efficiënte technieken vereist waarmee de kweek in de bodem wordt verspreid.

In dit project is op twee verschillende locaties een bio-augmentatie pilot uitgevoerd waarbij eenvoudige doseertechnieken zijn gebruikt. De pilots zijn uitgevoerd op twee locaties in de provincie Groningen: de locatie Hoofdstraat West 92 te Uithuizen en de locatie Parkstraat 121 in Sappemeer.

Op de locatie te Uithuizen zijn de gekweekte bacteriën samen met een geschikte koolstofbron middels directe injectie aan de bodem toegevoegd. Op de locatie te Sappemeer zijn de gekweekte bacteriën aan de bodem toegevoegd door middel van een eenvoudig onttrekkings- en infiltratiesysteem.

Door middel van grondwatermonitoring is het effect op de biologische afbraak op beide locaties gemonitord en vastgesteld. Omdat een dubbele veldtest niet mogelijk is, zijn naast de pilots laboratorium experimenten uitgevoerd om de toegevoegde waarde van bio-augmentatie ten opzichte van het alleen toedienen van koolstofbron vast te stellen. De laboratorium experimenten zijn uitgevoerd met grond en grondwater van beide locaties (Uithuizen en Sappemeer).

2.3. Gekozen pilotlocaties

In vooronderzoek (optimalisatieplan en/of saneringsonderzoek) is voor beide locaties aangegeven dat bio-augmentatie benodigd is. Beide locaties zijn verontreinigd met gechloreerde ethenen (VOCI), de verontreinigingsconcentraties zijn op beide locaties verschillend. Wat betreft de bodemopbouw (zand) en natuurlijke condities (matig gereduceerd) zijn de locaties vergelijkbaar. De doorlatendheid van de bodem in Uithuizen (circa 1 m/dag) is lager dan de doorlatendheid in Sappemeer (circa 8 m/dag). De redoxpotentiaal in Uithuizen is hoger (minder gereduceerd) dan in Sappemeer; respectievelijk +53 en -76 mV. Op locaties met lage doorlatendheid (indicatie: < 1 m/dag) is onttrekken en infiltreren in het algemeen niet mogelijk en is directe injectie de meest aangewezen doseertechniek.

2.3.1. Hoofdstraat West 92 in Uithuizen

Locatie informatie en de verontreinigingssituatie

Op de locatie Hoofdstraat West 92 in Uithuizen heeft van 1961 tot circa 1972 een chemische wasserij gestaan. De locatie is verontreinigd met gechloreerde ethenen. In figuur 1 is een foto van de locatie weergegeven.

De oppervlakte van het verontreinigde terrein is 585 m² en het terrein is momenteel braakliggend. De verontreiniging bevindt zich in het traject tussen 4-14 m-mv, het verontreinigd bodemvolume bedraagt circa 5.850 m³. De hoogst gemeten concentraties aan verontreiniging bedragen 21.000 µg/l aan PER (peilbuis 12.13 op 7-8 m-mv gemeten in 2003), 5.100 µg/l aan TRI en 6.800 µg/l aan CIS (peilbuis 12.13 op 7-8 m-mv gemeten in 2001). De verontreinigingscontour is weergegeven in bijlage 1.



Figuur 1. Pilotlocatie Uithuizen

Bodemopbouw en geohydrologie

Het maaiveld bevindt zich op NAP +3 m. De bodemopbouw op de locatie is weergegeven in tabel 1. Het grondwaterpeil varieert tussen NAP +0,3 en 1,4 m. De stromingsrichting is noordelijk gericht en bedraagt circa 2 m/jaar. De doorlatendheid van de bodem bedraagt circa 1 m/dag. Tussen 4-8 m-mv stroomt het grondwater voornamelijk neerwaarts zodat er sprake is van een inzijgingssituatie.

Tabel 1. Bodemopbouw

Diepte (m-mv)	Samenstelling
0,0-0,5	Fijn zand, plaatselijk zandige klei, puinhoudend
0,5-4,5	Zeer fijn zand, matig siltig, plaatselijk zandige kleilagen
4,5-18,4	Zeer fijn zand, matig siltig, plaatselijk kleiige zandlagen
18,4-19,5	Klei, veenhoudend (dikte varieert tussen 1 en 5 m)
> 19,5	Fijn zand

Historische informatie met betrekking tot de uitgevoerde saneringswerkzaamheden

In 1972 zijn de activiteiten van de chemische wasserij gestaakt. In 1997 is het pand gesloopt, is de bronzone ontgraven tot circa 3-4 m-mv en is een geohydrologisch beheerssysteem (op 10-15 m-mv) opgestart. De geohydrologische beheersing heeft echter niet goed gefunctioneerd en is uit werking genomen.

Mogelijkheden voor biologische afbraak

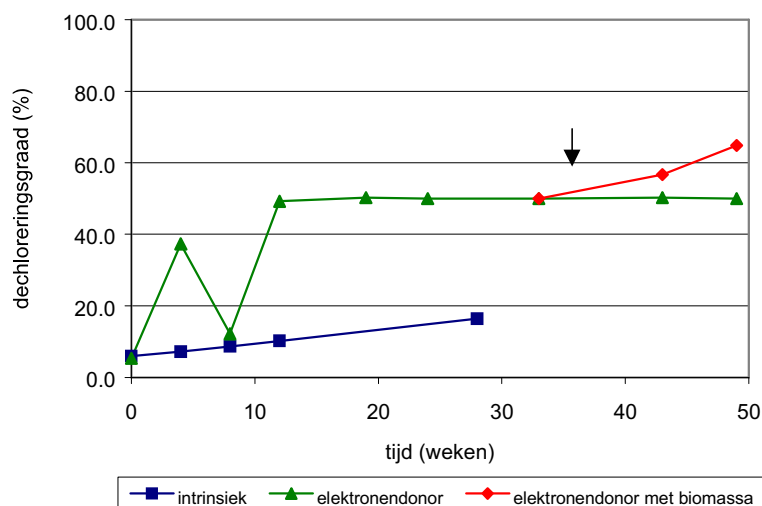
In eerder onderzoek (Bioclear rapport 2002.1794/2048 d.d. 28 januari 2004) is op de locatie Hoofdstraat West in Uithuizen *Dehalococcoides* alleen aangetroffen in het diepe grondwater (zie tabel 2). De omstandigheden zijn hier gunstig voor natuurlijke afbraak. Dit in tegenstelling tot het ondiepere grondwater waar van nature weinig gereduceerde condities aanwezig zijn (nitraat- tot ijzerreducerend).

Tabel 2. Resultaten van MPN-PCR analyses op *Dehalococcoides* sp. op de locatie Uithuizen

Locatie	Diepte	Datum	<i>Dehalococcoides</i> sp (cellen per ml) ¹⁾
Uithuizen – pb 100	7 – 8 m-mv	9 oktober 2003	< 6,3*10 ¹
Uithuizen – pb 12.13	12 – 13 m-mv	9 oktober 2003	< 6,1*10 ¹
Uithuizen – pb 100	14 – 15 m-mv	9 oktober 2003	6,3*10 ⁵ – 6,3*10 ⁶

¹⁾ Resultaten afkomstig uit het Bioclear rapport "Uitvoering substraat injectie op de locatie Hoofdstraat West te Uithuizen, notitie uitgevoerde werkzaamheden en resultaten nulmonitoring", met kenmerk 2002.1794/2048 d.d. 28 januari 2004.

Op de locatie Uithuizen is het effect van bio-augmentatie vastgesteld met behulp van anaërobe afbraaktesten, uitgevoerd in 1997. Hiervoor is grond en grondwater uit het ondiepe pakket gebruikt. De resultaten van deze testen zijn weergegeven in figuur 2. De resultaten laten zien dat door toediening van alleen koolstofbron de afbraak stagneert bij CIS (50% dechlorering). Toevoeging van dechlorerende biomassa na 32 weken incubatie leidt binnen enkele weken tot verdere afbraak van CIS. Op basis hiervan is geconstateerd dat toediening van biomassa op deze locatie essentieel is voor het realiseren van volledige afbraak binnen een korte tijd.



Figuur 2. Resultaat van uitgevoerde afbraaktesten (1997) met grond van de locatie Uithuizen (pijl geeft tijdstip van dosering van dechlorerende biomassa aan).

In 1997 is op deze locatie een beheerssysteem aangelegd, maar dit werkte niet optimaal en was te kostbaar om aan te passen. Er is in 2001 een optimalisatieplan opgesteld waarbij aangegeven is dat bio-augmentatie nodig is. Eind 2003 is een pilotproef uitgevoerd waarbij koolstofbron is geïnjecteerd. Hieruit blijkt dat het mogelijk is om 60 liter per punt per injectiediepte te injecteren. Er heeft destijds geen bio-augmentatie plaatsgevonden, omdat geen geschikte bio-augmentatie techniek voorhanden was. Bio-augmentatie moet op deze locatie door directe injectie worden uitgevoerd vanwege de matige waterdoorlatendheid van de bodem waardoor infiltratie van oplossingen niet goed mogelijk is.

Een voordeel van injectie van de bacteriekweek ten opzichte van eerdere plannen is de eenvoudige uitvoering (door de hoge concentratie van de kweek hoeft minder gedoseerd te worden).

2.3.2. Parkstraat 121 in Sappemeer

Locatie informatie en verontreinigingssituatie

Op de locatie Parkstraat 121 te Sappemeer heeft in het verleden de chemische wasserij Hendo gestaan. In figuur 3 is een foto van de locatie weergegeven. De wasserij heeft gebruik gemaakt van PER (tetrachlooretheen) die vermoedelijk via een zinkput in het grondwater terecht is gekomen.

Op deze locatie is tot op grote diepte (> 50 m-mv) verontreiniging aangetroffen. De pluim is relatief beperkt van omvang, omdat de verontreiniging zich in horizontale richting niet ver verspreidt heeft (ca. 100 m). De voormalige bronzone bevindt zich rondom peilbuis 5002. Er zijn geen aanwijzingen voor de aanwezigheid van puur product. De hoogst gemeten verontreinigingsconcentraties bedragen 2.000 µg/l PER en 1.500 µg/l TRI (in peilbuis 212 op 2-4 m-mv gemeten in juli 1999). De verontreinigingssituatie is weergegeven in bijlage 2.



Figuur 3. Pilotlocatie Sappemeer

Bodemopbouw en geohydrologie

De bodemopbouw is tot op grote diepte zandig, maar heterogeen. Het maaiveld ligt op ongeveer NAP + 1 meter. De doorlatendheid varieert sterk door het lokaal voorkomen van grindhoudende zandlagen tot leemlagen met houtresten. In onderstaande tabel is de bodemopbouw schematisch weergegeven. Het grondwater bevindt zich op de locatie op circa 1 m-mv. De stromingsrichting van het ondiepe grondwater wordt ingeschat als zuid-zuidoostelijk, uit de stijghoogtemetingen is geen eenduidige stromingsrichting te bepalen.

Tabel 3. Schematische weergave bodemopbouw

Diepte (m-mv)	Samenstelling
0-12	(matig) fijn zand
12-23	Matig fijn zand, zandige leem met lokaal veel houtresten
23-70	Matig fijn tot matig grof zand met plaatselijk leemlagen en soms grindhoudend
70- > 145	Grove zandafzettingen

Historische informatie met betrekking tot uitgevoerde saneringswerkzaamheden

In 1992 is een deelsanering uitgevoerd waarbij ter plaatse van de zinkput de kern van de verontreiniging is ontgraven tot 3 à 4 m-mv. Om afstroming van verontreiniging in de richting van het naastgelegen (gesaneerde) gasfabrieksterrein te voorkomen is in de periode tussen 1994 en 1999 grondwater onttrokken uit twee deepwells (1-11 m-mv en 11-25 m-mv) ter plaatse van de voormalige zinkput. Medio 1997 zijn de gebouwen op de locatie gesloopt. In 1998-1999 is een grondsanering uitgevoerd waarbij op het gehele terrein grond is afgegraven. Sinds 1999 zijn er geen saneringswerkzaamheden meer uitgevoerd.

Mogelijkheden voor biologische afbraak

In 1997 is op de locatie Sappemeer een grondwaterkarakterisatie uitgevoerd, de resultaten zijn in onderstaande tabel weergegeven. Uit de resultaten blijkt dat op de locatie Sappemeer zowel in het ondiepe als middeldiepe pakket ongunstige redoxcondities heersen voor het optreden van natuurlijke afbraak van VOCl (Bioclear rapport, kenmerk 97.882, d.d. 23 december 1997). In 2001 is in het diepe pakket (50 m-mv) een meting verricht op de aanwezigheid van *Dehalococcoides* sp. (Bioclear rapport, kenmerk 2001.1577, d.d. 21 augustus 2001). Hier is destijds geen *Dehalococcoides* sp. aangetroffen (zie tabel 4). Ondiep zijn echter geen analyses uitgevoerd op de aanwezigheid van *Dehalococcoides* sp.

Tabel 4. Resultaten van grondwaterkarakterisatie (1997 en 2001) op de locatie Sappemeer

Peilbuis diepte	pb 221.2 (49 –50 m-mv)	pb 221.2 ³⁾ (49 –50 m-mv)	pb 206 ³⁾ (2,1-4,1 m-mv)
Datum	Mei 2001	Oktober 1997	Oktober 1997
<i>Dehalococcoides</i> (cellen per ml) ¹⁾	< 1*10 ³		-
Nitraat (mg/l)		3,9	10
Sulfaat (mg/l)	47	25	23
Methaan (µg/l)	49		
Redox (mV)	76	190	280
TOC (mg/l)	18	17	69 ²⁾

¹⁾ Uitgevoerd middels de MPN methode op 16 mei 2001 (Bioclear rapport, Onderzoek naar de natuurlijke anaerobe afbraak van VOCl in het diepe grondwater op de locatie parkstraat 121 te Sappemeer, kenmerk 2001.1577, d.d. 21 augustus 2001)

²⁾ monsternamen in de tuin, grond sterk humeus, TOC-concentratie verhoogd ten opzichte van andere geanalyseerde monsters

³⁾ Resultaten zijn afkomstig van het Bioclear rapport met kenmerk 97.882, d.d. 23 december 1997)

Uit de redox data (nitraat, sulfaat en methaan) blijkt dat de redoxcondities niet gunstig zijn voor het optreden van natuurlijke afbraak middels reductieve dechlorering (sulfaat dient < 20 mg/l te zijn en methaan > 1 mg/l). Op basis van deze resultaten is destijds geconcludeerd dat gestimuleerde biologische afbraak op deze locatie gewenst is.

Een saneringsonderzoek, door Bioclear uitgevoerd in 2006 (2005.2736/4279 d.d. 21 augustus 2006), heeft aangetoond dat een actieve aanpak van de verontreiniging de grootste slagingskans heeft maar dat de saneringskosten hiervan hoog zijn (€ 957.000). De actieve aanpak betreft een biologische saneringsvariant volgens het TCE-concept. Toepassen van het TCE-concept is voor deze locatie echter kostbaar, ondermeer vanwege de hoge kosten van de infiltratie- en onttrekkingsputten. Het toepassen van de bacteriekweek levert mogelijk een kostenbesparing op vanwege het toepassen van een eenvoudige en dus goedkopere doseringswijze.

3. OPZET VAN HET PROJECT EN UITGEVOERDE WERKZAAMHEDEN

3.1. Inleiding

Er zijn in dit project twee onderzoekslocaties gekozen:

- Hoofdstraat West 92 in Uithuizen;
- Parkstraat 121 in Sappemeer.

Op beide onderzoekslocaties zijn pilots en laboratorium afbraaktesten uitgevoerd. De uitgevoerde werkzaamheden zijn in onderstaande paragrafen voor beide locaties afzonderlijk beschreven.

In paragraaf 3.2 is kort beschreven hoe de dechlorerende bacteriën zijn opgekweekt die in deze pilots en afbraaktesten zijn gebruikt als entmateriaal.

3.2. Opkweken dechlorerende bacteriën

De bacteriën zijn gedurende 5-8 weken onder anaërobe omstandigheden opgekweekt in 20 liter kweekflessen. De kweek bevat *Dehalococcoides* sp. (DHC). Als koolstofbron is gebruik gemaakt van natriumacetaat en melkzuur. Deze koolstofbron is ook in de pilots gebruikt. In figuur 4 is de kweekopstelling weergegeven.

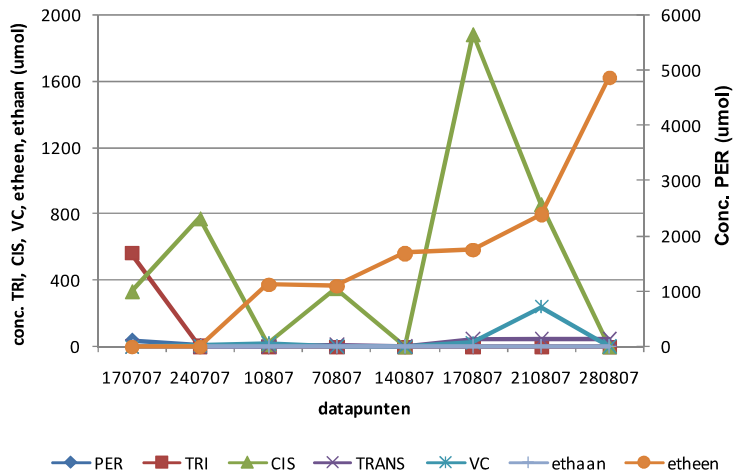


Figuur 4. Kweekopstelling dechlorerende bacteriën op het laboratorium van Bioclear.

Tijdens het verloop van de kweek zijn regelmatig analyses uitgevoerd op onder andere VOCl en afbraakproducten. In figuur 5 zijn de resultaten van de eerste kweek weergegeven. Deze kweek is op de pilotlocatie Uithuizen toegepast. In figuur 5 is te zien dat tijdens het verloop van de kweek volledige omzetting van PER tot etheen plaatsvindt. Tijdens de kweek is een aantal keren *cis*-dichlooretheen (CIS) toegevoegd.

Tijdens de incubatie en aan het eind van de kweekperiode is middels een Q-PCR analyse de hoeveelheid *Dehalococcoides* sp. bepaald. Kwantitatieve polymerase chain reaction (Q-PCR) is een techniek gebaseerd op detectie van DNA (zie voor meer informatie bijlage 3). Aan het eind van de kweekperiode zijn celdichtheden van $1,4 \times 10^8$ en $8,2 \times 10^6$ *Dehalococcoides* sp. cellen/ml in de kweek aangetoond. De kweektijd van de kweek met celdichtheid van $8,2 \times 10^6$ cellen/ml is korter geweest dan de kweek met een hogere celdichtheid (wegens logistische redenen). Zoals zichtbaar is in figuur 5, wordt op dat moment (einde van de kweek) een zeer hoge omzettingssnelheid behaald.

De kweek met celdichtheid $1,4 \times 10^8$ cellen/ml is in de pilotlocatie Uithuizen gebruikt en de kweek met celdichtheid $8,2 \times 10^6$ cellen/ml is in de pilotlocatie Sappemeer gebruikt.



Figuur 5. Verloop van de concentraties VOCl en afbraakproducten gedurende het opkweken van *Dehalococcoides* sp. voor de pilotlocatie Uithuizen.

3.3. Hoofdstraat West in Uithuizen

Bij de pilot op de locatie Uithuizen zijn de gekweekte bacteriën samen met de benodigde koolstofbron middels directe injectie in de bodem gebracht. Middels directe injectie worden hulpstoffen onder druk in de bodem gebracht. Als gevolg hiervan wordt het grondwater verdrongen door de geïnjecteerde oplossing. De behaalde invloedsstraal is afhankelijk van het geïnjecteerde volume, de porositeit van de bodem, de aanwezigheid van slechter doorlatende horizontale bodemlagen en de richting waarin verdringing plaatsvindt. Indien verdringen gelijkmatig in alle richtingen plaatsvindt dan ontstaat in principe een bolvormig invloedsgebied vanaf het injectiepunt. De aanwezigheid van slechter doorlatende horizontale bodemlagen kan er voor zorgen dat het verdringen voornamelijk horizontaal plaatsvindt. Verder is het zo dat de dichtheid van de geïnjecteerde oplossing groter is dan de dichtheid van grondwater, hierdoor vindt na injectie ook enige neerwaartse verspreiding plaats. Na verloop van tijd zal ook verspreiding van de hulpstoffen plaatsvinden onder invloed van de grondwaterstroming en diffusie.

De gebruikte koolstofbron is een mengsel van melkzuur en natriumacetaat. Op de locatie is een injectievloeistof gemaakt van anaëroob grondwater (opgepompt uit het te injecteren gebied), waaraan de koolstofbron en de gekweekte bacteriën zijn toegevoegd. Voor start van de pilot is de situatie in het grondwater vastgelegd middels grondwatermonitoring. De werkzaamheden (inclusief het uitvoeren van een afbraaktest) zijn hieronder in detail beschreven.

