

RIJKSINSTITUUT VOOR VOLKSGEZONDHEID EN MILIEUHYGIENE
BILTHOVEN

Rapportnr. 718604002

De afbraak van organische stoffen
in het grondwater

P.van Beelen en W.J.G.M.Peijnenburg

mei 1989

Dit onderzoek is uitgevoerd in opdracht van het Directoraat-Generaal voor Milieubeheer, Directie Drinkwater, Water, Bodem, Hoofdafdeling Bodem, ten laste van de Directie van het Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene

Verzendlijst

1	Directie Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiene
2	Dr.ir.J.P.G.Loch
3	Ir.A.M.A.van der Linden
4	Ir.W.van Duijvenbooden
5	Ir.R.van den Berg
6	Dr.A.M.Breure
7	Dr.J.G.van Andel
8	Dr.H.A.M.de Kruijf
9	Dr.J.Struijs
10	Ir.C.A.M.van Gestel
11	Ir.J.Hrubec
12	Dr.ir.A.M.van Dijk-Looyard
13	Ir.J.F.M.Versteegh
14 - 15	Auteurs
16 - 35	Laboratorium voor Ecotoxicologie, Milieuchemie en Drinkwater
36 - 37	Projecten- en rapportenregistratie
38 - 50	Reserve exemplaren

Mede ter informatie aan:

51	Dr.T.Trouwborst, DGM-DWB-Drinkwater
52	Ir.J.M.de Ruiter, DGM-DWB-Bodem
53	Dr.W.J.Willems, DGM-DWB-Bodem
54	Ir.J.G.Robberse, DGM-DWB-Bodem
55	Dr.H.W.Kroes, DGM-DWB-Water
56	Prof.dr.R.A.Prins, Rijksuniversiteit Groningen
57	Dipl.Natw. C.Holliger, Landbouw Universiteit
58	Dr.D.G.Janssen, Rijksuniversiteit Groningen
59	Drs.W.C.M.Bakkum, WMG
60	Ir.C.G.E.M.van Beek, KIWA

Inhoudsopgave

	<u>Pag.</u>
Verzendlijst	ii
Inhoudsopgave	iii
Summary	iv
Samenvatting	vi
1. Inleiding	1
2. Aspecifieke reductieve dehalogenering in anaerobe aquifers	2
3. Biodegradatie in verontreinigde aquifers	4
4. Reductieve dehalogenering in niet sterk verontreinigde aquifers	5
5. Biodegradatie in niet sterk verontreinigde aquifers	9
6. Interpretatie grondwatermetingen	10
7. Konklusies	13
8. Literatuur	14
9. Tabellen	20
10. Appendix	29

SUMMARY

This review shows that many organic micropollutants are, under certain conditions, chemically and biologically degradable in groundwater. In highly polluted aquifers a microflora is present which is adapted to the pollution. Under these circumstances the degradation rate is often limited by the supply of oxygen or other substrates required for the growth of the microorganisms. This makes some chemicals persistent in certain polluted aquifers.

In not heavily polluted aquifers no adapted microflora is present. Hence the biodegradation has to be performed by the autochthonous microflora. In the presence of oxygen aerobic conditions prevail. While denitrifying conditions are present in the absence of oxygen when nitrate is available. Highly chlorinated aliphatic hydrocarbons like chloroform or trichloroethene can be reduced to less halogenated hydrocarbons by aspecific reductive dehalogenation under anaerobic conditions. This reductive dehalogenation of aliphatic and aromatic halogenated hydrocarbons is strongly dependant on the absence of other electron acceptors like oxygen, nitrate, iron and manganese oxides and sulphate. Oxygen inhibits the reductive dehalogenation of almost all compounds. The brominated aliphatic hydrocarbons can already be reduced in the presence of a strong electron-acceptor like nitrate. Most aliphatic chlorinated hydrocarbons can be reduced in the absence of nitrate and oxygen, when sulphate is the predominant electron-acceptor. Under these conditions the reductive dechlorination of aromatic chlorinated hydrocarbons is improbable. The latter compounds can only be reduced under methanogenic conditions. The reductive dehalogenation leads to the formation of products with less halogen atoms which might even cause an increase of the environmental problems. The reductive dehalogenation of dichloroethene for instance can lead to the formation of the carcinogenic compound chloroethene (vinylchloride).

Many organic compounds can be mineralized in aerobic and not heavily polluted aquifers. A prediction of the rate of degradation in an aquifer is not simple because the bacteria are not dispersed homogeneously over the aquifer. In a certain layer a much higher density of bacteria can be present which can cause a compound, which is persistent in one layer, to degrade in another layer.

In the upper aquifers used for the preparation of drinking water the presence of nitrate and chlorinated aliphatic compounds is measured by the

Dutch waterwork companies. 30 % of the 74 nitrate containing aquifers also contain halogenated compounds, while of the 31 nitrate-free aquifers not a single one contains these compounds. A large number of these nitrate-free aquifers have a low redox potential so that denitrification and reductive dehalogenation can proceed. This means that these aquifers are less vulnerable because the subsoil microflora is able to remove halogenated aliphatic compounds.

SAMENVATTING

Dit literatuuroverzicht laat zien dat veel organische microverontreinigingen in het grondwater onder bepaalde omstandigheden chemisch en biologisch afbreekbaar zijn. In sterk verontreinigde aquifers is een geadapteerde microflora aanwezig die speciaal aangepast is aan de vervuilde omstandigheden. In deze situatie is de afbraaksnelheid van de vervuiling vaak beperkt door de toevoer van zuurstof of andere substraten nodig voor de groei van micro-organismen. Hierdoor kunnen sommige stoffen in bepaalde verontreinigde aquifers persistent blijken te zijn.

In niet sterk verontreinigde aquifers is geen geadapteerde microflora aanwezig en moet de biodegradatie dus uitgevoerd worden door de autochtone bacteriën. Hierbij is de redoxpotentiaal van zeer groot belang voor zowel de chemische als de biologische afbraak van organische verontreinigingen. In aanwezigheid van zuurstof is er sprake van aerobe omstandigheden. Wanneer er geen zuurstof aanwezig is maar wel nitraat dan zijn er denitrificerende omstandigheden. Hooggechloreerde alifatische koolwaterstoffen zoals chloroform en trichlooretheen kunnen onder reducerende omstandigheden via specifieke chemische reductieve dehalogenering omgezet worden in verbindingen met minder chlooratomen. De reductieve dehalogenering van alifatische en aromatische gehalogeneerde koolwaterstoffen is sterk afhankelijk van de afwezigheid van andere electronacceptors zoals zuurstof, nitraat, ijzer- en mangaan-oxides en sulfaat. Zuurstof remt de reductieve dehalogenering van bijna alle verbindingen. In aanwezigheid van nitraat zijn hoofdzakelijk gebromeerde alifatische verbindingen reduceerbaar. Wanneer nitraat en zuurstof afwezig zijn en sulfaat als electronacceptor dienst doet kunnen alifatische gechloreerde koolwaterstoffen wel worden afgebroken maar aromatische gechloreerde koolwaterstoffen niet. Reductie van deze laatste verbindingen is slechts mogelijk onder methanogene omstandigheden. De reductieve dehalogenering leidt tot de vorming van produkten die minder halogeenatomen hebben dan het uitgangsprодукt. Deze produkten kunnen soms zelfs leiden tot de vergroting van de milieuproblemen zoals in het geval van de omzetting van dichlooretheen naar het kankerverwekkende monochlooretheen (vinylchloride).

Veel organische verbindingen kunnen in aerobe niet sterk verontreinigde aquifers gemineraliseerd worden. De voorspelling van de afbraaksnelheid in een bepaalde aquifer is echter een moeilijke zaak omdat de bacteriën niet homogeen verdeeld zijn maar in de ene laag in veel grotere dichtheden

kunnen voorkomen dan in de andere laag. Dit maakt dat een stof in de ene laag persistent is terwijl in de andere laag een snelle afbraak kan optreden.

In de drinkwaterwinningen uit het bovenste watervoerend pakket wordt de aanwezigheid van nitraat en de aanwezigheid van gechloreerde alifatische verbindingen gemeten door het KIWA. 30% van de 74 nitraat houdende winningen bevat gehalogeneerde verontreinigingen terwijl geen enkele van de 31 nitraatloze winningen deze verontreinigingen laat zien. Een groot deel van de nitraatloze winningen is anaeroob zodat daar denitrificatie en reductieve dehalogenering kan optreden. Dit betekent dat deze winningen minder kwetsbaar zijn doordat de microflora in de ondergrond in staat is om gehalogeneerde alifatische verbindingen te verwijderen.

1 Inleiding

Het grondwater is de belangrijkste bron voor de drinkwatervoorziening. Van de 1334 miljoen kubieke meter drinkwater die de gezamenlijke Nederlandse waterleidingbedrijven in 1988 hebben opgepompt was 70% afkomstig van grondwater. Daarnaast zijn in droge zomers veel bossen en gewassen afhankelijk van grondwater. Tot voor kort was het Nederlandse grondwater van uitstekende kwaliteit en kon het na een eenvoudige beluchting en filtratie worden gedronken. Aan deze gunstige situatie is helaas een einde gekomen. De milieuproblemen die zich al in het oppervlaktewater gemanifesteerd hadden, zoals verzuring, vermisting en vergiftiging door milieuvreemde verbindingen zijn met enige vertraging nu ook bij het Nederlandse grondwater aangekomen. De beschermingszones rond de drinkwaterputten die in 1975 werden ingesteld [Moen, 1987], voorzien ook slechts in een tijdelijke bescherming van 25 jaar. Helaas hebben deze beschermingszones niet kunnen verhinderen dat veel verontreinigingen nu al het drinkwater hebben bereikt. Tabel 1 laat enige organische verbindingen zien die in Nederland voorkomen in het grondwater dat gebruikt wordt voor de drinkwaterbereiding [Veenendaal, 1986]. Duidelijk is dat er een groot aantal organische stoffen in concentraties hoger dan 0.5 microgram per liter in het grondwater aanwezig zijn. Momenteel zijn veel goed wateroplosbare en hoogmoleculaire verbindingen met de huidige stand van de analyse technieken nog niet detecteerbaar in het lage concentratie bereik zodat aangenomen moet worden dat er nog meer nu nog onbekende stoffen in het drinkwater aanwezig zijn. Buiten de waterwingebieden zijn lokaal nog veel meer verontreinigingen aan te tonen. Het gaat hierbij vaak om vluchtige gechloreerde organische verbindingen. Deze verbindingen kunnen onder anaerobe omstandigheden door veel micro-organismen afgebroken worden maar zijn onder aerobe omstandigheden vaak persistent [Bouwer, 1981; Bouwer, 1983a; Bouwer, 1983b; Wilson, 1983b; Vogel, 1987; Tiedje, 1987; Holliger, 1988].

In dit rapport wordt een overzicht gegeven van wat er over de biodegradatie van antropogene stoffen in het grondwatermilieu bekend is. Deze kennis is meestal verworven uit buitenlandse literatuur waardoor de toepassing voor de Nederlandse situatie niet zonder meer mogelijk is. Dit rapport laat zien dat de biodegradatie in de ondergrond van belang is voor de beoordeling van de kwetsbaarheid van het Nederlandse grondwater.

2 Aspecifieke reductieve dehalogenering in anaerobe aquifers.

In een anaeroob milieu bevatten micro-organismen meestal gereduceerde coenzymen terwijl deze in een aerob milieu vaak in geoxideerde vorm aanwezig zijn. De gereduceerde ijzer-porphyrines die betrokken zijn bij de ademhaling, zijn in staat om bij gebrek aan zuurstof ook gehalogeneerde verbindingen als electronacceptors te gebruiken [Uehleke, 1973; Klecka, 1984]. Deze reactie kan vaak zelfs door geautoclaveerde bacteriën worden uitgevoerd omdat de betrokken coenzymen niet geïnactiveerd worden door hogere temperaturen. Recent werd een model opgesteld waarmee de afbraaksnelheid van gehalogeneerde koolwaterstoffen berekend kan worden voor verschillende verbindingen in sedimenten en aquifers met een bepaald koolstofgehalte [Peijnenburg, 1988]. Deze vergelijking geeft de relatie weer tussen enerzijds de afbraaksnelheid ten gevolge van reductieve dehalogenering en anderzijds de stoffeigenschappen van het molecuul en het koolstofgehalte van het anaerobe sediment of aquifer.

$$\log K = \log(1/(1+Kd)) - a*BS + b*SI + c*BE + d*\log(OC) + e$$

Variabelen.

K	degradatie snelheids konstante per minuut
Kd	verhouding hoeveelheid aan vaste fase geadsorbeerde stof / hoeveelheid opgeloste stof
BS	Bindings sterkte in Kcal/mol
SI	Sommatie taft sigma konstanten
BE	Bindings energie in Kcal/mol
OC	percentage organisch koolstof van de vaste fase

Konstanten.

	stand.dev.	max.	min.
a = 0.14 mol/Kcal*min	0.01	0.15	0.13
b = 0.48 /min	0.04	0.56	0.41
c = 0.04 mol/Kcal*min	0.01	0.05	0.03
d = 1.27 /min	0.11	1.48	1.05
e = 4.23 /min	0.53	5.28	3.17

Uit de vergelijking kunnen de volgende konklusies afgeleid worden;

- 1 Sterke sorptie van de verbinding aan het organisch materiaal vertraagt de reductie sterk.
- 2 Gebromeerde en geïodeerde verbindingen worden sneller gereduceerd dan de overeenkomstige gechloreerde verbindingen terwijl de gefluoreerde verbindingen langzamer gereduceerd worden.
- 3 Hoe meer halogeenatomen aan een molecuul hoe sneller de reactie verloopt.
- 4 Gehalogeneerde aromatische verbindingen worden langzamer gereduceerd dan alifatische verbindingen.
- 5 Onverzadigde gehalogeneerde verbindingen worden ook langzamer gereduceerd dan verzadigde alifatische verbindingen maar weer sneller dan gehalogeneerde aromatische verbindingen.
- 6 Bij een toenemend koolstofgehalte en dus ook bij een toenemende biomassa neemt de afbraaksnelheid van gehalogeneerde alifatische organische verbindingen sterk toe.

In de appendix wordt nog eens toegelicht hoe men de (abiotische) reductiesnelheid van gehalogeneerde alifatische koolwaterstoffen met behulp van de formule kan berekenen. Doordat het aanwezige organisch materiaal in de bodem voortdurend afgebroken wordt door micro-organismen is er een relatie tussen het koolstofgehalte en de biomassa van de micro-organismen. Voor de aerobe bodems geldt dat 2 tot 3% van het totale koolstofgehalte van de bodem bestaat uit biomassa [Jenkinson, 1976]. Daarnaast bevatten deze micro-organismen een bepaald gehalte aan ijzerporphyries waarvan bekend is dat zij de reductieve dehalogenering kunnen katalyseren [Klecka, 1984]. Vermoedelijk wordt de correlatie van de afbraaksnelheid met het koolstofgehalte veroorzaakt door de aanwezigheid van deze ijzerporphyries. Daarnaast kunnen ook de in de biomassa aanwezige amines een rol spelen bij de reductieve dehalogenering.

De maximum en minimum waarden van de konstanten uit de vergelijking zijn berekend uit de konstante plus of min twee maal de standaarddeviatie. Met behulp van deze waarden kan een maximale halfwaardetijd geschat worden voor een anaerobe aquifer waarvan het koolstofgehalte bekend is. Dit model kan niet gebruikt worden om een minimale halfwaardetijd te berekenen omdat het altijd mogelijk is dat naast deze abiotische afbraak ook nog specifieke afbraak plaats vindt door geadapteerde micro-organismen. Hierbij vindt men een steeds snellere afbraak van een organische verbinding doordat een micro-organisme in staat is om te groeien op deze stof. Tabel 2 toont binnen welke grenzen de maximale afbraaksnelheid volgens dit model zich zou moeten bevinden in een aquifer met een koolstof gehalte van 1 %, 0.1 %, 0.01 %.

0.01 % en 0.001 %. Opvallend is dat bij een koolstofgehalte groter dan 0.01 %, dat ook in zandige aquifers regelmatig kan voorkomen [Van Beelen, 1989], de maximale halfwaardetijd van de alifatische gehalogeneerde verbindingen beneden de 25 jaar blijft. De reductieve dechlorering tot produkten met minder chlooratomen valt dus ook in een anaerobe aquifer op grond van dit model te verwachten.

3 Biodegradatie in verontreinigde aquifers.

Van groot belang voor het gedrag van stoffen in aquifers is de biodegradatie door de daar aanwezige bacteriën. Biodegradatie door schimmels is in het grondwater niet van belang omdat deze in aquifers nauwelijks voorkomen [van Beelen, 1989]. Het is voor de biodegradatie van het grootste belang te weten welke bacterie populatie in de aquifer aanwezig is. In een niet sterk vervuilde aquifer zal dat de oorspronkelijke microflora zijn maar in een vervuilde aquifer ontstaat meestal een aan de vervuiling aangepaste bacterie populatie [Swindoll, 1988]. Bij de beoordeling van de literatuur over afbraak in de ondergrond moet dan ook onderscheid gemaakt worden tussen sterk vervuilde aquifers en slechts met microverontreinigingen belaste ondergrond. In de eerste situatie ontstaat vaak een pluim van verontreinigd grondwater onder een vuilstort of industrieterrein. Aan de rand van zo'n pluim is meestal een zeer actieve en dichte massa micro-organismen bezig met de afbraak van de verontreiniging. In deze situatie is de afbraak van de vervuiling vaak beperkt door de toevoer van zuurstof of andere substraten nodig voor de groei van micro-organismen. Hierdoor kunnen sommige stoffen in bepaalde verontreinigde aquifers persistent blijken te zijn (zie Tabel 3), terwijl ze dat onder andere omstandigheden weer niet zijn. Doordat de omstandigheden in deze situatie sterk verschillen met die in een niet-vervuilde aquifer komt er ook een aparte microflora voor die sterk verschillend is van die in de omringende niet-vervuilde aquifer [Lee, 1988]. De omstandigheden komen vaak overeen met die van anaerobe biodegradatie toetsen. D.w.z. hoge concentraties van een verontreinigende stof met daarbij een dichte, aan de stof aangepaste, microflora. Hierdoor kunnen deze toetsen vrij goed gebruikt worden voor de voorspelling van de bioafbreekbaarheid in sterk vervuilde aquifers. Door de hoge concentratie van verontreinigingen treden soms toxische effecten op waardoor normaal snel afbreekbare substraten gedurende tientallen jaren onveranderd in de bodem aanwezig kunnen blijven

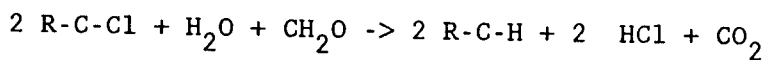
[Pignatello, 1987]. Adaptatie van de aquifer microflora aan methaan, toluen of fenol kan *Pseudomonas* bacteriën selecteren die onder aerobe omstandigheden trichlooretheen kunnen afbreken [Nelson, 1988]. Aan de andere kant wordt de biodegradatie van de meeste organische microverontreinigingen beperkt door de lage concentratie van de stof. Beneden een kritische concentratie, die voor veel stoffen rond de 1 µg/ml ligt, kan geen groei van micro-organismen op die stof meer plaats vinden. De toevoer van substraat is dan net voldoende voor de bacterie om in leven te blijven maar niet om van te groeien. Onder deze concentratiegrens heeft een bacterie die de betreffende stof kan afbreken geen selectief voordeel meer boven zijn voedselconcurrenten die dat niet kunnen. In dat geval is de biodegradatie van milieuvreemde verbindingen dus afhankelijk van de aanwezigheid van de natuurlijke populatie van micro-organismen die op de van nature aanwezige substraten groeien. Dit veroorzaakt dan ook het fundamentele onderscheid tussen sterk verontreinigde aquifers met hun geadapteerde microflora en niet sterk verontreinigde aquifers met nog een natuurlijke microflora.

4 Reductieve dehalogenering in niet sterk verontreinigde aquifers.

Naast een koolstofbron heeft een organisme ook nog een electronenacceptor nodig om door de oxidatie van een organische verbinding energie voor de groei te winnen. Deze electronacceptors kunnen gerangschikt worden op grond van een afnemende affiniteit voor de electronen afkomstig van organische verbindingen in de bodem. Vooral zuurstof, nitraat, mangaanoxides, ijzeroxides, sulfaat en methaan zijn in de Nederlandse bodem van belang [Van Beelen, 1986]. Boven in het watervoerende pakket van de hoge zandgronden met diep grondwater is vaak nog een aerobe laag aanwezig. In gebieden waar de grondwaterstand laag is kan meer organische stof uitspoelen zonder onderweg geoxideerd te worden. Deze organische stof wordt dan door de in het grondwater aanwezige microflora [Van Beelen, 1989] geoxideerd met behulp van zuurstof. Hierdoor raakt de zuurstof op waarna nitraat als electronacceptor gebruikt wordt. Wanneer er geen zuurstof meer aanwezig is en nog wel nitraat spreekt men van denitrificerende omstandigheden. Vervolgens kan dan een volledige denitrificatie plaatsvinden. Wanneer het nitraat opgebruikt is moeten de micro-organismen naar een andere electronacceptor omzien. Onder natuurlijke omstandigheden zullen dat dan vaak mangaan- of ijzeroxides zijn. Wanneer die ook volledig

gereduceerd zijn dan wordt het sulfaat als electronacceptor gebruikt zodat men dan van sulfaat-reducerende omstandigheden spreekt. Uiteindelijk, wanneer ook het sulfaat is opgebruikt, wordt koolzuur als electronacceptor gebruikt. Het koolzuur wordt dan omgezet tot methaan zodat men dan van methanogene omstandigheden spreekt. Terwijl denitrificatie en ijzer en mangaan reductie door de meeste micro-organismen uitgevoerd kan worden die aerobe ademhaling vertonen, kunnen sulfaat-reductie en methaanvorming uitsluitend door gespecialiseerde sulfaat-reducerende of methanogene bacteriën worden uitgevoerd.

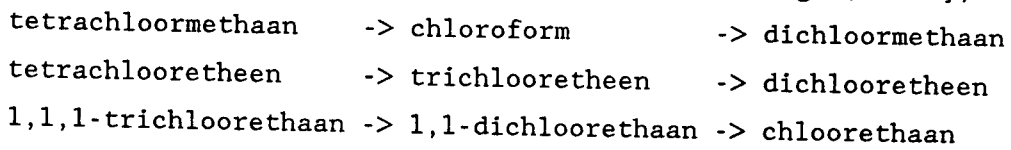
Tegenwoordig zijn vaak lage concentraties van gechlloreerde verbindingen in het grondwater aanwezig. Deze kunnen dan in plaats van zuurstof of nitraat als electronacceptor gebruikt worden waarbij de volgende reactie optreedt:



Met behulp van een organisch substraat, hier weergegeven als CH_2O , wordt op deze manier een gechlloreerde verbinding gereduceerd tot een minder gechlloreerde verbinding. Alifatische gechlloreerde koolwaterstoffen kunnen vaak door veelvoorkomende ijzerporphyrines gereduceerd worden tot minder gechlloreerde verbindingen [Klecka, 1984]. De ijzerporphyrines zijn stoffen zoals haemverbindingen die betrokken zijn bij de ademhaling en dus in de meeste organismen aanwezig zijn. Ook de kobalt houdende corrinoïden kunnen de reductieve dehalogenering van gechlloreerde alifatische verbindingen katalyseren [Krone, 1989]. Deze verbindingen komen ook voor in vrijwel alle organismen. De regels die opgingen voor de abiotische reductie van gehalogeneerde verbindingen gaan voor de biodegradatie niet onverkort op. Maar zowel bij de abiotische reductie als bij de biodegradatie is de thermodynamische vrije energie van de reductie van doorslaggevend belang. Bij een lagere redoxpotentiaal van de aquifer komt er meer energie vrij bij de reductie van gehalogeneerde stoffen. De volgende regels die voor de abiotische omzettingen gelden kunnen ook gebruikt worden voor de door micro-organismen gekatalyseerde reductieve dehalogenering;

- 1 Meer chlooratomen aan een molecuul doet de reactie beter verlopen.
- 2 Gehalogeneerde aromatische verbindingen worden moeilijker gereduceerd dan alifatische verbindingen.
- 3 Onverzadigde gehalogeneerde verbindingen worden ook minder eenvoudig gereduceerd dan alifatische verbindingen maar weer beter dan gehalogeneerde aromatische verbindingen.

Uit thermodynamische berekeningen volgt dat veel belangrijke gechloreerde grondwatercontaminanten een betere electronacceptor zijn dan nitraat maar een slechtere dan zuurstof. De volgende reacties kunnen dan ook in aanwezigheid van nitraat in principe plaats vinden [Vogel, 1987];



De omzetting van dichlooretheen naar het kankerverwekkende chlooretheen heeft een iets lagere redoxpotentiaal dan de omzetting van nitraat naar nitriet en zou dus in een aquifer met nitraat thermodynamisch gezien niet kunnen verlopen. Bij de biodegradatie komt de vrije energie niet tot uiting in een verhoging van de reactiesnelheid maar eerder in een preferentie van een microbieel consortium voor het ene substraat ten koste van het andere. Bij de reductieve dehalogenering van 3,4-dichloorbenzoesuur wordt 3-chloorbenzoesuur gevormd. Het 3-chloorbenzoesuur wordt niet eerder afgebroken dan wanneer alle 3,4-dichloorbenzoesuur verdwenen is. Pas op dat moment wordt het 3-chloorbenzoesuur gereduceerd tot benzoesuur [Suflita, 1985; Gibson, 1986]. Deze reactie verloopt echter niet duidelijk langzamer dan de eerste. Ook natuurlijke electronacceptors kunnen de reductieve dehalogenering remmen. Het bekendste voorbeeld is natuurlijk zuurstof dat de reductieve dechlorering van vrijwel alle gechloreerde verbindingen remt. Maar in de levercellen van een zoogdier kunnen door de aanwezigheid van biologische electrondonors zoals NADPH al voldoende reducerende omstandigheden ontstaan om de reductieve dehalogenering van een eenvoudig te reduceren stof als CCl_4 , tot $HCCL_3$ mogelijk te maken. Deze reactie gebeurt onder aerobe omstandigheden met behulp van cytochroom P-450 en speelt een belangrijke rol bij de carcinogeniteit van CCl_4 omdat bij de reductie zeer reactieve radicalen gevormd worden [Uehleke, 1973].

Ook andere electrondonors zoals nitraat en sulfaat kunnen de reductieve dehalogenering remmen. Sulfaat kan de reductieve dechlorering van gechloreerde benzoaten en fenolen remmen zodat deze verbindingen alleen onder methanogene omstandigheden volledig gedehalogeneerd kunnen worden [Bouwer, 1983a; Bouwer, 1983b; Suflita, 1988; Gibson, 1986].

Een eenvoudiger te dechloreren verbinding als tetrachlooretheen kan gereduceerd worden via trichlooretheen tot dichlooretheen onder methanogene en sulfaat-reducerende omstandigheden [Suflita, 1988; Parsons, 1985a; Parsons, 1985b].

De reductieve dechlorering kan uitgevoerd worden door speciale daarvoor geschikte bacteriën zoals DCB-1 die uitsluitend pyruvaat kan gebruiken als

electrondonor voor de reductie van 3-chloorbenzoaat naar benzoaat. Het 3-chloorbenzoaat wordt uitsluitend gebruikt als electronacceptor en niet als koolstofbron [Tiedje, 1987]. In dit soort gevallen is een lange adaptatietijd nodig na de blootstelling in een anaeroob milieu voordat een vrij snelle afbraak optreedt. Bij een blootstelling van een anaerobe aquifer aan een lage concentratie van een verontreinigende stof kan echter geen groei en dus geen adaptatie optreden zodat de afbraak dan afhankelijk is van de van nature voorkomende microflora. Eenvoudig te reduceren stoffen zoals CCl_4 , $\text{CH}_3\text{-CCl}_3$ of $\text{Cl}_2\text{C=CCl}_2$ kunnen zelfs door reïncultures van methaan producerende of sulfaatreducerende bacteriën gedeeltelijk gedechloriseerd worden tot CH_2Cl_2 , $\text{CH}_3\text{-CHCl}_2$ of HCCl=CCl_2 [Egli, 1987; Fathepure, 1987; Fathepure, 1988]. *Methanobacterium thermoautotrophicum* is betrokken bij de methaan produktie en *Desulfobacterium autotrophicum* zorgt voor de reductie van sulfaat naar sulfide. Opgemerkt moet worden dat *Desulfobacterium* veel sneller is in de reductieve dehalogenering dan *Methanobacterium* [Egli, 1987]. Zeer illustratief is de vergelijking van de afbraak van gechlorideerde verbindingen door *D. autotrophicum* of *M. thermoautotrophicum* met de halfwaardetijd van de verbinding in een aquifer met 1% koolstof (Tabel 4). Het blijkt dat de verbindingen met een langere abiotische halfwaardetijd dan dichloorethaan of tetrachlooretheen door beide bacteriën niet worden afgebroken terwijl verbindingen met een kortere halfwaardetijd juist wel worden afgebroken.

Resumerend kan gesteld worden dat de formule voor de abiotische afbraaksnelheid ook gebruikt kan worden voor ranking van de stoffen voor biologische reductieve dechlorering.

Dit is mogelijk omdat wordt veroorzaakt doordat de formule gebaseerd is op de bindingssterkte van de halogeen-koolstof binding. Het spreekt vanzelf dat deze bindingssterkte gekoppeld is met de redoxpotentiaal van de elektronen die voor de biologische reductieve dehalogenering zorgen. Stoffen als tetrachloormethaan, broomdichloormethaan, dibroomchloormethaan en bromoform zijn onder denitrificerende omstandigheden biologisch reduceerbaar maar dibroommethaan, chloroform, trichloorethaan, dichloorbenzeen en trichloorbenzeen zijn in aanwezigheid van nitraat niet afbreekbaar [Bouwer, 1983]. De reductie van trichlooretheen naar cis en trans-1,2-dichlooretheen kan in aanwezigheid van sulfaat plaats vinden. Vervolgens kan onder methanogene omstandigheden ook vinylchloride gevormd worden [Barrio-Lage, 1987; Fathepure, 1987]. De reductieve dechlorering van aromatische gechlorideerde verbindingen kan alleen onder methanogene omstandigheden plaats vinden wanneer geen nitraat of sulfaat meer aanwezig

zijn [Suflita, 1988; Gibson, 1986; Holliger, 1988]. In het freatische Nederlandse grondwater is vrijwel altijd sulfaat aanwezig [Gast, 1985] zodat op een reductieve dechlorering van het in het grondwater aanwezige dichloorbenzeen niet gerekend hoeft te worden. Onder aerobe omstandigheden kan dichloorbenzeen via een ander mechanisme afgebroken worden. Met behulp van moleculaire zuurstof wordt door dioxygenases de ring opengebroken. De chloor-koolstof verbinding wordt vervolgens pas in de opengebroken ring vervangen door een zuurstof-koolstof verbinding waarbij het chloor als chloride vrij komt [Haigler, 1988]. Zonder moleculaire zuurstof is deze reactie natuurlijk niet mogelijk. Daarom is dichloorbenzeen onder aerobe omstandigheden wel afbreekbaar maar onder denitrificerende omstandigheden persistent. Onder denitrificerende omstandigheden zijn gealkyleerde aromaten wel afbreekbaar [Kuhn, 1987].

5 Biodegradatie in niet sterk verontreinigde aquifers.

Organische stoffen in het grondwater kunnen natuurlijk ook als koolstofbron voor de groei of de "maintenance" van bacteriën dienen. In het grondwater milieu heerst een sterke energie- en koolstof-limitatie [Van Beelen, 1986] zodat de daar aanwezige micro-organismen meestal niet tot groei kunnen komen maar de meeste afbreekbare organische stof mineraliseren tot koolzuur om aan hun onderhouds-energie (maintenance) te komen. Door de lange verblijftijd van het grondwater kan de langzame afbraak van organische verbindingen plaats vinden tot een steeds kleiner gehalte aan assimileerbaar koolstof tot een waarde van $0.1 \mu\text{g C} / \text{l}$ [Van der Kooij, 1985a]. Tabel 5 geeft een overzicht van enige organische verbindingen waarvan de afbraak in aquifer microcosmos-experimenten bestudeerd is. Het gaat hier om afbraak in niet sterk verontreinigde aerobe aquifers. In Oklahoma en Texas werden 10^6 tot 10^7 bacteriën per gram ondergrond waargenomen, hetgeen lager is dan de 10^8 tot 10^9 bacteriën per gram ondergrond die in Nederland gevonden werden [Van Beelen, 1988]. De verdeling van bacteriën binnen een bepaalde aquifer is van belang voor de interpretatie van de biodegradatie gegevens. In de Lula aquifer van Oklahoma bijvoorbeeld komt een laag voor die vermoedelijk infiltrerend rivierwater bevat. Rivierwater is aanzienlijk rijker aan goed afbreekbare organische koolstofverbindingen dan grondwater [Van der Kooij, 1985b]. Hierdoor wordt de aanwezigheid van een groot aantal actieve bacteriën en daardoor een relatief snelle biodegradatie veroorzaakt

[Beloin, 1988; Ghiorse, 1988]. Dit verklaart waarom voor bijvoorbeeld p-nitrofenol in de ene laag een halfwaardetijd van 0.26 dagen gevonden wordt terwijl in de andere laag geen afbraak wordt waargenomen (Tabel 5). Dit maakt een eventuele voorspelling van de biodegradatiesnelheid in een bepaalde aquifer wel een moeilijke zaak. Ook een dun laagje humus of pyriet in de aquifer kan tot plaatselijk andere omstandigheden leiden zodat een stof die in de rest van de aquifer stabiel is toch bij de passage door de aquifer wordt afgebroken. Daarnaast is biodegradatie gedefinieerd als de verdwijning van een stof door middel van (micro)organismen en moet deze term niet verward worden met mineralisatie. Bij mineralisatie wordt de stof omgezet in onschuldige produkten zoals koolzuur en water en zijn er dus geen toxische effecten meer te verwachten. Bij biodegradatie is het heel goed mogelijk dat er produkten ontstaan die gevaarlijker zijn dan het uitgangsprodukt. Bij de reductieve dehalogenering van tetrachlooretheen kan het kankerverwekkende vinylchloride gevormd worden en kan de biodegradatie leiden tot vergroting van de problemen [Parson, 1985; Suflita, 1988]. Ook kan de degradatie van dichloorpropeen tot gevolg hebben dat chloorallyl alcohol wordt gevormd. Deze laatste stof is niet in lage concentraties meetbaar zodat geen pesticiden meer detecteerbaar zijn terwijl toch een afbraakprodukt van dat pesticide aanwezig blijft. Verder leidt reductieve dehalogenering altijd tot produkten met minder halogeenatomen en daardoor een verhoogde mobiliteit in de aquifer. Uit Tabel 5 blijkt dat een veelheid van milieuvreemde verbindingen in de ondergrond afgebroken kan worden. Daarnaast zijn ook veel stoffen onder bepaalde omstandigheden persistent. Van deze stoffen is de halfwaardetijd in Tabel 5 voorzien van het groter dan (>) teken. Van tetrachloormethaan is de persistentie in een aerobe aquifer in Canada over 2426/365 dagen = 7 jaren aangetoond.

6 Interpretatie grondwatermetingen.

Het feit dat een milieuvreemde stof in het grondwater voorkomt toont op zich al aan dat de betreffende stof in die bepaalde concentratie onder de locale omstandigheden persistent is. Aan de andere kant kan uit de afwezigheid van een stof in grondwater ook de konklusie verbonden worden dat de stof in dat specifieke grondwatermilieu wordt afgebroken wanneer aan de volgende voorwaarden kan worden voldaan:

- 1 De stof moet vroeger in de aquifer zijn gebracht.

2 De stof moet niet verwijderd kunnen worden uit het grondwater door irreversible sorptie aan de vaste fase van de aquifer.

Veel grondwater verontreinigende stoffen vertonen een hoge mobiliteit en een lage sorptie zodat aan de tweede voorwaarde vaak wordt voldaan. Bij oevergrondwater winningen is het drinkwater afkomstig van een rivier. Van de grote rivieren is de verontreinigingsgraad al langer bekend. Hierdoor kunnen we er van uit gaan dat er een aantal verontreinigingen aanwezig waren tijdens de infiltratie van het rivierwater in de aquifer. Door de hoge organische belasting is het oevergrondwater vaak vrij van zuurstof en nitraat zodat er sulfaat-reducerende omstandigheden heersen. Onder deze omstandigheden zou men reductieve dehalogenering verwachten van de vroeger in de rivier aanwezige gechlloreerde alifatische koolwaterstoffen. Bij de oevergrondwater winningen komt het echter vaak voor dat onder anaerobe nitraatloze omstandigheden toch gehalogeneerde verbindingen aanwezig zijn [Van der Kooij, 1985b]. Hierbij speelt de korte verblijftijd een belangrijke rol. Door de sterke variatie in verblijftijden en in het koolstofgehalte van de aquifers is een berekening van de afbraaksnelheid van gehalogeneerde verbindingen niet mogelijk. Het koolstofgehalte van de aquifer is van doorslaggevend belang omdat een hoog koolstofgehalte zowel voor een langere verblijftijd door sorptie als voor een snellere chemische degradatie zorgt. Daarnaast zorgt een hoger koolstofgehalte ook nog voor een hoger aantal micro-organismen zodat het potentieel voor biodegradatie enorm toeneemt.

Opvallend is dat in het grondwater gebromeerde alifatische verbindingen zijn aangetoond [Veenendaal, 1986] terwijl deze volgens de berekeningen in Tabel 2 zeer snel zouden moeten zijn afgebroken. Deze verbindingen zijn volgens Veenendaal dan ook ontstaan door toepassing van chloor in de winput zelf kort voor de meting waarbij uit het bromide in het grondwater organische broomverbindingen gevormd kunnen worden. Het chloor oxideert het bromide dat dan met organische verbindingen een reactie aangaat. Voor de gechlloreerde aromatische verbindingen geldt in het algemeen dat er een zeer lange afbraaktijd nodig is voor de specifieke reductieve dehalogenering. De afbraak van deze verbindingen is dan ook afhankelijk van de aanwezigheid van specifieke afbrekende bacteriën.

Bij korte verblijftijden is het dus mogelijk dat onder sulfaatreducerende omstandigheden de reductieve dehalogenering toch niet voldoende snel kan plaats vinden om alle gechlloreerde verbindingen te verwijderen. Op grond van de berekeningen uit tabel 2 en op grond van de literatuur gegevens over de reductieve dehalogenering in niet sterk verontreinigde aquifers zou men

bij de langere verblijftijden een volledige degradatie van gechloreerde verbindingen verwachten. Dit natuurlijk onder voorwaarde dat de redoxpotentiaal voldoende laag is om de reductieve dehalogenering mogelijk te maken. Bij een lage redoxpotentiaal is er geen zuurstof meer aanwezig en heeft er reeds volledige denitrificatie plaats gevonden zodat er ook geen nitraat meer aanwezig is. Dus alleen in de aquifers waar geen nitraat meer aanwezig is kan de reductieve dehalogenering in voldoende mate plaats vinden. Wanneer we in de bijlage van KIWA mededeling 97 de winningen uit het bovenste watervoerend pakket nalopen op de aanwezigheid van nitraat en de aanwezigheid van gechloreerde alifatische verbindingen dan blijkt dat 30% van de 74 nitraat bevattende winningen gehalogeneerde verontreinigingen bevatten terwijl slechts twee van de 31 nitraat-loze winningen deze verontreinigingen laten zien. Bij deze twee winningen werd navraag gedaan naar de aanwezigheid van nitraat of gehalogeneerde verontreinigingen in het ruwwater. Een van deze winningen bleek toch nitraat te bevatten [Van Beek, persoonlijke mededeling] terwijl bij de andere al jaren geen gehalogeneerde verontreinigingen aan te tonen waren [Bakkum, persoonlijke mededeling]. Een groot deel van de nitraatloze winningen is anaeroob zodat daar denitrificatie en reductieve dehalogenering kan optreden. Dit betekent dat deze winningen minder kwetsbaar zijn doordat de microflora in de ondergrond in staat is om zuurstof, nitraat en gehalogeneerde alifatische verbindingen te verwijderen. Men zou kunnen speculeren dat in bepaalde gevallen een verhoging van de grondwaterstand een lagere redoxpotentiaal in het grondwater tot gevolg zou kunnen hebben. Hierdoor zou de kwetsbaarheid van de onderliggende aquifer voor nitraat en gehalogeneerde verbindingen kunnen verminderen. Een verlaging van het grondwaterpeil zou dan een omgekeerd gevolg kunnen hebben.

7 Konklusies

De specifieke reductieve dehalogenering zou de alifatische gehalogeneerde verbindingen zoals die nu in het Nederlandse grondwater voorkomen, kunnen reduceren tot verbindingen met minder halogeenatomen. De aanwezigheid van zuurstof of nitraat kan zowel de specifieke als de snellere biologische reductieve dehalogenering verhinderen. Door de lage temperatuur en de lagere bacterie aantallen in een aquifer kan de reductieve dechlorering niet snel plaats vinden en komen er dus in oevergrondwaterwinningen nog gechloreerde alifatische verbindingen voor die niet voldoende tijd hebben gehad om af te breken.

In freatische drinkwaterwinningen komen in afwezigheid van nitraat geen gehalogeneerde organische verbindingen meer voor. Dit wordt vermoedelijk veroorzaakt door de lage redoxpotentiaal die zowel denitrificatie als reductieve dehalogenering mogelijk maakt.

Hoewel de biodegradatie van milieuvreemde verbindingen in het grondwater vermoedelijk een belangrijke rol speelt bij de verwijdering van deze verbindingen is het onverstandig daar blindelings op te vertrouwen. Lokale omstandigheden in de aquifer kunnen een stof op de ene plaats laten afbreken terwijl dezelfde stof op een andere plaats persistent is.

8 Literatuur

- Aelion C.M., Swindoll C.M. and Pfaender F.K. (1987) Adaptation to and biodegradation of xenobiotic compounds by microbial communities from a pristine aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.* 53,2212-2217
- Barker J.F., Tessmann J.S., Plotz P.E. and Reinhard M. (1986) The organic geochemistry of a sanitary landfill leachate plume. *J. Contamin. Hydrol.* 1,171-189
- Barrio-Lage G.A., Parsons F.Z., Nassar R.S., and Lorenzo P.A. (1987) Biotransformation of trichloroethene in a variety of subsurface materials. *Environ. Toxicol. and Chem.* 6,571-578
- Beloin R.M., Sinclair J.L., and Ghiorse W.C. (1988) Distribution and activity of microorganisms in subsurface sediments of a pristine study site in Oklahoma. *Microb. Ecol.* 16,85-97
- Bouwer E.J., Rittmann B.E., and Mccarty P.L. (1981) Anaerobic degradation of halogenated 1- and 2- carbon organic compounds. *Environ. Sci. Technol.* 15,596-599
- Bouwer E.J. and Mccarty P.L. (1983a) Transformations of halogenated organic compounds under denitrification conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 45,1295-1299
- Bouwer E.J. and Mccarty P.L. (1983b) Transformations of 1- and 2-carbon halogenated aliphatic organic compounds under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 45,1286-1294
- Criddle C.S., McCarty P.L., Elliott M.C., and Barker J.F. (1986) Reduction of hexachloroethane to tetrachloroethylene in groundwater. *J. Contam. Hydrol.* 1,133-142
- Delfino J.J. and Miles C.J. (1985) Aaerobic and anaerobic degradation of organic contaminants in florida groundwater. *Soil Crop Sci.Soc.Florida Proceed.* 44,9-14

Dobbins D.C., Thornton-Manning J.R., Jones D.D. and Federle T.W. (1987) Mineralization potential for phenol in subsurface soils. J. Environ. Qual. 16,54-58.

Egli C., Scholtz R., Cook A.M. and Leisinger T. (1987) Anaerobic dechlorination of tetrachloromethane and 1,2-dichloroethane to degradable products by pure cultures of *Desulfobacterium sp.* and *Methanobacterium sp.*. FEMS Microbiology Lett. 43,257-261

Ehrlich G.G., Goerlitz D.F., Godsy E.M. and Hult M.F. (1982) Degradation of phenolic contaminants in ground water by anaerobic bacteria; St. Louis park, Minnesota. Ground Water 20,703-710

Fathepure B.Z., Nengu J.P. and Boyd S.A. (1987) Anaerobic bacteria that dechlorinate perchloroethene. Appl. Environm. Microbiol. 53,2671-2674

Fathepure B.Z. and Boyd S.A. (1988) Dependence of tetrachloroethylene dechlorination on methanogenic substrate consumption by *Methanosarcina sp.* strain dcm. Appl. Environ. Microbiol. 54,2976-2980

Gast, L.F.L., Taat, J. en van Duijvenbooden W. (1985) Landelijk Meetnet Grondwaterkwaliteit. Concentratiekaarten van de eerste bemonstering. RIVM rapport nr 840382001

Ghiorse W.C., and Wilson J.T. (1988) Microbial ecology of the terrestrial subsurface. Advan. Appl. Microbiol. 33,107-172

Gibson S.A. and Suflita J.M. (1986) Extrapolation of biodegradation results to groundwater aquifers: reductive dehalogenation of aromatic compounds. Appl. Environ. Microbiol. 52,681-688

Haigler B.E., Nishino S.F., and Spain J.C. (1988) Degradation of 1,2-dichlorobenzene by a *Pseudomonas sp.*. Appl. Environ. Microbiol. 54,294-301

Holliger C, Stams A.J.M and Zehnder A.J.B. (1988) Anaerobic degradation of recalcitrant compounds. in "Anaerobic Digestion". page 211-224. E.R. Hall and P.N. Hobson eds. Pergamon Press

- Jenkinson, D.S. and Powlson D.S. (1976) The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V. *Soil Biol. Biochem.* 8,209-213.
- Kiene R.P. and Capone D.G. (1986) Stimulation of methanogenesis by aldicarb and several other N-methy carbamate pesticides. *Appl. Environ. Microbiol.* 51,1247-1251
- Klecka G.M. and Gonsior S.J. (1984) Reductive dechlorination of chlorinated methanes and ethanes by reduced iron (II) porphyrins. *Chemosphere* 13,391-402
- Krone U.E., Hogenkamp, H.P.C. and Thauer, R.K. (1989) The reductive dehalogenation of chlorinated Cl-hydrocarbons mediated by corrinoids. *Biochemistry*, submitted.
- Kuhn E.P., Colber P.J., Schnoor J.L., Wanner O., Zehnder A.J.B. and Schwarzenbach R.P. (1985) Microbial transformations of substituted benzenes during infiltration of river water to groundwater: Laboratory column studies. *Environ. Sci. Technol.* 19,961-968
- Kuhn E., van Loosdrecht M., Giger W., and Schwarzenbach R.P. (1987) Microbial degradation of nitrilotriacetate (NTA) during river water/groundwater infiltration: Laboratory column studies. *Wat. Res.* 21,1237-1248
- Ladd T.I., Ventullo R.M., Wallis P.M. and Costerton J.W. (1982) Heterotrophic activity and biodegradation of labile and refractory compounds by groundwater and stream microbial populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 44,321-329
- Lee, M.D., Thomas J.M., Borden R.C., Bedient P.B., Ward C.H., and Wilson J.T. (1988) Bioremediation of aquifers contaminated with organic compounds. *CRC Crit. Rev. Environ. Control.* 18,29-89
- Mahadevaiah B. and Miller G.G. (1986) *Proc. Natl. Symp. Expo. Aquifer Restor. Ground Water Monitor.*, 6 th Columbus OH, pp 384-412
- Moen J.E.T. and Cramer W. (1987) Implementation of a soil protection policy in the Netherlands. pp 135-149. In "Vulnerability of soil and groundwater to

pollutants." van Duijvenbooden W. and van Waegeningh H.G. eds. Noordwijk aan Zee, The Netherlands.

Nelson M.J.K., Montgomery S.O. and Pritchard P.H. (1988) Trichloroethylene metabolism by microorganisms that degrade aromatic compounds. Appl. Environ. Microbiol. 54,604-606

Parsons F. and Lage G.B. (1985a) Chlorinated organics in simulated groundwater environments. J. Am. Water Works Assoc. 77,52-59

Parsons F., Lage G.B., and Rice R. (1985b) Biotransformation of chlorinated organic solvents in static microcosms. Environ. Toxicol. Chem. 4,739-742

Pignatello J.J. (1987) Microbial degradation of 1,2-dibromoethane in shallow aquifer materials. J. Environ. Qual. 16,307-312

Peijnenburg W.J.G.M., den Hollander H.A., van de Meent D., Verboom J.H. and Wolfe N.L. (1988) De ontwikkeling van een structuur-activiteits relatie voor de reductie van gehalogeneerde alifatische koolwaterstoffen in anaerobe water-sediment systemen. RIVM rapport nr. 718817001

Roberts P.V., Goltz M.N. and McKay D.M. (1986) A Natural gradient experiment on solute transport in a sand aquifer. 3. Retardation estimates and mass balances for organic solutes. Water Resour. Res. 22,2047-2058

Rogers J.E., Riley R.G., Li S.W., O'Malley M.L. and Thomas B.L. (1985) Microbial transformation of alkylpyridines in groundwater. Water, Air Soil Pollut. 24,443-454

Suflita J.M. and Miller G.D. (1985) Microbial metabolism of chlorophenolic compounds in groundwater aquifers. Environ. Toxicol. Chem. 4,751-758

Suflita J.M., Gibson S.A. and Beeman R.E. (1988) Anaerobic biotransformations of pollutant chemicals in aquifers. J. Ind. Microbiol. 3,179-194

Swindoll, C.M., Aelion C.M. Dobbins D.C., Jiang O., Long S.C., and Pfaender F.K. (1988) Aerobic biodegradation of natural and xenobiotic organic

compounds by subsurface microbial communities. Environ. Toxicol. Chem. 7,291-299

Thomas J.M., Lee M.D. and Ward C.H. (1987) Use of groundwater in assessment of biodegradation potential in the subsurface. Environ. Toxicol. Chem. 6,607-614

Tiedje J.M., Boyd S.A., Fathepure B.Z. (1987) Anaerobic degradation of chlorinated aromatic hydrocarbons. Dev. Ind. Microbiol. 27,117-127

Uehleke H., Hellmer K.H. and Tabarelli S. (1973) Binding of ¹⁴C-carbon tetrachloride to microsomal proteins in vitro and formation of CHCl₃ by reduced liver microsomes. Xenobiotica 3,1-11

Van Beelen, P. (1986) Bacteriën in het grondwatervoerend pakket van de bodem. Een literatuuroverzicht gericht op de Nederlandse situatie. RIVM rapport nr. 718604001

Van Beelen, P. and Fleuren-Kemilä A.K. (1989) Enumeration of anaerobic and oligotrophic bacteria in subsoils and sediments. J. Contamin. Hydrol. in press.

Van der Kooij, D. and Hijnen W.A.M. (1985a) Determination of maltose- and starch-like compounds in drinking water by growth measurements with a well-defined strain of a *Flavobacterium* species. Appl. Environ. Microbiol. 49,765-771

Van der Kooij. (1985b) Drinkwater uit oevergrondwater. KIWA mededeling 89

Veenendaal G., Van Beek C.G.E.M., Puijker L.M. (1986) Organische stoffen in grondwater. KIWA mededeling 97

Ventullo R.M. and Larson R.J. (1985) Metabolic diversity and activity of heterotrophic bacteria in groundwater. Environ. Toxicol. Chem. 4,759-771

Vogel T.M., Criddle C.S. and McCarty P.L. (1987) Transformations of halogenated aliphatic compounds. Environ. Sci. Technol. 21,722-736

Ward T.E. (1985) Characterizing the aerobic and anaerobic microbial activities in surface and subsurface soils. Environ. Toxicol. Chem. 4,727-737

Wilson J.T., McNabb J.F., Wilson B.H., Noonan M.J. (1983a) Biotransformation of selected organic pollutants in ground water. Dev. Ind. Microbiol. 24,225-233

Wilson J.T., McNabb J.F., Balkwill D.L. and Ghiorse W.C. (1983b) Enumeration and characterization of bacteria indigenous to a shallow water-table aquifer. Ground Water 21,134-141

Wilson J.T., McNabb J.F., Cochran J.W., Wang T.H., Tomson M.B., and Bedient P.B. (1985) Influence of microbial adaptation on the fate of organic pollutants in ground water. Environ. Toxicol. Chem. 4,721-726

Wilson, J.T., Miller G.D., Ghiorse W.C., and Leach F.R. (1986) Relationship between the ATP content of subsurface material and the rate of biodegradation of alkylbenzenes and chlorobenzene. J. Contamin. Hydrol. 1,163-170

Wilson J.T., Miller G.D., Ghiorse W.C. and Leach F.R. (1986) Relationship between the ATP content of subsurface material and the rate of biodegradation of alkylbenzenes and chlorobenzene. J. Contamin. Hydrol. 1,163-170

9 Tabellen

Tabel 1. Het percentage van de grondwaterbronnen die gebruikt worden voor de drinkwaterbereiding, waarin organische verbindingen voorkomen met een concentratie hoger dan 0.5 µg/ml [Veendendaal, 1986].

naam	percentage van de bronnen
trichloormethaan (chloroform)	7.6
tetrachloormethaan	0.3
broomdichloormethaan	0.3
chloorbroommethaan	0.3
tribroommethaan	0.3
1,1,2-trichloorethaan	0.3
1,1,1-trichloorethaan	0.7
1,2-dichloorethaan	5.3
1,2-dichloorpropaan	2.3
tetrachlooretheen (perchloorethyleen)	1.3
trichlooretheen	13.2
dichlooretheen	5.3
dichloorbenzeen	2.6
bis(chloor(iso)propyl)ether	4.9
benzeen	3.0
tolueen	4.6
ethylbenzeen	1.0
dimethylbenzeen	10.2
methyldioxolaan	2.0
methylethyldioxolaan	1.0
diisopropylether	1.3
aldehyde C8-C10	0.3
terpeen C10H16	1.0
tetrahydrothiofeen	0.3
dimethylsulfide	0.3

N-undecaan	0.3
pentylbenzeen	0.3
methylpentanon	0.3
dipropoxyethaan	0.3
tetrahydropyraan	0.6
C10H20 isomeren	0.3
paraldehyde	0.3

Tabel 2. De berekende halfwaardetijd van enkele in het grondwater voorkomende gehalogeneerde verbindingen onder anaerobe condities in aquifers met verschillende koolstofgehaltenes.

organisch koolstof naam	<u>1.00 ‰</u>		<u>0.10 ‰</u>	
	berekende halfw.tijd	maximale halfw.tijd	berekende halfw.tijd	maximale halfw.tijd
chloroform	5 dagen	67 dagen	25 dagen	200 dagen
tetrachloormethaan	4 dagen	66 dagen	13 dagen	121 dagen
broom dichloormethaan	0 dagen	2 dagen	0 dagen	4 dagen
chloorbroommethaan	0 dagen	2 dagen	1 dagen	9 dagen
tribroommethaan	0 dagen	2 dagen	1 dagen	5 dagen
1,1,2-trichloorethaan	6 dagen	75 dagen	26 dagen	208 dagen
1,1,1-trichloorethaan	9 dagen	121 dagen	32 dagen	260 dagen
1,2-dichloorethaan	10 dagen	112 dagen	69 dagen	458 dagen
1,2-dichloorpropaan	19 dagen	209 dagen	92 dagen	600 dagen
tetrachlooretheen	12 dagen	158 dagen	34 dagen	264 dagen
trichlooretheen	17 dagen	176 dagen	67 dagen	431 dagen
dichlooretheen	45 dagen	400 dagen	200 dagen	1072 dagen
dichloorbenzeen	1345 jaren	3943 jaren	3122 jaren	5564 jaren
bis(chloor(iso)propyl)ether	9 dagen	84 dagen	59 dagen	358 dagen

organisch koolstof naam	<u>0.01 %</u>		<u>0.001 %</u>	
	berekende halfw.tijd	maximale halfw.tijd	berekende halfw.tijd	maximale halfw.tijd
chloroform	333 dagen	4 jaren	16 jaren	48 jaren
tetrachloormethaan	112 dagen	2 jaren	5 jaren	18 jaren
broomdichloormethaan	5 dagen	32 dagen	87 dagen	1 jaren
chloorbroommethaan	15 dagen	84 dagen	278 dagen	3 jaren
tribroommethaan	5 dagen	35 dagen	93 dagen	1 jaren
1,1,2-trichloorethaan	335 dagen	4 jaren	16 jaren	48 jaren
1,1,1-trichloorethaan	346 dagen	5 jaren	16 jaren	48 jaren
1,2-dichloorethaan	1049 dagen	12 jaren	52 jaren	127 jaren
1,2-dichloorpropaan	1199 dagen	13 jaren	58 jaren	140 jaren
tetrachlooretheen	270 dagen	3 jaren	12 jaren	34 jaren
trichlooretheen	790 dagen	8 jaren	38 jaren	90 jaren
dichlooretheen	2512 dagen	22 jaren	121 jaren	239 jaren
dichloorbenzeen	17636 jaren	191 eeuwen	2513 eeuwen	1656 eeuwen
bis(chloor(iso)propyl)ether	903 dagen	9 jaren	45 jaren	101 jaren

Tabel 3. Enige persistente verbindingen in vervuilde aquifers [Ghiorse, 1988].

Stof	Locatie	Referenties
Onder aerobe omstandigheden:		
Tetrachlooretheen	Rivierbank Zwitserland	Kuhn, 1985
Onder sulfaat reducerende omstandigheden:		
2,4-dichloorfenol	Onder vuilnisbelt Oklahoma	Gibson, 1986
3,4-dichloorfenol		
2,4,5-trichloorfenol		
Onder methanogene omstandigheden:		
2-chloorfenol	Onder vuilnisbelt Oklahoma	Gibson, 1986
naftaleen	Creosote verontreiniging in Minnesota	Ehrlich, 1982

Tabel 4. De vergelijking van de afbraak van gechloreerde verbindingen door *Desulfobacterium autotrophicum* of *Methanobacterium thermoautotrophicum* [Egli, 1987] met de berekende halfwaardetijd van de verbinding in een aquifer met 1% koolstof uit tabel 2.

Naam	Halfwaardetijd in dagen	Reductieve dehalogenering door:	
		<i>Methanobacterium</i>	<i>Desulfobacterium</i>
tetrachloormethaan	4	ja	ja
chloroform	5	ja	ja
1,1,1-trichloorethaan	9	ja	ja
1,2-dichloorethaan	10	ja	n.o.
1,1-dichloorethaan	10	nee	n.o.
tetrachlooretheen	12	ja	nee
trichlooretheen	17	nee	nee
monochloorethaan	33	nee	n.o.
dichlooretheen	45	nee	nee

n.o. betekend niet onderzocht

Tabel 5. De biodegradatie van enige organische verbindingen in laboratorium experimenten met niet geadapteerde aerobe ondergrond.

Stof	Locatie	halfwaarde		Referenties
		-tijd in	dagen	
Arginine	grondwater Ohio	0.17	- 0.03	Ventullo 1985
Glucose	grondwater Ohio	0.13	- 0.10	
	leem en zand	1.07	- 0.57	Ward 1985
Glutamaat	grondwater Ohio	0.04	- 0.01	Ventullo 1985
	leem en zand	0.75	- 0.30	Ward 1985
Glutaminezuur	grondwater Canada	0.07	- 0.02	Ladd 1982
Glycolaat		1.27		
Nitriloazijnzuur	leem en zand	6.7	- 3.6	Ward 1985
	zand	0.5		Kuhn 1987
Phenylalanine	grondwater Canada	0.04		Ladd 1982
Acetaat	leem en zand	0.36		Ward 1985
	zand Oklahoma	10		Swindoll 1988
Azijnzuur propionzuur en boterzuur	kalk England	16.1		Kiene 1986
Methyl-ethylketon	grondwater Florida	6		Delfino 1985
Stearinezuur	leem en zand	13	- 3.4	Ward 1985
Aminozuren	zand Oklahoma	2.5		Swindoll 1988
Cinnamine zuur	zand Oklahoma	222		
Cellulose	zand Oklahoma	160		
Broomdichloormethaan	zand klei Oklahoma	> 242		Wilson 1983 a
Bromoform	zand Canada	400		Roberts 1986
Tetrachloormethaan	zand Canada	> 2426		Barker 1986
1,2-Dibroomethaan	zand Oklahoma	> 404		Wilson 1983 a,b
	zand Oklahoma	0.69		Aelion 1987
	zand Oklahoma	0.6		Swindoll 1988
	klei Louisiana	> 404		Wilson 1983 a,b
	zand Ontario	161		Roberts 1986

Hexachloorethaan	zand Ontario	48.5	Criddle 1986
	zand Ontario	25	Roberts 1986
Tetrachlooretheen	zand Ontario	> 5391	Roberts 1986
	klei Louisiana	2426 - 539	Wilson 1983 a,b
1,1,1-Trichloorethaan	klei Oklahoma	> 485	Wilson 1983 a,b
	klei Louisiana	> 97.0	
Trichlooretheen	klei Oklahoma	> 485	
Chloorbenzeen	zand Oklahoma	> 539	Wilson 1983 a,b
	gravel Oklahoma	242 - 80.8	Wilson 1986
1,2-Dichloorbenzeen	zand Ontario	250	Roberts 1986
Trichloorbenzeen	zand Oklahoma	> 485	Aelion 1987
	zand Oklahoma	160	Swindoll 1988
m-Aminofenol	zand Oklahoma	16.1 - 9.70	Aelion 1987
Methyl parathion	leem en zand	> 20 - 17	Ward 1985
p-Chloorfenol	zand Oklahoma	1.47	Aelion 1987
Benzoëzuur	leem en zand	0.30	Ward 1985
m-Cresol	klei Oklahoma	2.02 - 0.28	Dobbins 1987
p-Cresol	grondwater Florida	3	Delfino 1985
p-Nitrofenol	zand Oklahoma	> 970	Aelion 1987
	zand Oklahoma	0.26	Aelion 1987
Fenol	zand Oklahoma	8.3	Swindoll 1988
Acenaphtheen C ₁₂ H ₁₀	zand Texas	> 161	Wilson 1985
Benzeen	zand Texas	> 161	Wilson 1986
	Ontario	48.5	Barker 1986
	rivier Oklahoma	24.2	Mahadevaiah 1986
	grondwater Florida	12	Delfino 1985
Dibenzofuran	zand Texas	> 48.5	Wilson 1985
Ethylbenzeen	river Oklahoma	24.2	Mahadevaiah 1986
Fluoreen	zand Texas	> 48.5	Wilson 1985
2-Methylnaphtaleen	zand Texas	> 48.5	
Naphtaleen	zand Texas	> 485.	
	zand Oklahoma	3000	Swindoll 1988
	grondwater Florida	7	Delfino 1985
	grondwater Texas	2	Thomas 1987
Styreen	zand Oklahoma	242 - 121	Wilson 1985
	klei Louisiana	48.5	Wilson 1983 a,b

Tolueen	zand Oklahoma	539	- 9.33	Wilson 1983 a,b
	zand Oklahoma	115		Swindoll 1988
	gravel Oklahoma	> 485		Wilson 1986
	zand Oklahoma	1.61		
	zand Ontario	48.5		Barker 1985
	klei Oklahoma abiot.	161		Wilson 1983 b
	zand Texas abiotisch	121		Wilson 1986
	river Oklahoma	24.2		Mahadevaiah 1986
o-Xyleen	zand Texas	> 161		Wilson 1986
	zand Oklahoma	24.2		Mahadevaiah 1986
	zand Ontario	24.2		Barker 1986
m-Xyleen	zand Texas	> 97.0		Wilson 1986
	river Oklahoma	24.2		Mahadevaiah 1986
	zand Ontario			Barker 1986
p-Xyleen	zand river Oklahoma	24.2		Mahadevaiah 1986
	zand Ontario	24.2		Barker 1986
Aniline	zand Oklahoma	12.1	- 3.73	Aelion 1987
3-Methylpyridine	grondwater Colorado	4		Rogers 1985
2,5-Dimethylpyridine		31		
2,4,6-Trimethylpyridine	ongeveer	60		
Butylpyridines	ongeveer	60		
Pentylpyridines		31	- 18	
Hexylpyridine		18		

10 APPENDIX

BEREKENING VAN DE (ABIOTISCHE) REDUCTIESNELHEID VAN GEHALOGENEERDE ALIFATISCHE KOOLWATERSTOFFEN ONDER ANAEROBE OMSTANDIGHEDEN.

Zoals beschreven door Peijnenburg kan de reductiesnelheid van gehalogeneerde alifatische koolwaterstoffen worden berekend met behulp van de volgende structuur-activiteits relatie:

$$\text{Log } K = \text{Log}(1/1+Kd) - 0.142*BS + 0.483*\sigma^* + 0.039*BE + 1.265*\text{Log } oc + 4.230$$

Hierbij is:

- K de reactiesnelheidsconstante (min^{-1}).
- Kd een verhoudingsgetal dat de verhouding weergeeft tussen enerzijds de aan het organisch koolstof geadsorbeerde fractie van de uitgangsverbinding en anderzijds de in oplossing zijnde fractie van deze verbinding. Kd kan worden berekend met behulp van de formule:

$$Kd = Koc * oc * R * 100$$

In deze formule is:

- Koc de adsorptiecoefficient van de te onderzoeken halogeenverbinding (l/kg).
- oc het organisch koolstof gehalte van de vaste fase (%).
- R de vaste stof-concentratie (gram vaste stof/gram aquifer).
- BS de bindingssterkte van de te verbreken koolstof-halogeen binding (kcal/mol). In tabel 6 is de bindingssterkte van een aantal koolstof-halogeen bindingen weergegeven.
- σ^* de sommatie van de Taft sigma constantes van de verschillende substituenten. In tabel 7 zijn de Taft sigma constantes van een aantal veel voorkomende substituent-groepen weergegeven.
- BE het verschil in hybridisatie-energie, voor en na reductie, van het koolstofatoom waar de feitelijke reductie plaats vindt (kcal/mol). In tabel 8 is het hybridisatie-energie verschil van een aantal koolstofatomen weergegeven.
- oc het organisch koolstof gehalte van de vaste fase (%).

Als voorbeeld voor de berekening van de waarde van de parameters BS, σ^* en BE kunnen de volgende verbindingen dienen:

A- **1,2-dichloorpropaan, $\text{CH}_3\text{CHClCH}_2\text{Cl}$.**

1-BS; het reactiecentrum is een ethaan-derivaat, de te reduceren binding is een alifatische C-Cl binding, met een bindingssterkte van 81 kcal/mol.

2- σ^* ; het ethaan-derivaat bevat 1 CH_3 -groep, 3 H-atomen en 2 Cl-atomen, zodat de sommatie van de Taft sigma constantes volgens tabel 7 de waarde 2.00 oplevert.

3-BE; het reactiecentrum is een alkaan-derivaat, zodat het verschil in bindingsenergie gelijk is aan 63.2 kcal/mol.

B- **bis(2-chloorisopropyl)ether, $((\text{CH}_3)_2\text{CCl})\text{O}(\text{CCl}(\text{CH}_3)_2)$.**

Dit molecuul bevat twee identieke chloride-atomen die onafhankelijk van elkaar onder anaerobe omstandigheden gereduceerd kunnen worden. Dit houdt in dat voor dit specifieke geval de totale reductiesnelheid gelijk is aan 2 keer de berekende reductiesnelheid van elk van de afzonderlijke functionele groepen. De waarden van de parameters BS, σ^* en BE kunnen voor elke afzonderlijke groep als volgt worden berekend:

1-BS; de te verbreken binding is een alifatische C-Cl binding met een bindingssterkte van 81 kcal/mol.

2- σ^* ; elk afzonderlijk reactiecentrum is een methaan-derivaat, met daaraan verbonden 2 CH_3 -groepen, 1 Cl-atoom en 1 $\text{O}(\text{CCl}(\text{CH}_3)_2)$ -groep. Aangezien de waarde van de Taft sigma constante van de $\text{O}(\text{CCl}(\text{CH}_3)_2)$ -groep niet bekend is, kan σ^* voor deze groep benaderd worden door de σ^* van een OCH_3 -groep. Dit betekent dat de sommatie van de Taft sigma constantes de waarde 6.30 oplevert.

3-BE; het reactiecentrum is een methaan-derivaat, zodat het verschil in bindingsenergie gelijk is aan 63.2 kcal/mol.

Tabel 6. Overzicht van de bindingssterkte van een aantal koolstof-halogeën bindingen.

Type binding	Bindingssterkte (kcal/mol)
Br-C _{alifatisch}	68
Br-C _{aromatisch}	80
Cl-C _{alifatisch}	81
Cl-C _{aromatisch}	95
F-C _{alifatisch}	108
F-C _{aromatisch}	125
I-C _{alifatisch}	55.5
I-C _{aromatisch}	64

Tabel 7. Overzicht van de Taft sigma constanten van een aantal veel voorkomende substituent-groepen.

Substituent	σ^*	Substituent	σ^*
H	0.00	CH ₃	-0.10
F	1.10	C ₂ H ₅	-0.12
Cl	1.05	i-C ₃ H ₇	-0.13
Br	1.02	i-C ₄ H ₉	-0.17
I	0.88	CF ₃	0.92
OH	0.55	SH	0.47
O ