

# In-situ bioremediatie van VOCl-verontreinigde bodems

## Microcosmostesten zijn een nuttig beoordelingsinstrument

VOCl's zoals perchloorethyleen worden en werden op grote schaal gebruikt als vetoplosmiddel. Op vele plaatsen in Nederland en België is de bodem en het grondwater daardoor verontreinigd met deze giftige stoffen. Dat een sanering van dergelijke verontreinigingen uitermate moeilijk en duur is lichten we reeds in een eerder artikel toe (Bodem, nr.3, p. 90-92, 2003). Er is echter een beloftevolle aanpak die reeds op enkele locaties succesvol is gebleken: in-situ bioremediatie oftewel: laat de bodembacteriën het 'vuile' werk maar opknappen. Daarvoor hebben ze enkel wat eten nodig (injecteer een koolstofbron), hoewel...niet alle locaties blijken even geschikt voor deze aanpak. In dit artikel lichten we de redenen hiervoor toe en tonen we het nut van een goed vooronderzoek aan om te voorspellen of een bioremediatie al dan niet kan werken.

R. Lookman, J. Gemoets, L. Diels



**Dr. ir. Richard Lookman**

is werkzaam bij de Vlaamse Instelling voor Technologisch Onderzoek (Vito), als projectverantwoordelijke bodemsaneringstechnologie bij het Expertisecentrum Milieu- en Procestechnologie, e-mail: richard.lookman@vito.be



**Dr. ir. Johan Gemoets**

is projectenmanager bij het Expertisecentrum Milieu- en Procestechnologie van Vito, e-mail: johan.gemoets@vito.be

Vito voert reeds enkele jaren afbraaktesten uit met grondwater, bodem, aquifer en sediment afkomstig van locaties verontreinigd met vluchtige gechloreerde koolwaterstoffen (VOCl's): perchloorethyleen (PCE), trichloorethyleen (TCE), cis-dichlooretheen (DCE), vinylchloride (VC), 1,1,1-trichloorethaan (TCA), 1,1-dichloorethaan (DCA) en chloorethaan (CA). Doel van deze laboratoriumtesten is op voorhand het potentieel te onderzoeken voor bioremediatie van de locaties. Bioremediatie is vaak een geschikt en veel goedkoper alternatief voor een 'klassieke' bodemsaneringsaanpak met 'pump& treat' (grondwater oppompen en zuiveren), ontgraving of persluchtinjectie/bodemluchtextractie. Deze laatste technieken zijn vooral gericht op een fysieke verwijdering van de pollutie, maar om redenen die we eerder reeds aanhaalden<sup>1</sup> meestal weinig succesvol.

### ACHTERGRONDEN BIJ 'BIOLOGISCHE DECHLORERING'

Biologische dechlorering in bodems kan volgens volgende principes optreden:<sup>2</sup>

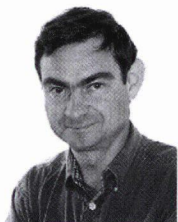
1. aërobe degradatie waarbij de VOCl wordt gebruikt als koolstofbron en de chloor wordt verwijderd door specifieke dechlorinase-enzymes. De VOCl wordt hierbij geoxideerd tot CO<sub>2</sub>, water en chloride;
2. degradatie onder anaërobe condities

met verbruik van de VOCl als koolstofbron. Klaarblijkelijk bestaan er enkele denitrificerende, ijzer-reducerende, sulfaatreducerende of methanogene bacteriën die zo de VOCl volledig kunnen oxideren. De optredende processen zijn echter niet precies gekend;

3. degradatie onder anaërobe condities met gebruik van de VOCl als z.g. electronacceptor (halorespiratie). Dit is een veel beter gekend en bestudeerd mechanisme.