3.3.1. Nulronde monitoring

Om de nulsituatie vast te leggen en het verloop van de pilot te volgen zijn in het pilot gebied peilbuizen bemonsterd. Hiervoor zijn vier peilbuizen bijgeplaatst. In bijlage 1 zijn de geplaatste peilbuizen weergegeven. Het betreft de volgende peilbuizen: pb 2007-1, pb 2007-2, pb 2007-3 en pb 2007-4. De filterstelling van alle nieuw geplaatste peilbuizen is 6-7 m-mv. De peilbuizen op de locatie Uithuizen zijn op 3 juli 2007 door Sialtech geplaatst.

Om de situatie voor het opstarten van de pilot vast te leggen is een nulmonitoring uitgevoerd, waarbij onderstaande parameters zijn geanalyseerd:

- VOCl inclusief VC;
- etheen en ethaan;
- nitraat, sulfaat en methaan;
- TOC (totaal organisch koolstof);
- Q-PCR (kwantitatieve polymerase chain reaction) op *Dehalococcoides* sp.;
- on-line analyses op pH, geleidbaarheid, temperatuur en zuurstof;
- stijghoogtemetingen.

De analyses TOC zijn uitgevoerd door het sterlab Alcontrol. De overige analyses zijn uitgevoerd door Bioclear.

De monitoring heeft plaatsgevonden op het grondwater van de peilbuizen 2007-1, 2007-2, 2007-3 en 2007-4.

3.3.2. Pilot

Op de locatie Uithuizen is op 4 en 5 september 2007 de bio-augmentatie pilot uigevoerd. Het behandelde oppervlak van de pilot bedraagt 45 m². Er is in totaal 180 m³ bodemvolume behandeld. De injectiewerkzaamheden zijn uitgevoerd door Sialtech onder begeleiding van Bioclear. Hieronder zijn de werkzaamheden in detail beschreven.

Ontwerp systeem/ gegevens

De afstand tussen de injectiepunten is 1,5 meter. Het injectiegrid is door Bioclear middels piketpaaltjes aangegeven en uitgezet. Het injectiegrid is op kaart weergegeven in bijlage 1.

Voor aanvang van de injecties is de injectievloeistof op de locatie aangemaakt. Om beschadiging van de gekweekte cellen te voorkomen is de injectievloeistof tijdens het mengen strikt anaeroob gehouden. In totaal is 2,2 m³ mengsel aangemaakt. De gebruikte hoeveelheid chemicaliën en dechlorerende bacteriën is weergegeven in tabel 5.

Tabel 5. Gebruikte hoeveelheden chemicaliën en dechlorerende bacteriën

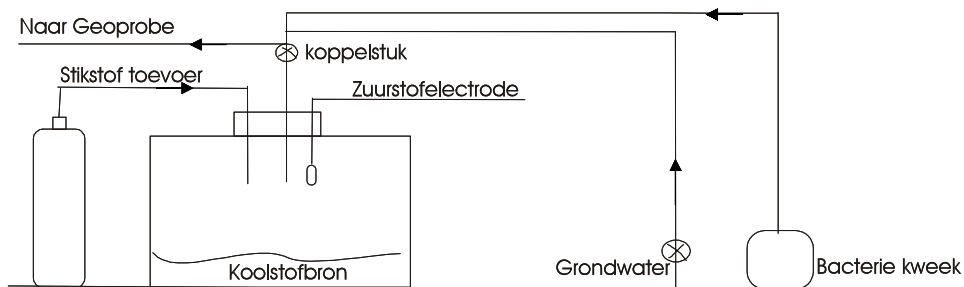
Chemicaliën	Hoeveelheid
Dechlorerende kweek	20 liter met $1,4 \times 10^8$ <i>Dehalococcoides</i> sp. per ml
Melkzuur oplossing (80%)	75 kilo
Natriumacetaat	100 kilo
Grondwater	Circa 2 m ³
Injectievloeistof	2.200 liter

De gekweekte bacteriën zijn anaëroob in kweekzakken (figuur 6) vervoerd naar de locatie. Het grondwater uit peilbuizen 2007-1, 2007-2, 2007-3 en 2007-4 is gebruikt om een 10%-ige koolstofbron oplossing aan te maken.



Figuur 6. Anaërobe kweekzakken waarin de *Dehalococcoides* kweek naar locatie is vervoerd.

De 10%-ige koolstofbron oplossing is doorborrelt met stikstof om het geheel anaëroob te krijgen en te houden. Tijdens het bijmengen van de dechlorerende bacteriën aan de injectievloeistof is het geheel met stikstof doorborrelt. Gedurende het uitvoeren van de directe injecties is er continue een stikstofstroom op het kuubsvat geweest, zodat de oplossing anaëroob bleef. In figuur 7 is een schematische weergave van deze werkzaamheden weergegeven.



Figuur 7. Schematische weergave aanmaken anaërobe injectievloeistof

Gedurende de directe injecties zijn continu zuurstofmetingen uitgevoerd op de injectievloeistof aanwezig in het kuubsvat. Het zuurstofgehalte was telkens lager dan 0,5 mg/l. Op de injectievloeistof zijn kwaliteitscontrole metingen uitgevoerd op TOC en *Dehalococcoides* sp. De resultaten zijn weergegeven in tabel 6. Hieruit blijkt dat de injectievloeistof van goede kwaliteit is. Hieruit blijkt eveneens dat er een groot deel van de bacteriën verloren gaan (circa 75%).

Tabel 6. Kwaliteitscontrole doseervaten (na opmenging grondwater/c-bron/biomassa)

Analyse		Doseervat 1	Doseervat 2
TOC ¹⁾	mg/l	25.000	22.000
DHC ²⁾	cellen/ml	3,1x10 ⁵	3,6x10 ⁵

¹⁾ Totaal organisch koolstof

²⁾ *Dehalococcoides* sp

De directe injecties zijn uitgevoerd met een Geoprobe (zie figuur 8). De Geoprobe drukt een stalen lans (met openingen aan de zijkant) in de bodem. Door de lans wordt de injectievloeistof (koolstofbron en bacteriën) onder druk de bodem ingebracht. De injecties zijn top-down uitgevoerd, hetgeen betekent dat de vloeistof van ondiep naar diep is geïnjecteerd.



Figuur 8. Geoprobe waarmee directe injecties zijn uitgevoerd

In totaal zijn 20 injecties op 5 en 7 m-mv uitgevoerd. Per injectiediepte is 50- 55 liter injectievloeistof geïnjecteerd.

Na uitvoering van de directe injecties is op 11 september 2007 in alle peilbuizen (2007-1, 2007-2, 2007-3 en 2007-4) het CZV-gehalte (chemisch zuurstof verbruik) en de sulfaat concentratie bepaald (tussentijdse monitoring). Dit om vast te stellen wat de invloedsstraal is van de uitgevoerde injecties. De resultaten zijn weergegeven in paragraaf 4.1.2.

3.3.3. Monitoringsrondes volgen verloop van de pilot (1, 2, 3 en 4)

Na uitvoering van de directe injecties zijn regelmatig monitoringsrondes uitgevoerd. De 1^e monitoringsronde heeft plaatsgevonden op 23 oktober 2007. De 2^e, 3^e en 4^e monitoringsrondes hebben respectievelijk op 8 januari 2008, 8 april 2008 en 11 september 2008 plaatsgevonden.

Tijdens iedere monitoring zijn onderstaande analyses uitgevoerd:

- VOCl inclusief VC;
- etheen en ethaan;
- nitraat, sulfaat en methaan;
- TOC (totaal organisch koolstof);
- Q-PCR (kwantitatieve polymerase chain reaction) op *Dehalococcoides* sp.;
- on-line analyses op pH, geleidbaarheid, temperatuur en zuurstof;
- stijghoogtemetingen.

De analyses op TOC zijn uitgevoerd door het sterlab Alcontrol. De overige analyses zijn door Bioclear uitgevoerd.

De monitoring heeft plaatsgevonden op grondwater van peilbuizen 2007-1, 2007-2, 2007-3 en 2007-4.

3.3.4. Afbraaktest

De afbraaktest is uitgevoerd om zicht te krijgen op de meerwaarde van bio-augmentatie op de pilotlocatie. Hiertoe zijn de volgende testen uitgevoerd:

- Batch I: een test met alleen toevoeging van koolstofbron (natriumacetaat en melkzuur);
- Batch B: een test met toevoeging van koolstofbron en gekweekte dechlorerende bacteriën (kweek met dichtheid $1,4 \times 10^8$ cellen/ml).

Voor de afbraaktest is er in totaal 2,5 kg (meng) grond en 1 liter grondwater gebruikt. De grond is afkomstig van de steekbussen gestoken op 3 juli 2007 ter wille van het plaatsen van peilbuis 2007-4. Het grondwater is afkomstig van peilbuis 2007-4, genomen op 7 augustus 2007.

De afbraaktest is onder anaërobe omstandigheden ingezet. De testen zijn ingezet met 150 gram grond (natgewicht) en 50 ml grondwater per fles. In totaal zijn per test 6 flessen ingezet. De batches zijn gespiked met PER zodat een concentratie van 5 mg/kg in de flessen werd bereikt. Na toediening van een mengsel van natriumacetaat en melkzuur (100 mg TOC/l in de batches) en nutriënten is aan de B-test 1 ml dechlorerende kweek toegevoegd. Deze kweek was dezelfde kweek als die in het veld bij de pilot is toegepast (celdichtheid $1,4 \times 10^8$ cellen/ml).

De flessen zijn gedurende 16 weken bij 30°C geïncubeerd. Op de testen zijn onderstaande analyses uitgevoerd, de analyses zijn maandelijks uitgevoerd:

- analyses op VOCl incl VC;
- etheen, ethaan;
- methaan.

3.4. Parkstraat 121 in Sappemeer

In de pilot op de locatie Sappemeer is middels een onttrekkings- en infiltratiesysteem koolstofbron en dechlorerende bacteriën aan de bodem toegediend. De gebruikte koolstofbron is een mengsel van melkzuur en natriumacetaat, aangevuld met nutriënten. Om te voorkomen dat verspreiding van verontreiniging optreedt (verdringing), is gewerkt met een gesloten waterbalans. Voor start van de pilot is de situatie in het grondwater vastgelegd middels grondwatermonitoring. De werkzaamheden (inclusief het uitvoeren van een afbraaktest) zijn hieronder in detail beschreven.

3.4.1. Nulronde monitoring

Om de nulsituatie vast te leggen en het verloop van de pilot te volgen zijn in het pilot gebied peilbuizen geplaatst. Het betreft 3 nieuw geplaatste peilbuizen (pb 7000, pb 7001 en pb 7002). Daarnaast is een bestaande peilbuis (pb 5002) gemonitord. In bijlage 2 zijn de gemonitordde peilbuizen weergegeven. De filterstelling van de nieuw geplaatste peilbuizen is 5-6 m-mv, de filterstelling van bestaande peilbuis 5002 is 4-5 m-mv. De 7000-serie peilbuizen zijn in week 29 (16 juli 2007) door Wiertsema en Partners geplaatst.

Om de situatie voor het opstarten van de pilot vast te leggen is een monitoring uitgevoerd, onderstaande analyses zijn uitgevoerd:

- VOCl inclusief VC;
- etheen en ethaan;
- nitraat, sulfaat en methaan;
- TOC (totaal organisch koolstof);
- Q-PCR (kwantitatieve polymerase chain reaction) op *Dehalococcoides* sp.;
- on-line analyses op pH, geleidbaarheid, temperatuur en zuurstof;
- stijghoogtemetingen.

De analyses op TOC zijn uitgevoerd door het sterlab Alcontrol. De overige analyses zijn door Bioclear uitgevoerd.

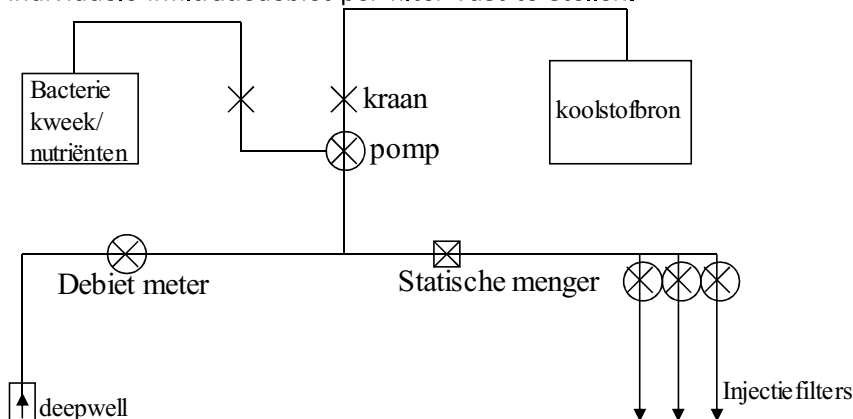
Uit de resultaten (zie 4.1.1) van de nulronde blijkt dat er op de locatie van nature hoge aantallen (in orde van 1×10^5 cellen/ml) *Dehalococcoides* sp. aanwezig zijn. Naar aanleiding van deze resultaten zijn aanvullende werkzaamheden uitgevoerd om te bepalen of de van nature aanwezige *Dehalococcoides* sp. daadwerkelijk in staat is om PER volledig te dechloreren tot etheen/ethaan. Op basis van de resultaten hebben Bioclear en SKB besloten om de pilot te Sappemeer uit te voeren, met een aantal aanpassingen ten opzichte van het oorspronkelijk ontwerp. Deze aanpassingen zijn in 3.4.3 en 3.4.4 nader beschreven.

3.4.2. Pilot

Op de locatie Sappemeer is in week 42 (vanaf 17 oktober) van 2007 het onttrekkings- en infiltratiesysteem aangelegd. De pilot is op 26 oktober 2007 opgestart. De actieve fase van de pilot heeft van 26 oktober 2007 tot en met 16 januari 2008 geduurd. Het totale oppervlak dat tijdens deze pilot behandeld is bedraagt circa 150 m^2 , en het bodemvolume bedraagt circa 450 m^3 . De aanleg en instandhouding van het systeem is uitgevoerd door Wiertsema & Partners onder begeleiding van Bioclear. De werkzaamheden zijn hieronder in detail beschreven.

Ontwerp systeem/ gegevens

Het onttrekkings- en infiltratiesysteem bestaat uit één onttrekkingsput en 3 infiltratieputten (wijziging ten opzichte van het basisplan). De putten hebben een filterstelling van 4-7 m-mv. De infiltratieputten hebben een onderlinge afstand van 5 meter en de afstand tussen de infiltratieputten (INF) en de onttrekkingsputten (ONT) bedraagt 15 meter. In bijlage 2 is de locatie van de putten weergegeven. Een schematische weergave van het systeem is gegeven in figuur 9. Zowel aan de onttrekkingskant als aan de infiltratiekant zijn debietmeters geplaatst, op elk infiltratiefilter is een debietmeter aangesloten. Op deze manier is het mogelijk om het individuele infiltratiedebiet per filter vast te stellen.



Figuur 9. Schematische weergave onttrekking-en infiltratiesysteem

Er is een volledig gesloten onttrekking en infiltratie kringloop gerealiseerd, waarbij dagelijks een pulsgewijze en geautomatiseerde dosering van een koolstofbronmengsel en nutriënten of dechlorerende bacteriën plaatsvindt. In figuur 10 is een foto van de opstelling weergegeven.



Figuur 10. Foto van de pilot opstelling op de locatie Sappemeer

Uitvoering systeem

De actieve fase van de pilot heeft van 26 oktober 2007 tot en met 16 januari 2008 geduurd. Na een aantal opstart problemen heeft het systeem vanaf 22 november 2007 met een onttrekkingsdebiet van 1 m³/uur gefunctioneerd. Het infiltratiedebiet bedroeg derhalve 0,3 m³/uur per filter. Pulsgewijs is dagelijks 20 liter koolstofbronmengsel gedoseerd. Met behulp van de modelcode MODFLOW is een model gemaakt van de verspreiding van de koolstofbron tijdens het verloop van de pilot. De resultaten zijn weergegeven in bijlage 4.

De dechlorerende bacteriën dosering is vanaf 30 november gestart, deze is tot en met 17 december 2007 geïnfiltreerd (1,2 liter/dag). De nutriënten dosering heeft plaatsgevonden van 13 december 2007 tot 9 januari 2008. In tabel 7 zijn de gebruikte hoeveelheden chemicaliën en dechlorerende bacteriën weergegeven.

Tabel 7. Hoeveelheden chemicaliën en dechlorerende bacteriën

Chemicaliën	Hoeveelheid	Concentratie
Dechlorerende kweek	20 liter	8,2 * 10 ⁶ <i>Dehalococcoides</i> sp. per /ml
Koolstofbron ¹⁾	880 liter	0,2 kg TOC/l
Ammoniumchloride	20 kg	
Natriumtripolyfosfaat	40 kg	

¹⁾ mengsel van melkzuur (80%) en natriumacetaat aangemaakt door Quaron bv.

3.4.3. Monitoringsrondes volgen verloop van de pilot (1, 2, 3 en 4)

De 1^e monitoringsronde, na opstart van de pilot, is uitgevoerd op 5 december 2007. De 2^e, 3^e en 4^e monitoringsrondes hebben respectievelijk op 14 februari 2008 en 14 mei 2008 en 11 september 2008 plaatsgevonden.

Tijdens iedere monitoring zijn onderstaande analyses uitgevoerd:

- VOCl inclusief VC;
- etheen en ethaan;
- nitraat, sulfaat en methaan;
- TOC (totaal organisch koolstof);
- Q-PCR op *Dehalococcoides* sp;
- on-line analyses op pH, geleidbaarheid, temperatuur en zuurstof;
- stijghoogtemetingen.

De analyses op TOC zijn uitgevoerd door het sterlab Alcontrol. De overige analyses zijn door Bioclear uitgevoerd.

De analyses zijn uitgevoerd op grondwater van peilbuizen 5002, 7000, 7001 en 7002.

3.4.4. Afbraaktest

De afbraaktesten zijn uitgevoerd om zicht te krijgen op de mogelijkheden tot stimulatie van de anaërobe afbraak van de chloorethenen verontreiniging.

De volgende afbraaktesten zijn uitgevoerd:

- Test-I: een test zonder toevoegingen (intrinsieke test);
- Test-G: een test met toevoeging van alleen koolstofbron (natriumacetaat en melkzuur) en nutriënten (ammoniumnitraat en natriumtripolyfosfaat);
- Test-B: een test met toevoeging van koolstofbron, nutriënten en gekweekte dechlorerende bacteriën (kweek met dichtheid $1,4 \times 10^8$ cellen/ml).

Er is 6 kg grondmonster gebruikt van de steekbussen afkomstig van peilbuis 7001 (gestoken op 16 juli 2007). Op 24 juli 2007 is 3 liter grondwater uit peilbuis 7001 van de locatie gehaald. Deze grond- en grondwatermonsters zijn gebruikt voor het uitvoeren van anaërobe afbraaktesten.

De afbraaktest is onder anaërobe omstandigheden ingezet. De flessen zijn ingezet met 150 gram grond (natgewicht) en 50 ml grondwater. De testen zijn gespiked met PER zodat een concentratie van 5 mg/kg ds in de flessen werd bereikt.

Na toediening van natriumacetaat en melkzuur (100 mg TOC/l in de batches) en nutriënten is 5 ml dechlorerende biomassa toegevoegd aan batch B. De kweek die op de pilotlocatie Uithuizen is gebruikt is in deze batch als ent gebruikt (celdichtheid $1,4 \times 10^8$ cellen/ml).

De testen zijn gedurende 20 weken bij 10°C geïncubeerd. Op de testen zijn onderstaande analyses uitgevoerd:

- analyses op VOCl inclusief VC;
- etheen, ethaan;
- methaan;
- sulfaat;
- pH;
- *Dehalococcoides* sp.

Op test-G en test-B zijn maandelijks bovenstaande analyses uitgevoerd. Sulfaat analyses zijn uitgevoerd zolang er in de testen sulfaat aanwezig was. Op test-I zijn minder regelmatig analyses uitgevoerd: bij start, halverwege (12 weken) en aan het eind van de testperiode (20 weken).

Door de test bij 10°C uit te voeren zijn de test condities vergelijkbaar met de veldsituatie. Hierdoor kan een betere vertaalslag gemaakt worden van labsituatie naar de veldsituatie.

4. RESULTATEN

In paragraaf 4.1 worden de resultaten van de pilotlocatie Uithuizen behandeld en in paragraaf 4.2 de resultaten van de pilotlocatie Sappemeer.

4.1. Hoofdstraat West 92, Uithuizen

4.1.1. Nulronde monitoring

In onderstaande tabel zijn de resultaten van de nulronde weergegeven.

