

**Bio-augmentatie voor het
induceren van aerobe
bioremediatie van
MTBE en TBA**

**SAMEN MAKEN WE
MORGEN MODIËR**



Documentbeschrijving



1. *Titel publicatie*

Bio-augmentatie voor het induceren van aerobe bioremediatie van MTBE en TBA

2. *Verantwoordelijke uitgever*

Herman Gobel, OVAM, Stationsstraat 110, 2800 Mechelen

3. *Aantal blz.*

29

4. *Wettelijk depot nummer*

D/2009/5024/78

5. *Aantal tabellen en figuren*

6. *Publicatiereeks*

7. *Datum publicatie*

1 juli 2009

8. *Trefwoorden*

MTBE, TBA, sanering, pump and treat

9. *Samenvatting*

Met het proces van bio-augmentatie worden gespecialiseerde bacteriën gebruikt voor het op gang brengen en/of versnellen van de biologische afbraak van polluenten in grondwater. Met deze studie wordt de mogelijkheid voor het toepassen van bio-augmentatie op een bioreactor bekeken voor de behandeling van opgepompt grondwater verontreinigd met MTBE en TBA.

10. *Begeleidingsgroep en/of auteur*

L. Bastiaens, Q. Simons, W. Boënné, D. Van Houtven, J. Gemoets (VITO nv), Heidi Verstraete (Chevron Belgium nv), Gert Moerenhout, Jan De Weerd (BOFAS vzw), Bert Van Goidsenhoven (OVAM)

11. *Contactperso(o)n(en)*

Bert Van Goidsenhoven

12. *Andere titels over dit onderwerp*

Gegevens uit dit document mag u overnemen mits duidelijke bronvermelding.

De meeste OVAM-publicaties kan u raadplegen en/of downloaden op de OVAM-website: <http://www.ovam.be>

Bio-augmentatie voor het induceren van aerobe bioremediatie van MTBE en TBA

Inhoudstafel

<u>1</u>	<u>MANAGEMENTSAMENVATTING</u>	4
<u>2</u>	<u>TERREINEN BETROKKEN IN HET PROJECT (TAAK 1)</u>	5
<u>2.1</u>	<u>Zammel</u>	5
<u>2.2</u>	<u>Herentals</u>	5
<u>3</u>	<u>SIMULATIES VIA LABOTESTEN (TAAK 2)</u>	8
<u>3.1</u>	<u>Terrein Zammel</u>	8
3.1.1	MTBE biodegradatiepotentieel (Zammel)	8
3.1.2	Simulatie geïnoculeerde bioreactor op laboschaal (Zammel)	10
<u>3.2</u>	<u>Terrein Herentals</u>	15
3.2.1	MTBE biodegradatiepotentieel (Herentals)	15
3.2.2	Simulatie geïnoculeerde bioreactor op laboschaal (Herentals)	15
<u>4</u>	<u>GEÏNOCULEERDE BIOREACTOR OP PILOOT SCHAAAL (TAAK 3)</u>	17
<u>4.1</u>	<u>Gebruikte pilootinstallatie</u>	17
<u>4.2</u>	<u>Piloottest met artificieel verontreinigd grondwater (Taak 3A)</u>	18
4.2.1	Opzet	18
4.2.2	Resultaten	19
4.2.3	Besluiten	22
<u>4.3</u>	<u>Piloottest te velde met reëel verontreinigd grondwater (Taak 3B)</u>	23
4.3.1	Opzet	23
4.3.2	Resultaten	24
4.3.3	Besluiten	27
<u>5</u>	<u>ALGEMENE BESLUITEN</u>	28
<u>6</u>	<u>REFERENTIES</u>	29

Tabellen

Tabel 1: Resultaten analyses op grondwater van het tankstation (Zammel)	5
Tabel 2. Analyseparameters bemonstering – Herentals-II	6
Tabel 3. Veldparameters bemonstering –Herentals-II	7

Figuren

Figuur 1: Evolutie MTBE en TBA-concentratie in de tijd – batchtest.	9
Figuur 2: Evolutie opgeloste zuurstof (toevoeging extra zuurstof aangeduid met pijl) en pH (pH-correctie aangeduid met pijl) in de tijd – batchtest.	10
Figuur 3: Labosimulatie geïnoculeerde bioreactor.	11
Figuur 4: Evolutie van concentratie (mg/l) aan MTBE, TBA en opgeloste zuurstof, en de pH langsheen de geïnoculeerde bioreactor op verschillende tijdstippen - Zammel	13
Figuur 5: : Evolutie van concentratie (mg/l) aan MTBE, TBA en opgeloste zuurstof, en de pH langsheen de geïnoculeerde bioreactor op verschillende tijdstippen - Herentals	16
Figuur 6: Ontijzeringsseenheid (A) en bioreactor op pilotschaal (B).	17
Figuur 7: Fermentor voor opgroeien van MTBE/TBA-afbrekende ent (A.) en inoculatie van de bioreactor (B.)	18
Figuur 8: Schematische voorstelling pilootinstallatie	19
Figuur 9: Evolutie van MTBE in de geïnoculeerde bioreactor tijdens de fed-batch operatie (Fase A).	19
Figuur 10: Evolutie van MTBE en TBA concentraties tijdens semi-continue fase. ..	21
Figuur 11: Evolutie van pH temperatuur en opgeloste zuurstof (DO) tijdens semi-continue fase.	22
Figuur 12: Schematische voorstelling pilootinstallatie	23
Figuur 13: Piloot installatie op het testterrein.	23
Figuur 14: Evolutie van de MTBE-concentratie (A), de hydraulische retentietijd (HRT)(B) en de TBA-concentratie (C) in de pilot geïnoculeerde bioreactor te velde.	25
Figuur 15: Evolutie van pH en de opgeloste zuurstof tijdens continue test te velde.	26
Figuur 16: Evolutie de temperatuur tijdens continue test te velde (30/1/2009 = dag 114 van deze testperiode, continue herstart piloot na winterstop op 30/1/2009).	27

Lijst met afkortingen

BTEX	Benzeen, toluen, ethylbenzeen en xylenen
DO	Opgeloste zuurstof
DOC	Opgeloste orgaische koolstof
EC	Electrische geleidbaarheid
HRT	Hydraulische retentietijd
MTBE	Methyl-tert-butyl Ether
ORP	Oxidoreductiepotentiaal
T	Temperatuur
TBA	Tertiair butyl alcohol

1 Managementsamenvatting

In opdracht van OVAM voerde VITO een studie uit om na te gaan of aerobe biodegradatie van MTBE (methyl-tert butyl ether) en TBA (tertiair butyl Alkool) kan geïnduceerd worden op grotere schaal via bio-augmentatie. Bio-augmentatie verwijst hier naar het proces waarbij gespecialiseerde bacteriën, ex-situ opgegroeid, worden gebruikt voor het op gang brengen en/of versnellen van biologische afbraak van polluenten in grondwater. De volgende 3 bio-augmentatie scenario's zijn mogelijk:

- Bio-augmentatie van een bioreactor voor behandeling van opgepompt grondwater
- In-situ bio-augmentatie, waarbij de gespecialiseerde bacteriën in de ondergrond worden geïnjecteerd in een pregeconditioneerde zone.
- Gecombineerde sanering, zijnde sanering van opgepompt grondwater in een bioreactor en infiltratie van het effluent van de bioreactor in de ondergrond waardoor mogelijk in situ bio-augmentatie kan gerealiseerd worden.

Binnen dit project lag de focus op de eerste mogelijkheid, zijnde de gebioaugmenteerde of geïnoculeerde bioreactor.

Meer concreet omvatte dit project 3 taken:

- Taak 1: Keuze en karakterisatie van een testlocatie
- Taak 2: Ondersteunende labotesten om veldgegevens beter te kunnen interpreteren.
- Taak 3: Uitvoering op pilotschaal van de bio-augmentatie in een bioreactor

Dit rapport vat de activiteiten en geboekte resultaten samen.

In samenwerking met Texaco en Bofas werden 2 testlocaties voor het project geselecteerd (Zammel en Herentals). Het grondwater en/of aquifer materiaal werd bemonsterd voor karakterisatie en voor gebruik in de labotesten. **(Taak 1)**

De labotesten toonden aan dat er op het terrein te Zammel geen biologisch potentieel aanwezig is om MTBE af te breken, maar wel voor verwijdering van TBA. Inoculatie met de VITO MTBE/TBA afbrekende cultuur leidde tot initiatie van MTBE afbraak en versnelling van TBA verwijdering. Bio-augmentatie is daarom een zinvolle benadering voor de testlocatie. Op laboschaal werd MTBE (5-10 mg/l) en TBA (0.5-1 mg/l) succesvol verwijderd uit het grondwater (Zammel) via een geïnoculeerde bioreactor bij een hydraulische verblijftijd van 13 tot 4 uren. Ook voor grondwater van het testterrein in Herentals (MTBE 1.6 mg/l) werd een volledige verwijdering van MTBE bekomen via de laboschaal geïnoculeerde bioreactor. **(Taak 2)**

De piloottest had plaats in Herentals. September 2008 werd de piloot installatie (ontijzering + bioreactor) naar het testterrein verhuisd. De influent concentratie in de bioractor op het testterrein te Herentals was maximaal 900 µg/l MTBE, welke kon gereduceerd worden tot onder de lozingsnorm van 100 µg/l. Ook bij reductie van de hydraulische retentietijd tot een 2-tal uren (debiet 3600 l/dag) werd een stabiele verwijdering bekomen tot ruim onder deze lozingsnorm. **(Taak 3)**

2 Terreinen betrokken in het project (Taak 1)

In de studie werden 2 testlocaties beschouwd, Zammel en Herentals. De piloottest had plaats op het terrein te Herentals.