Bij 'principe 3' worden de chloorethenen door bepaalde anaërobe bacteriën afgebroken door achtereenvolgende afsplitsing van een chlooratoom:

PCE→TCE→DCE→VC→etheen. Voor de chloorethanen is dit gelijkaardig: TCA→DCA→CA (→ethaan of abiotisch tot ethanol/acetaat), maar de betrokken bacteriën zijn niet dezelfde als deze voor chlooretheenaafbraak. Aërobe afbraak verloopt meestal vlotter voor 'laaggechloreerde' verbindingen zoals vinylchloride; anaërobe afbraak gaat het makkelijkste bij 'hooggechloreerde' verbindingen zoals PCE. PCE is echter niet aëroob afbreekbaar. Vinylchloride daarentegen is wél anaëroob afbreekbaar. Vandaar dat anaërobe bioremediatie interessant is voor sanering van PCE-verontreinigingen: het hele dechloreringstraject is haalbaar.

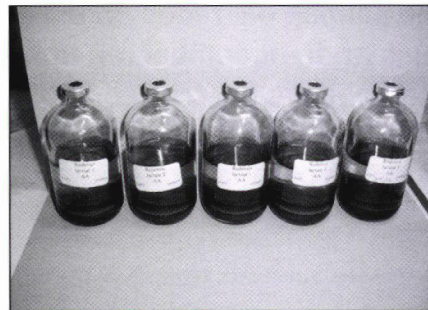
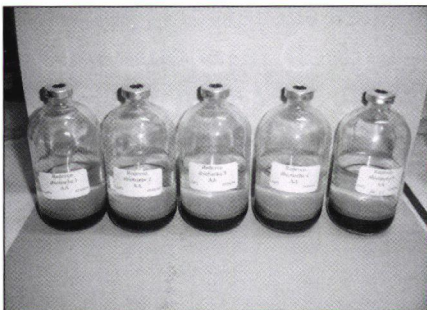


**Dr. Ludo Diels**

is hoofd van het Expertisecentrum Milieu- en Procestechnologie van Vito, e-mail: ludo.diels@vito.be

### 'MICROCOSM' OF 'KLEINE LEEFGEMEENSCHAP'

De optredende biologische processen kunnen op kleine schaal worden nagebootst in zogenaamde 'microcosms'. Er werden bij Vito inmiddels al tientallen aërobe en anaërobe studies rond VOCl-afbraak afgerond. Bij de anaërobe testen werden verschillende koolstofbronnen uitgetest om de afbraak te versnellen. Tevens werd steeds een controle meegevoerd, waaraan een bacteriedodend middel werd toegevoegd. Dit is noodzakelijk om eventuele andere mechanismen waardoor de VOCl's kunnen verdwijnen uit de microcosmos, te kunnen onderscheiden van werkelijke biodegradatie. Volgende foto's toont een reeks microcosmos uit een van de uitgevoerde testen (figuur 1).



FIGUUR 1. EÉN VAN DE UITGEVOERDE MICROCOSMOSTESTEN. LINKS: AFGEDODE CONTROLE (NIET VERKLEURD) EN RECHTS: CONDITIE MET LACTAAT ALS KOOLSTOFBRON. DE BACTERIËLE ACTIVITEIT IS ZICHTBAAR DOOR DE FORMING VAN EEN ZWARTE NEERSLAG (IJZERSULFIDE, GEVORMD DOOR SULFAATREDUCERENDE BACTERIËN).

De geteste koolstofbronnen stimuleerden allemaal de anaërobe afbraak van de VOCl's, maar hun relatieve geschiktheid bleek wel site-specifiek. PCE werd in alle anaërobe microcosmos volledig afgebroken. In 2 gevallen trad echter reeds een stagnatie in de afbraak tot TCE op; de betrokken locaties waren naast PCE/TCE ook gecontamineerd met TCA. TCA zou remmend werken op de bacteriën die chloorethenen kunnen afbreken. In microcosmos met materiaal van 5 van de 11 onderzochte sites werd stagnatie van PCE-afbraak op DCE vastgesteld. Slechts voor 4 sites werd de gewenste volledige dechlorering vastgesteld van PCE/TCE tot etheen.

### EEN KWESTIE VAN DE JUISTE BACTERIËN

In recente wetenschappelijke literatuur rond VOCl-dechlorering wordt de bodembacterie Dehalococcoides veelvuldig beschreven.<sup>3</sup> Bacteriën van dit type zouden noodzakelijk aanwezig moeten zijn opdat volledige PCE dechlorering tot etheen kan optreden. Met behulp van de z.g. polymerase chain reaction (PCR) kan deze bacterie worden opgespoord. Op 1 bepaalde site bleek de bacterie wél aanwezig in bodemmateriaal onder grondwater-niveau maar niet in bodemmateriaal

afkomstig van boven het grondwater-niveau (figuur 2).