Tabel 8. Resultaten nulronde monitoring Uithuizen (7 augustus 2007)

Peilbuis	2007-1	2007-2	2007-3	2007-4
Filterstelling (m-mv)	6-7	6-7	6-7	6-7
Stijghoogtemeting (m-mv)	2,24	2,41	2,42	2,40
pH	7,45	7,34	7,29	7,22
Geleidbaarheid (μ S)	420	406	518	507
Redox	+ 76	+ 56	+ 45	+ 33
Temperatuur (gr. Celsius)	11,8	11,9	12,0	12,0
TOC (mg/l)	7,2	6,7	7,0	7,0
Zuurstof (mg/l)	0,4	0,3	0,4	0,3
Nitrat-N (mg/l)	0,67	<0,23	1,2	0,52
Sulfaat (mg/l)	36	29	38	42
Methaan (μ g/l)	12	141	210	6
PER (μ g/l)	250 ***	72 ***	1.000 ***	600 ***
TRI (μ g/l)	11	2,7	34 *	43 *
CIS (μ g/l)	3,8 *	3,0 *	26 ***	20 ***
VC (μ g/l)	< 0,1	< 1,0	< 4,0	< 1,0
etheen (μ g/l)	< 0,2	0,2	0,6	< 0,2
ethaan (μ g/l)	< 0,2	2,9	5,6	< 0,2
<i>Dehalococcoïdes</i> sp. (cellen/ml) ¹⁾	< 1,3x10 ²	1,9x10 ²	3,9x10 ²	< 1,3x10 ²

¹⁾: detectielimiet 1,3x10² cellen/ml

*: > Streefwaarde ; ** tussen tussen-en interventiewaarde ; *** : groter dan Interventiewaarde

Verontreiniging

Peilbuis 2007-3 is het meest verontreinigd (PER 1.000 μ g/l). De verontreiniging bestaat in alle vier de peilbuizen voornamelijk uit PER, er is slechts beperkt afbraak opgetreden tot TRI en CIS. In geen van de peilbuizen is het afbraakproduct VC in concentraties boven de detectielimiet waargenomen. De concentraties etheen en ethaan zijn erg laag.

Redoxcondities

Voor het optreden van volledige biologische afbraak van PER zijn sulfaatreducerende tot methanogene condities benodigd (sulfaat < 20 mg/l, methaan > 1 mg/l).

In alle peilbuizen is sulfaat boven de 20 mg/l aanwezig en er zijn lage methaan gehalten aangetroffen. Ook zijn lage gehalten aan nitraat vastgesteld (met uitzondering van peilbuis 2007-2 waar geen nitraat is aangetroffen). De resultaten laten zien dat op de locatie een weinig gereduceerd milieu heerst (nitraat- tot ijzerreducerend). De omstandigheden zijn daarmee niet optimaal voor het optreden van volledige biologische afbraak van PER.

Dechlorerende bacterie

Uit de resultaten van de nulronde monitoring blijkt dat op de locatie Uithuizen de bacterie *Dehalococcoides* sp. niet of nagenoeg niet aanwezig is (rond detectielimiet $1,3 \times 10^2$ cellen/ml).

Nulsituatie Uithuizen

De resultaten van de nulronde monitoring in Uithuizen zijn in overeenstemming met eerdere onderzoeksresultaten. Van nature is *Dehalococcoides* sp. niet of nauwelijks aanwezig. Er vindt op de locatie van nature geen volledige afbraak van PER plaats.

4.1.2. Pilot

Foto's van de uitgevoerde werkzaamheden zijn weergegeven in bijlage 5.

De resultaten van de tussentijdse CZV en sulfaat bepalingen, uitgevoerd kort na uitvoering van de directe injecties, zijn weergegeven in tabel 9.

Tabel 9. Tussentijdse CZV en sulfaat resultaten van de pilot Uithuizen (6 september 2007)

Peilbuis	Datum	2007-1	2007-2	2007-3	2007-4
CZV (mg/l)	11-9-07	725	14.140	25	5.600
Sulfaat (mg/l)	11-9-07	36	68	34	46

In peilbuizen 2007-1 en 2007-3 zijn de laagste CZV concentraties (725 en 25 mg/l) aangetroffen. De CZV concentraties in de overige twee peilbuizen zijn sterk verhoogd (5.600 en 14.140 mg/l). Hieruit kan geconcludeerd worden dat de peilbuizen 2007-1 en 2007-3 niet of nauwelijks beïnvloed zijn door de uitgevoerde directe injecties (ten gevolge van verdringing). In peilbuis 2007-2 is de hoogste CZV concentratie aangetroffen (14.140 mg/l). De sulfaat concentratie is in alle peilbuizen vergelijkbaar met de nulronde metingen.

In bijlage 1 zijn de afstanden van de peilbuizen ten opzichte van de (uitgezette) directe injectie punten weergegeven. Hieruit is op te maken dat de peilbuizen 2007-2 en 2007-4 dicht bij directe injectiepunten liggen in vergelijking met peilbuis 2007-1. Peilbuis 2007-1 ligt precies in het midden van 4 injectiepunten. Peilbuis 2007-1 is in geringe mate beïnvloed, hieruit blijkt dat het gekozen injectiegrid in combinatie met de geïnjecteerde hoeveelheid vloeistof niet optimaal is geweest. De injectiepunten moeten dicht bij elkaar liggen en/of er moet meer vloeistof worden geïnjecteerd om instantaan de volledige verontreinigde bodem te beïnvloeden.

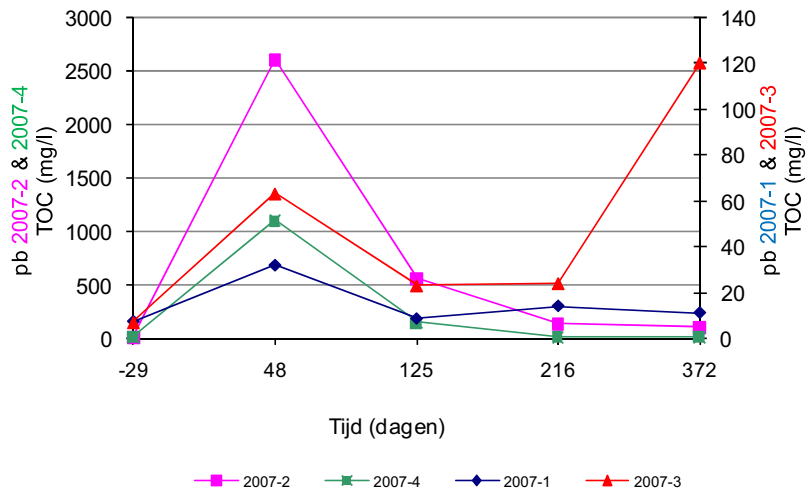
4.1.3. Monitoring voortgang pilot

Alle monitoringsresultaten van Uithuizen zijn weergegeven in bijlage 7.

TOC

In figuur 11 is de verandering in TOC-concentratie per peilbuis weergegeven. De metingen uit de 1^e monitoringsronde tonen een toename in de TOC-concentratie in het grondwater van alle peilbuizen. Hieruit blijkt dat het grondwater in alle peilbuizen beïnvloed is door de uitgevoerde directe injecties. Peilbuis 2007-1 is hierbij het minst beïnvloed. Uit de metingen van de 2^e monitoringsronde blijkt dat de TOC-concentratie in alle peilbuizen in concentratie is afgenomen. Uit de laatste monitoringsronde blijken de TOC-concentraties verder te zijn afgenomen (met uitzondering van pb 2007-3).

In bijlage 6 zijn de uitkomsten van de koolstofbronbalansberekening weergegeven. In de minst beïnvloede peilbuis 2007-1 is in de laatste monitoringsronde 6 mg/l TOC aanwezig wat voldoende is om alle sulfaat en aanwezige verontreiniging te verwijderen. Uit de resultaten blijkt dat in de 2^e ronde in peilbuis 2007-1 onvoldoende koolstofbron aanwezig was (8 mg/l in plaats van de benodigde 10 mg/l). Uit de resultaten van de 3^e ronde blijkt dat er in principe in alle peilbuizen voldoende koolstofbron aanwezig is om alle sulfaat en verontreiniging te verwijderen. Verwacht wordt echter dat de afbraak in peilbuis 2007-1 mogelijk zal stagneren vanwege een tekort aan TOC.



Figuur 11. TOC verloop in het pilot gebied. Op de linker-as zijn de TOC-concentraties van peilbuizen 2007-2 en 2007-4 weergegeven en op de rechter-as de concentraties van peilbuizen 2007-1 en 2007-3. Op de x-as is de tijdschaal weergegeven. T = 0 komt overeen met de uitvoering van de injecties (5 september 2007).

Redoxcondities

De sulfaat concentratie is in de eindmonitoring in drie van de vier peilbuizen tot onder een concentratie van 20 mg/l gedaald (kritische grens). In peilbuis 2007-1 (minst beïnvloede peilbuis) is de sulfaat concentratie nog boven de 20 mg/l.

In peilbuis 2007-4 is de sulfaat concentratie in de 3^e monitoringsronde gestegen ten opzichte van de voorgaande monitoringsrondes. De TOC-concentratie in peilbuis 2007-4 is in deze ronde ook sterk gedaald (van 140 mg/l naar 14 mg/l). De sulfaat concentratie is echter nog onder de kritische grens van 20 mg/l.

In alle peilbuizen is, ten opzichte van de nulronde monitoring, een verhoogd methaan gehalte aangetroffen (indicatie voor gunstige redoxcondities). In peilbuis 2007-2 (de meest beïnvloede peilbuis) is het gehalte boven de 2 mg/l.

De redoxcondities zijn in alle peilbuizen verbeterd ten opzichte van de nulronde. Er heersen sulfaat tot methanogene condities.

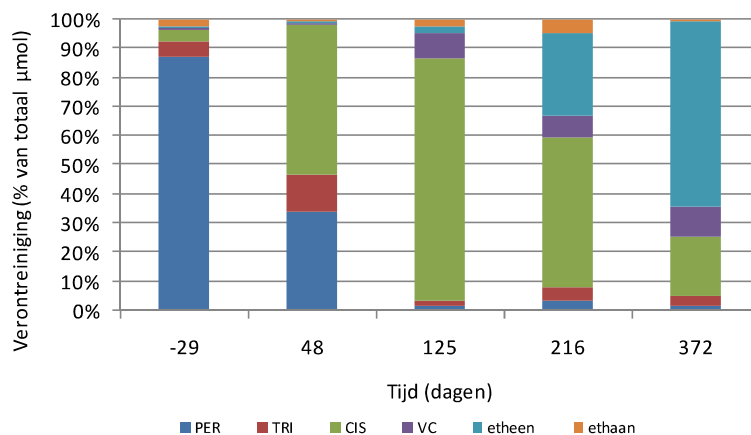
Verontreiniging

In figuur 12 is het concentratieverloop van de verontreiniging en de afbraakproducten weergegeven, hierin zijn de gemiddeldes van alle vier de peilbuizen uitgedrukt in $\mu\text{mol/l}$. Het totaal van gechlloreerde en ongechlloreerde verbindingen (in $\mu\text{mol/l}$) neemt in de loop van de pilot toe, hiervoor is in de grafiek gecorrigeerd door de waarden te normaliseren. Op de gehele locatie is het oorspronkelijk product (PER) sterk in concentratie afgenomen.

Uit bijlage 7 blijkt in de laatste monitoringsronde in een peilbuis (de minst beïnvloede peilbuis 2007-1) een toename in PER ten opzichte van de concentraties aangetroffen in de 2^e monitoringsronde.

In alle peilbuizen is een verhoogde concentratie CIS gemeten (maximum van $1.300 \mu\text{g/l}$ in peilbuis 2007-3). In peilbuis 2007-3 zijn daarnaast sterk verhoogde concentraties VC ($280 \mu\text{g/l}$) en etheen ($311 \mu\text{g/l}$) aangetroffen. In peilbuis 2007-1 is nog geen sterke vorming van etheen waargenomen.

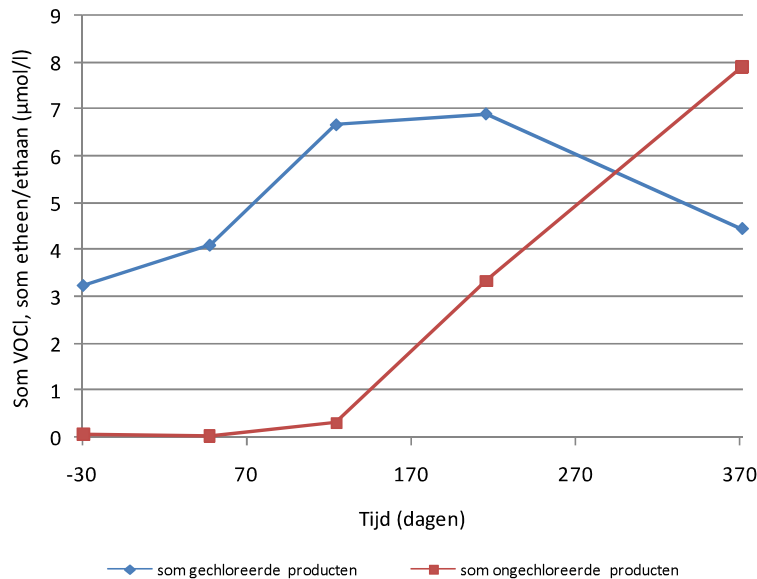
In figuur 12 is duidelijk te zien dat op de pilotlocatie het aandeel van PER in de loop van de pilot afneemt en dat de afbraakproducten CIS en eveneens VC en etheen gevormd worden.



Figuur 12. Het verloop van de verontreiniging en afbraakproducten (gemiddeld van vier peilbuizen) tijdens de pilot (uitgedrukt in % van het totaal aantal μmol VOCl inclusief etheen en ethaan). Op de x-as is de tijdschaal weergegeven. T = 0 komt overeen met de uitvoering van de injecties (5 september 2007).

Tijdens de laatste monitoringsronde bestaat de verontreiniging voor 2% uit PER, 3,5% uit TRI, 20% uit CIS, 11% uit VC en 64% uit etheen. Peilbuis 2007-1 is de enige peilbuis waar PER nog boven interventiewaarde en TRI boven tussenwaarde aanwezig is.

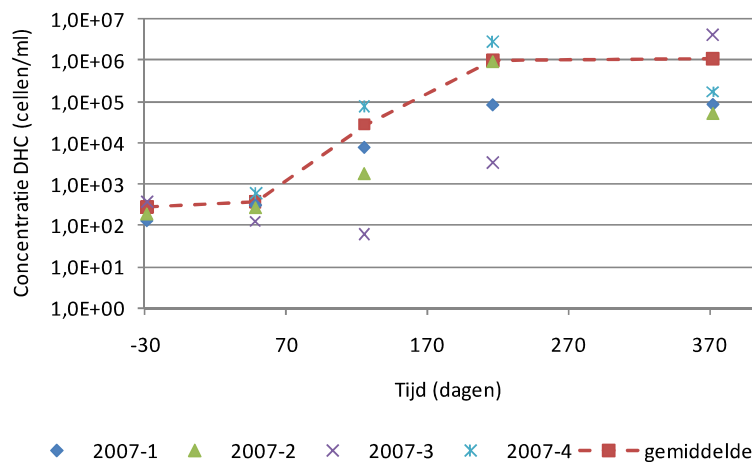
In figuur 13 is de trend weergegeven van de som van alle gechlloreerde verbindingen (PER, TRI, CIS, VC) en de som van alle ongechlloreerde verbindingen (etheen en ethaan). Te zien is dat de totale molaire concentratie ongechlloreerde en gechlloreerde verbindingen toeneemt. Dit is het gevolg van het desorptie effect van biologische dechlorering en het ontstaan van afbraakproducten, die minder aan de bodem hechten. Ook is te zien dat de som van de ongechlloreerde verbindingen in de loop der tijd toeneemt. Tijdens de laatste monitoring is het aandeel ongechlloreerde verbindingen groter dan het aandeel van gechlloreerde verbindingen, hieruit blijkt dat er volledige dechlorering optreedt.



Figuur 13. Trend van de som (gemiddelde van vier peilbuizen) van alle gechloreerde verbindingen (PER, TRI, CIS, VC) en de som (gemiddelde van vier peilbuizen) van etheen en ethaan. De waardes op de y-as zijn uitgedrukt in $\mu\text{mol/l}$. Op de x-as is de tijdschaal weergegeven. T = 0 komt overeen met de uitvoering van de injecties (5 september 2007).

Dechlorerende bacteriën

In alle peilbuizen is een sterke toename in aantal dechlorerende bacteriën (*Dehalococcoides* sp.) aangetroffen. Deze toename is het beste zichtbaar in peilbuis 2007-4 (figuur 14). In peilbuis 2007-3 is de toename in *Dehalococcoides* sp. pas in de laatste monitoringsronde zichtbaar. Van nature komen er op de locatie Uithuizen nagenoeg geen *Dehalococcoides* sp. bacteriën voor. In de loop van de sanering neemt het aantal toe tot $4,2 \times 10^6$ cellen/ml.



Figuur 14. Trend in *Dehalococcoides* sp. (DHC) in de tijd. Op de x-as is (in logaritmische schaal) De concentratie *Dehalococcoides* sp. (cellen/ml) weergegeven en op de y-as de tijd weergegeven. T = 0 komt overeen met de uitvoering van de injecties (5 september 2007).

Uit de resultaten (figuur 14) blijkt dat het aantal *Dehalococcoides* sp. in de loop van de pilot toeneemt. Er is een exponentiële toename van bacteriën in de tijd. Dit geldt voor alle peilbuizen zodra de aanwezige sulfaat verwijderd is en gunstige omstandigheden ontstaan voor de volledige afbraak van VOCI. In peilbuis 2007-3 begint afbraak pas vanaf de 2^e ronde (150 dagen) op te treden, hier zie je dan ook dat de toename in bacteriën pas vanaf de 2^e ronde optreedt.

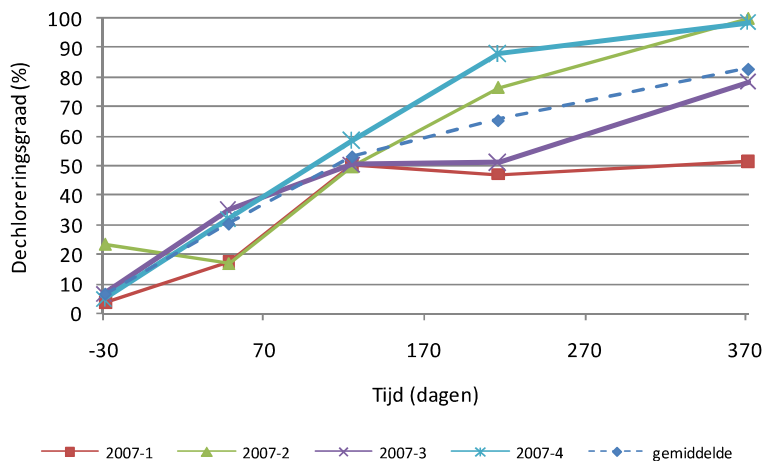
In bijlage 6 is een biomassabalans berekening weergegeven. Hierin is weergegeven hoeveel *Dehalococcoides* sp. in totaal aan de bodem is toegevoegd en hoeveel er aan het eind van de pilot in totaal (in het beïnvloede gebied) aanwezig is. Hieruit blijkt dat er in de loop van de pilot in het grondwater een toename in *Dehalococcoides* sp. met een factor 80 heeft plaatsgevonden (ten opzichte van de gedoseerde hoeveelheid). De toename in *Dehalococcoides* sp. in het grondwater kan hiermee dus duidelijk gecorreleerd worden aan een groei van de bacterie en niet alleen door verspreiding van de gekweekte bacteriën in het grondwater.

Dechloreringsgraad

De dechloreringsgraad is een maat voor de hoeveelheid PER die is afgebroken. Indien alle PER is omgezet naar etheen of ethaan is de dechloreringsgraad gelijk aan 100%.

In figuur 15 zijn de gemiddelde en individuele (berekent per peilbuis) dechloreringsgraden weergegeven. Op de locatie Uithuizen is de gemiddelde dechloreringsgraad toegenomen van 7 tot 83%. Hierbij dient echter opgemerkt te worden dat in de volledig beïnvloede peilbuizen het dechloreringsgraad is opgelopen tot bijna 100%. In peilbuis 2007-1 blijft de dechlorering echter steken op 50%. In alle peilbuizen behalve in peilbuis 2007-1 vindt verregaande dechlorering plaats.