2.1 Zammel

Tabel 1 geeft een overzicht van de analyses die gebeurd zijn op het grondwater dat bemonsterd werd in Zammel. De labotesten gebeurden 2006-2007 met grondwater en/of aquifer van het terrein. In september 2007 bleek de MTBE-concentratie in de boogde peilbuizen op het tankstation sterk afgenomen te zijn (Tabel 1), tot concentraties die te laag zijn om een zinvolle piloot op te starten.

Tabel 1: Resultaten analyses op grondwater van het tankstation (Zammel)

Peilbuis (filterstelling m-mv)	Bemonstering	MTBE (µg/l)	TBA (µg/l)	BTEX (µg/l)	Fe (mg/l)	NO3	PO4	Totaal N MIM (mg/l)
502 (7.0-8.0)	5/10/2005	16576	3013	< DL	31.5			
	8/11/2007	14	1349	< 3	53	<0,1	<0,1	0,22
	6/12/2007	2						
PbC	8/11/2007	3	237	< 3	<0.006	146	<0,1	36
PB B2 (?)	6/12/2007	18						
501C2 (7.0 – 8.0)	6/12/2007	324						
PbA (3.5 -6.6)	6/12/2007	294						
504 (3.0 – 6.0)	3/12/2007	1016						

2.2 Herentals

Via Bofas werden in 2007 een aantal terreinen naar voor geschoven waar een piloottest op zeer korte termijn kon plaatsvinden. Een locatie in Herentals werd hieruit geselecteerd waar een pump&treat reeds operationeel was. Een aantal monitoringsfilters (M1), en onttrekkingsputten (DF) werden door VITO bemonsterd.

De resultaten zijn samengevat in **Tabel 3** en **Tabel 2** en tonen aan dat MTBE aanwezig is in het grondwater. De concentraties aan MTBE (en BTEX-componenten) schommelen sterk in functie van de locatie en de tijd. Op basis van de monitoringsresultaten bekomen via Bofas, werd een sterk dalende concentratie in de tijd gezien. DF6 werd uiteindelijk geselecteerd als input van de pilootinstallatie.

Tabel 2. Analyseparameters bemonstering – Herentals

peilbuis	datum	MTBE (µg/l)	TBA (µg/l)	Benzeen (µg/l)	Tolueen (µg/l)	Ethyl- benz. (µg/l)	m/p- xyleen (µg/l)	o- xyleen (µg/l)	Fe (mg/l)
M1	19/6/2008	< 1		1	< 1	< 1	< 1	< 1	26
DF1	2/7/2008	885	272	572	203	15	167	78	
	9/09/2008	1070		821	258	20	136	60	
DF2	2/7/2008	522	197	393	1670	200	923	308	
	9/9/2008	363		408	431	46	244	104	
DF3	2/7/2008	9	25	4	2	<1	3	1	
	6/6/2008	13		15	5	3	3	1	
DF4	2/7/2008	81	87	107	586	77	373	121	
DF5	23/6/2008	320	69	100	357	28	158	55	3,69
DF5	2/7/2008	11141	2941	74	185	4	12	31	
DF5-o	9/9/2008	9	< DL	17	<1	3	1	<1	
DF5-m	9/9/2008	12	36	16	<1	3	1	<1	
DF5-b	9/9/2008	40	<DL	13	<1	4	2	2	
DF6	23/6/2008	20	8	4	47	9	82	35	2,39
DF6	2/7/2008	1189	268	188	378	103	316	146	
DF6-A	9/9/2008	5014	446	567	959	288	836	403	
DF6-B	9/9/2008	5245	229	447	838	315	637	341	
DF7	23/6/2008	1174	195	1	25	28	188	85	3,67
DF11	2/7/2008	32	73	1	10	2	8	2	

Tabel 3. Veldparameters bemonstering – Herentals

Peilbuis	datum	Grondwaterstand (m-mv)	Diepte Peilbuis (m)	Filter stelling (m-m mv)	pH	EC ($\mu\text{S/cm}$)	O ₂ (mg/l)	ORP (mV)	T (°C)
M1	19/6/2008	5.80	12.0	9-12	5.84	365	0.35	-25	12,8
Kring 9	23/6/2008	5.90			5.15	342	0.26	-18	13.1
Kring 8	23/6/2008	5.93			5.14	388	0.11	-16	13.2
Kring 7	23/6/2008	5.67			5.27	271	0.08	-25	13.6
DF1	2/7/2008	5.01			5.03	691	1.36	-18	12.8
DF2	2/7/2008	5.06			5.12	664	0.70	-20	13
DF3	2/7/2008	4.85			5.38	615	0.68	-18	13.1
DF4	2/7/2008	5.11			5.53	487	0.59	-21	13.2
DF5	2/7/2008	5.00			5.57	633	0.66	-19	13.7
DF6	2/7/2008	5.00			5.75	558	0.47	-144	13.8
DF10	2/7/2008	/			/	/	/	/	/
DF11	2/7/2008	5.26			5.56	271	5.59	+ 1	14.3

3 Simulaties via labotesten (Taak 2)

3.1 Terrein Zammel

3.1.1 MTBE biodegradatiepotentieel (Zammel)

Een labotest werd opgezet om na te gaan of er MTBE/TBA-biodegradatiepotentieel aanwezig is op de locatie te Zammel. Dit is voornamelijk van belang om het nut en effect van een in-situ bio-augmentatie na te gaan. Verder werd de toegevoegde waarde van een MTBE/TBA-afbrekende cultuur op de afbraak van MTBE/TBA geëvalueerd

Uitgangsmateriaal:

- Ongeroerd bodemstaal (genomen 3-8 m-mv) op het station te Zammel (genomen nabij PB502)
- Grondwater peilbuis 502 op het station te zammel
- MTBE-TBA-afbrekende ent. Het gaat om een consortium dat door VITO werd aangerijkt uit een verontreinigde bodem. Een jarenlange aanrijking resulteerde in een stabiele cultuur die op MTBE, maar ook TBA (afbraakproduct van MTBE) en BTEX-componenten kan groeien als enige koolstofbron (Moreels et al. 2004; Bastiaens et al. 2005; Bastiaens et al. 2008).

Testopzet:

Een batchtest werd opgezet in duplo in 120 ml vials met viton-stop. De volgende 4 aërobe testcondities werden opgenomen in de test:

Reeks 1: Vergiftigde controle

Reeks 2: Biotisch controle

Reeks 3: Biotische conditie met toevoeging van nutriënten

Reeks 4: Biotische conditie met toevoeging van nutriënten en een MTBE/TBA-afbrekende bacteriële ent (VITO-ent) = Bio-augmentatie conditie

De vials werden geïncubeerd bij 20°C.

Opvolging:

Bij start (T0), na 3 weken (T1), 6 weken (T2), 10 weken (T3), 16 weken (T4) en na 28 weken (T5) werden de concentraties aan MTBE/TBA/BTEX bepaald, alsook de opgeloste zuurstof en pH. MTBE en TBA werd terug toegevoegd wanneer volledig verbruik werd vastgesteld.

