

**Haalbaarheidstesten voor  
sanering van  
grondwaterverontreiniging  
van gasfabrieken in een  
reactieve zone**

**SAMEN MAKEN WE  
MORGEN MOOIER**



**Haalbaarheidstesten voor  
sanering van  
grondwaterverontreiniging  
van gasfabrieken in een  
reactieve zone**

# Documentbeschrijving



---

1. *Titel publicatie*

Haalbaarheidstesten voor sanering van grondwaterverontreiniging van gasfabrieken in een reactieve zone

---

2. *Verantwoordelijke uitgever*

Danny Wille, OVAM, Stationsstraat 110, 2800 Mechelen

3. *Aantal blz.*

37

---

4. *Wettelijk depot nummer*

D/2010/5024/51

5. *Aantal tabellen en figuren*

7 tabellen; 1 figuur

---

6. *Publicatiereeks*

Achtergronddocument bodembeheer

7. *Datum publicatie*

April 2010

---

8. *Trefwoorden*

bodemverontreiniging, gasfabrieken, haalbaarheidstesten, reactieve zone, NSO-verbindingen, cyaniden

---

9. *Samenvatting*

Er werd een beperkt onderzoek uitgevoerd naar de mogelijke processen waarmee het complexe mengsel van verontreinigingen in grondwater van gasfabrieksterreinen kan worden verwijderd in een reactieve zone of permeabele reactieve wand. Haalbaarheidstesten met bodemmateriaal van twee gasfabrieksterreinen en een cokesfabriek toonden aan dat aërobe biologische afbraak mogelijk is voor de meeste NSO-verbindingen die werden aangetroffen. Er werden ook haalbaarheidstesten uitgevoerd voor de fysico-chemische verwijdering van complexe cyaniden, o.a. met nulwaardig ijzer en mangaandioxide.

---

10. *Begeleidingsgroep en/of auteur*

J. Gemoets, R. Lookman, M. Uyttebroek (VITO, auteurs)  
G. Van Gestel, A. Verheyen, S. Geuens (OVAM)

---

11. *Contactperso(n)en*

Griet Van Gestel, Jiska Verhulst

---

12. *Andere titels over dit onderwerp*

---

Gegevens uit dit document mag u overnemen mits duidelijke bronvermelding.

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

# **Haalbaarheidstesten voor sanering van grondwaterverontreiniging van gasfabrieken in een reactieve zone**

## **Rapport**

**Johan Gemoets, Richard Lookman, Maarten Uyttebroek - VITO**

Studie uitgevoerd in opdracht van OVAM

VITO-contractnr. 011669

VITO-rapportnr. 2008/MPT/R/277

# Inhoud

<b><u>Inhoud</u></b> .....	<b>2</b>
<b><u>Samenvatting</u></b> .....	<b>3</b>
<b><u>1 Inleiding</u></b> .....	<b>5</b>
<b><u>2 Literatuuroverzicht</u></b> .....	<b>7</b>
2.1 <u>NSO-verbindingen in koolteer en creosootolie</u> .....	7
2.2 <u>Fysicochemische eigenschappen</u> .....	7
2.3 <u>Identificatie van de belangrijkste NSO-verbindingen in grondwater</u> .....	11
2.4 <u>Biodegradatie</u> .....	11
2.5 <u>Toxiciteit</u> .....	18
2.6 <u>Analytische aspecten</u> .....	18
<b><u>3 Voorkomen van NSO-verbindingen in grondwater in Vlaanderen</u></b> .....	<b>19</b>
<b><u>4 Batchtesten voor aërobe biologische afbraak</u></b> .....	<b>22</b>
4.1 <u>Doelstelling</u> .....	22
4.2 <u>Testopzet</u> .....	22
4.3 <u>Testresultaten voor de locatie gasfabriek van Diest</u> .....	22
4.4 <u>Testresultaten voor de locatie gasfabriek van Gent</u> .....	24
4.5 <u>Extra biologische afbraaktest met bodemmateriaal van een cokesfabriek</u> .....	25
<b><u>5 Batchtesten voor fysico-chemische in situ behandeling</u></b> .....	<b>27</b>
5.1 <u>Doelstelling</u> .....	27
5.2 <u>Testopzet</u> .....	27
5.3 <u>Testresultaten</u> .....	27
<b><u>6 Besluit</u></b> .....	<b>29</b>
<b><u>7 Referenties</u></b> .....	<b>31</b>
7.1 <u>Wetenschappelijke vakbladen</u> .....	31
7.2 <u>Internet adressen</u> .....	33
<b><u>BIJLAGEN</u></b> .....	<b>34</b>
<b><u>Bijlage A: Afbraakroutes voor microbiële omzetting van NSO-verbindingen</u></b>	<b>35</b>

# Samenvatting

In deze studie hebben we een beperkt onderzoek uitgevoerd naar mogelijke processen waarmee men het complexe mengsel van verontreinigingen in grondwater van gasfabrieksterreinen kan verwijderen in een reactieve zone of permeabele reactieve wand. Omwille van de uiteenlopende eigenschappen van de typische verontreinigingen is het nodig om meerdere chemische of microbiële processen te combineren in een multi-reactief scherm.

De opdracht omvat twee soorten haalbaarheidstesten:

- (1) aërobe afbraaktesten en
- (2) testen voor in fysico-chemische verwijdering van complexe cyaniden.

Op basis van de beperkte literatuurstudie die we hebben uitgevoerd over heterocyclische NSO-verbindingen blijkt dat deze stoffen

- worden aangetroffen in grondwater van terreinen die zijn verontreinigd door gasfabrieken;
- in uiteenlopende mate biologisch afbreekbaar zijn onder aërobe condities;
- onderhevig zijn aan locatiespecifieke biologische afbraak, ondermeer omwille van nadelige effecten van de aanwezigheid van bepaalde NSO-verbindingen op de biologische afbraak van andere stoffen (zowel NSO als andere verontreinigingen);
- een significant humaan en verspreidingsrisico kunnen vertegenwoordigen.

Wegens de significante toxiciteit en de geringe afbreekbaarheid in anaëroob grondwater is het aanbevolen om NSO-verbindingen op te nemen in protocollen voor bodemonderzoek en risicobeoordeling voor terreinen van gasfabrieken en cokesfabrieken.

Laboratoriumtesten met bodemmaterialen van twee gasfabrieksterreinen en een cokesfabriek hebben aangetoond dat aërobe biologische afbraak mogelijk is voor een groot deel van de NSO-verbindingen die we hebben aangetroffen. De mate van afbraak (afbraaksnelheid) was stofspecifiek. Thiofeen bleek nauwelijks biologisch afbreekbaar te zijn. Het kan beschouwd worden als een intrinsieke tracer om pluimen van gasfabrieksterreinen in kaart te brengen en om natuurlijke afbraak te onderzoeken.

Thiocyanaat bleek redelijk goed te worden afgebroken (met gunstig effect van nutriëntentoevoeding). We hebben in onze testen ook een belangrijke aërobe microbiële afbraak vastgesteld van BTEX, fenol, chresolen, methylfenolen en ethylfenol.

In de twee testen waar de biologische afbraak van totaal en vrij cyanide is onderzocht bleek dat complexe cyaniden niet werden verwijderd. Voor de locatie waar een significant gehalte vrij cyanide is aangetroffen in het grondwater werd dit ook niet biologisch afgebroken, wat wel het geval was voor thiocyanaat (alook BTEX).

Met een batchtest voor vastlegging van cyaniden met fysico-chemisch reactieve materialen hebben we vastgesteld dat granulair nulwaardig ijzer het mogelijk maakte om de concentraties van complexe cyaniden en thiocyanaat in grondwater te verminderen. Er werd echter vorming waargenomen van vrij cyanide. Er werd een verregaande verwijdering vastgesteld van de gehalten 8-methylquinoline, dibenzofuraan en dibenzothiofeen. Aniline, benzofuraan en benzothiofeen werden in beperkte mate verwijderd uit het grondwater, maar thiofeen niet.

Met mangaandioxide werd geen significant effect vastgesteld op de restgehalten van totaal cyanide en thiocynaat. Met dit reagens is wel een verregaande verwijdering mogelijk van aniline en een redelijk goede verwijdering van benzothiofeen. Verder is er ook een redelijke verwijdering gekomen van benzofuraan, dibenzofuraan en dibenzothiofeen. Echter, er is een toename vastgesteld van de restgehalten quinoline, 6-methylquinoline en vooral van carbazole.

Voor het saneren van grondwater van gasfabrieksterreinen in een reactieve zone of waterdoorlatend scherm (PRB) is een combinatie van processen noodzakelijk. Dit onderzoek heeft uitgewezen dat aërobe biologische afbraak een belangrijk onderdeel kan zijn van zo een scherm. Nulwaardig ijzer zou er ook nuttig voor kunnen zijn, maar daarvoor zijn bijkomende kolomtesten aangewezen, waarbij aërobe microbiële afbraak en chemische afbraak met nulwaardig ijzer worden geïntegreerd. Mangaandioxide lijkt minder interessant in deze context.

# 1 Inleiding

In grondwater van gasfabrieksterreinen treft men typisch de volgende verontreinigingen aan:

- aromaten (BTEX);
- polycyclische aromatische koolwaterstoffen (naftaleen, acenafteen, ...);
- fenolen en chresolen;
- minerale olie;
- cyaniden (vrije en ijzercomplexen);
- thiocynaat;
- NSO-heterocyclische verbindingen;
- Ammoniak;
- sulfaat, thiosulfaat en sulfide;
- zware metalen.

In situ sanering van grondwater van gasfabrieksterreinen is een complexe aangelegenheid, ondermeer wegens de volgende fenomenen:

- Complex mengsel van verontreinigen (organische en anorganische);
- Uiteenlopende eigenschappen van de verontreinigingen;
- Een aantal verontreinigingen zijn moeilijk biologisch afbreekbaar (bv complexe cyaniden);
- De bronnen van verontreiniging zijn moeilijk te lokaliseren en/of te verwijderen:
  - koolteer kan voorkomen als vrij product ((D)NAPL);
  - geringe wateroplosbaarheid en sterk sorptievermogen voor bepaalde PAK en NSO-verbindingen;
  - cyanide kan voorkomen als neerslag in de bodem;
- Pump & Treat vereist het oppompen van grote hoeveelheden grondwater met gekoppeld aan een dure waterzuivering;
- Met chemische oxidatie kan men maar een deel van de verontreinigingen afbreken: complexe cyanides zijn niet oxideerbaar (tenzij in combinatie met UV wat in situ moeilijk te realiseren is).

Omwille van de bovenstaande redenen kan een beheersmaatregel op basis van een permeabele reactieve barrière (PRB) of reactieve zone interessant zijn. In het kader van deze studie hebben we een beperkt vooronderzoek uitgevoerd naar mogelijke processen waarmee men het complexe mengsel van verontreinigingen in grondwater van gasfabrieksterreinen kan verwijderen in een PRB. Omwille van de uiteenlopende eigenschappen van de typische verontreinigingen is het waarschijnlijk nodig om meerdere chemische of microbiële processen te combineren in een multi-reactief scherm.

De volgende processen zijn in overweging genomen:



Proces	Stoffen waarop het proces van toepassing is	Stoffen waarop het proces van toepassing kan zijn
Biologische afbraak Aëroob	BTEX, fenolen, minerale olie, vrij cyanide	NSO
Chemische transformatie Zerovalent ijzer		(Complexe) cyanides, NSO
Chemische transformatie mangaandioxide		(Complexe) cyanides, NSO
Neerslagvorming met Zerovalent ijzer, mangaandioxide	Zware metalen	Complex cyanide
Sorptie Actieve kool, ionenwisselaars, oxides, pillared clays, zeolieten	PAK, BTEX, zware metalen	Cyanides, NSO

Het voorwerp van deze studie is het uitvoeren van een beperkte reeks haalbaarheidstesten voor een reactieve zone concept voor in situ sanering van grondwaterverontreinigingen op gasfabrieksterreinen. De opdracht omvat twee soorten haalbaarheidstesten:

- (1) aërobe afbraaktesten en
- (2) testen voor in situ precipitatie van complexe cyaniden.

We hebben de studie aangevuld met een literatuuroverzicht over heterocyclische verbindingen. Deze worden tot heden zelden in overweging genomen bij het bodemonderzoek van terreinen van gasfabrieken, ondermeer omdat er nog geen bodemsaneringsnormen voor bestaan. Uit recent onderzoek naar hun voorkomen en risico's is echter gebleken dat deze verontreinigingen erg relevant kunnen zijn voor deze terreinen (Held T & Blotevogel J, 2008; Gemoets et al., 2002).