Opgemerkt dient te worden dat de massabalansen van de verschillende rondes niet overeenkomen. In de nulronde is er in totaal 3 $\mu\text{mol/l}$ (gechloreerde) ethenen aanwezig terwijl er in ronde 4 circa 10 $\mu\text{mol/l}$ aanwezig is. Dit kan worden verklaard door het feit dat PER veel sterker gebonden is aan de bodemmatrix dan de afbraakproducten, met andere woorden het grootste deel van de PER verontreiniging zit niet in de waterfase maar in de grondfase. Doordat PER afgebroken wordt kan meer PER in oplossing komen en ook verder afgebroken worden tot etheen, hierdoor neemt de concentratie totaal ethenen in het grondwater toe.



Figuur 15. Verloop dechloreringsgraad pilot Uithuizen. Resultaten weergegeven van de individuele peilbuizen en het gemiddelde van de vier peilbuizen. Op de x-as is de tijdschaal weergegeven. T = 0 komt overeen met de uitvoering van de injecties (5 september 2007).

Conclusie locatie Uithuizen

Het grondwater van alle peilbuizen is beïnvloed door de uitgevoerde directe injecties, verhoogde TOC-concentraties in de peilbuizen aangetroffen. In sommige peilbuizen is de beïnvloeding groter dan in andere peilbuizen. In de loop van de pilot is in het grondwater van alle peilbuizen de TOC-concentratie afgenomen als gevolg van afbraak en verdunning.

De sulfaat concentratie is in drie van de vier peilbuizen afgenomen tot onder de 20 mg/l (in peilbuis 2007-1 is de sulfaat concentratie boven de 20 mg/l). De omstandigheden zijn gunstig voor het optreden van volledige dechlorering.

Er is een duidelijke correlatie tussen de afname in verontreinigingsconcentraties en de toename in dechlorerende bacteriën (peilbuis 2007-4), de toename in *Dehalococcoides* sp. in de loop van de pilot is exponentieel.

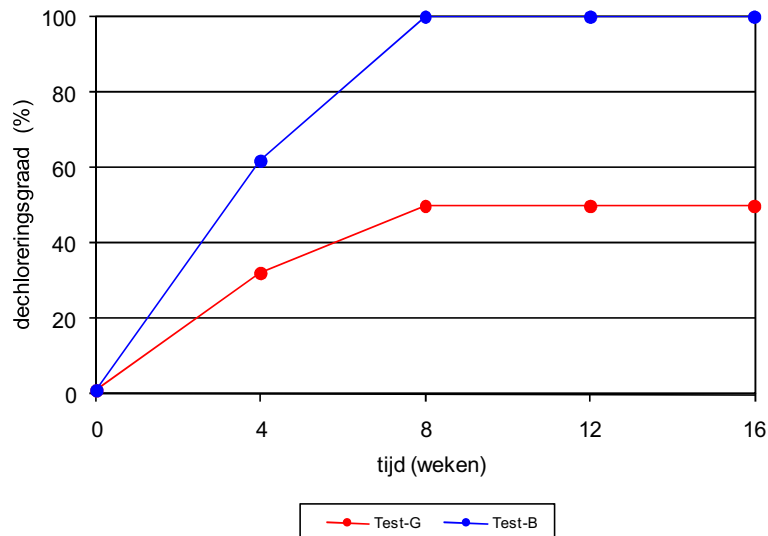
Binnen een jaar is in één peilbuis de tussenwaarde en in een andere peilbuis de interventiewaarde bereikt voor de verontreiniging vinylchloride (VC). Rondom alle peilbuizen is in principe voldoende koolstofbron aanwezig zodat volledige dechlorering van VOCI op kan treden, met mogelijke uitzondering peilbuis 2007-1 (hier is het mogelijk dat de afbraak stagneert vanwege gebrek aan voldoende TOC).

Middels de pilot en de afbraaktest is aangetoond dat bio-augmentatie op deze locatie een toegevoegde waarde heeft. Bio-augmentatie heeft een positief effect op de afbraak van de verontreiniging. Er treedt verregaande dechlorering op waarbij lage verontreiniging concentraties worden bereikt. De dechlorering is direct te relateren aan de toename in de gedoseerde *Dehalococcoides* sp.

4.2. Afbraaktest

De resultaten van de afbraaktest zijn weergegeven in figuur 16. Hierin is de dechloreringsgraad weergegeven. Het blijkt dat in de met koolstofbron en bacteriën gestimuleerde test (test-B) binnen 8 weken volledige omzetting van PER tot etheen heeft plaatsgevonden.

In de test zonder toegevoegde bacteriën (test-G) blijft de dechlorering steken op 50%. Het verloop van de VOCl concentraties van deze testen is weergegeven in bijlage 8. In test-G is geen VC aangetroffen.



Figuur 16. Resultaten afbraaktest Uithuizen. Test-G: gestimuleerde test; Test-B: bio-augmentatie test. Dechloreringsgraad geeft de mate van dechlorering aan (100% dechlorering, PER volledig omgezet tot etheen).

Uit de resultaten van de afbraaktest blijkt dat volledige afbraak alleen optreedt indien dechlorerende bacteriën worden gedoseerd. Volledige afbraak van VOCl treedt niet op door alleen toediening van koolstofbron.

4.3. Sappemeer

4.3.1. Nulronde monitoring

In onderstaande tabel zijn de resultaten van de nulronde weergegeven.

Tabel 10. Resultaten nulronde monitoring Sappemeer (24 juli 2007)

Peilbuis	5002	7000	7001	7002
Filterstelling (m-mv)	4-5	5-6	5-6	5-6
Stijghoogtemeting (m-mv)	1,09	1,04	1,10	1,03
pH	6,51	6,90	6,68	6,53
Geleidbaarheid (μ S)	420	616	393	383
Redox (mV)	-109	-96	-56	-44
Temperatuur (gr. Celsius)	12,8	12,7	12,2	12,0
TOC (mg/l)	20	27	24	34
Zuurstof (mg/l)	-	-	-	-
Nitraat-N (mg/l)	< 0,23	< 0,23	< 0,23	< 0,23
Sulfaat (mg/l)	55	32	52	40
Methaan (μ g/l)	270	170	1.920	56
PER (μ g/l)	0,23 *	<0,1	460 ***	<0,1
TRI (μ g/l)	4,9	0,11	1.700 ***	<0,1
CIS (μ g/l)	200 ***	<0,1	8.800 ***	2,6
VC (μ g/l)	73 ***	0,28 *	170 ***	3,8 **
etheen (μ g/l)	23	1,3	17	2,0
ethaan (μ g/l)	1,4	4,8	0	1,1
<i>Dehalococcoïdes</i> sp. (cellen/ml) ¹⁾	$3,0 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$	$2,0 \times 10^4$

¹⁾: detectielimiet $1,3 \times 10^2$ cellen/ ml

-: metingen niet uitgevoerd vanwege een defecte zuurstof electrode.

* : > Streefwaarde ; ** : tussen tussen-en interventiewaarde ; *** : groter dan Interventiewaarde

Verontreiniging

Peilbuis 7001 is het sterkst verontreinigd met VOCl, met alle componenten boven de interventiewaarde. In peilbuis 5002 zijn alleen de afbraakproducten CIS en VC boven interventiewaarde aangetroffen. In peilbuizen 7000 en 7002 is nagenoeg geen verontreiniging aangetroffen. Het afbraakproduct etheen is in de peilbuizen 5002 en 7001 in licht verhoogde concentraties aanwezig.

Redoxcondities

Voor het optreden van volledige biologische afbraak van PER zijn methanogene condities benodigd (sulfaat < 20 mg/l en methaan > 1mg/l). In geen van de bemonsterde peilbuizen is nitraat aangetroffen. De sulfaat concentratie is in alle bemonsterde peilbuizen boven de kritische grens van 20 mg/l. Uit ervaring van Bioclear blijkt dat bij aanwezigheid van sulfaat meestal geen volledige afbraak van VOCl optreedt, dan wel dat deze sterk wordt geremd. Alleen in peilbuis 7001 zijn methaan concentraties aanwezig die duiden op methanogene condities (1.920 μ g/l).

Dechlorerende bacterie

Uit de resultaten van de nulronde monitoring blijkt dat op deze locatie *Dehalococcoïdes* sp. van nature aanwezig is in concentraties variërend tussen $2,0 \times 10^4$ en $5,0 \times 10^5$ cellen/ml.

Conclusie nulsituatie Sappemeer

Uit de nulronde monitoring blijkt dat de redoxcondities niet gunstig zijn voor het optreden van reductieve dechlorering. Op de locatie is van nature *Dehalococcoides* sp. aanwezig. Op basis van aanvullende werkzaamheden is door Bioclear en SKB besloten om de bio-augmentatie pilot in Sappemeer uit te voeren. Dit is besloten om zodoende te achterhalen of, ondanks het hoge aantal *Dehalococcoides* sp. bij aanvang, toch een bio-augmentatie effect kan worden bereikt.

4.3.2. Pilot

In bijlage 9 zijn foto's opgenomen van de uitgevoerde pilot.

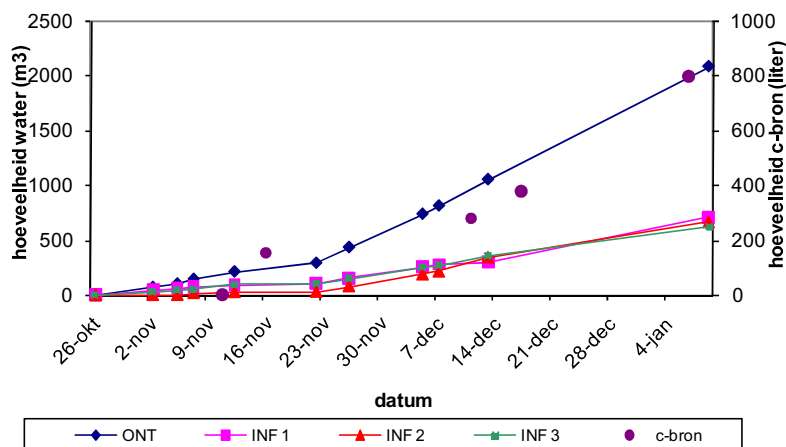
Een week na opstart van de pilot zijn in alle peilbuizen sulfaat en CZV metingen uitgevoerd. De resultaten zijn weergegeven in tabel 11.

Tabel 11. Tussentijdse CZV en sulfaat resultaten van de pilot Sappemeer (2 november 2007)

Peilbuis	Datum	5002	7000	7001	7002
CZV (mg/l)	2-11-07	66	77	62	99
Sulfaat (mg/l)	2-11-07	46	39	48	33

Uit de CZV-concentraties blijkt geen duidelijk verschil tussen het grondwater nabij en verder weg van infiltratieputten. De sulfaat concentraties zijn vergelijkbaar met de nulronde gegevens. Deze resultaten laten zien dat de peilbuizen nog niet beïnvloed zijn met koolstofbron.

In figuur 17 zijn de procesparameters (debiets, hoeveelheid gedoseerde koolstofbron etc) van de pilot samengevat. Hieruit blijkt dat alle drie de infiltratieputten van water zijn voorzien. Ook is te zien dat er in begin opstart problemen waren (lager onttrekking en infiltratie debiet). Alle infiltratieputten hebben uiteindelijk ongeveer evenveel infiltratiewater ontvangen.



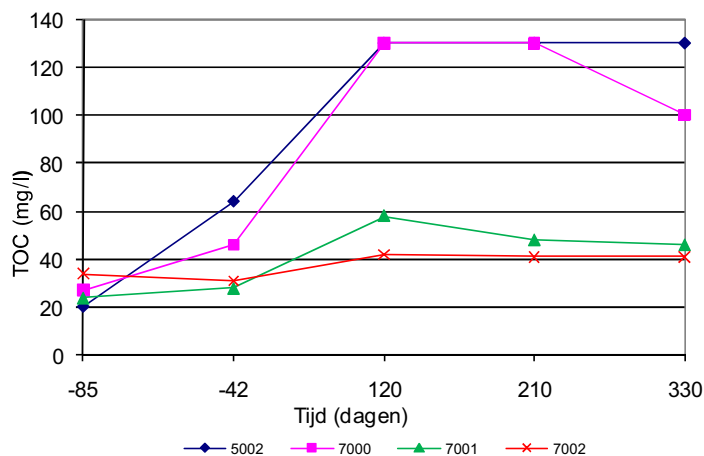
Figuur 17. Verloop procesparameters tijdens de actieve fase van de pilot. Op de x-as is de tijdschaal weergegeven.

4.3.3. Monitoring voortgang pilot

Alle monitoringsresultaten van Sappemeer zijn weergegeven in bijlage 10.

TOC

Uit de monitoringsgegevens (bijlage 10 en figuur 18) is te zien dat na opstart van de pilot de TOC-concentratie in alle peilbuizen is toegenomen (t = 120 dagen). De toename is kleiner in peilbuizen 7001 en 7002, deze peilbuizen liggen het verst weg van de infiltratieputten. Deze resultaten tonen aan dat het grondwater in het gehele pilot gebied beïnvloed is door het onttrekkings- en infiltratiesysteem. In de loop van de pilot neemt de TOC-concentratie nauwelijks af. In peilbuizen 7000 en 7001 is tijdens de laatste monitoringsronde een geringe afname in TOC-concentratie waargenomen.



Figuur 18. Verloop TOC-concentraties van alle peilbuizen tijdens de pilot Sappemeer. Op de x-as is de tijdschaal (in dagen) ten opzichte van de start van de actieve fase (17 oktober 2007) weergegeven.

In bijlage 6 zijn de uitkomsten van de koolstofbronbalansberekening weergegeven. Hieruit blijkt dat in alle peilbuizen voldoende koolstofbron aanwezig is om alle sulfaat en aanwezige verontreiniging te verwijderen.

Redoxcondities

Na uitvoering van de actieve fase van de pilot (2^e monitoringsronde) zijn de sulfaat concentraties in het grondwater van alle peilbuizen minder dan 8 mg/l (detectie niveau). Het methaan gehalte is, na de actieve fase, in alle peilbuizen sterk verhoogd (in peilbuis 7000 en 7001 tot boven de 1 mg/l). De redoxcondities (sulfaatreducerend tot methanogeen) zijn verbeterd en zijn na uitvoering van de pilot gunstiger geworden voor het optreden van volledige reductieve dechlorering.

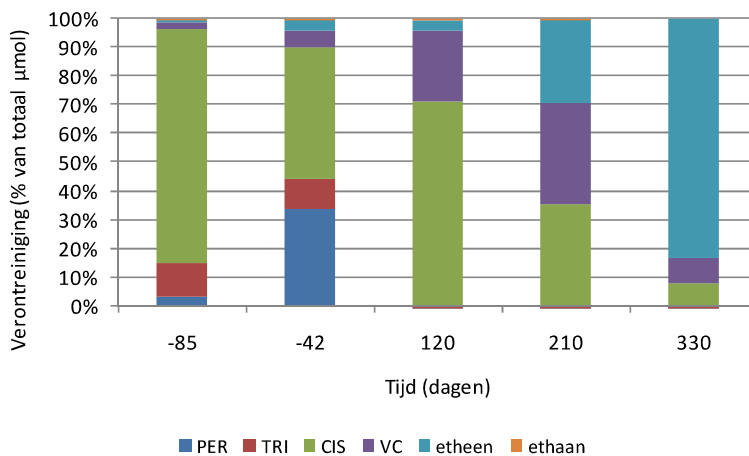
Verontreiniging

Figuur 19 geeft de verhouding tussen de verontreiniging en afbraakproducten weer tijdens het verloop van de pilot.

Tijdens de nulronde is slechts in 2 peilbuizen PER aangetroffen terwijl in de 1^e monitoringsronde in alle peilbuizen hoge concentraties PER zijn aangetroffen. Tijdens het onttrekken en infiltreren van grondwater wordt er dynamiek in de bodem gecreëerd. Als gevolg hiervan wordt er een grondwater stroming teweeg gebracht, hierdoor wordt de verontreiniging verplaatst. Daarnaast is mogelijk PER aanwezig in de onverzadigde zone in het grondwater opgelost door verhoging van de grondwaterstand.

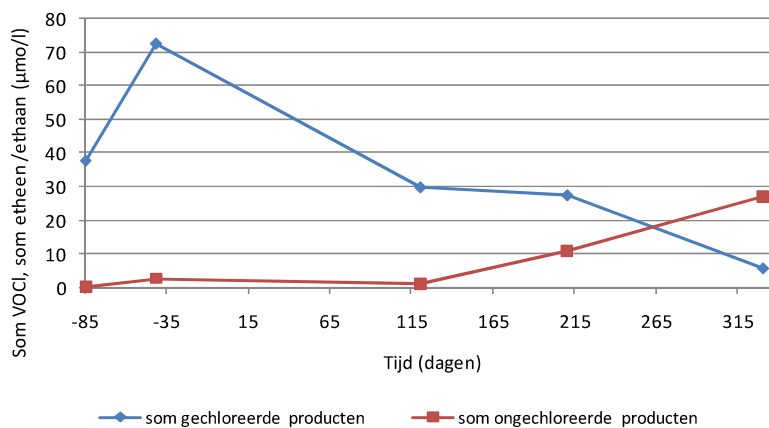
Tijdens het verloop van de pilot is in alle peilbuizen het oorspronkelijke product (PER) sterk in concentratie afgenomen. In de laatste monitoringsronde is slechts in één peilbuis PER boven detectielimiet aangetroffen (pb 7002 5,4 µg/l). Daarnaast zijn er in alle peilbuizen vanaf de 2^e monitoringsronde hoge concentraties VC en etheen aangetroffen (1.500 µg/l VC en 1.425 µg/l etheen in peilbuis 7001). Vanaf de 2^e monitoringsronde komt de massabalans van ethenen goed overeen met de daarop volgende monitoringsronden. Hieruit blijkt dat er geen grote hoeveelheden residueel puur product in de verzadigde zone aanwezig zijn.

Uit figuur 19 blijkt een duidelijke verschuiving naar de afbraakproducten CIS, VC en etheen in de tijd. Tijdens de laatste monitoringsronde bestaat de verontreiniging voor 8% uit CIS, 9% uit VC en 83% uit etheen.



Figuur 19. Het verloop van de verontreiniging en afbraakproducten tijdens de pilot (uitgedrukt in % van het totaal aantal µmol VOCl inclusief etheen en ethaan). Op de x-as is de tijdschaal ten opzichte van de start van de actieve fase (17 oktober 2007) weergegeven.

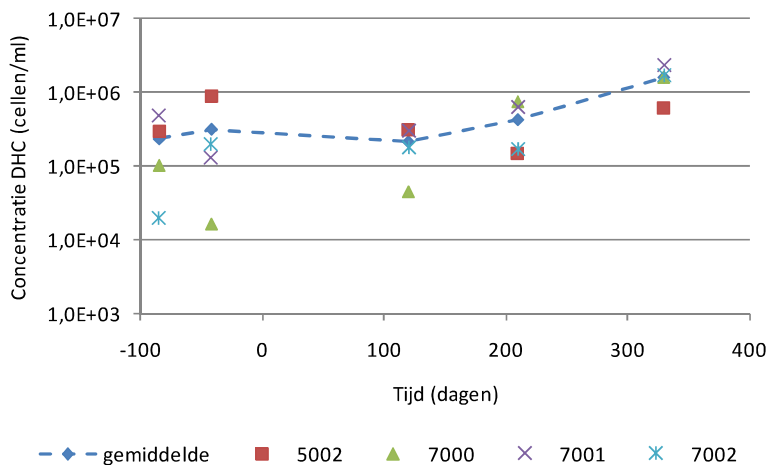
In figuur 20 is de trend weergegeven van de som van alle gechlloreerde verbindingen (PER, TRI, CIS, VC) en de som van alle ongechlloreerde verbindingen (etheen en ethaan). In figuur 20 is te zien dat de som van de gechlloreerde verbindingen in de loop der tijd afneemt terwijl de som van de ongechlloreerde verbindingen toeneemt. Dit laat zien dat er afbraak van de VOCl verontreiniging optreedt.



Figuur 20. Trend in som van alle gechlloreerde verbindingen (PER, TRI, CIS, VC) en som van etheen en ethaan (uitgedrukt in µmol/l). Op de x-as is de tijdschaal ten opzichte van de start van de actieve fase (17 oktober 2007) weergegeven.

Dechlorerende bacteriën

In figuur 21 is het aantal *Dehalococcoides* sp. uitgezet tegen de tijd. Van nature komen er op de locatie Sappemeer *Dehalococcoides* sp. bacteriën voor (in orde grootte van $2,0 \times 10^4$ tot $5,0 \times 10^5$). In de loop van de pilot neemt het aantal toe tot $2,4 \times 10^6$ cellen/ml. Uit figuur 21 lijkt geen duidelijke toename te zijn in aantallen *Dehalococcoides* sp. in de loop van de pilot.