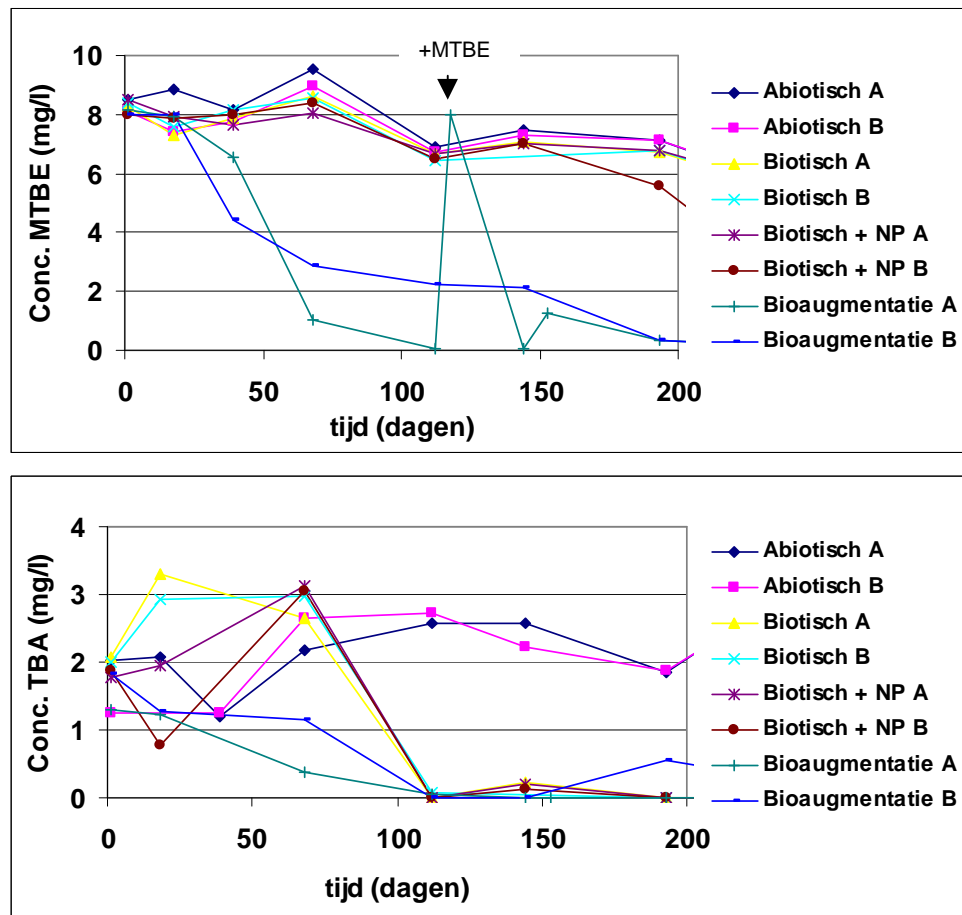
Resultaten:

De evolutie van de MTBE en TBA concentratie in functie van de tijd is weergegeven in *Figuur 1*.

Wat MTBE betreft, werd binnen een testperiode van 200 dagen enkel afbraak vastgesteld in testcondities waaraan de MTBE-afbrekende ent werd toegevoegd. Zonder beënting was er geen verwijdering van MTBE wat aangeeft dat er geen of

een onvoldoende groot biologisch potentieel aanwezig is op het terrein te Zammel om MTBE biologisch af te breken. Dit bevestigt de resultaten die in een eerdere studie op het terrein te Zammel werden bekomen voor de pluim.

Voor TBA is er wel een biologisch afbraakpotentieel aanwezig. In alle biotische condities was de TBA concentratie na 100 dagen gedaald tot onder de detectielimiet. Met ent werd een snellere afbraak bekomen.



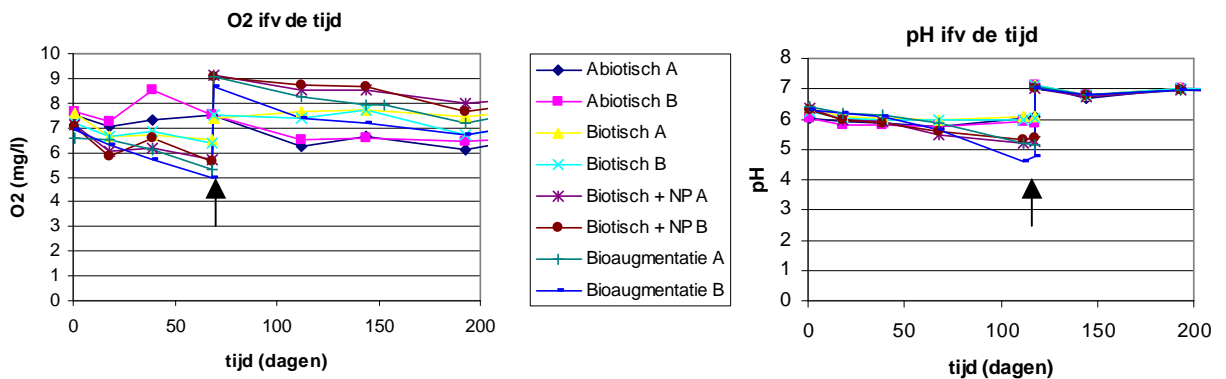
Figuur 1: Evolutie MTBE en TBA-concentratie in de tijd – batchtest.

Gedurende de test was er steeds voldoende zuurstof aanwezig en de pH werd licht zuur tot neutraal gehouden (Figuur 2).

Besluiten:

- Op het terrein te Zammel is wel een biologisch TBA-afbraakpotentieel aanwezig, maar geen biologisch potentieel om MTBE af te breken

- Toediening van een MTBE/TBA-afbrekende ent heeft een toegevoegde waarde om (1) MTBE te kunnen afbreken en (2) TBA versneld te kunnen afbreken
- Terrein is geschikt voor bio-augmentatie te kunnen evalueren in een piloottest.



Figuur 2: Evolutie opgeloste zuurstof (toevoeging extra zuurstof aangeduid met pijl) en pH (pH-correctie aangeduid met pijl) in de tijd – batchtest.

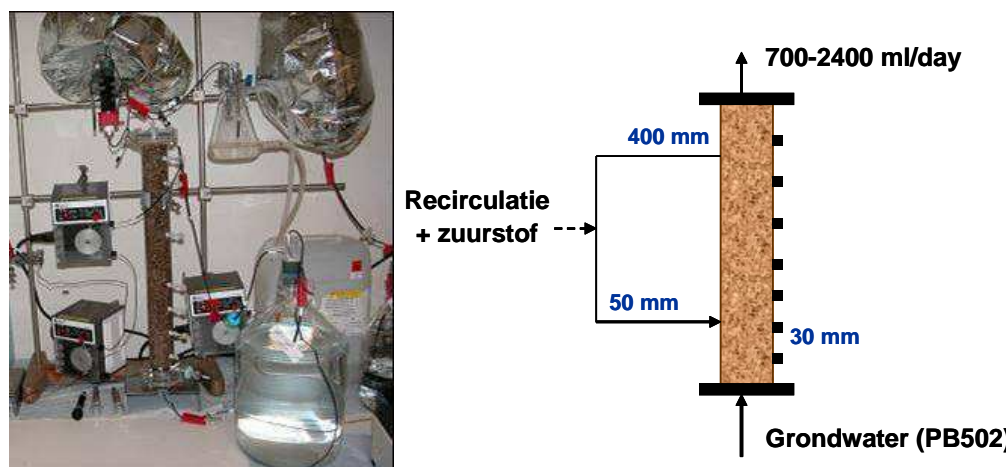
3.1.2 Simulatie geïnoculeerde bioreactor op laboschaal (Zammel)

Op laboschaal werd een geïnoculeerde bioreactor opgestart met grondwater van Zammel (1) om na te gaan of alle aanwezige polluenten kunnen verwijderd worden, en (2) om werkingsparameters af te leiden.

Experimentele opzet:

De experimentele opzet is schematisch weergegeven in *Figuur 3* en bestaat uit een bioreactor gevuld met filterzand (1-2 mm) als drager materiaal. Het volume water in de reactor met filterzand bedraagt 400 ml. Via een retour wordt een betere menging in de reactor verkregen en wordt ook extra zuurstof toegevoegd aan het systeem.

De bacteriële ent die gekoloniseerd is op het dragermateriaal is het VITO MTBE/TBA-afbrekend consortium (zie hoger).



Figuur 3: Labosimulatie geïnoculeerde bioreactor.

Met artificieel grondwater had de geïnoculeerde bioreactor bewezen goed te functioneren gedurende meer dan 16 maanden. Voor het huidige experiment werd dezelfde bioreactor gebruikt maar de voeding werd vervangen door grondwater afkomstig van peilbuis PB502 (Zammel). Ontijzing wordt noodzakelijk geacht omwille van de hoge ijzergehaltes van het grondwater die een mogelijk risico inhouden voor het verstopping van de aërobe bioreactor. Het grondwater werd ontijzerd via aanzuring onder aërobe omstandigheden en filtratie over een zandbed.

De hydraulische verblijftijd van het water in de reactor varieerde tussen 13 en 4 uren. MTBE-concentraties in het influent werden artificieel verhoogd en fluctueerde tussen 5 en 10 mg/L MTBE. De concentraties aan BTEX in het grondwater waren zeer laag tot afwezig, zeker na ontijzing.

Monitoring:

Langsheen de bioreactor zijn staalnamepunten aanwezig. Op geregelde tijdstippen werd grondwater bemonsterd via deze punten voor chemische analyses. Zo konden concentratieprofielen opgemaakt worden langsheen de geïnoculeerde bioreactor. Parameters die opgevolgd werden zijn: concentratie aan MTBE, TBA en BTEX, pH en opgeloste zuurstof.

Resultaten:

De concentratieprofielen langsheen de bioreactor die op een 5-tal momenten werden bepaald zijn grafisch weergegeven in *Figuur 4*.

Bij een hydraulische verblijftijd (HRT) van 13 uren, wat overeenkomt met een debiet van 707 ml/dag, werd 5 mg/l MTBE in de eerste 10 cm van de bioreactor gereduceerd tot minder dan 0.5 mg/L (*Figuur 4.A*). Hierbij werd een beperkte tijdelijk accumulatie van TBA gezien, wat in lijn is met de verwachtingen. Verder stroomafwaarts in de bioreactor werd geen MTBE meer teruggevonden. Aan de ingang van de bioreactor was het water verzadigd met zuurstof (8 mg/l) dat voor

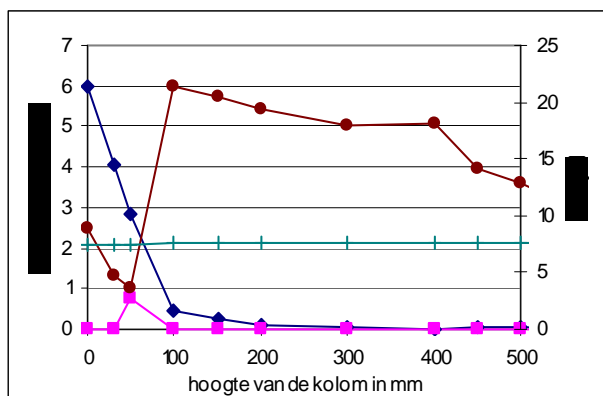
meer dan 50% door de bacteriën verbruikt werd in de eerste 5 cm van de kolom. Via de retour werd extra zuurstof in het systeem gebracht wat de significante verhoging van de opgeloste zuurstof in de bioreactor verklaart. De pH bleef stabiel.

Bij een lagere hydraulische retentietijd werden gelijkaardige resultaten bekomen met een MTBE concentratie in het influent van zowel 5 mg/l (*Figuur 4. B*) als 10 mg/l (*Figuur 4. B*). Kortsluitstromen die ontstaan bij deze hogere debieten zijn vermoedelijk de oorzaak voor de verhoging aan MTBE –concentratie aan de effluentzijde van de bioreactor.

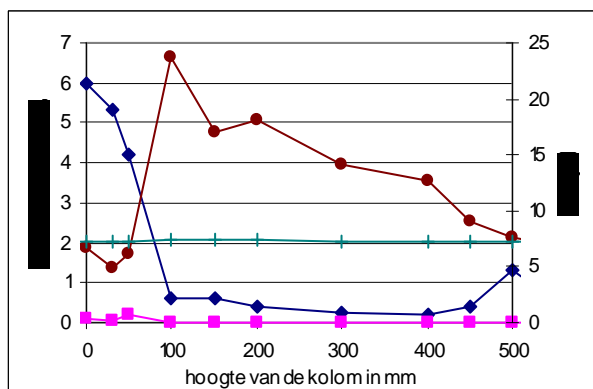
De resultaten die bekomen werden bij een hydraulische verblijftijd van 4 uren zijn weergegeven in *Figuur 4.D* en *Figuur 4.E*. De resultaten tonen aan dat TBA die aanwezig is in het influent, ook efficiënt verwijderd wordt in de bioreactor.

Besluiten:

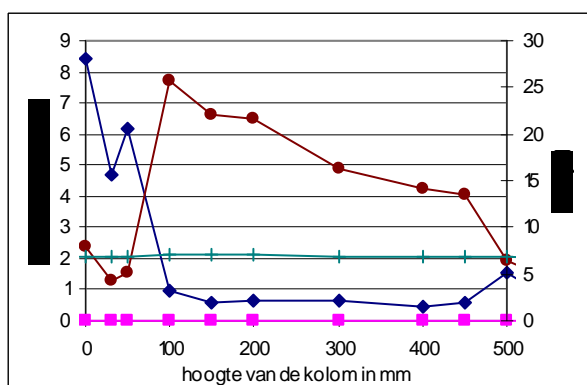
- De in het grondwater aanwezige pollutanten (MTBE en TBA) worden efficiënt verwijderd via de geïnoculeerde bioreactor.
- Bij hydraulische verblijftijden tussen 13 en 4 uren werd een MTBE verwijdering van 90 tot 100% gerealiseerd, bij een initiële concentratie van 5-10 mg/l. TBA werd voor 100% gereduceerd. Lagere hydraulische verblijftijden konden op laboschaal niet gerealiseerd worden om praktische redenen.
- De resultaten zijn veelbelovend voor een bio-augmentatietoepassing op grotere schaal.



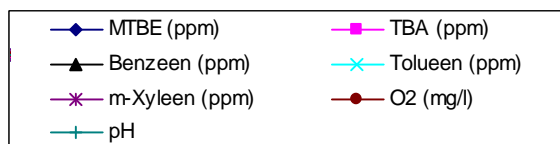
A. HRT 13 uren
(707 ml/dag)



B. HRT 6 uren
(1532 ml/dag)

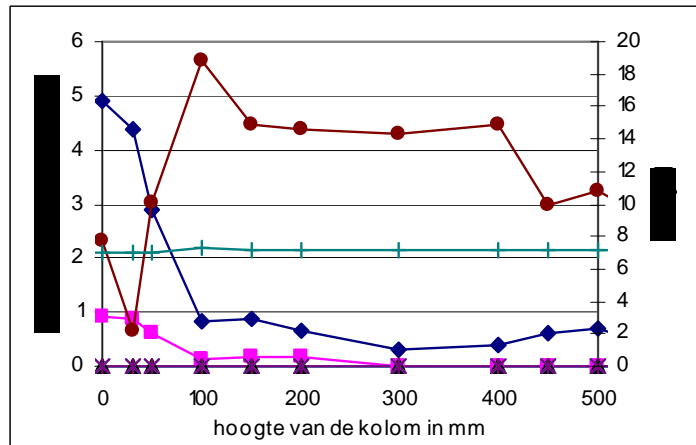


C. HRT 6 uren
(1532 ml/dag)

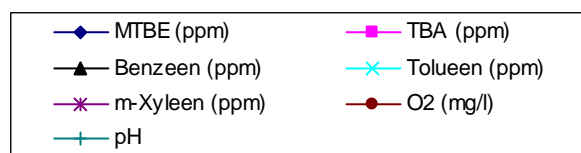
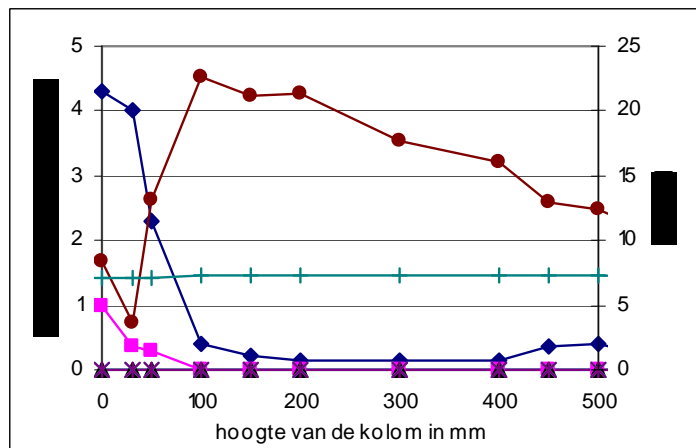


Figuur 4: Evolutie van concentratie (mg/l) aan MTBE, TBA en opgeloste zuurstof, en de pH langsheen de geïnoculeerde bioreactor op verschillende tijdstippen - Zammel

D. HRT 4 uren
(2298 ml/dag)



E. HRT 4 uren
(2298 ml/dag)



Figuur 4: Evolutie van concentratie (mg/l) aan MTBE, TBA en opgeloste zuurstof, en de pH langsheen de geïnoculeerde bioreactor op verschillende tijdstippen - Zammel - **Vervolg**

3.2 Terrein Herentals

3.2.1 MTBE biodegradatiepotentieel (Herentals)

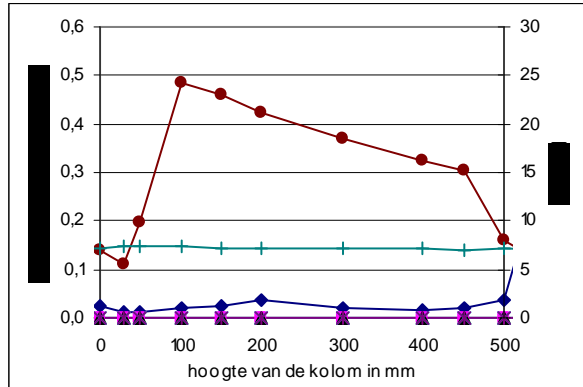
Aangezien beslist werd het project uitsluitend verder toe te spitsen op de geïnoculeerde bioreactor, en niet meer de combinatie met in-situ inoculatie, werd het biodegradatiepotentieel voor de site te Herentals niet meer bepaald in het kader van dit project.

3.2.2 Simulatie geïnoculeerde bioreactor op laboschaal (Herentals)

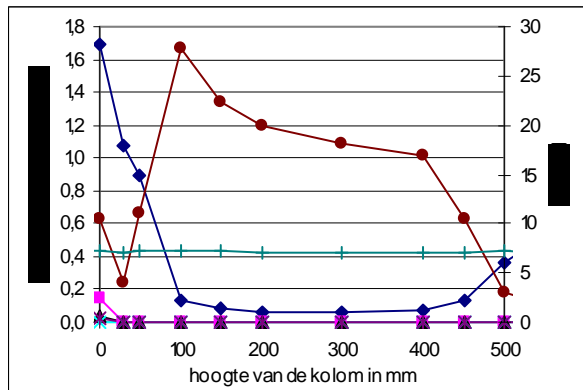
Voor beschrijving van de testopzet wordt verwezen naar punt 3.1.2.

De test werd opgestart met grondwater bemonsterd op onttrekkingsfilter DF5 te Herentals, waar initieel zeer hoge MTBE concentraties werden gemeten (Tabel 2). Uit de eerste bemonsteringscampagne van de bioreactor (*Figuur 5.A*) bleek dat de concentratie aan MTBE zeer laag was. Dit werd bevestigd door nieuwe bemonsteringen ter plekke in DF5. De MTBE-concentratie werd daarom artificieel verhoogd tot 2 mg/l wat een realistische concentratie is op het testterrein. Bij hydraulische verblijftijden van 14 tot 8 uren werden significante verwijderingen van MTBE vastgesteld (*Figuur 5.B en C*).

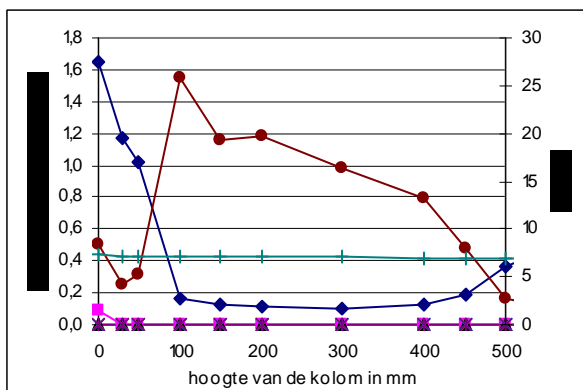
Na ontijzering werden geen BTEX-concentraties meer teruggevonden in het influent van de bioreactor.



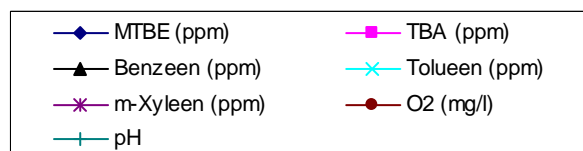
A. HRT 14 uren
(656 ml/dag)



B: HRT 16 uren
(574 ml/dag)



C. HRT 8 uren
(1149 ml/dag)



Figuur 5: Evolutie van concentratie (mg/l) aan MTBE, TBA en opgeloste zuurstof, en de pH langsheen de geïnoculeerde bioreactor op verschillende tijdstippen - Herentals

4 Geïnoculeerde bioreactor op piloot schaal (Taak 3)

Het evalueren van de mogelijkheden van een geïnoculeerde bioreactor op pilootschaal gebeurde in 2 stappen. In een eerste stap werd de piloot bioreactor bij VITO opgeladen en getest met lokaal grondwater dat artificieel verontreinigd werd met MTBE. In een tweede fase werd de geactiveerde bioreactor verplaatst naar een reëel verontreinigd testterrein in Herentals. De aanpak liet toe om de geïnoculeerde bioreactor op piloot schaal te testen voorafgaand aan de definitieve keuze van het testterrein (zie taak 1).

4.1 Gebruikte pilootinstallatie

De piloot installatie omvat een ontijzeringseenheid en een bioreactoreenheid. Voor de testen werd geopteerd om een filter met actieve kool (GAC) na de bioreactor te plaatsen om onder alle omstandigheden te vermijden dat MTBE geloosd zou worden.

De ontijzering werd gerealiseerd via pH-correctie, zuurstofinbreng en zandfiltratie (zie *Figuur 6.A*)

De bioreactor (zie *Figuur 6.B*) is een geïnoculeerde zwevend bed reactor met recirculatie. Het reactorvolume bedraagt 300L. In de recirculatieloupe zijn toevoegpunten voor zuurstof en nutriënten aanwezig, alsook een meetstraat (pH, opgeloste zuurstof, temperatuur) en pH-correctie-eenheid. De reactor wordt vanuit een influentbuffer gevoed met grondwater. Het effluent van de bioreactor wordt opgevangen in een effluentbuffer, van waaruit het water naar een actief koolfilter wordt gepompt. Het systeem kan aangestuurd en gecontroleerd worden via telemetrie.



A.



B.

Figuur 6: Ontijzeringseenheid (A) en bioreactor op pilootschaal (B).

4.2 Piloottest met artificieel verontreinigd grondwater (Taak 3A)

4.2.1 Opzet

De bioreactor werd geïnoculeerd (gebioaugmenteerd) met 60L van een MTBE/TBA-afbrekende ent ($3.6 \cdot 10^{12}$ kolonievormende eenheden) die beschikbaar is bij VITO en eveneens in de labotesten (zie taak 2) werd gebruikt. Een tweede enting was voorzien later in de test.



A.

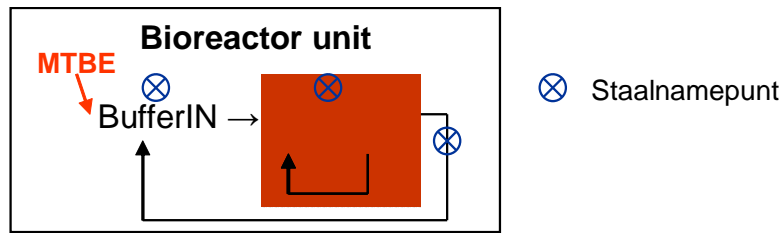


B.

Figuur 7: Fermentor voor opgroeien van MTBE/TBA-afbrekende ent (A.) en inoculatie van de bioreactor (B.)

Na een korte periode waarin de reactor continu bedreven werd met een relatief lage start HRT van 3 h, werd beslist de activiteit van de ent in de reactor na te gaan en aan te sterken door de geïnoculeerde reactor in fed-batch te opereren. Hierbij werd periodiek 5-10 mg/l MTBE aan de reactor toegevoegd (fase A).

Naderhand werd overgegaan tot een semi-continue voeding van de reactor met grondwater, waarbij MTBE continu gedoseerd werd in de influentbuffer (fase B). Daarnaast werden ook nutriënten (N,P) toegevoegd. Een schematische voorstelling van het systeem is weergegeven in *Figuur 8*, met indicatie van de stalnamepunten.

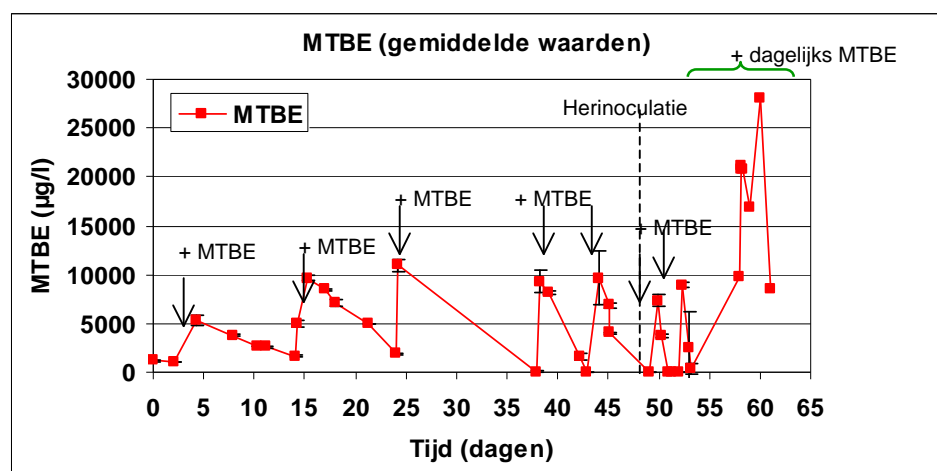


Figuur 8: Schematische voorstelling pilootinstallatie.

4.2.2 Resultaten

De evolutie van de MTBE-concentratie in de geïnoculeerde bioreactor tijdens de **fed-batch periode** is weergegeven in *Figuur 9*. De weergegeven waarden zijn de gemiddelde waarden van 3 bemonsteringspunten (2 punten in de reactor & effluent). De toegevoegde hoeveelheid MTBE werd in de tijd steeds sneller afgebroken, wat wijst op een grotere biologische activiteit in de reactor. MTBE afbraaksnelheden tot 9 ppm/dag werden bekomen in deze fase. Bij een dagelijkse dosering van 10 mg/L MTBE op het einde van het experiment is een aanpassingsperiode nodig om alle toegevoegde MTBE te verwijderen. De data geven aan dat de herinoculatie na 50 dagen niet noodzakelijk was.

De zuurstofconcentratie in deze periode varieerde tussen 2 mg/l en 12 mg/l, de temperatuur tussen 19°C en 22°C. De pH lag tussen 7.5 en 7.8. Er werd geen ophoping van TBA vastgesteld.

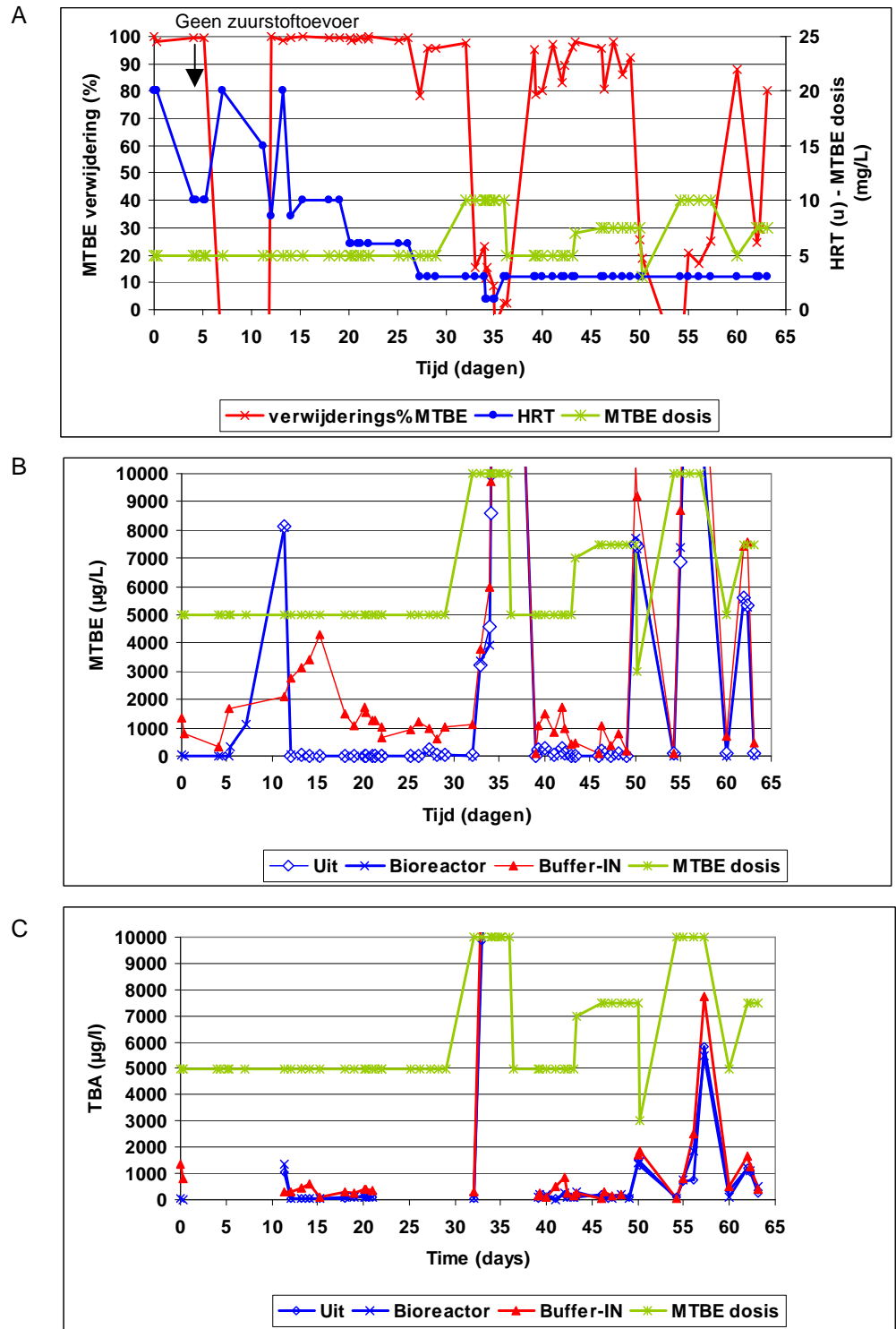


Figuur 9: Evolutie van MTBE in de geïnoculeerde bioreactor tijdens de fed-batch operatie (Fase A).

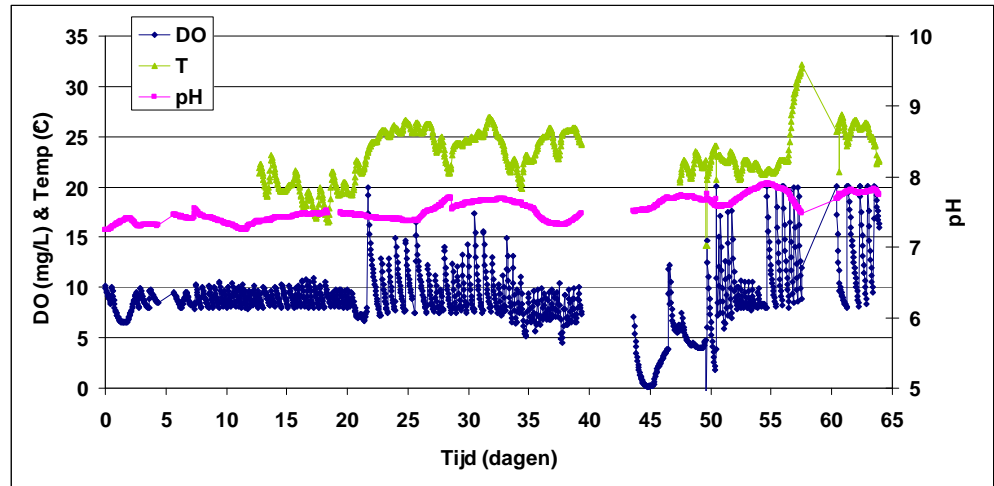
De efficiëntie van de MTBE-verwijdering in de bioreactor eenheid tijdens de **semi-continue fase** van de test is weergegeven in *Figuur 10.A*. Het verwijderingspercentage werd berekend op basis van de effectief gemeten influent concentratie en het gemiddelde van de concentratie in en aan de effluent zijde van de reactor. De resultaten tijdens de eerste 30 dagen van het experiment tonen aan dat de MTBE-verwijdering meer dan 95% is bij een MTBE dosering van 5 mg/l, zelfs terwijl de HRT wordt teruggebracht van 20 uren (debiet = 360 l/dag) naar 4 uren (debiet = 1800 l/dag). Rond dag 10 van deze fase werd de recirculatie tijdelijk stopgezet waardoor de reactor niet meer voorzien werd van nieuwe zuurstof. Dit resulteerde in een lagere afbraaksnelheid en een accumulatie van MTBE in het semi-continue systeem. Na herstart van de recirculatie werd snel opnieuw nagenoeg 100% verwijdering gerealiseerd. Tijdens de laatste 35 dagen van deze testfase werd getracht de HRT verder te verlagen en de MTBE-concentratie in het influent te verhogen. De resultaten geven aan dat een hogere MTBE-dosering (dag 35, dag 55) in combinatie met een lagere HRT (dag 35) tijdelijk kunnen resulteren in een lager verwijderingsrendement. Het systeem recupereerde naderhand telkens snel.

In *Figuur 10.B* zijn de theoretisch gedoseerde hoeveelheid MTBE (MTBE dosis) en de werkelijk gemeten concentraties weergegeven. De werkelijke concentraties liggen veelal beduidend lager dan de theoretisch gedoseerde, te verklaren door onvolledige oplossing van MTBE in het water na dosering, biodegradatie en vervluchtiging. Tijdens periodes met verlaagde MTBE-verwijdering accumuleerde MTBE tijdelijk.

In de periodes dat MTBE accumuleerde werden ook verhoogde concentraties aan TBA bekomen. TBA-concentraties tot 10 000 µg/l werden vastgesteld. Het gaat telkens om tijdelijke verhogingen die volledig in lijn liggen met de ervaringen op laboschaal. Ook op laboschaal accumuleert TBA tijdelijk bij plotse verhoging van de MTBE-concentraties omwille van aanpassingen van de enzymatische systemen in de MTBE/TBA-afbrekende bacteriën. Het feit dat de TBA-concentraties naderhand weer dalen in het semi-continue systeem, geeft aan dat de geïnoculeerde reactor in staat is TBA af te breken.



Figuur 10: Evolutie van MTBE en TBA concentraties tijdens semi-continue fase.



Figuur 11: Evolutie van pH temperatuur en opgeloste zuurstof (DO) tijdens semi-continue fase.

De evolutie van de pH, temperatuur en zuurstof werd continu gemeten tijdens deze periode en de resultaten zijn weergegeven in *Figuur 11*.

De pH varieerde tussen pH 7 en pH 8. De temperatuur schommelde tussen 17 en 27 °C, met een uitzonderlijke uitschieter van 32 °C (dag 57). De temperatuurstijging werd veroorzaakt door de vrijgekomen pompwarmte gecombineerd met de hoge zomer temperaturen. Temperaturen boven 30°C zijn zeer ongunstig voor de biologie.

Gedurende de eerste 40 dagen is er een goede toevoer van zuurstof gerealiseerd. Afhankelijk van de instellingen werd gewerkt tussen 7-11 mg/l zuurstof (dag 1- dag 20) of tussen 7-15 mg/l zuurstof (dag 21- dag 40). Rond 45-50 dagen werden verlaagde zuurstofconcentraties vastgesteld. In de laatste periode schommelde de zuurstof tussen 8 – 20 mg/l. De resultaten van de MTBE-verwijdering suggereren dat een zuurstofdosing boven 15 mg/l niet nodig is en eerder resulteert in een verminderde MTBE-verwijdering.