In de microcosmos met het materiaal van onder de watertafel stelden we inderdaad volledige dechlorering vast, terwijl in de andere microcosmos met materiaal afkomstig van boven de grondwatertafel, geen volledige dechlorering optrad. Voor een andere locatie zagen we echter geen volledige afbraak in de microcosmos terwijl toch Dehalococcoides aanwezig bleek: gedurende meer dan een jaar stagneerde de PCE-afbraak op DCE. Nadat we enkele mL van de waterfase hadden toegevoegd van een andere microcosmos die wél volledige dechlorering vertoonde, trad in de aanvankelijk 'stagnerende' microcosmos ook een snelle en volledige afbraak op tot etheen. Dit toont aan dat de aanwezigheid

van Dehalococcoides klaarblijkelijk niet voldoende is voor volledige afbraak. Dit komt omdat er verschillende varianten (species) bestaan van deze bacterie die niet onderscheiden worden met de PCR-test. Sommige speces kunnen PCE wel afbreken tot cis-DCE, maar niet verder. Andere types Dehalococcoides kunnen wel volledig tot etheen dechloreren.

'Bioaugmentatie': het extra inbrengen van bacteriën in de bodem, kan dus wellicht werken om een vlotte bioremediatie alsnog mogelijk te maken of te bespoedigen op locaties die aanvankelijk niet of slechts zeer traag bioremediëerbaar zijn wegens een tekort aan geschikte bodembacteriën. Belangrijk is in dit geval dat de omstandigheden in de bodem eerst gunstig moeten zijn, alvorens men de bacteriën toevoegt. Doet men dit niet, dan is het risico groot dat de beënting niet zal werken. In de praktijk zal men dus eerst enkel de koolstofbron (en eventueel nutriënten) toedienen. De juiste omstandigheden kunnen zich dan instellen in de bodem (sterk anaërobe omstandigheden), waarna de eigenlijke beënting kan plaatsvinden. Als entmateriaal kan b.v. grondwater afkomstig van een locatie worden gebruikt, waar reeds een succesvolle in-situ bioremediatie plaatsvond.

### WELKE KOOLSTOFBRON?

Het type koolstofbron dat wordt gebruikt kan soms een rol spelen. Melasse bleek in enkele microcosmos een minder geschikte koolstofbron omdat het vooral leidde tot sterke methaanvorming. Methanogene bacteriën treden dan in competitie met de VOCl-afbrekende bacteriën. Lactaat en ethanol leidden voor dezelfde locatie tot beduidend minder methanogenese en een beter gestimuleerde dechlorering. Op andere locaties was ethanol dan weer minder geschikt. Meestal was lactaat de beste koolstofbron.

Op één van de bestudeerde locaties, verontreinigd met TCA als hoofdcontaminant, kon anaërobe afbraak worden gestimuleerd door alle geteste koolstofbronnen, maar bleek het gevormde DCA niet verder te worden afgebroken. Op nog twee andere locaties kwam een mengpol-lutie voor van TCA én chloorethenen. Voor één van deze sites bleek TCA te worden afgebroken, maar bleef de TCE-concentratie onveranderd. Op de andere locatie werd PCE omgevoerd tot TCE, dat verder persistent was tegen afbraak. Op deze site bleef eveneens de TCA constant. Deze resultaten tonen aan dat de afbraak van PCE/TCE enerzijds en van TCA anderzijds gebeurt via verschillende mechanismen en verschillende bacteriën.

### CONCLUSIE

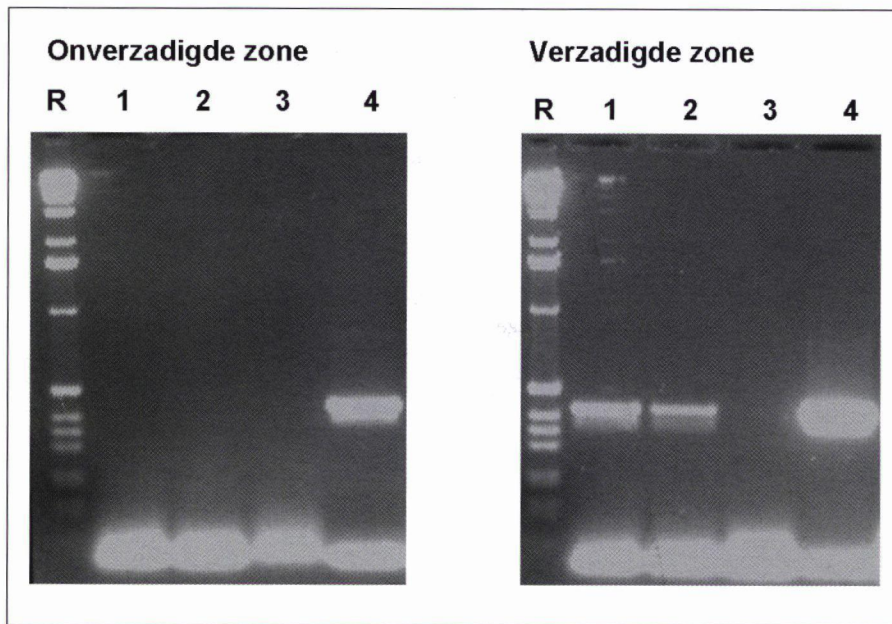
Uit onze testen blijkt dat niet alle VOCl-verontreinigde locaties dezelfde potentie vertonen voor bioremediatie. In een aantal van deze testen was dit een gevolg van een gebrek aan geschikte bacteriën. Het kan echter ook dat er bepaalde andere factoren een negatieve weerslag hebben op de dechlorering, b.v. andere verontreinigende stoffen, of een ongunstige redox-toestand (te veel andere electronacceptoren zoals ijzer(III), nitraat of sulfaat). Een microcosmostest kan op voorhand uitmaken of bioremediatie haalbaar is en vooral: welk type koolstofbron en dosering de beste keuze vormt. Tevens kan het nut van eventuele bijkomende bioaugmentatie (het bijkomend toedienen van dechlorerende bacteriën) worden nagegaan.

De microcosmostesten beschreven in dit artikel werden uitgevoerd in opdracht van verschillende opdrachtgevers. Vito werkte voor deze haalbaarheidstesten samen met de volgende bodemsaneringsdeskundigen: Atos Environnement, ERM, Ecolas, Lisec, Soresma, Technum en Verschuieren Milieuadvies. Drie locaties werden onderzocht in opdracht van OVAM, in het kader van twee onderzoeksprojecten rond de sanering van VOCl's (waarvan één downloadbaar via [www.ovam.be](http://www.ovam.be): 'Studie betreffende de sanering van stedelijke

VOCI grondwaterverontreinigingen met droogkuisbedrijven in Antwerpen als voorbeeld').

#### LITERATUUR

1. Lookman, R. en Diels, L. 2003. De stedelijke aanpak van bodem- en grondwaterverontreiniging van droogkuislocaties. *Bodem nr.3, p. 90-92.*
2. Häggblom, M.M. and Bossert, I.D. (eds.), 2003. Dehalogenation. Microbial processes and environmental applications. Kluwer Academic Publishers, 501 pp.
3. Maymo-Gatell, X.; Nijenhuis, I. and Zinder, S.H., 2001. Reductive dechlorination of cis-1,2-dichloroethene and vinyl chloride by 'Dehalococcoides ethenogenes'. *Environmental Science & Technology* 35: 516-521.



FIGUUR 2. PCR TESTRESULTATEN VOOR OPSPORING VAN DEHALOCOCCOIDES SP. BODEMMATERIAAL UIT DE ONVERZADIGDE ZONE ÉN VAN DE VERZADIGDE ZONE VAN EENZELFDE LOCATIE WORDEN GETOOND. LANEN 1,2,3 ZIJN TOENEMENDE VERDUNNINGEN VAN PCR-AMPLIFICATIES VAN EEN BODEMEXTRACT; LAAN R = REFERENTIEMIX; LAAN 4 IS DE POSTIEVE CONTROLE.