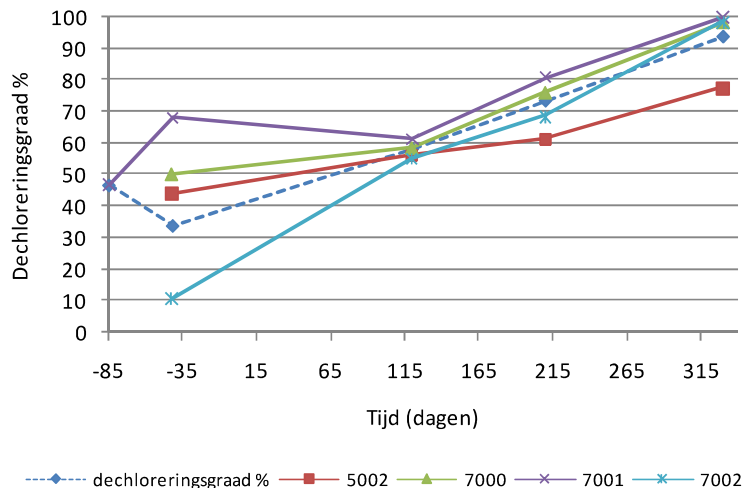
Figuur 21. Trend in aantal *Dehalococcoides* sp (cellen/ml). Op de x-as is de tijdschaal ten opzichte van de start van de actieve fase (17 oktober 2007) weergegeven.

De resultaten zijn eveneens met een statistisch programma beoordeeld om te bepalen of er toe- of afname is, hiervoor is het programma Mann-Kendall trendanalyse. Mann-Kendall is een statistische test die in 2001 in Amerika is ontwikkeld voor het uitvoeren van trendanalyses. De trendanalyse is uitgevoerd voor een betrouwbaarheidsinterval van 90% en is tweezijdig (zowel toe- als afname). Op basis van de ingevoerde data (ronde 1 tot en met 4) blijkt voor twee peilbuizen echter wel een toename in *Dehalococcoides* sp; peilbuis 7000 en 7001 (>90% betrouwbaar).

In bijlage 6 is een biomassabalans berekening weergegeven. Hierin is bepaald hoeveel *Dehalococcoides* sp. in totaal aan de bodem is toegevoegd en hoeveel er aan het eind van de pilot in totaal (in het beïnvloede gebied) aanwezig is. Hieruit blijkt dat er in de loop van de pilot in het grondwater een toename in *Dehalococcoides* sp. met een factor 7 heeft plaatsgevonden.

Dechloreringsgraad

In figuur 22 is de individuele en het gemiddelde (van vier peilbuizen) dechloreringsgraad opgenomen. De dechloreringsgraad van ronde 0 en 1 kunnen niet met elkaar vergeleken worden aangezien de situatie, in de tussentijd, sterk verandert is doordat er veel grondwaterstroming in de bodem is teweeggebracht (door het onttrekken en infiltreren van grondwater).



Figuur 22. Verloop in dechloreringsgraad tijdens pilot Sappemeer. Resultaten weergegeven van de individuele peilbuizen en het gemiddelde van vier peilbuizen. Op de x-as is de tijdschaal ten opzichte van de start van de actieve fase (17 oktober 2007) weergegeven.

Uit de resultaten blijkt de dechloreringsgraad van 50 (voor opstart van de pilot) tot 95% (laatste monitoringsronde) te zijn toegenomen. Dechlorering van VOCI in peilbuis 5002 verloopt trager dan de dechlorering in de overige peilbuizen. In alle peilbuizen treedt verregaande dechlorering op.

Conclusie locatie Sappemeer

Na uitvoering van de actieve fase van de pilot zijn de omstandigheden (redoxcondities) gunstig geworden voor het optreden van volledige reductieve dechlorering. Het grondwater in alle peilbuizen heeft een verhoogd TOC-concentratie. Deze concentratie is hoger nabij de infiltratiefilters dan bij het onttrekkingsfilter.

De concentraties PER en TRI zijn sterk afgenomen, overwegend onder de detectie/streefwaarde. Tijdens monitoring zijn in alle peilbuizen hoge concentraties VC en etheen aangetroffen. Tijdens de laatste monitoringsronde zijn voornamelijk de afbraakproducten CIS, VC en etheen aanwezig.

Er is geen duidelijke toename in *Dehalococcoides* sp. aantallen waargenomen. Uit de resultaten kan geconcludeerd worden dat volledige dechlorering van PER op de locatie optreedt. De directe relatie tussen de gedoseerde bacteriën en afbraak van de verontreiniging kan niet onomstotelijk worden aangetoond.

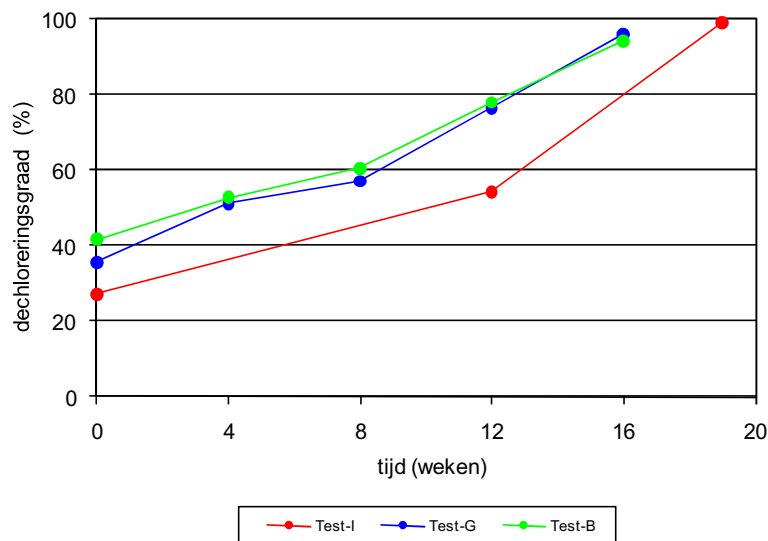
4.3.4. Afbraaktest

In onderstaande figuur zijn de resultaten van de afbraaktesten van de locatie Sappemeer weergegeven. Te zien is dat in alle testen (intrinsieke, met koolstofbron gestimuleerd en met koolstofbron en bacteriën gestimuleerd) volledige afbraak van de verontreiniging optreedt.

Vier weken na start van de afbraaktest zijn sulfaat analyses uitgevoerd op test-G en test B. In beide testen was er geen sulfaat boven de detectielimiet waarneembaar.

De resultaten van het verloop in individuele VOCI concentraties is weergegeven in bijlage 11. Binnen 18 weken heeft in alle drie de testen volledige omzetting van PER tot etheen plaatsgevonden. Er is geen verschil waarneembaar in de toename in dechloreringsgraad tussen test-G en test-B. Er is dus geen verschil tussen de gestimuleerde test met en zonder bacteriën.

Op basis van de resultaten van test-G en test-B is besloten om de afbraaktesten vroegtijdig stop te zetten. Na 20 weken zijn analyses uitgevoerd op test-I. In figuur 23 zijn de resultaten te zien.



Figuur 23. Resultaten afbraaktest locatie Sappemeer. Test I: intrinsieke test; Test-G: gestimuleerde test; Test-B: bio-augmentatie test. Dechloreringsgraad geeft de mate van dechlorering aan (100% dechlorering, PER volledig omgezet tot etheen). Op de x-as is de tijdschaal (in weken) weergegeven.

Uit de resultaten blijkt geen verschil tussen de G en B-test. Hieruit kan geconcludeerd worden dat het toevoegen van dechlorerende bacteriën geen effect heeft op de snelheid van dechlorering.

Te zien is dat in de intrinsieke test ook volledige afbraak van PER is opgetreden. De dechlorering treedt hier langzamer op maar uiteindelijk vindt volledige dechlorering plaats tot de onschadelijke eindproducten. De redoxcondities zijn in deze test minder gunstig dan in de testen G en B, er is aan het eind van de test in test-I nog 49 mg/l sulfaat aanwezig. Klaarblijkelijk zijn de condities toch gunstig genoeg voor het optreden van volledige dechlorering. Dit strookt niet met de waarnemingen van de nulronde meting (nagenoeg geen vorming van etheen). Een mogelijke verklaring voor de afbraak in de intrinsieke test is de aanwezigheid van een nevenverontreiniging. Deze nevenverontreiniging (eventueel afkomstig van het naastgelegen gasfabrieksterrein) kan dienst doen als koolstofbron. Een andere verklaring is te vinden in de test set-up, het zijn gecontroleerde omstandigheden waarbij geen toestroom van bijvoorbeeld sulfaat optreedt. Er is echter geen duidelijke verklaring voor het feit dat afbraak in alle drie de testen is opgetreden.

5. DISCUSSIE

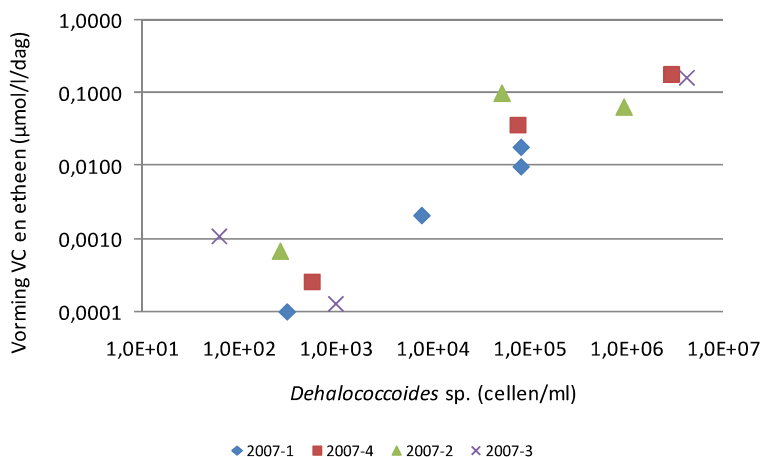
5.1. Discussie Uithuizen

De gemiddelde dechloreringsgraad in Uithuizen is toegenomen van 7 naar 90%. Uit de laatste monitoring blijkt de verontreiniging onder andere te bestaan uit circa 20% CIS, 10% VC en 65% etheen. De som aan gechloreerde verbindingen neemt in de loop van de pilot af en de som van de ongechloreerde verbindingen neemt toe.

De laboratorium afbraaktest laat zien dat volledige afbraak alleen kan optreden indien naast koolstofbron ook bacteriën worden gedoseerd. Biologische afbraak van VOCl kan in Uithuizen alleen plaatsvinden door middel van het toepassen van bio-augmentatie.

Tijdens het verloop van de pilot is in Uithuizen een duidelijke groei van *Dehalococcoides* sp. aangetoond: van rond de detectielimiet (130 cellen/ml) tot 3×10^6 cellen/ml.

In onderstaande figuur is de vormingsnelheid van VC en etheen (oftewel de reductiecapaciteit) uitgezet tegen de concentratie *Dehalococcoides* sp. (cellen/ml). In bijlage 3 is de berekeningsmethode gegeven.



Figuur 24. Reductie capaciteit (vorming VC en etheen) uitgezet tegen aantal *Dehalococcoides* sp. voor de locatie Uithuizen.

Uit figuur 24 blijkt de vorming van VC en etheen lineair gecorreleerd te zijn met het aantal *Dehalococcoides* sp. bacteriën. De maximale vormingsnelheid bedraagt 0,18 µmol/l/dag. Er blijkt een duidelijke correlatie tussen aantallen *Dehalococcoides* sp. en de vormingsnelheid van VC en etheen.

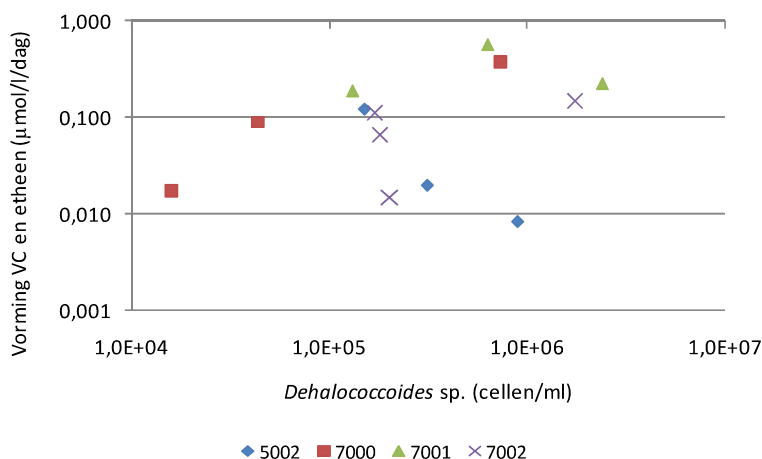
5.2. Discussie Sappemeer

De gemiddelde dechloreringsgraad in Sappemeer is toegenomen van 50% naar 95%. Uit de laatste monitoring blijkt de verontreiniging in te bestaan uit alleen afbraakproducten: 8% CIS, 9% VC en 83% etheen. De som aan gechloreerde verbindingen neemt in de loop van de pilot af en de som van de ongechloreerde verbindingen neemt toe.

De laboratorium afbraaktest toont aan dat zowel stimulering van de afbraak door dosering van koolstofbron als het toepassen van bio-augmentatie leidt tot volledige afbraak van VOCl. Er is geen verschil in de afbraaksnelheid. In de intrinsieke test lijkt ook volledige afbraak op te treden, dit strookt echter niet met de waarnemingen bij de nulronde in het veld. In het veld worden geen hoge concentraties afbraakproducten aangetroffen maar bestaat de verontreiniging voornamelijk uit PER.

Vanwege het feit dat *Dehalococcoides* sp van nature op de locatie Sappemeer in hoge concentraties aanwezig was is het niet mogelijk geweest om de verspreiding en groei van de bacterie te monitoren. Bij start was laagste concentratie $2,0 \times 10^4$ cellen/ml en de hoogste concentratie $5,0 \times 10^5$ cellen/ml.

In onderstaande figuur is de vorming van VC en etheen (oftewel de reductiecapaciteit) uitgezet tegen de concentratie *Dehalococcoides* sp. (cellen/ml). In bijlage 3 is de berekening methode weergegeven.



Figuur 25. Reductie capaciteit (vorming VC en etheen) uitgezet tegen aantal *Dehalococcoides* sp. voor de locatie Sappemeer.

Uit figuur 25 blijkt dat er geen duidelijke correlatie zichtbaar is tussen het aantal *Dehalococcoides* sp. en de vorming van VC en etheen. Alleen in peilbuis 7000 lijkt er een positieve (duidelijke) correlatie tussen het aantal *Dehalococcoides* sp. en de vormingssnelheid van VC en etheen. Peilbuis 7000 is de eerste peilbuis waar afbraak van PER optreedt. De maximale vormingssnelheid is $0,57 \mu\text{mol/l/dag}$.

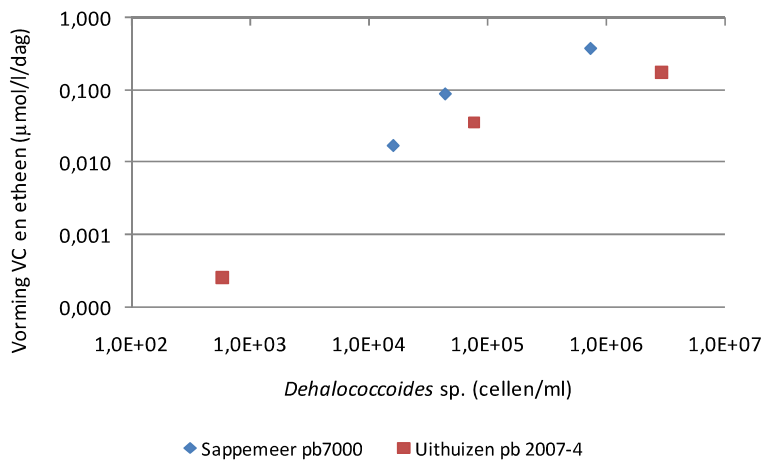
5.3. Vergelijking van de dechloreringsnelheden van de locaties Uithuizen en Sappemeer

In deze paragraaf zijn de resultaten van Uithuizen en Sappemeer met elkaar vergeleken om na te gaan of de dechloreringsprocessen met gelijke snelheid verlopen. De locaties verschillen in verontreinigingsconcentraties en daarnaast zijn de redoxcondities ook verschillend, in Sappemeer zijn de condities sterker gereduceerd dan in Uithuizen. Op beide locaties zijn echter de hoeveelheid *Dehalococcoides* sp. aan het eind van de pilot vergelijkbaar (10^6 cellen/ml).

In zowel Uithuizen als in Sappemeer zijn in een aantal peilbuizen binnen een jaar tussenwaarden bereikt. Uit de gemiddelde dechloreringsgraad blijkt dat in Uithuizen deze is toegenomen van 7 naar 90% en in Sappemeer van 50% naar 95%. Op basis van de meest beïnvloede peilbuis lijkt de afbraak van VOCI op de locatie Uithuizen sneller te verlopen dan de afbraak in Sappemeer. De helling van de grafiek van de dechloreringsgraad is steiler voor de grafiek van Uithuizen dan voor Sappemeer (zie figuur 27).

Uit de resultaten van de vorming van VC en etheen (zie figuur 26) lijkt echter dat de vormingsnelheid van VC en etheen voor de locatie Sappemeer hoger te liggen dan voor de locatie Uithuizen (in beide gevallen is de meest beïnvloede peilbuis gekozen), er zijn echter meer datapunten benodigd om hier een concrete uitspraak over te doen.

De maximale VC en etheen vormingsnelheid in Uithuizen en Sappemeer is respectievelijk $0,18 \mu\text{mol/l/dag}$ en $0,57 \mu\text{mol/l/dag}$.



Figuur 26. Vorming van VC en etheen (uitgedrukt in $\mu\text{mol/l/dag}$) voor Uithuizen (pb 2007-4) en Sappemeer (pb 7000) uitgezet tegen aantal *Dehalococcoides* sp. (cellen/ml).

5.4. Vergelijking van de toegepaste doseringstechnieken

Verandering in redoxcondities

Zowel in Uithuizen als in Sappemeer zijn de redoxcondities verbeterd na uitvoering van de pilot. De sulfaat concentratie is in beide gevallen sterk afgenomen. Hieruit blijkt dat beide technieken geschikt zijn voor het toedienen van koolstofbron en daarmee samenhangend voor de verbetering van de redoxcondities.

Vergelijking van de verspreiding in koolstofbron

Zowel in Uithuizen als in Sappemeer heeft verspreiding van koolstofbron plaatsgevonden. In Uithuizen is het verspreidingsbeeld grilliger dan in Sappemeer, in Uithuizen zijn niet alle peilbuizen evenveel beïnvloed. Dit heeft in Uithuizen geleid tot een tekort aan koolstofbron in één van de peilbuizen. In Sappemeer is de verspreiding gelijkmatiger. Met directe injectie kunnen hogere TOC-concentraties bereikt worden dan met de onttrekking en infiltratie techniek. Bij het toepassen van directe injecties is het zeer belangrijk om een goed injectiegrid te kiezen en deze eventueel voor start van de sanering te testen middels een injectieproef. Beide technieken zijn geschikt voor het toedienen van koolstofbron en dechlorerende bacteriën. Middels onttrekking en infiltratie is het makkelijker om de bodem vlakdekkend te stimuleren dan middels directe injecties.

5.5. Verspreiding en groei van *Dehalococcoides* sp

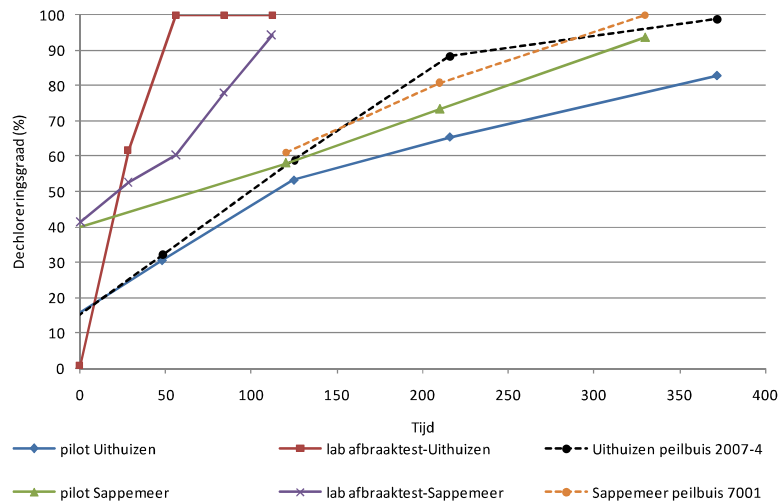
Tijdens het verloop van de pilot is in Uithuizen een duidelijke groei van *Dehalococcoides* sp. zichtbaar. De concentraties nemen toe van rond de detectielimiet (130 cellen/ml) tot $4,2 \times 10^6$ cellen/ml. In bijlage 6 is een berekening weergegeven waaruit blijkt dat er in de loop van de pilot in het grondwater een toename in *Dehalococcoides* sp. heeft plaatsgevonden met een factor 80. De toename in *Dehalococcoides* sp. in het grondwater kan hiermee dus duidelijk gecorreleerd worden aan groei van de bacterie en is niet alleen veroorzaakt door dosering van gekweekte bacteriën in het grondwater. Daarnaast is de toename in *Dehalococcoides* sp. duidelijk gerelateerd aan de vorming van VC en etheen (zie 5.3.1).

Uit de uitgevoerde statische trendanalyse voor Sappemeer lijkt er voor twee van de vier peilbuizen een duidelijke relatie tussen het aantal *Dehalococcoides* sp. en het verloop van de pilot; er is een toename in *Dehalococcoides* sp. Uit de berekening in bijlage 6 blijkt een toename in het grondwater van *Dehalococcoides* sp. met een factor 7. Vanwege het feit dat *Dehalococcoides* sp. van nature op de locatie Sappemeer in hoge concentraties aanwezig was is het niet mogelijk om de verspreiding en groei van de gekweekte bacteriën, ten gevolge van de pilot, met zekerheid vast te stellen.

In vergelijking tot Uithuizen is de concentratie DHC in Sappemeer nauwelijks toegenomen. De eindconcentraties in Uithuizen (gemiddeld $1,1 \times 10^6$ cellen/ml) en Sappemeer (gemiddeld $1,6 \times 10^6$ cellen/ml) zijn vergelijkbaar; hoogste concentratie Uithuizen $4,2 \times 10^6$ cellen/ml en Sappemeer $2,4 \times 10^6$ cellen/ml. Uit figuur 26 blijkt er een lineair verband te zijn tussen het aantal DHC en de vormingssnelheid van VC en etheen. Het valt op dat op het moment dat VC vorming plaatsvindt ook een toename in *Dehalococcoides* sp. wordt waargenomen.

5.6. Vergelijking tussen labtesten en veldtesten Uithuizen en Sappemeer

In onderstaande figuur zijn de resultaten van de pilottesten en de laboratorium afbraaktesten weergegeven voor zowel Uithuizen als Sappemeer, hierin is de dechloreringsgraad weergegeven.



Figuur 27. Vergelijking van de dechloreringsgraad tussen de labtesten en pilottesten van Uithuizen en Sappemeer.

Uit figuur 27 blijkt dat, voor beide locaties, de afbraak sneller verloopt in de laboratorium afbraaktesten dan in de pilottest. De afbraak van VOCI verloopt trager in de afbraaktest van Sappemeer dan in de afbraaktest van Uithuizen. Dit kan verklaard worden door het feit dat de afbraaktest van Sappemeer bij een lagere temperatuur is ingezet dan de test voor Uithuizen.

Op basis van de gemiddelde dechloreringsgraad lijkt de dechlorering in Sappemeer sneller te verlopen dan in Uithuizen. Er dient echter op gewezen te worden dat in Uithuizen in één peilbuis (2007-1) de dechlorering blijft steken vanwege een mogelijk tekort aan TOC. Indien de peilbuis met de meeste dechlorering van beide locaties worden vergeleken blijkt dat de dechlorering in Uithuizen het snelst verloopt.

6. TOEGEVOEGDE WAARDE VAN EENVOUDIGE BIO-AUGMENTATIE

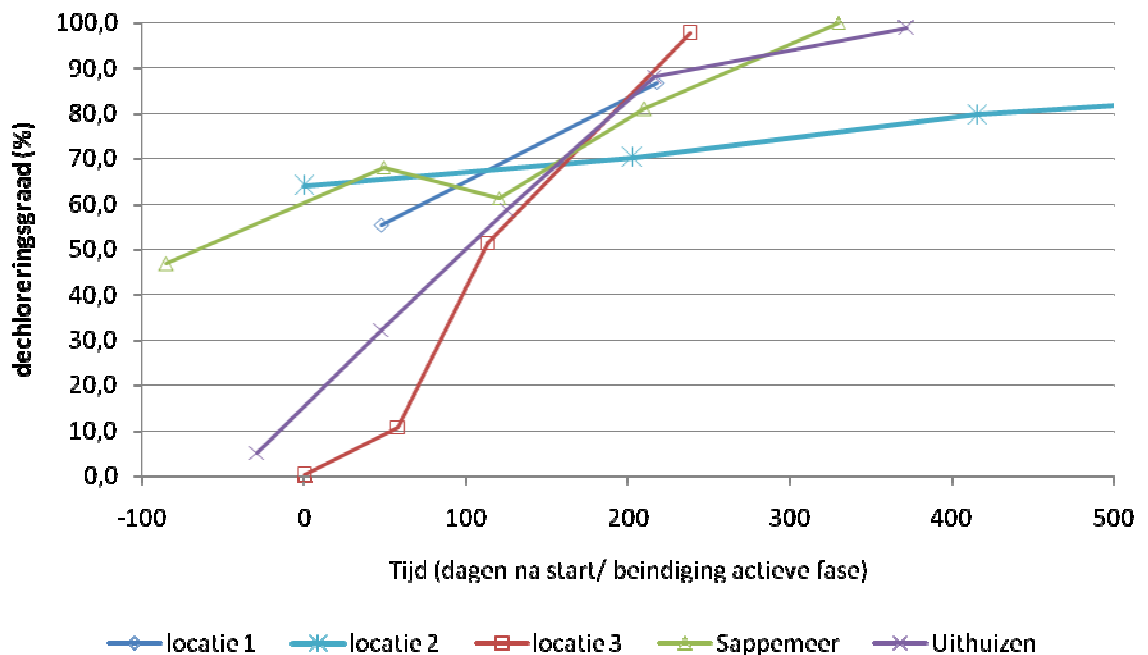
6.1. Vergelijking van de pilotresultaten met andere in-situ dechloreringsprojecten

Een in-situ techniek is bij voorkeur robuust en snel. Dat geldt ook voor biologische in-situ technieken. Biologische dechlorering wordt al sinds enige tijd regelmatig toegepast. Meestal gebeurt dit in varianten zonder bio-augmentatie, maar soms ook met bio-augmentatie (zoals bij het TCE concept). In alle gevallen wordt gebruik gemaakt van dezelfde processen (reductieve dechlorering) en het zijn dezelfde bacteriën die deze omzetting bewerkstelligen (*Dehalococcoides* sp.). Hoewel de wijze van toepassing en de locatiespecifieke omstandigheden kunnen verschillen, is het de moeite waard om na te gaan of er een rode lijn gehaald kan worden uit de snelheid en volledigheid van afbraak, wanneer verschillende reeds uitgevoerde projecten worden vergeleken met de pilotresultaten. Hiertoe zijn de resultaten van Uithuizen en Sappemeer vergeleken met de resultaten van twee andere projecten waarbij in-situ biologische afbraak is toegepast:

- locatie 1 (alleen dosering van koolstofbron, middels directe injecties);
- locatie 2 (idem als 1);
- locatie 3 (dosering van koolstofbron en bacteriën middels het TCE-concept, onttrekking en infiltratie).

Er zijn binnen Bioclear geen projecten bekend waarbij van nature geen *Dehalococcoides* sp. aanwezig is en de afbraak gestimuleerd is door toevoeging van alleen koolstofbron. Dit zou een onlogische keuze van de saneringsvariant zijn. Het is daarom niet mogelijk om de resultaten van de pilot Uithuizen te vergelijken met projecten waar van nature geen/lage aantallen bacteriën aanwezig zijn en waarbij de afbraak is gestimuleerd door toevoeging van alleen koolstofbron.

In figuur 28 zijn de resultaten van de dechloreringsgraad van de bovengenoemde projecten en de twee pilots weergegeven.



Figuur 28. Dechloreringsgraad van vier projecten uitgezet tegen de tijdsverloop van de sanering (ten opzichte van uitvoering directe injecties/ start van de actieve fase). Hierin zijn de peilbuizen geselecteerd die het beste (dechlorerings)resultaat vertoonden.

Op alle locaties treedt volledige dechlorering op. Op basis van het steilste deel van de curve is de volgorde van snelste naar langzaamste afbraak als volgt:

1. Locatie 3 (bio-augmentatie met TCE-concept);
2. Pilotlocatie Uithuizen (bio-augmentatie met gekweekte bacteriën);
3. Pilotlocatie Sappemeer (bio-augmentatie met gekweekte bacteriën);
4. Locatie 1 (alleen koolstofbron dosering);
5. Locatie 2 (alleen koolstofbron dosering).

Uit bovenstaand overzicht blijkt, dat met bio-augmentatie snelle dechlorering mogelijk is. Uit het overzicht kunnen geen harde conclusies worden getrokken, aangezien er grote verschillen zijn per locatie in ondermeer bodemopbouw en aanwezige concentraties VOCl. Toch is het opmerkelijk, dat op locaties waar van nature al een actieve populatie *Dehalococcoides* aanwezig is (zoals op de locaties 1 en 2) door toevoeging van alleen koolstofbron de dechloreringssnelheid niet zo hoog wordt als op de locaties waar van nature geen *Dehalococcoides* voorkomt (locatie 3 en locatie Uithuizen). Dit kan voor een groot deel worden verklaard uit verschillen in bodemopbouw. Op de locaties 1 en 2 is een slecht doorlatende bodem aanwezig (klei en veen), waardoor enerzijds de natuurlijke condities gunstiger zijn en *Dehalococcoides* ook van nature al actief is, maar anderzijds de dechloreringssnelheid negatief wordt beïnvloed door de sterke hechting van de VOCl aan de bodemmatrix. Hierdoor wordt de afbraaksnelheid beperkt door de desorptiesnelheid.

De uiteindelijke conclusie is, dat de natuurlijke condities niet bepalend zijn voor het te behalen saneringsrendement. Juist op locaties waar de bodem goed doorlatend is en waar de condities van nature niet geschikt zijn voor reductieve dechlorering, kan deze dechlorering op zeer effectieve wijze worden uitgevoerd middels bio-augmentatie technieken.

6.2. Kosten van eenvoudige bio-augmentatie

In bijlage 12 is weergegeven waar de kosten voor bio-augmentatie uit opgebouwd zijn en hoe ze bepaald kunnen worden. Het blijkt dat de kosten voor directe injectie circa € 24/m³ bodemvolume bedraagt. De kosten voor directe injectie (per kuub bodemvolume) zijn in geringe mate afhankelijk van de omvang van de locatie. In het geval van onttrekking en infiltratie nemen de kosten (sterker) af naarmate de omvang van locatie toeneemt. Met andere woorden voor een kleine locatie met een omvang van 2.500 m³ zijn de kosten circa € 22/m³ bodemvolume terwijl voor een locatie met omvang 10.000 m³ de kosten circa € 11/m³ bodemvolume bedragen.

Op locaties waarbij de sanering stagneert vanwege te hoge kosten voor de gekozen uitvoeringsvorm kan het toepassen van bio-augmentatie een meerwaarde hebben.

6.3. Benodigde hoeveelheid dechlorerende bacteriën

In bijlage 13 is de berekening voor het bepalen van de hoeveelheid dechlorerende bacteriën gegeven. Bij deze berekening is er van uitgegaan dat een minimale concentratie van $1,0 \times 10^3$ cellen *Dehalococcoides* sp. in het grondwater aangebracht dienen te worden. Voor onttrekking en infiltratie is een overmaat factor 2 aangehouden. In het geval van directe injectie is deze overmaat factor verhoogd naar 3 keer overmaat. In het geval van directe injectie raakt circa 70% van de bacteriën (van de kweek) verloren, tijdens de dosering.

6.4. Toepasbaarheid eenvoudige bio-augmentatie technieken

De indicatieve grens van de noodzaak voor het toepassen van bio-augmentatie is gesteld $1,0 \times 10^3$ *Dehalococcoides* sp. cellen/ml. Op locaties waar van nature *Dehalococcoides* sp. voorkomt is het niet noodzakelijk om bio-augmentatie toe te passen en is waarschijnlijk dosering van koolstofbron voldoende.

De resultaten van de pilots in Uithuizen en Sappemeer tonen de toepasbaarheid van beide technieken. Op basis van de resultaten van dit SKB project kan geconcludeerd worden dat het mogelijk is om met eenvoudige technieken, zoals directe injectie en onttrekking en infiltratie, bio-augmentatie op een verontreinigde locatie toe te passen. Na het uitvoeren van de actieve fase worden de (redox)condities op de locaties gunstiger voor het optreden van volledige dechlorering van VOCl.

Tijdens het SKB-project is de nadruk gelegd op het zo anaëroob mogelijk werken, aangezien *Dehalococcoides* een anaërobe bacterie is. Het is hierbij mogelijk gebleken, ook tijdens het uitvoeren van directe injecties, om zo anaëroob mogelijk te werken zodat dit geen nadelige effecten heeft voor de anaërobe bacteriekweek.

Middels bio-augmentatie kunnen op korte termijn goede resultaten worden geboekt, zoals hieronder beschreven.

6.5. Saneringsduur

Door het toepassen van bio-augmentatie is het op beide pilotlocaties mogelijk gebleken om binnen een jaar concentraties PER tot beneden de tussenwaarde te bereiken, zoals blijkt uit de veldresultaten van Sappemeer en Uithuizen. Voor vinylchloride (VC) zijn eveneens, voor een aantal peilbuizen, binnen één jaar terugsaneerwaarden van onder de interventiewaarde behaald.

De tijdsduur waarbinnen de tussenwaarde bereikt wordt is sterk afhankelijk van de startconcentraties aan verontreiniging en de heersende redoxcondities. Met biologische saneringen zijn concentraties van onder de tussenwaarde te bereiken zolang de redoxcondities gunstig zijn, er voldoende TOC aanwezig is, het bodemtype geschikt is en de vracht VOCl niet te hoog is.

6.6. Randvoorwaarden voor toepassen van bio-augmentatie

Indien op een locatie geen *Dehalococcoides* sp. aanwezig is, gehalten lager dan $1,0 \times 10^3$ *Dehalococcoides* sp. cellen/ml, heeft ons inziens het toepassen van bio-augmentatie een meerwaarde. Zoals uit de resultaten van Uithuizen blijkt is het, in een aantal gevallen, noodzakelijk om bacteriën toe te voegen om de afbraak van VOCl te stimuleren.

In dit onderzoek is de meerwaarde van bio-augmentatie niet aangetoond bij van nature voorkomen van *Dehalococcoides* sp.

Voor het uitvoeren van bio-augmentatie zijn er binnen het SKB project twee saneringstechnieken toegepast: directe injectie en onttrekking en infiltratie. Indien de verontreiniging in een slechtdoorlatende laag aanwezig is dan komt directe injectie in aanmerking als saneringstechniek terwijl voor een goed doorlatende bodem zowel directe injectie als onttrekking en infiltratie toegepast kunnen worden. Als de verontreiniging in een goed doorlatende bodem aanwezig is, wordt de keuze voor techniek voornamelijk bepaald op door de kosten. Zoals hierboven aangegeven zijn de kosten voor directe injectie circa € 24/m³ bodemvolume en de kosten voor onttrekking en infiltratie variëren tussen € 11 en 22 per m³ bodemvolume, afhankelijk van de grootte van de locatie.

Net als bij overige (biologische) in-situ saneringen dient bij bio-augmentatie eveneens de locatie gedurende een aantal jaren beschikbaar te blijven. Na afloop van de actieve fase dient de locatie gemonitord te worden om onder andere het verloop van de sanering te controleren.

7. SAMENVATTING EN CONCLUSIES

In het onderliggend SKB project is op twee locaties in de provincie Groningen een bio-augmentatie pilot uitgevoerd. Op één locatie is bio-augmentatie toegepast middels directe injecties (slecht doorlatende bodem) en op de andere locatie is onttrekking en infiltratie toegepast (goed doorlatende bodem). Middels beide technieken is het mogelijk gebleken om de bodem te voorzien van koolstofbron (en biomassa). Na uitvoering van de pilots zijn op beide locaties de redoxcondities verbeterd om volledige dechlorering op te laten treden, hiervoor zijn methanogene condities nodig. De pilots zijn met succes uitgevoerd.

Op de locatie (Uithuizen) waar directe injectie is toegepast waren van nature nagenoeg geen *Dehalococcoides* sp (dechlorerende bacteriën) aanwezig. Hier is in de loop van de pilot een toename in bacteriën waargenomen. De toename in bacteriën komt overeen met het tijdstip waarop afbraak van CIS en VC optreedt. Op de andere locatie (Sappemeer) zijn tijdens de nulronde monitoring concentraties van $1,0 \times 10^5$ cellen *Dehalococcoides* sp./ml aangetroffen. Hier is geen duidelijke correlatie zichtbaar tussen het verloop van de pilot en de toe/of afname van *Dehalococcoides* sp. (in twee van de vier peilbuizen is een toename waargenomen).

Op beide locaties treedt volledige dechlorering op (omzetting tot etheen). Er is geen groot verschil in omzettingssnelheid tussen beide locaties. Op locatie Sappemeer (waar van nature *Dehalococcoides* sp. voorkomt) is deze afbraak echter niet direct te correleren aan de toegepaste bio-augmentatie. Op de andere locatie is dit wel het geval, dit blijkt ook uit de resultaten van de laboratorium afbraaktest.

Op beide locaties zijn aan het eind van de pilot vinylchloride concentraties van onder de tussenwaarde aangetroffen. Op beide locaties is zelfs een peilbuis aanwezig die binnen één jaar volledig schoon blijkt te zijn.

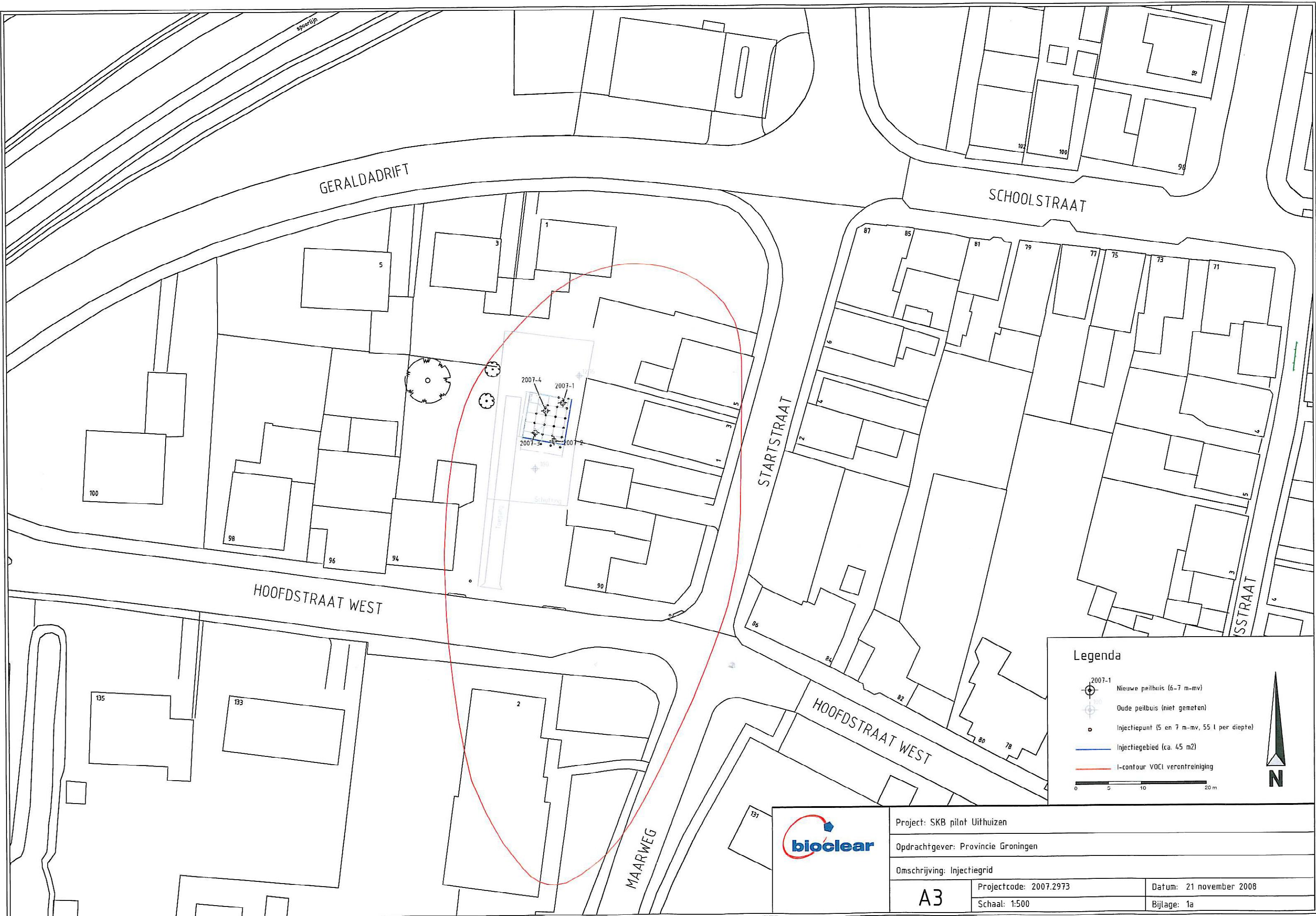
Samenvattend blijkt uit het bio-augmentatie project onderstaande:

- op locaties waar geen dechlorerende bacteriën aanwezig zijn heeft bio-augmentatie een toegevoegde waarde;
- op locaties waar CIS stagnatie optreedt heeft bio-augmentatie mogelijk een toegevoegde waarde;
- op basis van screening op het aantal *Dehalococcoides* sp. kan bepaald worden of het toepassen van bio-augmentatie zinvol is;
- het is met twee verschillende technieken bewezen om op anaërobe wijze dechlorerende bacteriën aan de bodem te doseren;
- binnen een tijdsperiode van een jaar zijn terugsaneerwaarden van onder de tussenwaarde te behalen (met beide doseertechnieken);
- bio-augmentatie is een krachtige techniek voor het in-situ saneren van verontreinigde bodem;
- beide toegepaste doseringstechnieken leveren vergelijkbare resultaten met overige technieken toegepast in in-situ bioremediatie;
- tijdens het verloop van de bio-augmentatie pilot treedt een toename in *Dehalococcoides* sp. op;
- er is, op één locatie, een duidelijke relatie tussen de toename in *Dehalococcoides* sp. en de vorming van VC en etheen;
- middels beide technieken is een goede verspreiding van TOC mogelijk. In geval van directe injectie dient een (proefondervindelijk) een goed injectiegrid gekozen te worden;
- middels beide technieken is het bereiken van volledige dechlorering mogelijk;
- de kosten voor het toepassen van bio-augmentatie met eenvoudige technieken variëren ter indicatie tussen € 11 en 24 per m³ bodemvolume. Opgemerkt dient te worden dat de kosten sterk afhankelijk zijn van de locatiespecifieke eigenschappen zoals diepte, bodemopbouw, concentraties en omvang, etc. De kosten kunnen voor individuele locaties zowel hoger als lager zijn dan de genoemde range.






Bio-augmentatie voor VOCl verontreinigde locaties is een krachtige saneringstechniek indien geen of lage aantallen *Dehalococcoides* sp. op locatie aanwezig zijn en de sanering van de verontreiniging stagneert.

BIJLAGEN

Bijlage 1. Pilotlocatie Uithuizen met verontreinigingscontour en uitgevoerde pilot werkzaamheden

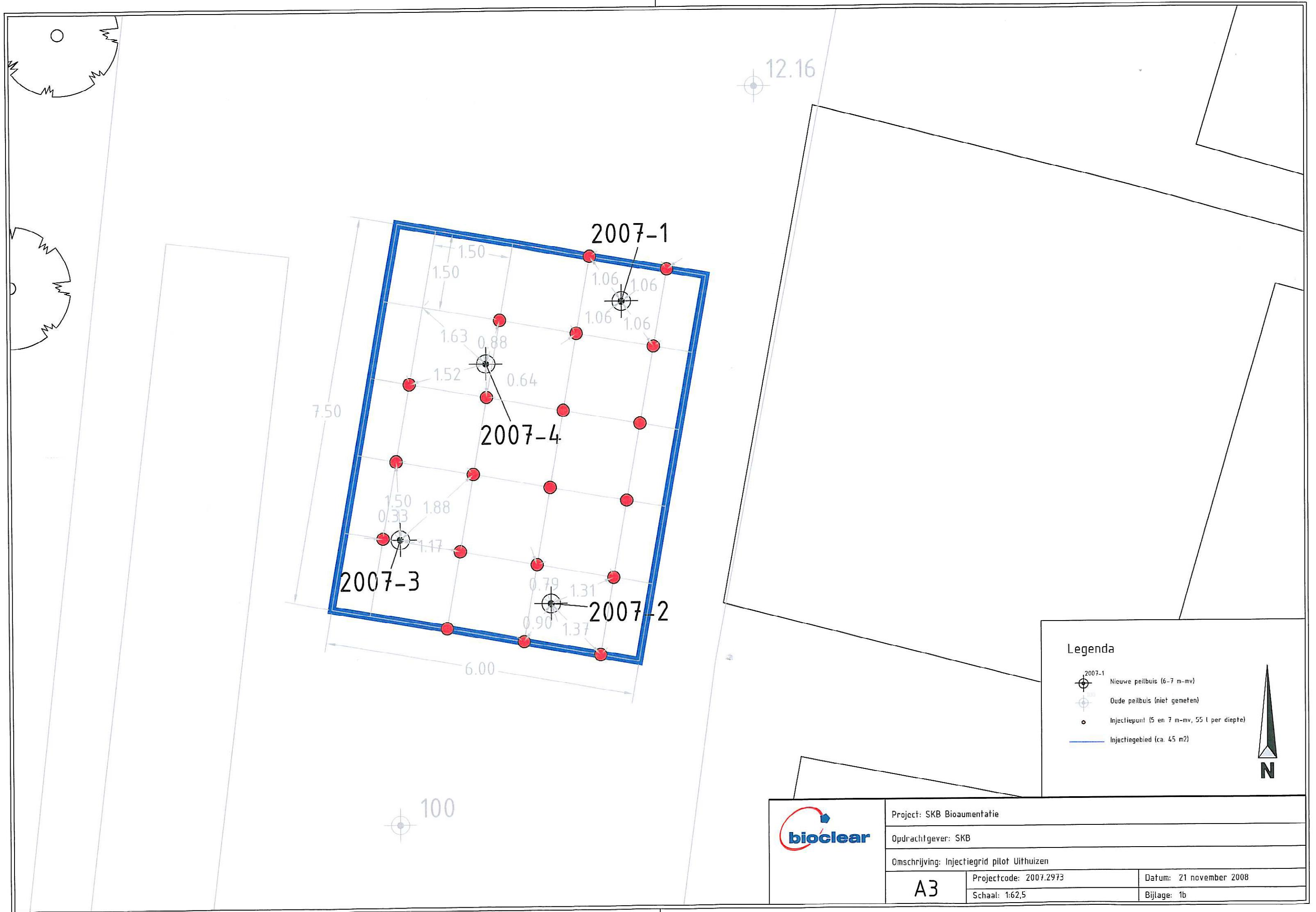


Legenda





-  2007-1 Nieuwe peilbuis (6-7 m-mv)
 -  Oude peilbuis (niet gemeten)
 -  Injectiepunt (5 en 7 m-mv, 55 l per diepte)
 -  Injectiegebied (ca. 45 m2)
 -  I-contour VOCl verontreiniging
- 0 5 10 20 m




Project: SKB pilot Uithuizen		
Opdrachtgever: Provincie Groningen		
Omschrijving: Injectiegrid		
A3	Projectcode: 2007.2973	Datum: 21 november 2008
	Schaal: 1:500	Bijlage: 1a



Legenda

-  2007-1 Nieuwe peilbuis (6-7 m-mv)
-  Oude peilbuis (niet gemeten)
-  Injectiepunt (5 en 7 m-mv, 55 l per diepte)
-  Injectiegebied (ca. 45 m2)

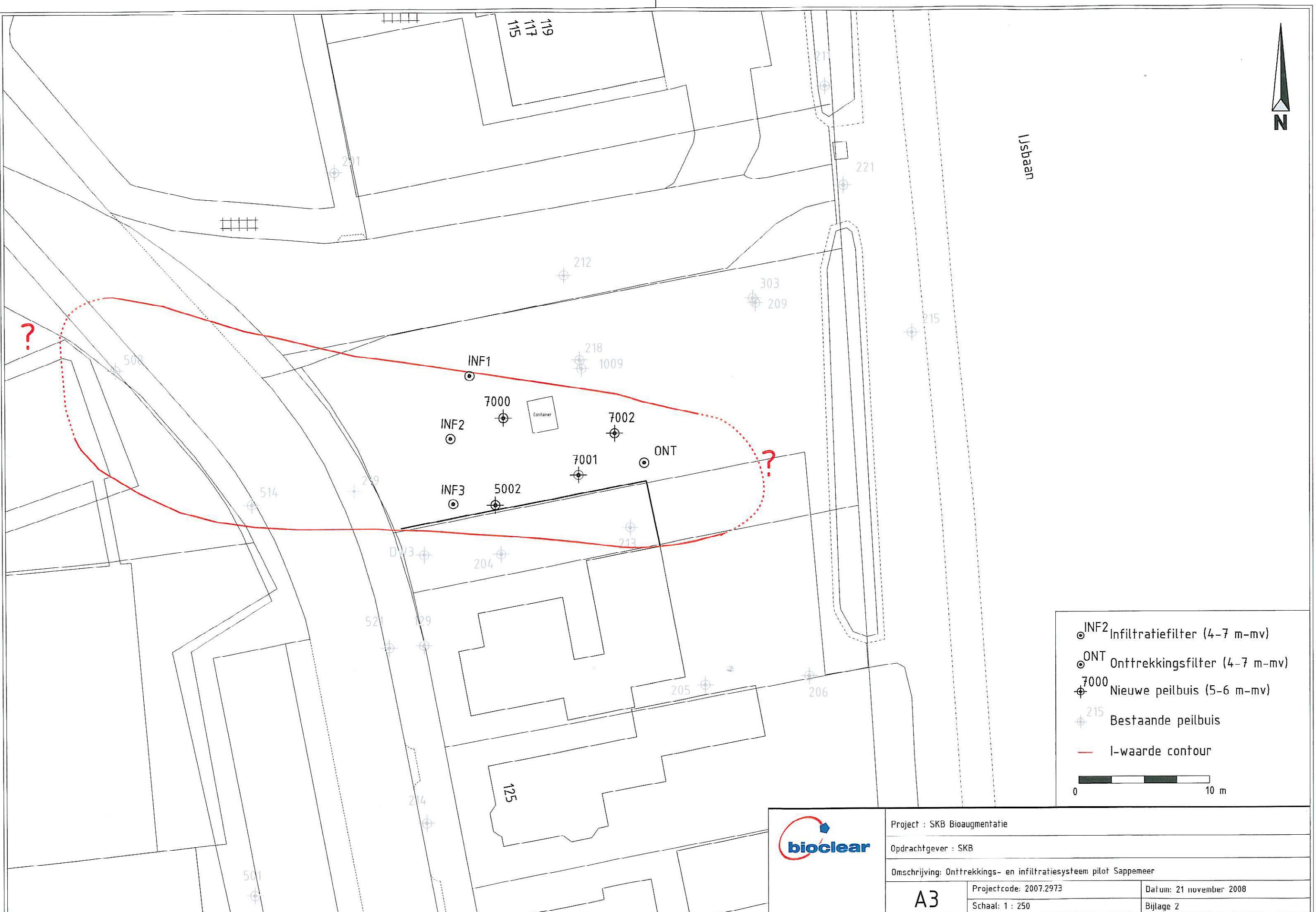


	Project: SKB Bioaumentatie	
	Opdrachtgever: SKB	
Omschrijving: Injectiegrid pilot Uithuizen		
A3	Projectcode: 2007.2973	Datum: 21 november 2008
	Schaal: 1:62,5	Bijlage: 1b

Bijlage 2. Pilotlocatie Sappemeer met verontreinigingscontour en de uitgevoerde pilot werkzaamheden



Ijsbaan



- ⊙ INF2 Infiltratiefilter (4-7 m-mv)
 - ⊙ ONT Onttrekkingsfilter (4-7 m-mv)
 - ⊕ 7000 Nieuwe peilbuis (5-6 m-mv)
 - ⊕ 215 Bestaande peilbuis
 - I-waarde contour
- 0 10 m



Project : SKB Bioaugmentatie		
Opdrachtgever : SKB		
Omschrijving: Onttrekkings- en infiltratiesysteem pilot Sappemeer		
A3	Projectcode: 2007.2973	Datum: 21 november 2008
	Schaal: 1 : 250	Bijlage 2

Bijlage 3. Informatie over DNA technologie en berekeningsmethode VC en etheen vormingssnelheid**Q-PCR op *Dehalococcoides* sp.**

De Q-PCR is gebaseerd op de zogenaamde moleculaire detectiemethode. Bij deze methode wordt het totale genetische materiaal (DNA) uit een monster geïsoleerd waarna gezocht wordt naar het specifiek stukje DNA dat afkomstig is van de gewenste bacterie, in dit geval *Dehalococcoides*. Dit stukje wordt met een zogenaamde PCR (polymerase chain reaction) reactie vermenigvuldigt en aangetoond. Tijdens de PCR stap wordt specifiek de aanwezigheid van *Dehalococcoides* sp. DNA in het monster vastgesteld. Hierbij wordt het specifieke stukje DNA vermeerderd en met een kleurreactie zichtbaar gemaakt. Dit is een kwantitatieve methode. *Dehalococcoides* is de enige bacteriesoort waarvan bekend is dat ze de verontreinigingen PER en TRI in de bodem volledig kan afbreken tot etheen en ethaan.

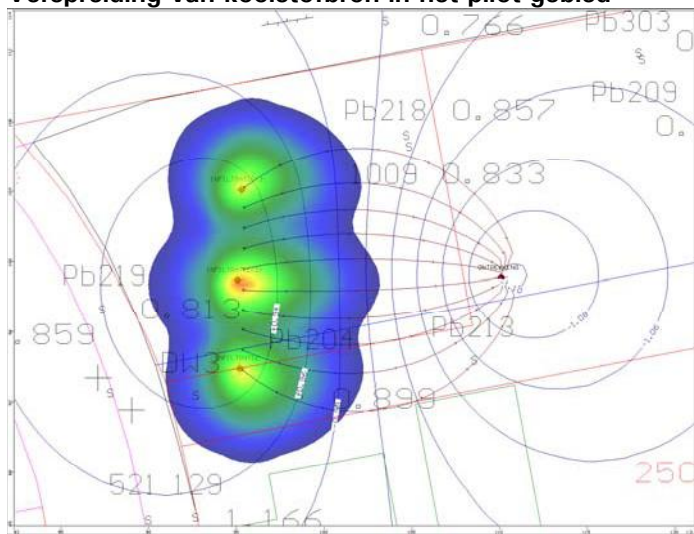
Berekening

De berekening voor de vormingssnelheid van VC en etheen is als volgt:

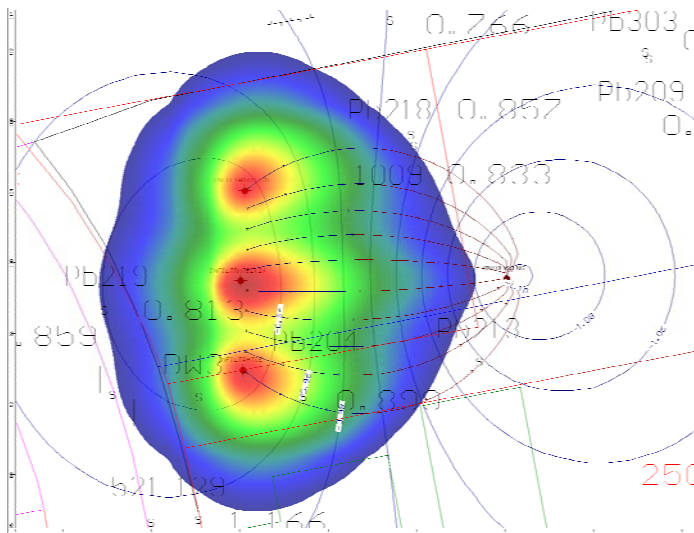
Vormingssnelheid VC en etheen = Δ VC (in μmol) + (2x [Δ etheen (in μmol)])

Bijlage 4. Model van de verspreiding van koolstofbron op de locatie Sappemeer

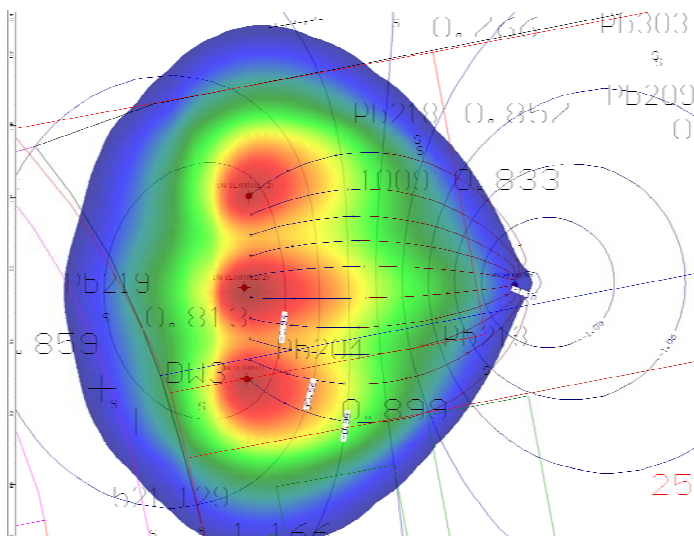
Verspreiding van koolstofbron in het pilot gebied



t = 10 dagen



t = 20 dagen



t = 30 dagen

Bijlage 5. Foto's van uitgevoerde werkzaamheden in Uithuizen





Bijlage 6. Uitkomsten koolstofbronbalans en biomassabalans berekeningenUitkomsten van de koolstofbronbalansberekening voor Uithuizen en Sappemeer

Monitoringsronde	Ronde 1	Ronde 2	Ronde 3	Ronde 4
2007-1	4,3	0,82	2,5	4,2
2007-2	220,5	126,9	58,1	11,7
2007-3	7,1	4,44	11,5	59,9
2007-4	108,9	65,5	4,0	2,52
5002	5,8	56,9	52,9	56,2
7000	4,1	54,6	54,9	60,5
7001	4,0	23,3	20,0	22,4
7002	3,0	16,9	17,9	19,3

De berekeningen voor de koolstofbronbalansen zijn uitgevoerd zoals beschreven in het SKB project D-NA systematiek

Uitkomsten biomassabalansberekening voor Uithuizen en Sappemeer

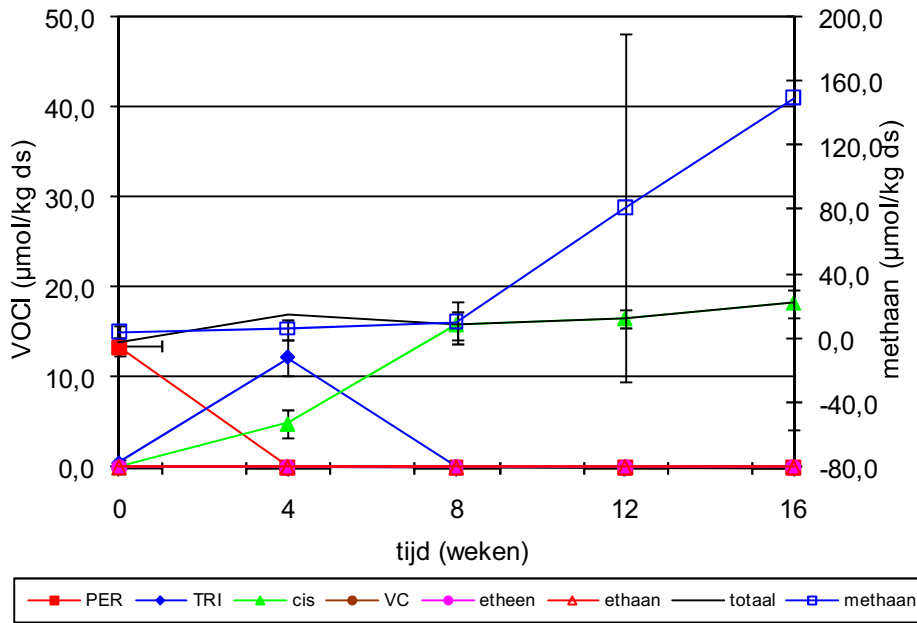
	Uithuizen		Sappemeer	
concentratie DHC in injectievaten	3,4 x 10 ⁵	cellen/ml	8,2 x 10 ⁶	cellen/ml
hoeveelheid kweek toegevoegd	2,2	m ³	20	liter
totale hoeveelheid DHC toegevoegd	7,4 x 10 ¹¹	cellen	1,6 x 10 ¹¹	cellen
concentratie DHC van nature aanwezig	210	cellen/ml	2,3 x 10 ⁵	cellen/ml
bodemvolume beïnvloed	54	m ³	135	m ³
Indien geen groei plaatsvindt aanwezig	7,5 x 10 ¹¹	cellen	3,1 x 10 ¹³	cellen
van nature aanwezig in bodem	1,1 x 10 ¹⁰	cellen	3,1 x 10 ¹³	cellen
gemiddelde concentratie DHC aan het eind van de pilot	1,1 x 10 ⁶	cellen/ml	1,6 x 10 ⁶	cellen/ml
Totale hoeveelheid DHC aan het eind van de pilot in	6,1 x 10 ¹³	cellen	2,2 x 10 ¹⁴	cellen
factor toename door "groei"	81		7	

Bijlage 7. Monitoringsresultaten pilot Uithuizen

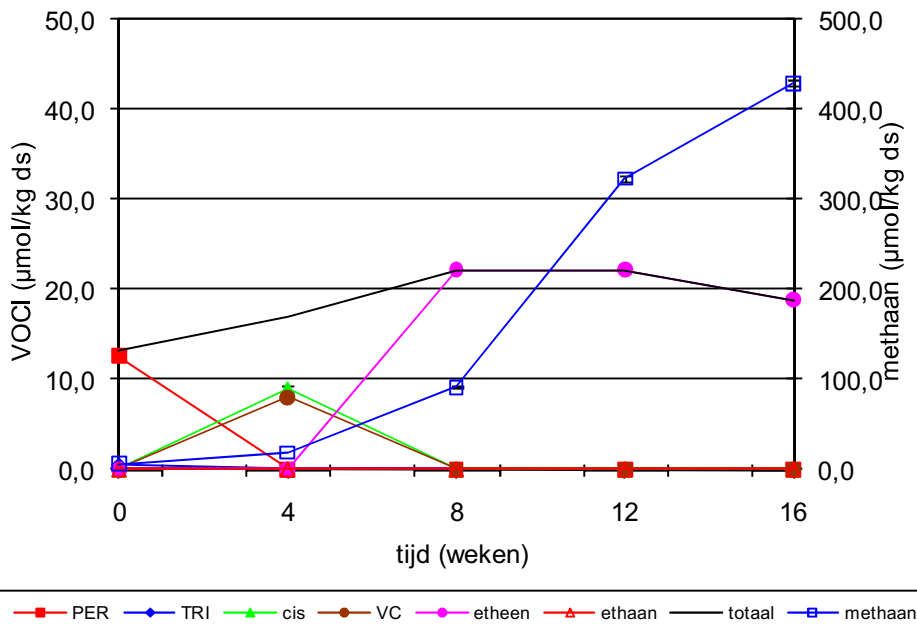
Peilbuis	Ronde	2007-1 (6-7 m-mv)					2007-2 (6-7 m-mv)					2007-3 (6-7 m-mv)					2007-4 (6-7 m-mv)				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Datum		aug-07	okt-07	jan-08	apr-08	sep-08	aug-07	okt07	jan-08	apr-08	sep08	aug07	okt-07	jan-08	apr-08	sep08	aug07	okt07	jan-08	apr-08	sep-08
Grondwater	m-mv	2,2	2,4	2,3	1,9	2,6	2,4	2,5	2,5	2,0	2,8	2,4	2,4	2,3	1,9	2,6	2,4	2,3	2,3	1,9	2,6
Geleidbaarheid		420	640	660	990	410	6.300	1.980	1.010	520	890	910	1.335	510	3.690	1.540	860				
pH		7,5	7,3	7,3	7,1	7,3	6,5	7	7,2	7,3	7,2	7,3	6,8	7,2	6,6	7,3	7,2				
Temperatuur		11,8	12,8	11,7	10,5	12,3	11,9	12,1	11,5	10,7	11,9	12	12,4	11,6	10,8	12,4	12,0	12,5	11,5	11,3	12,4
TOC	mg/l	7,2	32	8,4	14	11	6,7	2.600	550	130	99	7	63	23	24	120	7	1.100	140	14	14
zuurstof	mg/l	0,4	0,07	-	0	0,3	0,3	0	-	0	0,2	0,4	0	-	0	0	0,3	0	-	0	0,1
nitraat	mg/l	0,67	<0,23	0,38	<0,23	-	<0,23	<0,23	<0,23	<0,23	-	1,2	<0,23	<0,23	<0,23	-	0,52	<0,23	<0,23	<0,23	-
sulfaat	mg/l	36	18	39	22	34	29	47	17	<8	8,6	38	35	20	<8	<8	42	40	<8	13	13
methaan	µg/l	12	19	265	367	122	141	26	353	2.698	7.332	210	58	201	844	1.827	6,4	40	278	167	1.739
PER	µg/l	250	100	48	140	140	72	160	1,5	1	2,1	1.000	320	22	98	4,8	600	360	1,2	2,6	2,5
TRI	µg/l	11	13	11	150	220	2,7	150	33	0,48	1,4	34	66	<10	40	1,5	43	39	0,57	42	5,4
CIS	µg/l	3,8	22	490	350	230	3	1	200	230	1,8	26	440	990	1.300	710	20	370	590	170	9,1
VC	µg/l	0,1	1	8,5	37	48	1	1	1,8	79	0,59	4	1	<10	4,9	280	1	1	100	81	5,3
etheen	µg/l	0,2	0,1	0,7	7	46	0,2	1	0,8	72	329	0,6	0,1	0,4	0,6	311	0,2	0,5	18,1	266	260
ethaan	µg/l	0,2	0,4	8,2	14	0	2,9	0,9	1,9	9,8	5,3	5,6	1,5	5,3	29,6	0	0,2	0,7	2,1	0,9	1,3
DHC	cellen/ml	<130	310	7.600	8,0E4	8,2E4	190	270	1.800	9,4E5	5,2E4	390	<130	<62	3.300	4,2E6	<130	570	7,7E4	3,0E6	1,7E5

Bijlage 8. Verloop afbraaktesten locatie Uithuizen

Pilotlocatie Uithuizen

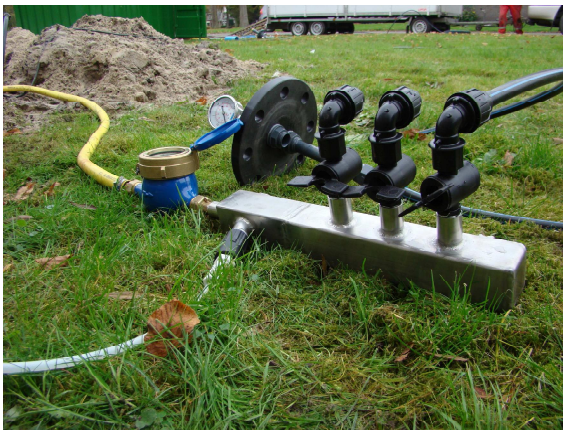


Figuur 1. Test-G: gestimuleerde test met toevoeging van koolstofbron.



Figuur 2. Test-B: bio-augmentatie test, met toevoeging van koolstofbron en bacteriën.

Bijlage 9. Foto's van de uitgevoerde werkzaamheden in Sappemeer

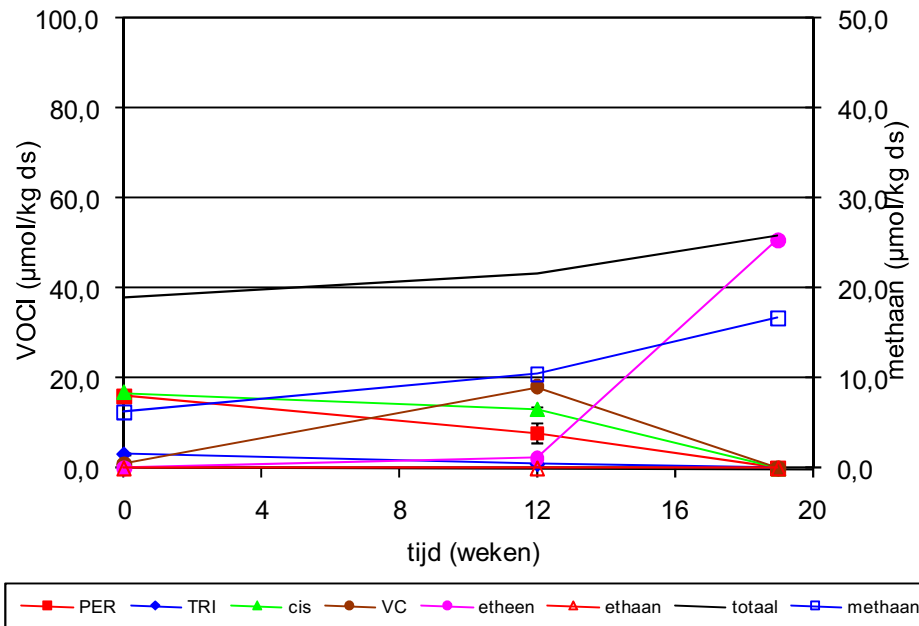


Bijlage 10. Monitoringsresultaten pilot Sappemeer

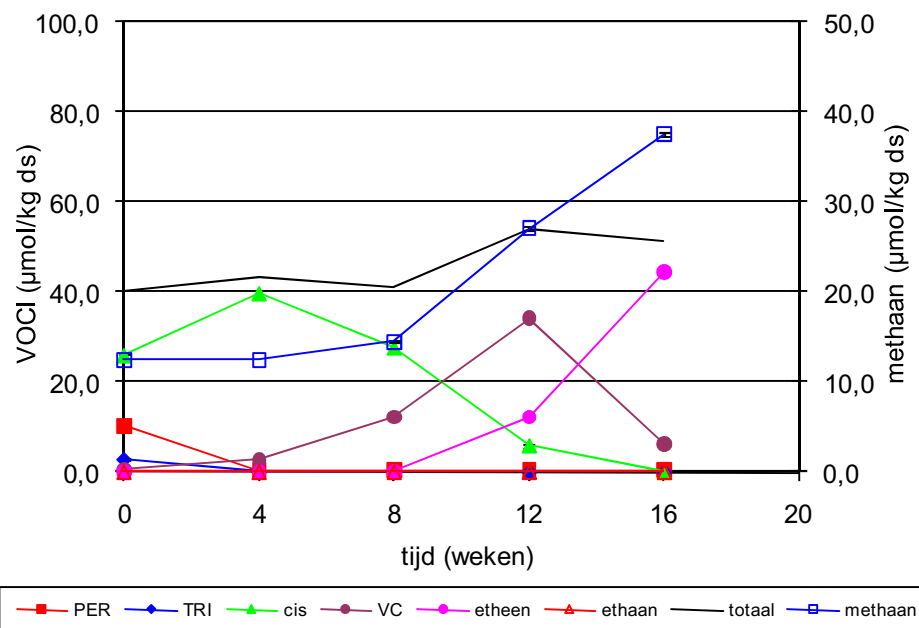
Peilbuis	Ronde	5002 (4-5 m-mv)					7000 (5-6 m-mv)					7001 (5-6 m-mv)					7002 (5-6 m-mv)				
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4
Datum		jul-07	dec-07	feb-08	mei-08	sep-08	jul-07	dec-07	feb-08	mei-08	sep-08	jul-07	dec-07	feb-08	mei-08	sep-08	jul-07	dec-07	feb-08	mei-08	sep-08
Grondwater	m-mv	1,09	0,8	1,13	1,38	1,27	1,04	0,78	1,10	1,33	1,18	1,10	1,03	1,17	1,41	1,25	1,03	1,08	1,11	1,35	1,12
Geleidbaarheid		420	417	585	599	608	616	524	669	681	706	393	292	450	426	423	383	325	374	344	346
pH		6,5	6,5	6,0	6,2	6,1	6,9	6,9	6,3	6,4	6,5	6,7	6,5	6,4	6,5	6,4	6,5	6,4	6,4	6,5	6,4
Temperatuur		12,8	11,8	9,2	9,6	14,4	12,7	12,1	9,4	9,8	14,0	12,2	12,1	9,6	9,6	13,5	12,0	12,0	9,4	9,4	13,0
TOC	mg/l	20	64	130	130	130	27	46	130	130	100	24	28	58	48	46	34	31	42	41	41
zuurstof	mg/l		0,14	0,15	0,2			0,27	0,25	0,22			0,28	0,2	0,24			0,17	0,2	0,18	
nitraat	mg/l	<0,23	<0,23	<0,23	<0,23		<0,23	<0,23	<0,23	<0,23		<0,23	<0,23	<0,23	<0,23		<0,23	<0,23	<0,23	<0,23	
sulfaat	mg/l	55	41	<8	<8	<8	32	42	<8	<8	<8	52	27	<8	<8	<8	40	30	<8	<8	<8
methaan	µg/l	270	673	387	453	641	170	630	623	807	14.882	1.920	1.682	742	996	1.800	56	187	408	600	772
PER	µg/l	0,23	1.000	0,12	<1	0,1	<0,1	50	<0,1	<1	<0,2	460	0,68	<0,1	<1	<0,1	<0,1	16.000	9	5,4	2,1
TRI	µg/l	4,9	790	1,3	1,5	1,6	0,11	190	0,38	<1	<0,1	1.700	6,7	1,9	1,1	<0,1	<0,1	3.200	14	2,3	1,4
CIS	µg/l	200	4.100	1.700	2.300	1.000	<0,1	5.800	1.900	1.100	37	8.800	2.100	2.400	910	0,22	2,6	1.300	2.600	1.000	29
VC	µg/l	73	180	160	450	620	0,28	110	450	990	80	170	550	890	1.500	0,69	3,8	<100	380	470	22
etheen	µg/l	23	14	40	137	419	1,3	9,5	22	397	907	17	310	54	682	1.452	2	8,3	11	138	508
ethaan	µg/l	1,4	4,6	3,2	0,1	0	4,8	5,8	13	0,1	0	0	0,57	8,6	0	0	1,1	3	3,2	0,2	0
DHC	cellen/ml	3,0E5	9,0E5	3,1E5	1,5E5	6,3E5	1,0E5	1,6E4	4,4E4	7,3E5	1,6E6	5,0E5	1,3E5	3,0E5	6,3E5	2,4E6	2,0E4	2,0E5	1,8E5	1,7E5	1,8E6

Bijlage 11. Verloop afbraaktesten van de locatie Sappemeer

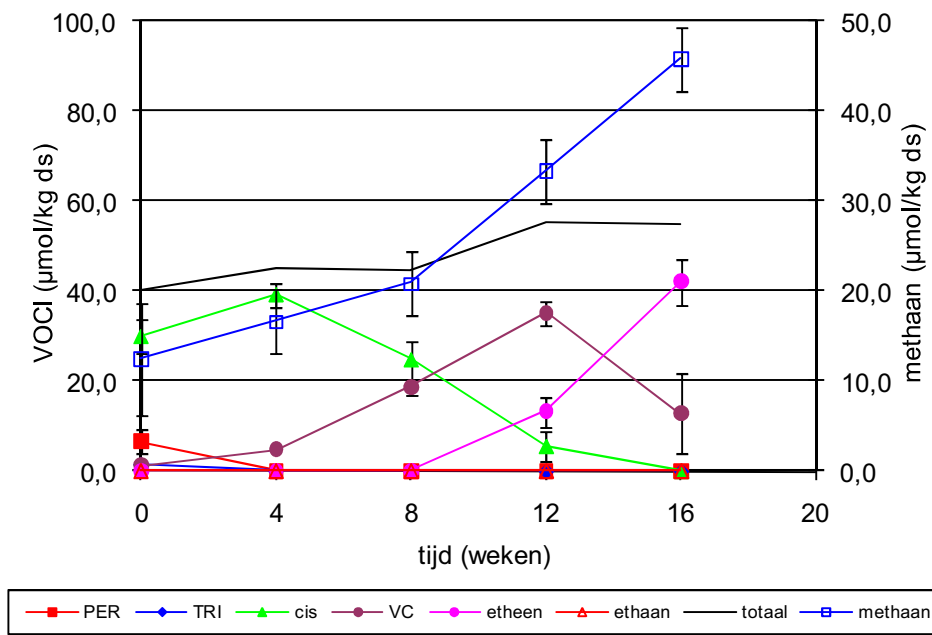
Pilotlocatie Sappemeer



Figuur 1. Test-I: Intrinsieke test zonder toevoeging van koolstofbron of bacteriën (weergegeven inclusief standaard deviatie)



Figuur 2. Test-G: Gestimuleerde test, toevoeging van koolstofbron en nutriënten (weergegeven inclusief standaard deviatie)



Figuur 3. Test-B: Bio-augmentatie test, toevoeging van koolstofbron, nutriënten en bacteriën (weergegeven inclusief standaard deviatie)

Bijlage 12. Kosten berekeningsheet voor het toepassen van bio-augmentatie**Kosten van praktijk locaties**

locatie 1	175.000	kosten incl begeleiding, monitoring etc
omvang locatie 1	8000	m3 200 inj punten, 2*2 m, tot 10 m-mv
kosten per kuub	22	euro/m3
locatie 2	30.000	kosten incl begeleiding, monitoring etc
omvang locatie 2	1500	m3
kosten per kuub	20	euro/m3
locatie 3	450000	euro
omvang locatie 3	80000	m3
kosten per kuub	6	euro/kuub
Reele range	6 tot 22	euro/kuub

Kostenraming injectieproject kleine omvang

Oppervlakte	250	m2
Diepte	10	m
Kuubs	2500	m3
injectiegrid	1,5*1,5	m*m
aantal injectiepunten	111	
aantal injecties per dag	7	
kosten injectieploeg	1500	euro/dag
kosten uitvoeren injecties	23810	euro
benodigde hoeveelheid kweek	22,5	liter
kosten kweek (huidige schatting)	10350	euro (overmaat 3)
kosten C-bron	5556	euro
kosten monitoring en begeleiding	20000	euro
TOTAAL	59715	euro
kosten per kuub met kweek	24	euro /m3
kosten peer kuub zonder kweek	20	euro /m3

Kostenraming infiltratieproject**gemiddelde omvang**

Oppervlakte	1000	m2	
Diepte	10	m	
Kuubs	10000	m3	
Aantal INF	9		
Aantal ONT	3		
kosten plaatsen putten	18000	euro	
verbindend leidingwerk	7500	euro	
plaatsen installatie	5000	euro	
huur installatie incl onderhoud	1000	euro/week	
gemiddeld debiet	3	m3/uur	
aantal kuubs grondwater rondpompen	6000	m3	
aantal weken in bedrijf	14	weken	
huur installatie incl onderhoud	13905	euro	
hoeveelheid TOC	1500	kg	
Kosten C-bron	7500	euro	
benodigde hoeveelheid kweek	60	liter	(overmaat 2)
kosten kweek (huidige schatting)	27600	euro	
kosten monitoring en begeleiding	30000	euro	
TOTAAL	109505	euro	
kosten per kuub met kweek	11	euro/m3	
kosten per kuub zonder kweek	8	euro/m3	

Kostenraming infiltratieproject**kleine omvang**

Oppervlakte	250	m2
Diepte	10	m
Kuubs	2500	m3
Aantal INF	6	
Aantal ONT	2	
kosten plaatsen putten	12000	euro
verbindend leidingwerk	2500	euro
plaatsen installatie	5000	euro
huur installatie incl onderhoud	1000	euro/week
gemiddeld debiet	2	m3/uur
aantal kuubs grondwater rondpompen	1500	m3
aantal weken in bedrijf	6	weken
huur installatie incl onderhoud	6464	euro
hoeveelheid TOC	375	kg
Kosten C-bron	1875	euro
benodigde hoeveelheid kweek	15	liter
kosten kweek (huidige schatting)	6900	euro
kosten monitoring en begeleiding	20000	euro
TOTAAL	54739	euro
kosten per kuub met kweek	22	euro/m3
kosten per kuub zonder kweek	19	euro/m3

Bijlage 13. Berekening van benodigde hoeveelheid dechorerende bacteriën**BIOAUGMENTATIE REKENSHEET BACTERIEN**

Te behandelen m ³ bodemvolume:	10000	m ³	
Aanname porositeit	0,3		
Minimaal benodigde DHC dichtheid	1,00E+03	cellen DHC/ml	
Overmaat	2	factor	(aanbevolen: factor 3 bij directe injectie, factor 2 bij Infiltratie)
Totaal benodigd aantal cellen	6,00E+12	cellen DHC	
Dichtheid kweek	1,00E+08	cellen /ml	
TOTAAL BENODIGD KWEK	60,00	liter	

BIOAUGMENTATIE REKENSHEET KOOLSTOFBRON

Te behandelen m ³ bodemvolume:	10000	m ³
Aanname porositeit	0,3	
te behandelen m ³ grondwater	3,00E+03	m ³
TOC nodig per milligram/liter zuurstof	0,38	mg/l
TOC nodig per milligram/liter nitraat	0,24	mg/l
TOC nodig per milligram/liter sulfaat	0,25	mg/l
TOC nodig per microgram/liter PER	0,15	mg/l
TOC nodig per microgram/liter TRI	0,14	mg/l
TOC nodig per microgram/liter dichlooretheen	0,12	mg/l
TOC nodig per microgram/liter VC	0,10	mg/l
Totaal TOC nodig per liter grondwater	1,38	mg
Totaal TOC nodig per behandeld grondwater	4140,0	gram
belangrijk om een overmaat te doseren (ivm ijzerreductie)	2	factor