## 2 Literatuuroverzicht

### 2.1 NSO-verbindingen in koolteer en creosootolie

Teer en teerolie (creosoot) zijn een bijproduct van de ontgassing van steenkool en werden doorgaans als afvalproduct aanzien. Bodemverontreiniging op oude gasfabrieksterreinen (waar meestal ook teerdistillatie plaatsvond) bestaat om die reden doorgaans voor een belangrijk gedeelte uit teerverbindingen.

Twee andere bronnen van teerverontreiniging zijn de wegenindustrie (bijmenging bij asfalt) en de houtbeschermingsindustrie (creosoot).

Teer en creosoot zijn een uiterst complex mengsel van naar schatting een 10.000-tal organische verbindingen, waarvan er slechts een 300 tot 500-tal zijn geïdentificeerd (Dyeborg, 1996). Informatie over individuele componenten is beschikbaar via *Chemfinder*. In figuur 1 zijn een aantal stoffen grafisch weergegeven; de meest eenvoudige (BTEX,...) zijn hierin niet opgenomen. Soms zijn er meerdere synoniemen voor één en dezelfde stof; b.v. 9,10-dioxoanthraceen (anthraquinon), 2,3,4,5-tetrahydrothiofeen-1,1-dioxide (sulpholaan), tetrahydrothiofeen (thiolaan).

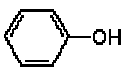
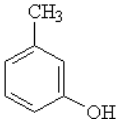
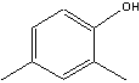
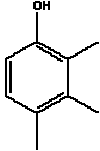
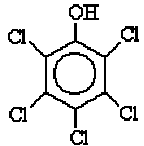
De teerverbindingen worden onderverdeeld in 4 klassen:

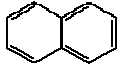
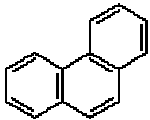
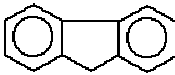
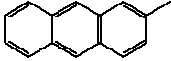
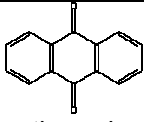
- MAK: monocyclische aromatische koolwaterstoffen (waaronder BTEX);
- PAK: polycyclische aromatische koolwaterstoffen;
- Fenolen;
- Heterocyclische koolwaterstoffen met stikstof (N), zwavel (S) of zuurstof (O).



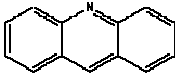
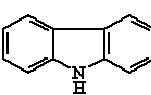
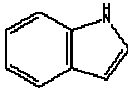
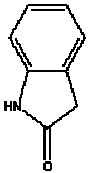
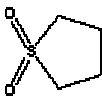

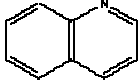
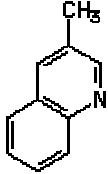
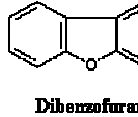
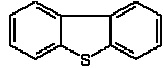
Standaardparameters voor monitoring van organische verbindingen op sites vervuild met creosoot, zijn PAK's, BTEX en fenolen. Echter, teerolie bevat ook 5 tot 13% NSO-verbindingen. Door de hogere polariteit van de NSO-verbindingen vergeleken met de carbocyclische analogen, kunnen NSO-verbindingen tot 40% van de wateroplosbare teeroliefractie uitmaken. De verhoogde polariteit leidt tot lagere retentie van de NSO-verbindingen bij transport in de bodem met als gevolg een verhoogde dominantie van NSO-verbindingen in de pluim, stroomafwaarts van de verontreinigingsbron (Held en Blotevogel, 2008)

### 2.2 Fysicochemische eigenschappen

Analoog aan BTEX en PAK's, daalt de wateroplosbaarheid en vluchtigheid van de NSO-verbindingen en stijgt de octanol/water partiticoëfficiënt (maat voor hydrofobiciteit) met toenemend molecuulgewicht (toenemend aantal ringen of toenemend aantal alkyl-substituenten). Het essentieel verschil tussen NSO-verbindingen en koolwaterstoffen (BTEX en PAK's) is de verhoogde polariteit, die te wijten is aan het heterocyclisch ringatoom (N, S, O). Bijvoorbeeld, de wateroplosbaarheid van quinoline is 6110 mg/L, vergeleken met 31 mg/L voor naftaleen. In tabel 1 zijn de belangrijkste fysicochemische eigenschappen van teerverbindingen opgenomen.

Voorbeelden van fenolen					
					
	<b>Phenol</b>	3-Hydroxytoluene	2-dimethylphenol	trimethylphenol	Pentachlorophenol

Voorbeelden van PAK's en een geoxideerde PAK's				
				
naphthalene	Phenanthrene	Fluorene	2-methylanthracene	anthraquinone

Voorbeelden van heterocyclische (NSO) verbindingen					
					
pyridine	pyrrole	acridine	Carbazole	indole	oxindole
					
sulpholane	thiolane	quinoline	3-Methylquinoline	Dibenzofuran	dibenzothiophene

**Figuur 1: Enkele voorbeelden van creosootcomponenten**

**Tabel 1: Fysische eigenschappen van creosootverbindingen**

(uit: SRC Physprop Database; <http://esc.syrres.com/interkow/physdemo.htm>)

CAS nr.	Verbinding	MG <sup>(1)</sup> (g/mol)	S <sup>(2)</sup> (mg/L) (25°C)	Log Pow <sup>(3)</sup>	Vp <sup>(4)</sup> (mmHg) (25°C)	H <sup>(5)</sup> (atm m <sup>3</sup> /mo l) (25°C)	pK <sub>a</sub> <sup>(6)</sup>  (T°C)	
95-22-5	Quinoline	129,16	6110	2,03	0,06	1,67 10 <sup>-6</sup>	4,9	25
62-53-3	Aniline	93,129	36000	0,9	0,49	2,02 10 <sup>-6</sup>	4,6	25
260-94-6	Acridine	179,22	38,4	3,4	1,35 10 <sup>-4</sup>	3,97 10 <sup>-7</sup>	5,54	15
95-15-8	benzothiofeen	134,2	130	3,12	0,2378	2,86 10 <sup>-4</sup>	-	
271-89-6	Benzofuran	118,14	678	2,67	0,44	1,011 10 <sup>-4</sup>	-	
86-74-8	Carbazool	167,21	1,8	3,72	7,5 10 <sup>-7</sup>	8,65 10 <sup>-8</sup>	-3	
132-64-9	Dibenzofuran	168,2	3,1	4,12	0,00248	2,13 10 <sup>-4</sup>	-	
119-65-3	Iso-quinoline	129,16	4520	2,08	0,06997	6,88 10 <sup>-7</sup>	5,42	20
120-72-9	Indool	117,15	3560	2,14	0,0122	5,282 10 <sup>-7</sup>	-2,4	25
91-63-4	2-methylquino- line	143,19	498,5	2,59	0,00946	7,6 10 <sup>-7</sup>	5,71	22
91-62-3	6-methylquino- line	143,19	631,1	2,57	0,00641	7,6 10 <sup>-7</sup>	5,34	20
96-54-8	N-methylpyrrool	81,118	12060	1,21	21,45	1,94 10 <sup>-4</sup>	-	
109-97-7	Pyrrool	67,091	45000	0,75	8,36	1,8 10 <sup>-5</sup>	17,5	
110-02-1	Thiofeen	84,14	3010	1,81	79,67	9,53 10 <sup>- 12</sup>	-	
11095-43-5	Benzo-thiofeen	134,2	191,6	2,99	0,2392	2,86 10 <sup>-4</sup>	-	
132-65-0	Dibenzothio- feen	184,26	1,47	4,38	2,05 10 <sup>-4</sup>	3,38 10 <sup>-5</sup>	-	
108-95-2	Fenol	94,114	82800	1,46	0,35	3,33 10 <sup>-7</sup>	9,99	25
95-48-7	o-cresol	108,14	25900	1,95	0,299	1,2 10 <sup>-6</sup>	10,3	25
106-44-5	p-cresol	108,14	21500	1,94	0,11	1 10 <sup>-6</sup>	10,3	25
105-67-9	2,4- dimethylfenol	122,17	7870	2,30	0,102	9,51 10 <sup>-7</sup>	10,6	25
71-43-2	Benzeen	78,115	1790	2,13	94,8	5,55 10 <sup>-3</sup>	-	

108-88-3	Tolueen	92,142	526	2,73	28,4	$6,64 \cdot 10^{-3}$	-
100-41-4	Ethylben-zeen	106,17	169	3,15	9,6	$7,88 \cdot 10^{-3}$	-
95-47-6	o-xyleen	106,17	178	3,12	6,61	$5,18 \cdot 10^{-3}$	-
108-38-3	m-xyleen	106,17	161	3,20	8,29	$7,18 \cdot 10^{-3}$	-
106-42-3	p-xyleen	106,17	162	3,15	8,84	$6,9 \cdot 10^{-3}$	-
91-20-3	Naftaleen	128,18	31	3,30	0,085	$4,4 \cdot 10^{-4}$	-
83-32-9	Acenafteen	154,2	3,9	3,92	0,0025	$1,84 \cdot 10^{-4}$	-
86-73-7	Fluoreen	166,22	1,89	4,18	0,00842	$9,62 \cdot 10^{-5}$	-
85-01-8	Fenanthreen	178,24	1,15	4,46	$1,12 \cdot 10^{-4}$	$4,23 \cdot 10^{-5}$	-

- 
- (1) Molair gewicht  
(2) Oplosbaarheid in water  
(3) Pow: octanol-water partiticoëfficiënt (mate van hydrofobiciteit)  
(4) Dampdruk (mate waarin stof vanuit eigen vloeistof verdampt)  
(5) Henry-constante (mate waarin stof vanuit water verdampt)  
(6) Zuur-base dissociatieconstante. Ter vergelijking:  $\text{H}_3\text{O}^+$ : pKa=-1,74 (zuur);  
azijnzuur: 4,76 (zwak zuur);  $\text{NH}_4^+$ : 9,24 (zwakke base)

## 2.3 Identificatie van de belangrijkste NSO-verbindingen in grondwater

Held en Blotevogel (2008) identificeerden de 20 belangrijkste NSO-verbindingen voor relevante monitoring in het milieu op basis van een chemische beoordeling van de component en een evaluatie van het voorkomen van de NSO-verbinding op een verontreinigde site.

Bij de chemische beoordeling werd een gewogen evaluatie gemaakt op basis van fysicochemische eigenschappen (geur, wateroplosbaarheid, Henry coëfficiënt en  $K_{OC}$ ), biologische afbreekbaarheid in relevante redoxzones, humaan-toxicologische parameters (carcinogeniciteit, mutageniciteit en genotoxiciteit) en ecotoxicologische parameters (acute toxiciteit bij vissen, algen en bacteriën). In afwezigheid van experimentele data voor parameters zoals bijvoorbeeld wateroplosbaarheid, werden deze waarden berekend aan de hand van QSAR's (Quantitative Structure Activity Relationships).

Voor de evaluatie van de verontreinigde sites, werd grondwater geanalyseerd van 3 verschillende transecten op 5 sites, verontreinigd met teerolie (houtbehandeling, steenkoolindustrie, 2 gasfabrieken, stortplaats). De verschillende NSO-verbindingen werden gewogen volgens concentratie en voorkomen in de verschillende transecten op de verschillende sites.

De 20 NSO-verbindingen met het hoogste aantal punten volgens de chemische beoordeling en het voorkomen op de sites werden door Held en Blotevogel (2008) gedefinieerd als de 20 belangrijkste NSO-verbindingen voor monitoring. Deze 20 NSO-verbindingen zijn in afnemende mate van belangrijkheid: methylquinolines, benzofuran, methyl-dibenzofurans, fenanthridinone, dimethylbenzofurans, hydroxybifenyl, methylquinolinones, methylbenzothiofenen, methylbenzofurans, dibenzofuran, dimethylquinoline, benzothiofeen, acridinone, methylisoquinolines, xanthenon, isoquinoline, carbazool, quinolinon, quinoline en isoquinolinon.

## 2.4 Biodegradatie

Over de aërobe afbraak van BTEX en PAK is relatief veel informatie beschikbaar; ook de anërobe afbraak van BTEX is relatief goed gedocumenteerd. Een interessante internetbron van gegevens over afbraakmechanismen van vele organische verbindingen is de "The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database" (<http://umbbd.ahc.umn.edu/>). In figuren 2 t.e.m. 4 worden aërobe afbraakmechanismen van respectievelijk carbazool, dibenzofuran en dibenzothiofeen weergegeven.

Studies rond biodegradatie van NSO-verbindingen hebben zich vooral toegespitst op de eerder laag-moleculaire verbindingen (1, 2 en 3 ringen). In het algemeen zijn S-verbindingen minder goed biologisch afbreekbaar, vergeleken met N- of O-verbindingen (Held en Blotevogel, 2008). N- en O-verbindingen kunnen gebruikt worden door verschillende micro-organismen als enige bron van koolstof en energie en voor N-verbindingen ook mogelijk als bron van stikstof. S-verbindingen kunnen mogelijk ook gebruikt worden als S-bron. Bepaalde S-verbindingen zoals thiofeen en benzothiofeen worden enkel cometabolisch afgebroken in aanwezigheid van een geschikt substraat. Bovendien werd vastgesteld dat de biodegradatie van NSO-verbindingen kan gehinderd worden in aanwezigheid van PAK's en omgekeerd.

De eerste stap in aërobe en anaërobe microbiologische afbraak van NSO-verbindingen is vaak oxidatie van de aromatische ring ter hoogte van het heterocyclisch atoom ter vorming van mono- en dihydroxy en mono- en diketoverbindingen. Carboxylatie werd ook vastgesteld onder anaërobe condities. Alkylsubstituties verlagen de biologische afbreekbaarheid, vooral wanneer het heterocyclisch atoom of een nabijgelegen C-atoom wordt geblokkeerd door een alkylgroep (Held en Blotevogel, 2008).

In verontreinigde bodem en grondwater is de beschikbaarheid van de geschikte electronacceptor (zuurstof, nitraat, Mn(IV), Fe(III) en sulfaat) belangrijk voor de afbraaksnelheid. Met zuurstof als electronacceptor werd alle onderzochte NSO-verbindingen afgebroken (Held en Blotevogel, 2008). Echter, grondwater verontreinigd met teer of creosoot vertoont vaak Fe(III)- en/of sulfaatreducerende condities, zodat bepaalde aëroob afbreekbare NSO-verbindingen moeilijker of zelfs helemaal niet worden afgebroken. Zo zijn methyl- en dimethylquinolines afbreekbaar in aërobe condities, maar niet onder anaërobe condities (Held en Blotevogel, 2008).

Onder zowel Fe(III)- als sulfaatreducerende condities werd afbraak van de N-verbindingen quinoline en carbazool vastgesteld. De S-verbinding benzothiofeen breekt biologisch af onder anaërobe conditie. De O-verbindingen benzofuran en dibenzofuran breken aëroob af (Held en Blotevogel, 2008).

Onder anaërobe condities werden enkel de N-verbindingen quinoline en indool afgebroken met een lagfase van 100 tot 300 dagen. De daaropvolgende afbraak is traag in vergelijking met aërobe omstandigheden. De anaërobe afbraak van creosootverbindingen gebeurt het snelst onder sulfaatreducerende omstandigheden (Dyreborg *et al.*, 1997). Nitrificatie wordt geïnhibeed door creosoot-verontreinigd water (Dyreborg en Arvin, 1995).

Ronen *et al.* (1995) bestudeerden de afbraak van pyridine en sommige van zijn gealkyleerde derivaten onder aërobe en anaërobe condities in grondwater, sediment en bodem. Deze stoffen breken vooral af onder aërobe condities en in mindere mate onder anaërobe omstandigheden (in dat geval met nitraat of sulfaat als electronacceptors).

Anaërobe biodegradatie van de N-verbindingen quinoline, indool, 6-methylquinoline en acridine werd aangetoond door Tiehm and Sagner (2008) in batch- en kolomexperimenten in de aanwezigheid van Fe(III). De gemethyleerde benzofurans, benzothiofeen en de meeste NSO-verbindingen met 3 ringen bleken meer persistent onder anaërobe condities. In tegenstelling met anaërobe afbraak, werd biodegradatie van alle 12 NSO-verbindingen vastgesteld onder aërobe condities zodat toevoeging van zuurstof of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de biodegradatie van NSO-verbindingen op het terrein kan stimuleren.

Quinoline, indool en carbazool breken volgens Dyreborg (1996) vlot af met korte lag (3-25 dagen). Benzofuran breekt ook vlot af maar pas na langere lag. Pyrrool, 1-methyl-pyrrool, dibenzothiofeen en dibenzofuran vertonen een lange lag (29-278 dagen) en een trage afbraak. Dyreborg (1996) vat de mogelijkheden voor aërobe afbraak als volgt samen:

- N-verbindingen zijn snel afbreekbaar behalve pyrrool en 1-methylpyrrool (traag)
- O-verbindingen (benzofuran, dibenzofuran) zijn afbreekbaar maar met lange lag fase

- S-verbindingen zijn in het algemeen moeilijk afbreekbaar. Dibenzothiofeen vertoont wel afbraak maar lange lagfase; thiofeen en benzothiofeen zijn enkel cometabolisch afbreekbaar.

Loh et al. (2000) tonen aan dat de potentie voor al dan niet directe of cometabolische afbraak van een bepaalde verbinding ook nog afhangt van het soort afbreker: *Pseudomonas Putida* kan carbazool enkel afbreken in aanwezigheid van een primaire koolstofbron (in dit geval salicylzuur).

Naast de afbraak zelf zijn volgende begrippen van belang: (1) drempel-concentratie: minimum concentratie van een verbinding waarbij nog afbraak kan optreden; verondersteld ca. 1 µg/L voor creosootverbindingen (Dyeberg, 1996); (2) substraat-interacties: stoffen in creosoot kunnen onderling afbraakversterkend of -inhiberend werken. Deze fenomenen zijn zeer specifiek naargelang verbindingen en micro-organismen. Dyeberg (1996) stelt dat hierin geen algemene patronen herkenbaar zijn.

Liu et al. (1994) onderzochten het anaëroob biodegradatiepotentieel van 4 N-heterocyclische verbindingen in zoetwater sedimentslurries onder denitrificerende, sulfaatreducerende en methanogene condities. Pyridine (10 mg/L) werd snel afgebroken, binnen 4 weken onder denitrificerende omstandigheden maar niet (binnen 3 maanden) onder sulfaatreducerende en methanogene condities. Quinoline (10 mg/L) werd volledig afgebroken zonder lag-fase onder methanogene en sulfaatreducerende condities (incubatie resp. 23 en 45 dagen). 2-Hydroxyquinoline werd hierbij geproduceerd. Onder denitrificerende condities werd minder dan 23% omgezet na 83 dagen incubatie. Indool daarentegen werd volledig verwijderd onder de drie anaërobe condities na incubatie van resp. 18, 27, en 17 dagen. Slechts lage concentraties aan oxindole (2-4 mg/L) accumuleerden hierbij onder methanogene en denitrificerende condities; bij sulfaatreductie was oxindole-accumulatie stoichiometrisch met indool-transformatie. Carbazool tenslotte brak niet of onder eender welke anaërobe conditie.

Gieg et al. (1996) bestudeerden een carbazool-afbrekende bacterie, *Pseudomonas sp. LD2*, geïsoleerd door aanrijking uit een met creosoot verontreinigde bodem. De bacterie kan groeien op carbazool als enige koolstof-, stikstof- en energiebron. In stikstof-vrij mineraal medium met <sup>14</sup>C-gelabeld carbazool, werd 43% als <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> teruggevonden na 3 dagen incubatie. De auteurs testten vele andere aromatische en heterocyclische verbindingen maar slechts enkele voldeden als groeisubstraat voor deze bacterie: anthranilezuur en catechol; stoffen die ook intermediairen zijn in de carbazool-afbraak. Daarnaast werden 10 stikstofbevattende metabolieten aangetroffen in aangezuurde extracten van het supernatant van de LD2 cultuur, waarvan er 4 werden geïdentificeerd.

Sutton et al. (1996) bestudeerden het aërobe afbraakgedrag van methylquinolines en gelijkaardige N-heterocyclische aromatische verbindingen. Een stabiel vijftalig bacterieel consortium werd samengesteld (selectieve aanrijking uit een bodem van een verlaten gasfabriek) dat 4-methylquinoline kan afbreken. Een gram-negatieve bodembacterie, stam Lep1, werd geïsoleerd uit het consortium welk 4-methylquinoline bleek te gebruiken als koolstof- en energiebron bij groei in waterig medium. 4-methylquinoline werd compleet afgebroken, hetgeen werd aangetoond door het ontstaan en verdwijnen van 2-hydroxy-4-methylquinoline, gevolgd door het verschijnen en niet verder reageren van een tweede metaboliet, geïdentificeerd als een hydroxy-4-methylcoumarin.



Hosein et al. (1997) bestudeerden de biodegradatie van een mengsel van p-cresol, fenanthreen, fluoreen en carbazool in kolommen met aquiferzand. P-cresol werd in de kolommen het minst vertraagd, gevolgd door resp. carbazool, fluoreen en tenslotte fenanthreen<sup>1</sup>. De afbraak van de stoffen nam sterk toe wanneer p-cresol (10 ppm) aan het substraatmengsel werd toegevoegd; dit ging gepaard met een 100-voudige toename in de cultiveerbare bacteriële populatie, en een toename in de xylE- en ndoB-positieve bacteriële populaties van meer dan 3 ordes van grootte. Deze twee genen spelen een rol in de afbraak van respectievelijk BTEX en PAK. In kolommen zonder toediening van p-cresol was er geen significante wijziging van de totale cultiveerbare bacteriële populatiedichtheid, noch van de xylE-positieve bacteriële populatie. Wel was er een duidelijke toename (2 ordes van grootte) in de ndoB-positieve bacteriële populaties. Dit laatste gen kan volgens de auteurs dus dienst doen als probe voor de detectie van fenanthreen-, carbazool- en fluoreenafbrekers.

Uma en Sandhya (1997) isoleerden een gram-positieve, pyridine-afbrekend micro-organisme (*Bacillus coagulans*) uit verontreinigde grond. Pyridine werd gebruikt als enige koolstof-, stikstof- en energiebron. *Bacillus coagulans* is in staat stikstof in een aromatische ring te reduceren tot ammonium en vervolgens heterotroof naar nitriet en nitraat. Maximaal 94,1% werd afgebroken binnen 72 uur op 30°C met een 7,57 uur verdubbelingstijd.

Broholm et al. (1999) bestudeerden het transport en de biodegradatie van 25 creosootverbindingen in een grote ongestoorde kolom (0,5 m hoog; 0,5 m diameter) van gescheurde klei, afkomstig van een diepte van 2,5 tot 3 m (Funen, Denemarken). Gedurende de eerste 82 dagen werd de kolom gespoeld met nitraathoudend water zonder creosootverbindingen. Tijdens deze periode werd denitrificatie vastgesteld. Na 82 dagen werd een mengsel van 25 organische verbindingen (totale concentratie: ca. 70 mg/L) toegevoegd aan het eluens, samen met bromide (92 mg/l) als tracer. De meeste organische stoffen migreerden even snel als bromide; enkel carbazool, dibenzofuran, fluoreen, dibenzothiofeen en fenanthreen werden significant vertraagd. De concentraties van de stoffen in het eluaat waren vrijwel gelijk aan deze van het influent (geen afbraak), hetgeen werd toegeschreven aan de hoge concentraties. Na 40 dagen werd de influentconcentratie aan stoffen verlaagd met een factor 5, waarna een significante biodegradatie van fenol, ethylbenzeen, toluen, quinoline, indool, p-xyleen en o-cresol werd vastgesteld. O-xyleen, naftaleen, l-methylnaftaleen, fenanthreen, fluoreen, 2-methylquinoline, carbazool, acridine, benzothiofeen, dibenzothiofeen, benzofuran, dibenzofuran, pyrrool, 1-methylpyrrool en benzeen werden in zekere mate afgebroken indien nitraat opnieuw werd toegevoegd (92 dagen na de toevoeging van de organische verbindingen aan het influent). Pyrrool, 1-methylpyrrool en benzeen werden slechts in geringe mate afgebroken; de afbraak van benzeen werd waarschijnlijk geïnhibeerd door pyrrool en/of 1-methylpyrrool.

King en Barker (1999) en King et al. (1999) bestudeerden het horizontaal transport en de afbraak van 7 creosootverbindingen (fenol, m-xyleen, naftaleen, fenanthreen, 1-methylnaftaleen, dibenzofuran en carbazool) door een hoeveelheid met creosoot verontreinigd zand aan te brengen onder grondwaterniveau van een niet-verontreinigde site, en gedurende 4 jaar de pluimvorming van de verschillende stoffen op te volgen. Massabalansberekeningen gaven aan dat transformatie van alle genoemde stoffen optrad. Fenol migreerde als discrete "slug" pluim en was

<sup>1</sup> Dit is in overeenstemming met wat theoretisch zou worden verwacht: de logPow stijgt in deze volgorde, n.l. logPow= (resp) 1,94; 3,72; 4,18; 4,46 (zie tabel 1)

vrijwel volledig verdwenen na 2 jaar, na volledig uit de bronzone te zijn uitgelopen. De m-xyleen-pluim bereikte een maximale grootte na ongeveer 2 jaar om vervolgens terug te krimpen. Carbazool vertoonde een gelijkaardig gedrag, hoewel de pluim trager kromp na de initiële expansie. De dibenzofuranpluim daarentegen vertoonde na 2 jaar pluimexpansie, gedurende de 2 daaropvolgende jaren een stabiele omvang. De naftaleen- en 1-methylnaftaleenpluim bleven toenemen in omvang en massa-inhoud gedurende de gehele observatieperiode, maar met afnemende snelheid. Over de fenanthreenpluim tenslotte kon geen uitspraak worden gedaan door de sterkere sorptieverschijnselen voor deze stof. Het pluimgedrag van genoemde stoffen werd aan microbiële biodegradatie toegeschreven: opgeloste zuurstof en sulfaatgehalten daalden in de pluim terwijl de gehalten aan  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  en methaan significant toenamen. Daarnaast werden aromatische zuren en fosfolipide-vetzuren gevormd in de pluim.

Thomsen et al. (1999) beschrijft sorptie, transport en afbraak van quinoline in een onverzadigde Deense bodem. Volledige mineralisatie werd vastgesteld binnen 7-10 dagen in batch experimenten, en dit onafhankelijk van de bodem pH (pH 5,8 en 7,2). Het retardatiegedrag van quinoline werd bestudeerd in kolomexperimenten: in vergelijking met naftaleen en fenanthreen werden lage retardatiefactoren R waargenomen ( $R < 10$ ), en R bleek pH afhankelijk ( $R = 6,9-9,6$  bij pH 4,6 en  $R = 4,5-6,5$  bij pH 7,0. Bij pH 4,6 was R 2 à 3x lager dan verwacht op basis van de batch experimenten; dit werd aan niet-evenwichtsprocessen toegeschreven. Sorptie was sterker bij beide pH's wanneer de grond op voorhand was geautoclaveerd of wanneer water i.p.v. 0,01 M  $\text{CaCl}_2$  als waterige fase werd gebruikt. Biodegradatie in de bodemkolommen was in overeenstemming met de batch experimenten en was afhankelijk van de verblijftijden (R-waarden). De sterkste afbraak trad op bij lage pH en de langste verblijftijd. Ook bij pH 7, waarbij quinoline mobieler is, is de verwachte quinoline verblijftijd in de bovengrond voldoende om volledig gemineraliseerd te worden (Deense zomeromstandigheden).

Het transport en de afbraak van 12 creosootverbindingen (tolueen, fenol, o-cresol, 2,6-, 3,5-dimethylfenol, naftaleen, l-methylnaftaleen, benzothiofeen, dibenzofuran, indool, acridine en quinoline) is door Broholm et al. (2000) bestudeerd op een site met kleiige bovenlaag (10-15 m diep) en zandige ondergrond. Zij infiltreerden er gedurende 7 dagen water met genoemde organische verbindingen en chloride als tracer, in een basin van 3 x 4,8 m, met een debiet van 8,8 m<sup>3</sup>/dag. De concentratie aan naftaleen t.o.v. chloride was 0,39-0,98 voor staalnamepunten op een diepte van 2,5 m; 0,11-0,61 voor staalnamepunten op 4 m diepte en 0-0,02 in de zandige ondergrond. Gelijkaardige resultaten werden voor de overige verbindingen bekomen. Broholm et al. (2000) leidden hieruit af dat de organische verbindingen "geattenuëerd" werden door biodegradatie tijdens het verticaal transport, ondanks de hoge infiltratiesnelheid.

Broholm en Arvin (2000) bestudeerden de biodegradatie van fenolen in een zandsteen aquifer onder aërobe condities en gemengde nitraat- en ijzerreducerende omstandigheden. Zij stelden een snelle en volledige afbraak vast voor fenol, o- en p-cresol, 2,5- en 3,4-dimethylfenol (geen of zeer korte lag, aërobe condities, concentraties van enkele mg/L). 2,6- en 3,5-dimethylfenol werden echter trager afgebroken en 3,5-dimethylfenol afbraak was pas volledig na ongeveer 1 jaar. De maximale afbraaksnelheid (som fenolen) in duplo aërobe microcosmos opstellingen was 1,06 en 1,76 mg/L per dag. De afbraak van fenolen in nitraat-aangerijkte anaërobe microcosmos was gelijkaardig: snelle en complete afbraak voor fenol, cresolen, 3,4-dimethylfenol en 3,5-dimethylfenol na korte lag-fasen; 2,5-dimethylfenol slechts gedeeltelijk afgebroken na een langere lag en

2,6-dimethylfenol werd niet afgebroken binnen 3 maand. Bij hogere initiële concentratie aan fenolen (60 mg/L), waren lange adaptatieperioden nodig, of werd biodegradatie geheel geïnhibeerd (600 mg/L). De aanwezigheid van andere organische verbindingen (BTEX, PAK, NSO) had slechts een beperkt effect op de afbraak van de fenolen, namelijk iets langere lagfasen voor sommige fenolen.

Werner *et al.* (2008) onderzochten de natuurlijke attenuatie capaciteit van PAK's, NSO-verbindingen en BTEX op een site vervuild met teerolie (houtindustrie) in het kader van inkorting van de lengte van de pluim en vermindering van de toxiciteit van bovenstaande verbindingen. Het grondwater in de bronzone is hoofdzakelijk vervuild met naftaleen en verschillende NSO-verbindingen (1 tot 10 mg/L), terwijl het uiteinde van de pluim vooral vervuild is met 2,3-dihydro-1H-indeeen, acenafteen, benzo[b]thiofeen en 2-methylbenzo[b]furan. Stroomafwaarts van de bronzone werden PAK's met hydroxyl- en ketogroepen vastgesteld, hetgeen wijst op biodegradatie van bepaalde verbindingen in de teerolie.

Microcosmos experimenten met grondwater van de site werden opgezet om de intrinsieke afbraakcapaciteit te bepalen. In het grondwater van de bronzone werd afbraak van naftaleen en quinoline vastgesteld binnen 2 jaar onder sulfaat- en Fe(III)-reducerende condities, terwijl er geen afbraak van benzo[b]thiofeen en benzo[b]furan werd vastgesteld. In de pluim werd een significant snellere (6 maanden) anaërobe afbraakcapaciteit vastgesteld en dit voor naftaleen, quinoline, benzo[b]thiofeen en benzo[b]furan (Werner *et al.*, 2008).

Microcosmos experimenten onder sulfaat- en Fe(III)-reducerende omstandigheden met grondwater van de site en toegevoegde concentraties van quinoline, benzo[b]furan, indeen, isoquinoline, 2,3-dihydro-1H-indeeen, acenafteen, benzo[b]thiofeen en 2-methylbenzo[b]furan werden opgezet om de afbreekbaarheid van deze sleutelcomponenten te evalueren in aan- en afwezigheid van naftaleen als co-substraat. Enkel quinoline werd volledig afgebroken in deze experimenten (Werner *et al.*, 2008).

Kolomexperimenten met aquifer en grondwater van de site werden opgezet om biodegradatie van verschillende componenten van de teerolie te testen. Bepaalde componenten (o.a. naftaleen) braken relatief snel af tot restconcentraties (bv. 5 tot 10 µg/L naftaleen). Andere componenten zoals fluoreen, antraceen, carbazool, dibenzofuran en benzo[b]thiofeen werden gedeeltelijk afgebroken. Verbindingen met een hoger moleculair gewicht (o.a. fluorantheen, pyreen, 3-methylbenzo[b]thiofeen en 2,3-dimethylbenzofuran) werden niet significant afgebroken. Toevoeging van nitraat zorgde voor een significant snellere afbraak van bepaalde componenten in de teerolie, in tegenstelling tot andere supplementen zoals ammonium, fosfaat en bepaalde spoorelementen (Werner *et al.*, 2008).

Finaal werd een kolomexperiment met verse teerolie opgezet om het uitlooggedrag van de teerolie en invloed op biodegradatie op lange termijn te simuleren. Goed oplosbare BTEX en bicyclische azarenen (vb. 2-hydroxyquinoline) waren reeds volledig uitgeloozd na enkele porievolumes. Echter, in de reële situatie kan dit uitlooggedrag enkele tientallen jaren duren, hetgeen blijkt uit de nog steeds aanwezige 2-hydroxyquinoline in de bronzone van de site. Vervolgens gaat de veroudering van de teerolie verder met uitloging van de relatief goed oplosbare PAK's zoals naftaleen en acenafteen. Gelijktijdig met de versnelde uitloging van relatief goed oplosbare componenten zoals naftaleen, gaat biodegradatie de natuurlijke attenuatie van deze goed oplosbare componenten in de teerolie nog versnellen. Hierdoor gaan de moeilijk oplosbare en/of moeilijk afbreekbare componenten achterblijven in de teerolie. Dit noemt men veroudering van de teerolie (Werner *et al.*, 2008).

De studie van Werner *et al.* (2008) toont aan dat natuurlijke attenuatie van teerolie een mogelijk alternatief is voor een actieve saneringsvariant (vb. afgraving). Echter, dit kan leiden tot langdurige vervuiling van het grondwater op de site.

### **Substraat-interacties**

Dyrborg (1996), Dyrborg *et al.* (1996a,b,c) en Dyrborg *et al.* (1998) bestudeerden de invloed van 14 creosootverbindingen op de afbraak van benzeen en toluen. Enkel de NSO-verbindingen hadden een duidelijke invloed; ze inhibeerden de afbraak van beide stoffen. Vooral thiofeen werkte inhiberend bij de benzeenafbraak; benzofuran was de belangrijkste inhibitor bij toluenaafbraak. Inhibitie kan zich uiten op volgende wijzen:

- Langere lagfase;
- Tragere afbraak;
- Residuele concentratie: de biodegradatie van beide verbindingen stopt bij een benzeen/thiofeen verhouding van 10 tot 20. Indien benzeen opnieuw wordt toegevoegd, start de afbraak wederom, om terug stil te vallen wanneer de genoemde verhouding weer wordt bereikt.

Millette *et al.* (1995) bestudeerden de interacties tussen 7 creosoot verbindingen (fenanthreen, fluoreen, p-cresol, pentachlorofenol, carbazool, dibenzothiofeen en dibenzofuran) tijdens aërobe biodegradatie in grondwater. Fenanthreen, p-cresol en carbazool waren de responsvariabelen; de andere stoffen werden als factors bekeken. Hoe hydrofober en recalcitranter de stoffen, hoe meer substraatinteractie werd waargenomen: mineralisatie van p-cresol werd niet beïnvloed door substraatinteractie. P-cresol inhibeerde echter de mineralisatie van fenanthreen, terwijl de andere stoffen dit niet deden. De mineralisatie van carbazool werd sterk beïnvloed door de aanwezigheid van de andere stoffen; p-cresol was de sterkste inhibitor. Fenanthreen inhibeerde de biodegradatie van carbazool in mindere mate terwijl fluoreen de mineralisatie van carbazool juist versnelde. Pentachlorofenol en dibenzofuran veroorzaakten een toename in de lagfase maar beïnvloedden de mineralisatie vervolgens niet.

Dyrborg (1996) geeft volgende mogelijke verklaringen voor het bestaan van verschillen in de afbraak van een mengsel van 2 creosootcomponenten t.o.v. de afbraak van elk van beide verbindingen individueel:

- Indien geen van beide componenten wordt afgebroken is dit omdat: (1) één component toxisch werkt voor het micro-organisme dat de andere component afbreekt, of (2) beide componenten niet afbreekbaar zijn door het organisme in kwestie;
- Indien slechts één van beide wordt afgebroken is dit omdat enkel die stof afbreekbaar is en de andere niet (ook niet co-metabolisch)
- Indien beide afbreken kan er een effect zijn t.o.v. de afbraak van elk van beide stoffen individueel (toename in lag, wijziging afbraaksnelheid of een verhoogde residuele concentratie): (1) één van de stoffen wordt trager afgebroken omdat de andere als koolstofbron wordt geprefereerd (niet competitieve inhibitie); (2) competitie tussen micro-organismen (competitieve inhibitie); (3) één van beide stoffen kan ook sneller worden afgebroken (verhoogde afbraak) als gevolg van de aanwezigheid van de andere stof (positieve interactie).

Kim *et al.* (1999) bestudeerden de anaërobe biodegradeerbaarheid van sulfolaan en thiolaan in bodem en anaëroob gedigesteerd slib. Thiolaan werd nauwelijks afgebroken in de bodem, noch in het slib. Sulfolaan daarentegen werd snel afgebroken in zowel bodem als slib. De auteurs besluiten dat de vorming van

thiolaan als één van de intermediären in de reductie van sulfolaan de sanering van bodems verontreinigd met sulfolaan en thiolaan kan vertragen.

## 2.5 Toxiciteit

Teer is geklassificeerd door het Internationaal Agentschap voor Kankeronderzoek (IARC, International Agency for Research on Cancer) als een groep 1 carcinogeen (carcinogeen voor mensen) en teerolie als een groep 2a carcinogeen (waarschijnlijk carcinogeen voor mensen) (Held en Blotevogel, 2008). Naast benzeen en benzo[a]pyreen zijn bepaalde NSO-verbindingen (indool, quinoline, 3-methylquinoline en benzofuran) (pro-)carcinogeen. De carcinogene impact wordt vaak geïnduceerd door metabolisatie, i.e. na een initiële oxidatie door bijvoorbeeld P450 monooxygenase. Bovendien is teerolie (vooral de N-verbindingen) mutageen en genotoxisch. Naar analogie met de PAK's, zijn het voornamelijk de NSO-verbindingen met een hoog moleculair gewicht (minstens 4 ringen) die het sterkst carcinogeen, mutageen en genotoxisch zijn (Held en Blotevogel, 2008).

In het algemeen stijgt de ecotoxiciteit van NSO-verbindingen met stijgende hydrofobiciteit ( $\log K_{OW}$ ), met stijgend moleculair gewicht en/of met een stijgende graad van alkyl-substitutie. In studies met algen en watervlooien vertonen PAK's een hogere ecotoxiciteit, vergeleken met de meer polaire N-verbindingen (Held en Blotevogel, 2008).

Tiehm en Sagner (2008) onderzochten de ecotoxiciteit van 12 NSO-verbindingen. De  $EC_{50}$  waarden volgens de bioluminescentietest met *Vibrio fischeri* varieerden van 10,94 mg/L voor acridine tot 0,02 mg/L voor dibenzothiofeen. In het algemeen vertoonden de S-verbindingen een hogere toxiciteit dan de NO-verbindingen en hun PAK-analogen. Toxiciteit steeg ook met een stijgend aantal ringen en toenemende methylatie. ***Als gevolg van de significante toxiciteit en de geringe afbreekbaarheid in anaëroob grondwater is het volgens de bovenstaande auteurs aanbevolen om NSO-verbindingen op te nemen in standaard protocollen voor risico-beoordeling.***

## 2.6 Analytische aspecten

Meyer *et al.* (1999) beschrijven een methode om PAK's en NSO-verbindingen en hun metabolieten gelijktijdig te bepalen in verontreinigde grond. De uit de bodem geëxtraheerde stoffen worden hiertoe gescheiden volgens polariteit en zuur-base karakteristieken m.b.v. SPE (solid phase extraction) op silicagel en een sterk basisch anionuitwisselingsmateriaal. Een substaal met PAK's en neutrale metabolieten wordt vervolgens opgesplitst in neutrale en basische stoffen met een sterk zuur kationuitwisselingsmateriaal. Identificatie en kwantificatie gebeurt met verschillende GC en HPLC methoden. De methode werd gevalideerd voor 21 PAK's, 22 hetero-PAK's en 19 metabolieten in een matrix calibratie in vijf niveaus. Niet-gecontamineerde bodem (AhA1-laag/compost mengsel) werd hiertoe gespiked met de gekozen standaardstoffen. De methode bleek lineair en precies voor zowel de hoofd- als nevenbestanddelen en dit over een groot bereik van concentraties. De detectielimiet was eveneens goed. VITO heeft in opdracht van OVAM ook een methode op punt gesteld op basis van GC-MS-analyse (Bertels *et al.* (2005).

### 3 Voorkomen van NSO-verbindingen in grondwater in Vlaanderen

VITO heeft een beperkt onderzoek uitgevoerd op Vlaamse locaties die verontreinigd zijn met koolteer op voormalige gasfabrieksterreinen. Hierbij wilden we nagaan of NSO-verbindingen worden aangetroffen en in welke concentraties deze aanwezig zijn. Er is geen uitgebreid afperkend onderzoek uitgevoerd. Voor elke onderzochte locatie hebben we steekproefsgewijze een beperkt aantal peilbuizen geselecteerd uit zones waar verontreiniging is aangetroffen met andere koolteerverontreinigingen zoals BTEX en PAK.

We hebben grondwaterstalen verzameld uit reeds bestaande peilbuizen op de volgende locaties:

- Gasfabriek van Gent (Gasmeterlaan)
- Gasfabriek van Diest.

Verder hebben we nog een grondwaterstaal onderzocht dat in het kader van een ander project is genomen op het terrein van de voormalige gasfabriek van Mechelen (PB102).

De resultaten van de chemische analyses van deze stalen zijn samengevat in tabellen 2 en 3.

Voor de locaties Diest en Mechelen hebben we relatief hoge gehalten vastgesteld van NSO-verbindingen én aromaten. De gehalten waren wel aanzienlijk lager dan deze van de mono-aromaten en naftaleen. Voor de gasfabriek van Diest werd er een groot aantal NSO-verbindingen aangetroffen in twee grondwaterstalen uit de kernzone (PB204 en PB410, teerzone). In grondwaterstalen uit de pluimzone was het aantal gedetecteerde NSO-verbindingen geringer. De volgende NSO werden in de meeste van de bemonsterde peilbuizen terug gevonden, wat wijst op een relatief grotere mobiliteit en geringere afbreekbaarheid : benzofuraan, dibenzofuraan, benzothiofeen en dibenzothiofeen.

Thiofeen is maar in een beperkt aantal stalen geanalyseerd, maar daar waar dit is gebeurd werd het meestal teruggevonden.

In de grondwaterstalen van de gasfabriek van Gent werden ook NSO-verbindingen gevonden, maar in lagere gehalten dan bij de locaties Diest en Mechelen

**Tabel 2: Concentraties van verontreinigingen in grondwater van de gasfabriek van Diest**

Datum bemonstering	06/12/2002						14/02/2003				
	Peilbuisnummers		PB204	PB109	PB410	PB111	PB210	PB213	PB209	PB110	PB114
	Filterdiepte (m-mv)		3-5	3,2-5,2	5-6	3,2-5,2	3-5	3-5			
<b>Aromaten µg/l</b>	n.g.										
benzeen	21200	9100	18200			310	3250	425	490	30	
tolueen	4200	1400	2200			5	25	-	7	-	
ethylbenzeen	240	120	230			-	50	-	10	5	
m+p-xyleen	1900	920	1570			6	90	-	10	-	
o-xyleen	680	410	580			5	150	125	30	20	
styreen	550	150	590			-	35	-	5	-	
isopropylbenzeen	10	-	9			-	6	13	-	6	
1,3,5-trimethylbenzeen	120	60	100			-	20	-	-	-	
1,2,4-trimethylbenzeen	220	150	180			-	50	-	-	8	
naftaleen	15700	5050	12900			100	2200	1200	20	1500	
<b>Anionen</b>											
Totaal cyanide	456	600	472	20400	456	924	438	582	965		
	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	8,8	4,2	6,6		
Thiocyanaat	2480	1260	158	<5	2,5	6	5,3	12	<2,5		
<b>Hetrocyclische verbindingen (µg/l)</b>											
thiofeen								0,19	0,11	-	
aniline	370	83	75	n.g.	-	0,053	-	-	-	-	
benzofuraan	-	200	-	0,031	3,7	0,22	19	26	9,2	-	
benzothiofeen	79	53	31	0,059	0,85	5,6	0,63	2,5	35	-	
quinoline	120	-	5,9	-	-	-	-	-	-	-	
iosquinoline	58	-	1,7	-	-	-	-	-	-	-	
indol	120	-	40	-	-	-	-	-	-	-	
2-methylquinoline	80	-	21	-	-	-	-	-	-	-	
8-methylquinoline	0,79	-	3,4	-	-	-	-	-	-	-	
6-methylquinoline	8,1	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	
4-methylquinoline	4,5	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	
dibenzofuraan	64	2,8	9,8	0,006	2,1	6,4	-	-	3,5	-	
dibenzothiofeen	21	0,056	1,3	-	0,16	0,39	-	-	0,47	-	
acridine	4,3	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-	
carbazole	62	4,8	32	0,021	2,1	16	-	-	-	-	
<b>polyaromaten</b>	n.g.			n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.	
naftaleen		2200	1100								
Acenaflyleen		35	55								
Acenafteen		11	13								
Fluoreen		1,9	20								
Fenanthreen		1	30								
Anthraceen		0,041	4,4								
Fluorantheen		0,08	16								
pyreen		0,056	11								
Benzo (a) anthraceen		0,017	3,9								
Chryseen		0,011	2,4								
Benzo (b) fluorantheen		0,037	4,1								
Benzo(k) fluorantheen		<0,01	1,2								
Benzo(a) pyreen		0,031	3,5								
Indeno (1,2,3-c,d) pyreen		<0,02	1,8								
Dibenz(a,h)anthraceen		<0,01	0,55								
Benzo(g,h,i) peryleen		0,014	2,1								

Legende: n.g. : niet gemeten  
< kleiner dan

**Tabel 3: Concentraties van verontreinigingen in grondwater van de voormalige gasfabrieken van Gent en Mechelen**

Peilbuisnummers	Gent				Mechelen
	PB 68	PB 2215	PB 111	PB2201	PB102
<b>Aromaten in µg/l</b>					
benzeen	390	45	7	-	740
tolueen	-	15	-	-	6
ethylbenzeen	10	-	-	-	130
naftaleen	170	440	35	890	1800
<b>polyaromaten (µg/L)</b>		n.g.	n.g.		n.g.
naftaleen	29			460	
Acenaftyleen	11			55	
Acenafteen	49			20	
Fluoreen	55			6,2	
Fenantheen	100			18	
Anthraceen	32			3,9	
Fluorantheen	66			11	
pyreen	47			8,9	
Benzo (a) anthraceen	17			0,57	
Chryseen	13			0,57	
Benzo (b) fluorantheen	16			0,48	
Benzo(k) fluorantheen	5,1			0,16	
Benzo(a) pyreen	16			0,44	
Indeno (1,2,3-c,d) pyreen	8,1			0,28	
Dibenz(a,h)anthraceen	1,8			0,034	
Benzo(g,h,i) peryleen	9,4			0,37	
<b>Anionen (µg/L)</b>					
Totaal cyanide	465	77	120	347	
Thiocyanaat	<2.5	5,5	<2.5	4	
<b>Hetrocyclische verbindingen (µg/L)</b>					
thiofeen					23
aniline	0,03	-	-	-	2,1
benzofuraan	0,64	1,5	0,24	0,21	8,1
benzothiofeen	3,4	2,9	0,3	1,9	38
2-methylquinoline	-	-	0,015	-	< 1
8-methylquinoline	-	-	0,01	-	14
4-methylquinoline	-	-	0,009	-	< 1
dibenzofuraan	20	0,46	8,4	1,8	33
dibenzothiofeen	4,4	0,059	0,6	0,8	< 1
acridine	0,053	-	0,014	-	< 1
carbazole	9,4	14	0,53	2,3	63

Legende: n.g. : niet gemeten  
< kleiner dan

De bemonstering is gebeurd op 6/12/2002



## 4 Batchtesten voor aërobe biologische afbraak

### 4.1 Doelstelling

We hebben aërobe afbraaktesten uitgevoerd met reële veldstalen om na te gaan in welke mate de verontreinigingen die worden aangetroffen in grondwater van gasfabriekterreinen onderhevig zijn aan microbiële afbraak. Deze afbraak kan bijvoorbeeld gestimuleerd worden in een reactieve zone/wand door infiltratie van zuurstof. Naar verwachting is deze techniek toepasbaar voor BTEX, naftaleen, minerale olie, de “mobielere” PAK's, thiocynaat en voor een deel van de fenolen en de heterocyclische verbindingen. Het is echter niet duidelijk in welke mate deze stoffen biologisch afbreekbaar zijn onder de sitespecifieke omstandigheden. Het is immers mogelijk dat sommige stoffen in het grondwater van gasfabrieksterreinen de biologische afbraak van andere stoffen inhiberen. Vooral voor heterocyclische verbindingen en thiocynaat is er weinig ervaring over de biologische afbreekbaarheid op deze locaties.

### 4.2 Testopzet

We hebben in eerste instantie afbraaktesten uitgevoerd met aquifermaterialen afkomstig van de gasfabrieken van Diest en van Gent. Het grondwater van de gasfabriek van Diest dat is gebruikt was een mengstaal van grondwaterstalen van peilbuizen 204 en 410. Het grondstaal was een mengstaal van twee boringen B1 en B2 en het die zijn uitgevoerd ter hoogte van peilbuizen 204 en 410. Het grondwater van de gasfabriek van Gent dat is gebruikt in de batchtest was genomen uit peilbuis 68. Het grondstaal was afkomstig van boring B2331 (genomen bij plaatsing van een peilbuis).

De batchtesten zijn opgezet met grond en bijhorend grondwater (in verhouding 1/10 m/m) van bovenstaande locaties. Voor elke test werd er ook een steriele controle opgezet (met natriumazide) om eventuele verliezen van verontreinigingen door niet biologische processen, door sorptie aan testmaterialen of door manipulaties in het laboratorium te kunnen inschatten. Voor de test met aquifermateriaal van de gasfabriek van Gent hebben we een extra testconditie voorzien, waarbij naast zuurstof ook nutriënten (stikstof en fosfor) zijn toegevoegd. Elke testconditie werd uitgevoerd in tweevoud bij kamertemperatuur (ca. 20°C). Elke twee weken hebben we stalen genomen van de luchtfase in de recipiënten om de respiratie door de bacteriën te meten (analyse van zuurstof en kooldioxide met GC-TCD). Indien nodig werd er extra zuurstof toegediend om aërobe condities te handhaven. De looptijd van de biodegradatietest bedroeg 10 weken, met uitzondering voor BTEX waarvoor de analyses zijn uitgevoerd na 4 weken incubatie.

Het behandelde grondwater is geanalyseerd in het analytisch labo van VITO.

### 4.3 Testresultaten voor de locatie gasfabriek van Diest

De analyseresultaten van grondwaterstalen die zijn genomen van de verschillende testcondities zijn samengevat in tabel 4.

Voor deze site werden de volgende verontreinigingen biologisch afgebroken:

- fenol, chresolen, dimethylfenolen en ethylfenolen
- aromaten (BTEX)
- naftaleen
- thiocynaat
- NSO-verbindingen (aniline, quinoline, 2-methylquinoline, 8-methylquinoline).

**Tabel 4: Resultaten van een batchtest voor aërobe biologische afbraak – site Diest**

Testcondities	ControleB1	ControleB2	Bio1	Bio2
<b>Verontreinigingen</b>				
<b>Fenolen # (µg/L)</b>				
Fenol	30000	27000	7,3	2,6
o-chresol	13000	12000	2,7	<m.b.
m-chresol	7400	6800	1,7	<m.b.
p-chresol	280	482	<m.b.	<m.b.
2,6-dimethyl-fenol	870	970	<m.b.	<m.b.
o-ethylfenol	360	320	<m.b.	<m.b.
2,5-dimethyl-fenol	4300	3900	1,1	<m.b.
2,4-dimethyl-fenol	760	800	<m.b.	<m.b.
m-ethyl-fenol	880	770	<m.b.	<m.b.
p-Et+(3,5+2,3)DiMe-fenol	6100	5500	1,7	<m.b.
3,4-dimethyl-fenol	480	430	<m.b.	<m.b.
<b>Heterocyclische NSO # (µg/L)</b>				
aniline	63	80	<0,1	<0,1
benzothiofeen	1,9	<0,1	0,42	<0,1
quinoline	1,5	2,2	<0,1	<0,1
2-methylquinoline	1,1	1,6	<0,1	<0,1
8-methylquinoline	3	2,9	<0,1	<0,1
dibenzofuraan	0,6	<0,1	<0,1	<0,1
dibenzofthiofeen	1,6	<0,1	<0,1	<0,1
<b>Aromaten * (µg/L)</b>				
benzene	6100	6000	<m.b.	<m.b.
toluene	940	870	<m.b.	<m.b.
ethylbenzene	55	50	<m.b.	<m.b.
m+p-xyleen	440	370	<m.b.	<m.b.
o-xyleen	250	220	<m.b.	<m.b.
naphtalene	5000	290	35	10
styreen	210	130	<m.b.	<m.b.
1,3,5-trimethylbenzeen	15	13	<m.b.	<m.b.
1,2,4-trimethylbenzeen	35	30	<m.b.	<m.b.
<b>Anionen # (µg/L)</b>				
totaal cyanide	2910	3760	3270	2990
vrije cyaniden	242	272	279	200
thiocynaat	1600	1740	129	155

Legende :

< m.b. : kleiner dan meetbereik

\* : analyse na 4 weken incubatie

# : analyse na 10 weken incubatie

De NSO-verbindingen benzothiofeen, dibenzothiofeen en dibenzofuraan waren slechts aanwezig in zeer geringe concentraties en er zijn indicaties dat deze zijn afgebroken, maar de resultaten zijn onduidelijk in de duplostalen. Voor benzothiofeen werd slechts gedeeltelijke afbraak vastgesteld.

De gehalten totaal cyanide en vrij cyanide bleven ongewijzigd. Voor vrij cyanide wordt algemeen aangenomen dat dit biologisch afbreekbaar is onder aërobe condities, wat hier dus niet kon bevestigd worden. Het is mogelijk dat de "vrije cyaniden" in dit geval bestonden uit moeilijk biologisch afbreekbare metaalgebonden cyanide andere dan ijzercyaniden.

## 4.4 Testresultaten voor de locatie gasfabriek van Gent

De stalen die we hebben gebruikt voor deze afbraaktest bleken geringe concentraties verontreinigingen te bevatten. Er is daarom slechts een beperkte set van stoffen geanalyseerd. Er waren ook chloorethanen aanwezig in het grondwater. Deze zijn afkomstig van een andere bedrijfsactiviteit op een aanpalend perceel.

De analyseresultaten van grondwaterstalen die zijn genomen van de verschillende testcondities zijn samengevat in tabel 5.

**Tabel 5: Resultaten van een batchtest voor aërobe biologische afbraak – site Gent**

Testcondities	Controle G1	Controle G2	BIO G1	Bio G2	Bio+NP G1	Bio+NP G2
<b>Verontreinigingen</b>						
<b>BTEXN * (µg/L)</b>						
benzeen	150	140	< 5	< 5	< 5	< 5
tolueen	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
ethylbenzeen	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
xylenen	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5	< 5
naftaleen	40	40	< 5	< 5	10	< 5
<b>Heterocyclisch NSO # (µg/L)</b>						
dibenzothiofeen	0,71	0,71	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
carbazole	17	17	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
<b>Cyaniden # (µg/L)</b>						
totaal cyanide	566	650	569	509	552	484
vrije cyaniden	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5
thiocyanaat	148	146	35	34	<25	<25
<b>VOCL * (µg/L)</b>						
1,1-dichloroethaan	15	15	25	25	10	15
1,1,1-trichloroethaan	10	10	30	30	10	20

Legende

< : kleiner dan

\* : analyse na 4 weken incubatie

# : analyse na 10 weken incubatie

Voor deze site werden de volgende groepen van verontreinigingen biologisch afgebroken:

- aromaten (BTEX)
- naftaleen
- thiocyanaat, mits toediening van nutriënten
- NSO-verbindingen (carbazole, dibenzothiofeen in lage concentraties).

Bij thiocynaat werd volledige afbraak vastgesteld mits toevoeging van nutriënten, terwijl een gedeeltelijke afbraak is bekomen wanneer het grondwater enkel van zuurstof is voorzien.

De gehalten totaal cyanide bleven ongewijzigd, wat de resultaten van de locatie te Diest bevestigt dat complexe ijzercyaniden niet biologisch afbreekbaar zijn in de gehanteerde termijn. De chloorethanen die in het grondwater zijn aangetroffen werden niet afgebroken in deze test (resultaten niet getoond). Het is bekend dat deze stoffen niet biologisch afbreekbaar zijn onder aërobe condities.

## 4.5 Extra biologische afbraaktest met bodemmateriaal van een cokesfabriek

Omdat de bodemmateriaal van de gasfabriek van Gent weinig NSO-verbindingen bleken te bevatten hebben we nog een extra aërobe biologische afbraaktest uitgevoerd met grond van een cokesfabriek (VITO staalcode 108A). De test is opgezet op gelijkaardige wijze als voor de twee bovenstaande testen, maar ditmaal is de grond gesuspendeerd in drinkwater in plaats van in grondwater (overeenkomstig grondwater was niet beschikbaar).

De looptijd van de test bedroeg 34 weken en er zijn analyses uitgevoerd voor NSO-verbindingen en naftaleen na 12 en 34 weken. De analyseresultaten van waterstalen die zijn genomen van de verschillende testcondities zijn samengevat in tabel 6.

**Tabel 6: Resultaten van een batchtest voor aërobe biologische afbraak – cokesfabriek**

Staalcode	108-A-B	108-A-B	108-A-NP	108-A-NP
incubatietijd (weken)	12	34	12	34
	controle		levende conditie +NP	
<b>Verontreinigingen</b>				
<b>Aromaten (µg/L)</b>				
naftaleen	-	7600	-	1300
<b>Heterocyclische NSO (µg/L)</b>				
thiofeen	32	34	44	16
pyrrol	< 1	< 1	< 1	< 1
benzofuraan	3	60	< 1	1
aniline	< 1	< 1	< 1	1
benzothiofeen	340	1218	9	44
quinoline	1300	1100	< 1	< 1
iosquinoline	1500	1200	1	2
indol	240	200	3	2
2-methylquinoline	110	180	< 1	< 1
8-methylquinoline	6	17	< 1	< 1
6-methylquinoline	56	130	1	< 1
4-methylquinoline	46	82	1	1
dibenzofuraan	150	160	1	< 1
dibenzothiofeen	150	99	3	1
acridine	710	700	6	6
carbazole	1100	1100	8	3

Omwille van de relatief grote gehalten koolteer in het grondstaal hebben we ditmaal hoge concentraties teruggevonden van naftaleen en verschillende NSO-verbindingen in het evenwichtwater van de steriele controles.

Ook voor deze test is er een relatief goede afbraak vastgesteld van een groot aantal NSO-verbindingen. Quinoline, isoquinoline, carbazol en acridine waren in zeer hoge concentraties aanwezig in het water van de steriele controles en als gevolg van biodegradatie zijn ze zo goed als verdwenen in de levende testcondities.

Thiofeen is aangetroffen in relatief geringe concentratie in de controles. Het werd niet significant afgebroken, wat een bevestiging is van resultaten van het in deze studie uitgevoerde terreinonderzoek waarbij deze stof veelvuldig wordt aangetroffen in grondwaterstalen uit de pluimzone.

# 5 Batchtesten voor fysico-chemische in situ behandeling

## 5.1 Doelstelling

Van complexe ijzercyaniden is bekend dat deze onder normale milieuomstandigheden niet of zeer moeilijk biologisch afbreekbaar zijn. Voor deze stoffen zullen we de haalbaarheid onderzoeken om ze in situ te verwijderen door fysico-chemische processen zoals reductie, sorptie of neerslagvorming of een combinatie daarvan. Voor cyaniden is het misschien mogelijk dat men deze kan verwijderen in een reactief scherm op basis van nulwaardig ijzer. In de vakliteratuur is er melding van vastlegging van cyanide in de bodem door mangaanoxide. We hebben deze twee processen verder onderzocht.

## 5.2 Testopzet

We voeren testen uit in het laboratorium met grondwaterstalen die afkomstig zijn van verschillende locaties, i.e. de gasfabrieken van Gent, Diest en Mechelen. Omwille van de uiteenlopende samenstelling van deze stalen, waarbij afzonderlijke stofgroepen in verschillende mate aanwezig zijn, hebben we een mengstaal aangemaakt op basis van telkens één grondwaterstaal van deze drie locaties (Diest PB204, Mechelen B102, Gent PB68).

We hebben in een batchtest de volgende drie testcondities opgezet, elk in drievoud:

- Grondwater (steriel) als controle zonder reagentia
- Granulair nulwaardig ijzer (10 % m/m) in grondwater
- Granulair mangaandioxide (10% m/m) in grondwater.

Het aanmaken van het mengstaal grondwater en het afvullen van de flesjes met reagentia van de batchtest gebeurden in de anaërobe kast (om oxygenatie van opgelost ijzer(II) in grondwater te vermijden, wat kan leiden tot oxidatie tot ijzer(III) waaraan cyanide kan binden). Indien er neerslag aanwezig was in het onbehandelde grondwater dan werd dit eerst verwijderd door filtratie bij het aanmaken van het mengstaal. De glazen testflesjes zijn geïncubeerd op een schudtafel in duistere omstandigheden gedurende een periode van twee weken.

We hebben ook onderzocht wat er gebeurt met NSO-verbindingen als gevolg van deze behandelingen.

Op het einde van test zijn de grondwaterstalen die genomen zijn voor chemische analyse gefiltreerd voor verwijdering van reagentia en gevormde neerslagen. Het behandelde grondwater is geanalyseerd voor cyanide totaal, cyanide vrij, thiocynaat en heterocyclische verbindingen in het analytisch labo van VITO.

## 5.3 Testresultaten

De analyseresultaten van de grondwaterstalen die zijn bekomen na afloop van de batchtesten voor fysico-chemische verwijdering van verontreinigingen zijn samengevat in tabellen 7 (cyaniden) en 8 (NSO-verbindingen).

**Tabel 7: Testresultaten voor fysico-chemische behandeling - cyaniden**

Restgehalten (µg/L)	Controle			MnO2 (10%)			Ijzer(0) (10%)		
	a	b	c	a	b	c	a	b	c
<b>totaal cyanide</b>	158	158	158	171	169	170	114	118	91
<b>vrij cyanide</b>	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	<12,5	26.3	31.1	<12,5
<b>thiocyanaat</b>	598	610	602	507	521	509	289	289	270

**Tabel 8: Testresultaten voor fysico-chemische behandeling – NSO-verbindingen**

Restgehalten (µg/L)	controle		MnO2 (10%)		Ijzer(0) (10%)	
	a	b	a	b	a	b
Thiofeen	0,4	<0.1	1,2	0,24	0,47	0,27
Aniline	25	28	0,24	0,11	14	18
Benzofuraan	170	160	110	76	110	100
Benzothiofeen	48	47	12	4	16	16
Quinoline	<0.1	<0.1	<0.1	4,3	<0.1	<0.1
8-methylquinoline	1,2	1,2	0,91	<0,1	<0,1	<0,1
6-methylquinoline	<0.1	<0.1	<0.1	0,82	<0.1	<0.1
Dibenzofuraan	19	18	8,3	8,7	<0,1	<0,1
Dibenzothiofeen	3,4	3,3	0,79	0,83	<0,1	<0,1
Carbazool	<0.1	<0.1	38	43	<0.1	<0.1
<b>Totaal NSO (µg/L)</b>	267	258	171	138	140	134
relatief tov controle (in %)	nvt		65%	53%	54%	51%
			59%		52%	

Legende

< : kleiner dan

Met granulair nulwaardig ijzer is er een beperkte afname vastgesteld van totaal cyanide (ongeveer een derde afgenomen) en van thiocyanaat (ongeveer de helft afgenomen). Echter, het gehalte vrij cyanide is toegenomen als gevolg van de behandeling.

Over het algemeen had nulwaardig ijzer een gunstig effect op de restgehalten van NSO-verbindingen. Er werd een verregaande verwijdering vastgesteld van de gehalten 8-methylquinoline, dibenzofuraan en dibenzothiofeen. Aniline, benzofuraan en benzothiofeen werden in beperkte mate verwijderd uit het grondwater. Het gehalte thiofeen bleef ongewijzigd.

Met mangaandioxide werd geen significant effect vastgesteld op de restgehalten van totaal cyanide (ongewijzigd) en thiocyanaat (slechts lichte afname).

Voor wat betreft de NSO-verbindingen is er met mangaandioxide een verregaande verwijdering vastgesteld van aniline en een redelijk goede verwijdering van benzothiofeen. Verder is er met dit reagens ook een redelijke verwijdering vastgesteld van benzofuraan, dibenzofuraan en dibenzothiofeen. Echter, er is ook een toename vastgesteld van de restgehalten quinoline, 6-methylquinoline en vooral carbazool.

## 6 Besluit

Op basis van de beperkte literatuurstudie die we hebben uitgevoerd over heterocyclische NSO-verbindingen blijkt :

- dat deze stoffen worden aangetroffen in grondwater van terreinen die zijn verontreinigd door gasfabrieken,
- dat ze in uiteenlopende mate biologisch afbreekbaar zijn onder aërobe condities,
- dat de biologische afbraak locatiespecifiek zal zijn, ondermeer omwille van mogelijk nadelige effecten van de aanwezigheid van bepaalde NSO-verbindingen op de biologische afbraak van andere aanwezige stoffen (zowel NSO als andere verontreinigingen).
- dat ze een significant humaan en verspreidingsrisico kunnen vertegenwoordigen.

Als gevolg van de significante toxiciteit en de geringe afbreekbaarheid in anaëroob grondwater is het aanbevolen om NSO-verbindingen op te nemen in standaard protocollen voor bodemonderzoek en risicobeoordeling voor terreinen van gasfabrieken en cokesfabrieken.

Laboratoriumtesten met bodemmaterialen van drie gasfabrieksterreinen en één cokesfabriek hebben aangetoond dat aërobe biologische afbraak mogelijk is voor een groot deel van de NSO-verbindingen die we hebben aangetroffen. De mate van afbraak (afbraaksnelheid) was stofspecifiek. Thiofeen bleek nauwelijks biologisch afbreekbaar te zijn. Het kan beschouwd worden als een intrinsieke tracer om pluimen van gasfabrieksterreinen in kaart te brengen en om natuurlijke afbraak te onderzoeken.

Thiocyanaat bleek redelijk goed te worden afgebroken (met gunstig effect van nutriëntentoevoeding). We hebben in onze testen ook een belangrijke aërobe microbiële afbraak vastgesteld van BTEX, fenol, chresolen, methylfenolen en ethylfenol.

In de twee testen voor aërobe biologische afbraak waar de afbraak van totaal en vrij cyanide is onderzocht bleek dat complexe cyaniden niet onderhevig waren aan biologische afbraak. Voor de locatie waar een significant gehalte vrij cyanide is aangetroffen in het grondwater is gebleken dat dit in dit geval ook niet biologisch werden afgebroken, terwijl thiocyanaat (alsook BTEX) wel werd afgebroken.

Met een batchtest voor vastlegging van cyaniden met fysico-chemisch reactieve materialen hebben we vastgesteld dat granulair nulwaardig ijzer het mogelijk maakte om de concentraties van complexe cyaniden en thiocyanaat in grondwater te verminderen. Er werd echter een beperkte vorming waargenomen van vrij cyanide. Er werd een verregaande verwijdering vastgesteld van de gehalten 8-methylquinoline, dibenzofuraan en dibenzothiofeen. Aniline, benzofuraan en benzothiofeen werden in beperkte mate verwijderd uit het grondwater, maar thiofeen niet. Het verdient aanbeveling om dit reagens verder te onderzoeken met een kolomtest.

Met mangaandioxide werd geen significant effect vastgesteld op de restgehalten van totaal cyanide (ongewijzigd) en thiocyanaat (slechts lichte afname). Met dit reagens is wel een verregaande verwijdering vastgesteld van aniline en een redelijk goede verwijdering van benzothiofeen. Verder is er ook een redelijke verwijdering bekomen van benzofuraan, dibenzofuraan en dibenzothiofeen. Echter, er is een toename vastgesteld van de restgehalten quinoline, 6-methylquinoline en vooral van carbazole.



Voor het saneren van grondwater van gasfabrieksterreinen in een reactieve zone of waterdoorlatend scherm (PRB) is een combinatie van processen noodzakelijk. Dit onderzoek heeft uitgewezen dat aërobe biologische afbraak een belangrijk onderdeel kan zijn van zo een scherm. Nulwaardig ijzer zou er ook een onderdeel van kunnen uitmaken, maar daarvoor zijn bijkomende kolomtesten aangewezen waarbij beide processen worden geïntegreerd. Mangaandioxide lijkt minder interessant in deze context.

# 7 Referenties

## 7.1 Wetenschappelijke vakbladen

- Bertels D., Bleyen S., Borburgh A., Vanermen G., Bepaling van heterocyclische aromatische verbindingen in bodem en grondwater (2005/MIM/R/022).
- Broholm K, Hansen AB, Jorgensen PR, Arvin E, Hansen M, 1999. Transport And Biodegradation Of Creosote Compounds In A Large, Intact, Fractured Clayey Till Column. *Journal Of Contaminant Hydrology* 39: (3-4) 331-348.
- Broholm K, Nilsson B, Sidle RC, Arvin E, 2000. Transport And Biodegradation Of Creosote Compounds In Clayey Till, A Field Experiment. *Journal Of Contaminant Hydrology* 41: (3-4) 239-260.
- Broholm MM, Arvin E, 2000. Biodegradation Of Phenols In A Sandstone Aquifer Under Aerobic Conditions And Mixed Nitrate And Iron Reducing Conditions. *Journal Of Contaminant Hydrology* 44: (3-4) 239-273.
- Dyreborg, S. 1996. Microbial degradation of water-soluble creosote compounds. Ph.D. thesis, Department of Environmental Science and Engineering, Technical University of Denmark.
- Dyreborg S, Arvin E, 1995. Inhibition Of Nitrification By Creosote-Contaminated Water. *Water Research* 29: (6) 1603-1606.
- Dyreborg S, Arvin E, Broholm K, 1996a. Effects Of Creosote Compounds On The Aerobic Bio-Degradation Of Benzene. *Biodegradation* 7: (3) 191-201.
- Dyreborg S, Arvin E, Broholm K, 1996b. The Influence Of Creosote Compounds On The Aerobic Degradation Of Toluene. *Biodegradation* 7: (2) 97-107.
- Dyreborg S, Arvin E, Broholm K, 1997. Biodegradation Of NSO-Compounds Under Different Redox-Conditions. *Journal Of Contaminant Hydrology* 25: (3-4) 177-197.
- Dyreborg S, Arvin E, Broholm K, 1998. Concomitant Aerobic Biodegradation Of Benzene And Thiophene. *Environmental Toxicology And Chemistry* 17: (5) 851-858.
- Dyreborg S, Arvin E, Broholm K, Christensen J, 1996c. Biodegradation Of Thiophene, Benzothiophene, And Benzofuran With Eight Different Primary Substrates. *Environmental Toxicology And Chemistry* 15: (12) 2290-2292.
- Engwall MA, Pignatello JJ, Grasso D, 1999. Degradation And Detoxification Of The Wood Preservatives Creosote And Pentachlorophenol In Water By The Photofenton Reaction. *Water Research* 33: (5) 1151-1158.
- Gemoets J, Vanermen G, De Vries P, Van de sterren G & weytingh K, 2002. NSO-Heterocyclic compounds at MGP sites, Characterization and potential for Bioremediation, "Remediation of Chlorinated and recalcitrant Compounds", Third International Conference, Monterey, CA.

- Gieg LM, Otter A, Fedorak PM, 1996. Carbazole Degradation By *Pseudomonas* sp. LD2: Metabolic Characteristics And The Identification Of Some Metabolites. *Environmental Science & Technology* 30: (2) 575-585.
- Held T, Blotevogel J, 2008. Heterocyclic aromatic compounds: assessment of substance properties and occurrence. In Proceedings of the 10<sup>th</sup> International UFZ-Deltares/TNO Conference on Soil-Water Systems (ConSoil 2008), Milan, Italy, p. 143-152.
- Hosein SG, Millette D, Butler BJ, Greer CW, 1997. Catabolic Gene Probe Analysis Of An Aquifer Microbial Community Degrading Creosote-Related Polycyclic Aromatic And Heterocyclic Compounds. *Microbial Ecology* 34: (2) 81-89.
- Kim CG, Clarke WP, Lockington D, 1999. Feasibility Test Of Biological Degradation Of Heterocyclic Sulfur Compounds In Anaerobic State. *Journal Of Environmental Science And Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* 34: (4) 899-918.
- King MWG, Barker JF, 1999. Migration And Natural Fate Of A Coal Tar Creosote Plume 1. Overview And Plume Development. *Journal Of Contaminant Hydrology* 39: (3-4) 249-279.
- King MWG, Barker JF, Devlin JF, Butler BJ, 1999. Migration And Natural Fate Of A Coal Tar Creosote Plume 2. Mass Balance And Biodegradation Indicators. *Journal Of Contaminant Hydrology* 39: (3-4) 281-307.
- Liu Sm, Jones Wj, Rogers Je, 1994. Influence Of Redox Potential On The Anaerobic Biotransformation Of Nitrogen-Heterocyclic Compounds In Anoxic Fresh-Water Sediments. *Applied Microbiology And Biotechnology* 41: (6) 717-724.
- Loh KC, Yu YG, 2000. Kinetics Of Carbazole Degradation By *Pseudomonas Putida* In Presence Of Sodium Salicylate. *Water Research* 34: (17) 4131-4138.
- Meyer S, Cartellieri S, Steinhart H, 1999. Simultaneous Determination Of Pahs, Hetero-Pahs (N, S, O), And Their Degradation Products In Creosote-Contaminated Soils. Method Development, Validation, And Application To Hazardous Waste Sites. *Analytical Chemistry* 71: (18) 4023-4029.
- Middaugh Dp, Lantz Se, Heard Cs, Mueller Jg, 1994. Field-Scale Testing Of A 2-Stage Bioreactor For Removal Of Creosote And Pentachlorophenol From Ground-Water - Chemical And Biological Assessment. *Archives Of Environmental Contamination And Toxicology* 26: (3) 320-328.
- Millette D, Barker Jf, Comeau Y, Butler Bj, Frind Eo, Clement B, Samson R, 1995. Substrate Interaction During Aerobic Biodegradation Of Creosote Related-Compounds - A Factorial Batch Experiment. *Environmental Science & Technology* 29: (8) 1944-1952.
- Ronen Z, Bollag Jm, 1995. Biodegradation Of Pyridine And Pyridine-Derivatives By Soil And Subsurface Microorganisms. *International Journal Of Environmental Analytical Chemistry* 59: (2-4) 133-143.

Sutton SD, Pfaller SL, Shann JR, Warshawsky D, Kinkle BK, Vestal JR, 1996. Aerobic Biodegradation Of 4-Methylquinoline By A Soil Bacterium. *Applied And Environmental Microbiology* 62: (8) 2910-2914.

Terzian R, Serpone N, Hidaka H, 1995. Photocatalyzed Mineralization Of A Trimethylated Phenol In Oxygenated Aqueous Titania - An Alternative To Microbial-Degradation. *Catalysis Letters* 32: (1-2) 227-233.

Thomsen AB, Henriksen K, Gron C, Moldrup P, 1999. Sorption, Transport, And Degradation Of Quinoline In Unsaturated Soil. *Environmental Science & Technology* 33: (17) 2891-2898.

Tiehm A, Sagner A, 2008. NSO-heterocyclic aromatic compounds (NSO-HET): ecotoxicity and biodegradability. In *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International UFZ-Deltares/TNO Conference on Soil-Water Systems (ConSoil 2008)*, Milan, Italy, p. 153-159.

Uma B, Sandhya S, 1997. Pyridine Degradation And Heterocyclic Nitrification By *Bacillus Coagulans*. *Canadian Journal Of Microbiology* 43: (6) 595-598.

Werner P, Hüsters N, Lorbeer H, Schönekerl S, Leibenath C, 2008. Dynamic behaviour and natural attenuation potential of PAHs, NSO heterocyclic arenas, and BTEX in a tar oil contaminated site. In *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International UFZ-Deltares/TNO Conference on Soil-Water Systems (ConSoil 2008)*, Milan, Italy, p. 134-141.

## 7.2 Internet adressen

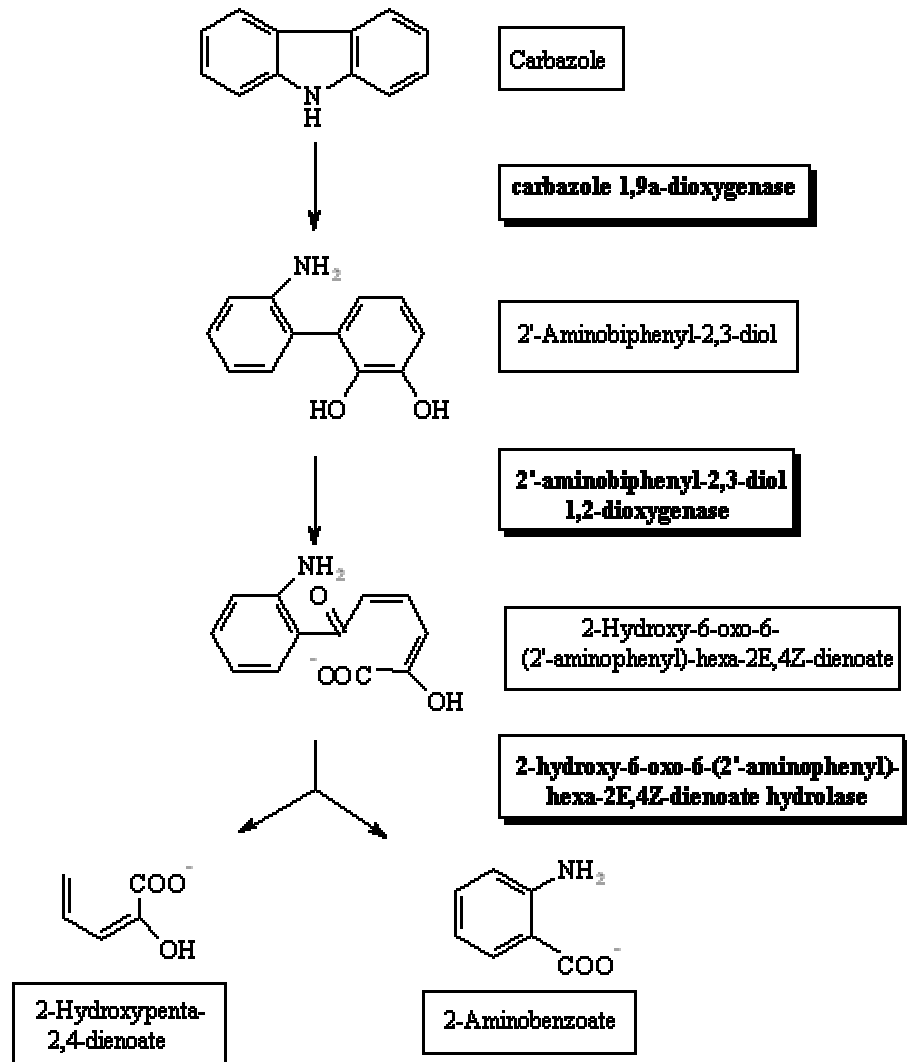
The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database  
(<http://umbbd.ahc.umn.edu/>)

Chemfinder (<http://chemfinder.cambridgesoft.com/>)

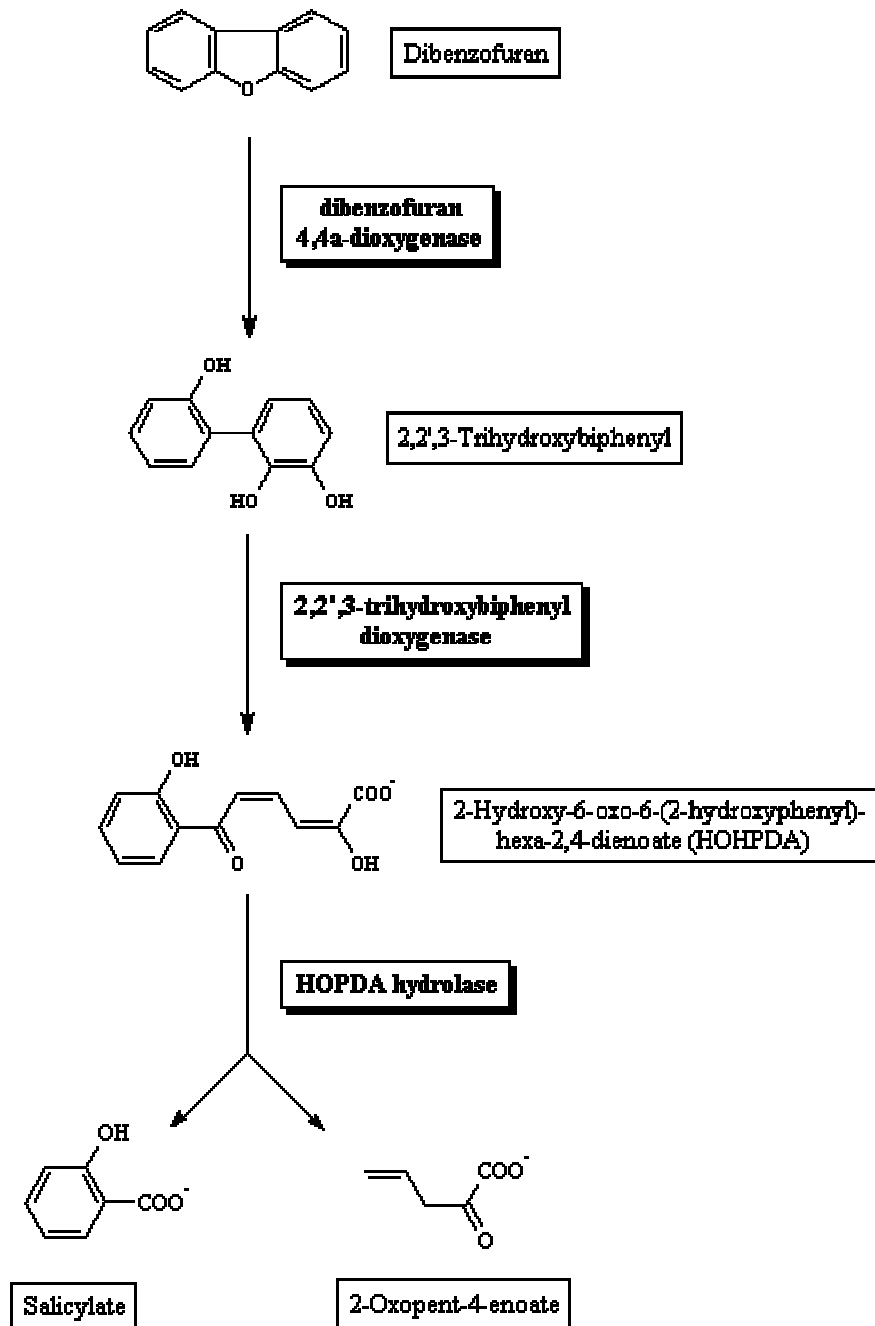
SRC Physprop Database (<http://esc.syrres.com/interkow/physdemo.htm>)

# BIJLAGEN

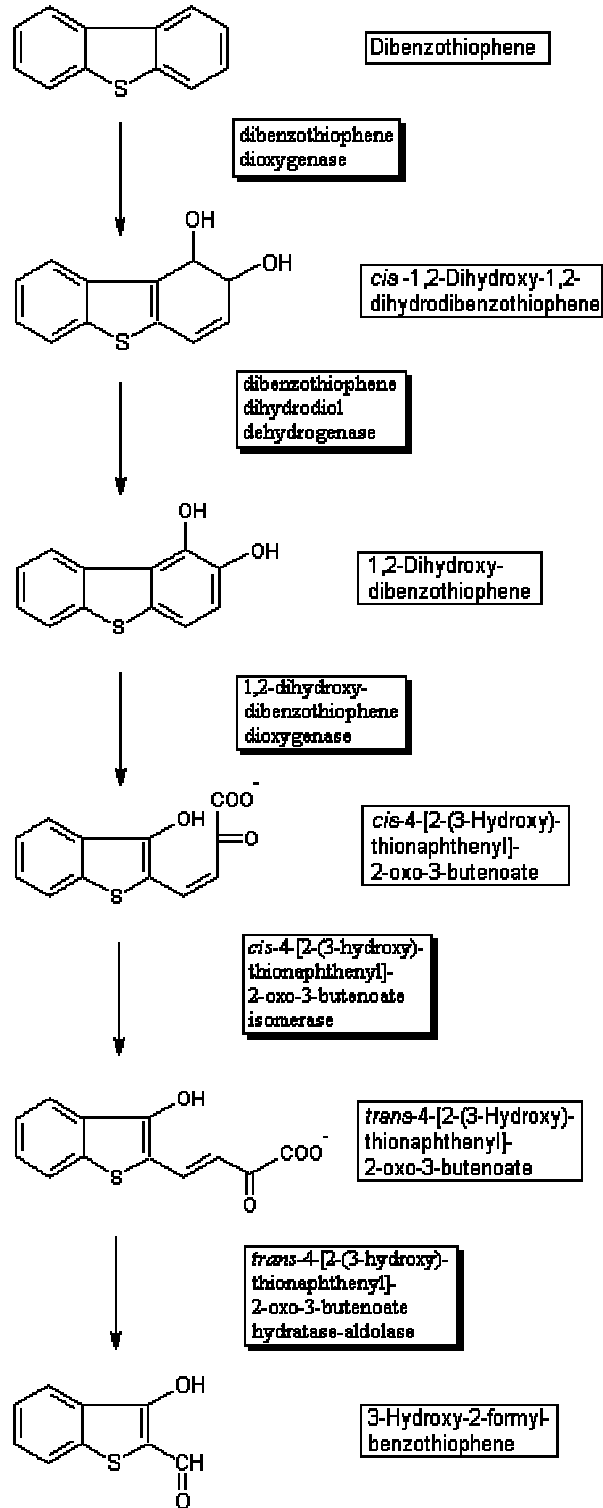
# Bijlage A: Afbraakroutes voor microbiële omzetting van NSO-verbindingen



Mechanisme van aërobe carbazoolafbraak  
(The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database)



**Mechanisme van aërobe dibenzofuranafbraak**  
 (The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database)



**Mechanisme van aërobe dibenzothiophenaafbraak**  
 (The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database)