4.2.3 Besluiten

De resultaten geven aan dat afbraak van MTBE en TBA kan gerealiseerd worden met de piloot bioreactor wanneer deze gevoed wordt met grondwater dat kunstmatig verontreinigd wordt met MTBE. Het systeem werd voldoende matuur bevonden voor het uitvoeren van een piloot op een reëel verontreinigd terrein.

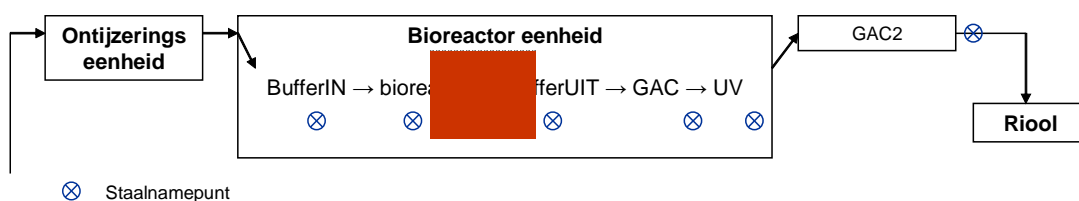
4.3 Piloottest te velde met reëel verontreinigd grondwater (Taak 3B)

4.3.1 Opzet

De testlocatie is een voormalig tankstation in Herentals waar het grondwater verontreinigd is met BTEX, MTBE en een beperkte hoeveelheid TBA (zie Tabel 2). De pilootinstallatie (Figuur 13) werd aan de influent zijde aangesloten aan onttrekkingsfilter DF6, en aan de effluentzijde op de riolering. Een schematische voorstelling van de hele pilootopstelling is weergegeven in Figuur 12.

De bioreactor werd geïnoculeerd met 60 L MTBE/TBA-afbrekende, zijnde 30 L voorafgaand aan de mobilisatie en 30L na 20 dagen operatie. Nutriënten werden continu gedoseerd in de bioreactor.

Rond de jaarwisseling werd de piloot preventief gestopt omwille van de extreme koude. Na 1,5 maanden werd het systeem zonder herinoculatie terug in gebruik genomen.



Figuur 12: Schematische voorstelling pilootinstallatie



Figuur 13: Piloot installatie op het testterrein.

4.3.2 Resultaten

De concentraties aan pollutanten in het opgepompte water gedurende de piloottest varieerde tussen 634-4758 µg/l voor MTBE, tussen de detectielimiet (50µg/l) en 1581 µg/l voor TBA en tussen 7-3752 µg/l voor BTEX. Na de ontijzeringsstap was nog slechts een beperkte hoeveelheid BTEX-componenten aanwezig (< 100 µg/l). De bioreactor werd gestart bij een hydraulische retentie tijd van 15 uren (debiet = 480 l/dag), welke gedurende het experiment geleidelijk verlaagd werd tot een HRT van 2 uren wat overeenkomt met een debiet van 3600 l/dag (*Figuur 14.B*).

De evolutie van de MTBE-concentratie in de bioreactor is weergegeven in *Figuur 14.A*. In het influent van de bioreactor waren concentraties tot 900 µg/l MTBE aanwezig. Na een initiële korte aanpassingsperiode van 1-2 dag (cfr. dag 1 & dag 130), wordt MTBE significant gereduceerd in de bioreactor. De effluentconcentraties lagen in de meeste gevallen beneden de lozingsnorm van 100 µg/l. Verlaagde zuurstoftoevoer (cfr. dag 13, periode rond dag 80) en plotse verhoging van de influent concentratie (cfr. dag 25, dag 50 & dag 60) kunnen tot een tijdelijk verminderde verwijderingsefficiëntie leiden.

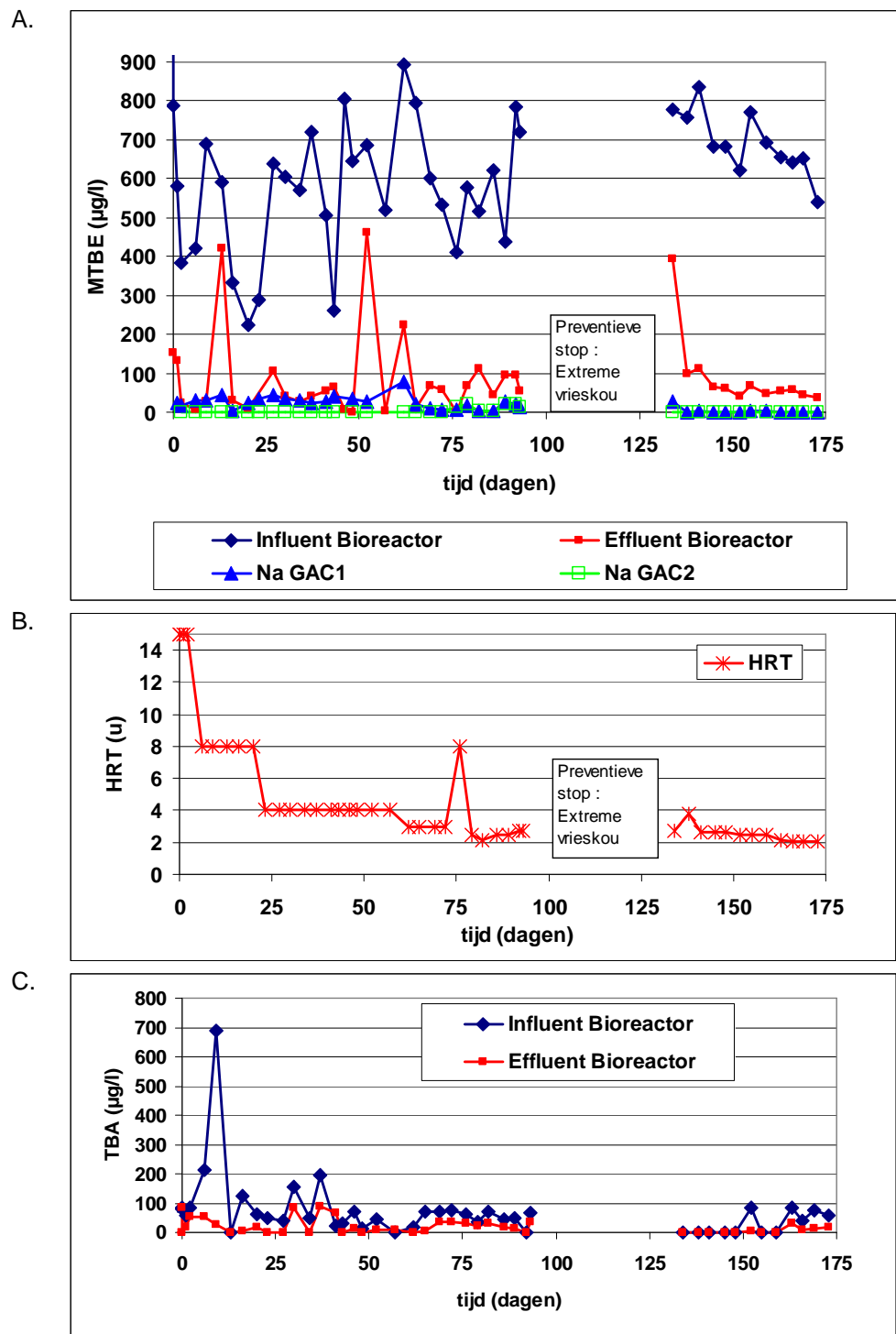
Tijdens de laatste 45 dagen van de test werd de reactor stabiel bedreven bij een HRT van 2 uren en werd een MTBE-daling in de geïnoculeerde bioreactor bekomen tot ruim onder 100 µg/l.

De nog in het effluent van de bioreactor aanwezige hoeveelheden MTBE werden verder verlaagd door de granulaire actieve kool, zodat gedurende de test de lozingsnorm nooit overschreden werd.

De TBA-concentraties in het influent en effluent van de bioreactor werden eveneens opgevolgd. De resultaten zijn weergegeven in *Figuur 14.C*. De TBA-concentraties in het influent waren beperkt met een piekconcentratie van 700 µg/l tijdens de eerste maand. In het effluent van de bioreactor waren de TBA-concentraties lager dan in het influent, wat er op wijst dat (1) de afbraak van MTBE volledig is en niet leidt tot ophoping van TBA, en (2) dat initieel aanwezige concentraties aan TBA ook gereduceerd worden in de geïnoculeerde bioreactor.

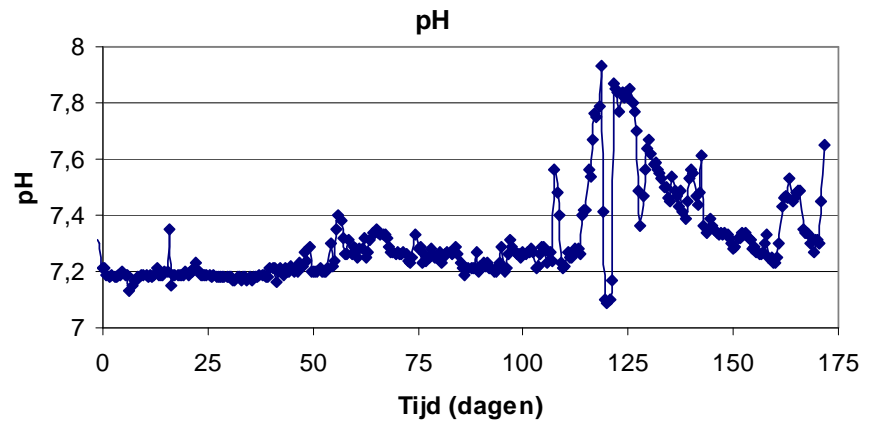
De pH tijdens de veldtest schommelde tussen pH 7.1 en pH 7.9 (*Figuur 15.A*). De evolutie van de zuurstof in de bioreactor is weergegeven in *Figuur 15.B*. Gemiddeld genomen werd getracht deze op 8 mg/l zuurstof te houden.

Figuur 16 geeft de evolutie van de temperatuur weer gedurende de laatste 3 maanden van de test. Als de reactor operationeel was lag de temperatuur van het grondwater in de reactor rond de 16-18°C. Als de reactor stil ligt, wordt het grondwater in de reactor sterk beïnvloed door de omgevingstemperatuur. Dit verklaart de dalingen die opgemeten werden in januari.

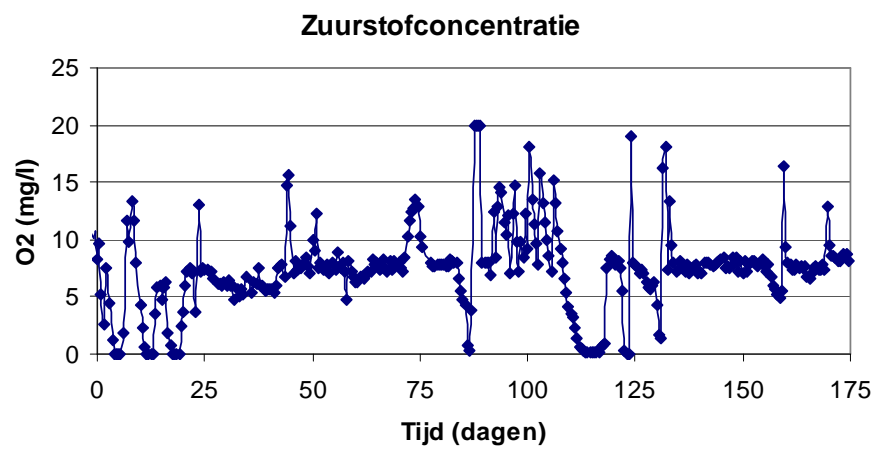


Figuur 14: Evolutie van de MTBE-concentratie (A), de hydraulische retentietijd (HRT)(B) en de TBA-concentratie (C) in de pilot geïnoculeerde bioreactor te velde.

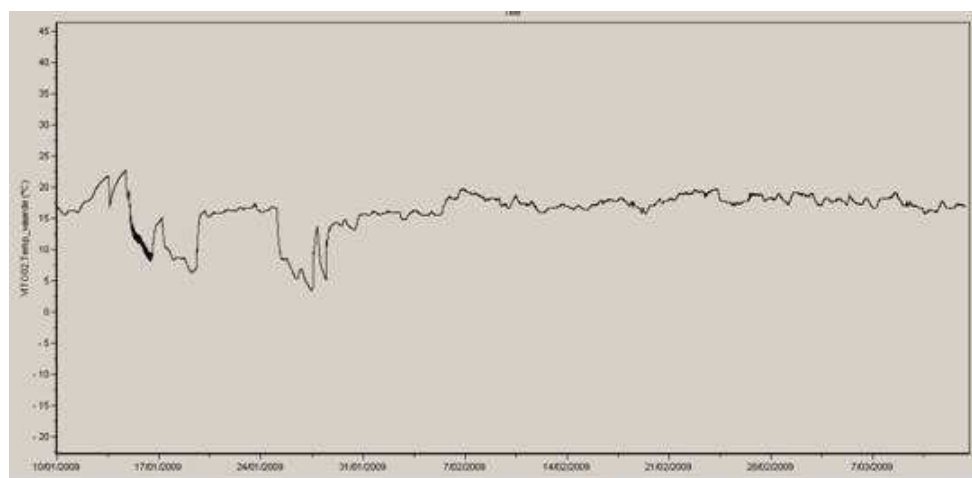
A.



B.



Figuur 15: Evolutie van pH en de opgeloste zuurstof tijdens continue test te velde.



Figuur 16: Evolutie de temperatuur tijdens continue test te velde (30/1/2009 = dag 114 van deze testperiode, continue herstart piloot na winterstop op 30/1/2009).

4.3.3 Besluiten

De werking van de geïnoculeerde bioreactor werd gedemonstreerd op een reëel verontreinigd terrein. De resultaten tonen aan dat MTBE (en TBA) in de bioreactor, die geïnoculeerd werd met een MTBE/TBA-afbrekende ent, wordt afgebroken. Een influent concentratie tot 900 µg/l MTBE kon gereduceerd worden tot onder de lozingsnorm van 100 µg/l. Bij een hydraulische retentietijd (HRT) van een 2-tal uren (debiet = 3600 l/dag) werd een stabiele verwijdering bekomen tot ruim onder deze lozingsnorm, wat aangeeft dat de HRT mogelijk verder gereduceerd kan worden.

5 Algemene besluiten

Labotesten hebben aangetoond dat een geïnoculeerde bioreactor een meerwaarde kan hebben voor de verwijdering van MTBE en TBA uit grondwater zowel op het beschouwde terrein te Zammel als de uiteindelijke testlocatie te Herentals. Op beide terreinen is ontijzering van het grondwater noodzakelijk. Hydraulische verblijftijden konden gereduceerd worden tot 4 uren. Op pilotschaal kunnen lagere retentietijden beter geëvalueerd worden omwille van minder technische beperkingen (o.a. aanvoer & afvoer water) in vergelijking met laboschaal.

Een geïnoculeerde bioreactor op piloot schaal werd bedreven met zowel artificieel vervuild grondwater (bij VITO) als reëel verontreinigd grondwater (terrein Herentals). Het artificieel verontreinigde grondwater bevatte MTBE-concentraties in mg/l gebied (tot > 10 mg/l). Het reële verontreinigde grondwater bevatte lagere MTBE-concentratie (maximaal 900 µg/l). In beide gevallen werd de MTBE (en TBA) concentratie in de bioreactor gereduceerd, wat aantoont dat het systeem zowel lage als middel hoge MTBE-concentraties kan verwijderen. Een influent concentratie op het testterrein te Herentals was maximaal 900 µg/l MTBE, welke kon gereduceerd worden tot onder de lozingsnorm van 100 µg/l. Bij een hydraulische retentietijd van een 2-tal uren werd een stabiele verwijdering bekomen tot ruim onder deze lozingsnorm.

Op basis van de afbraakarakteristieken (in batchtesten op laboschaal) van de gebruikte VITO MTBE/TBA-afbrekende cultuur, kunnen een aantal randvoorwaarden afgeleid worden. De VITO cultuur is actief bij de volgende omgevingsomstandigheden:

- pH: neutrale pH
- Temperatuur: 12-29°C
- Opgeloste zuurstofconcentratie: 3-15 mg/l
- HRT: tot < 2h
- MTBE-concentraties tot > 150 mg/l
- TBA-concentraties tot > 100 mg/l
- BTEX-componenten worden door de cultuur gelijktijdig met MTBE afgebroken indien zuurstof niet limiterend is.

Belangrijk bij een bioreactor is ook dat nagegaan wordt dat de microbiologie MTBE volledig omzet en niet enkel een afbraak tot TBA realiseert.

6 Referenties

- Bastiaens, L., Q. Simons, D. Moreels, J. Vos, J. Gemoets, and L. Diels. 2005. "Characterization and Remediation Options of a BTEX/MTBE Plume in the vicinity of a drinking Water Well in Belgium." Paper B-75. In: B.C. Alleman and M.E. Kelly (Eds.), *Proceedings of the 8th int. In Situ and On Site Bioremediation symposium*. Batelle Press, Columbus, OH (CD format).
- Bastiaens, L., Q. Simons, W. Boenne, L. Debor, and J. Gemoets. 2008. "Bioaugmentation to Remediate Methyl tert-Butyl Ether (MTBE)-Contaminated Groundwaters: Upscaling from Lab to Pilot Systems." Paper K-028. In B.M. Sass (Conference Chair), *Proceedings of the Sixth International Conference on Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds*. Batelle Press, Columbus, OH (CD format).
- Moreels, D., L. Bastiaens, F. Ollevier, R. Merckx, L. Diels, and D. Springael. 2004. "Evaluation of the intrinsic methyl tert-butyl ether (MTBE) biodegradation potential of hydrocarbon contaminated subsurface soils in batch microcosm systems." *FEMS Microbiology Ecology*. 49:121-128.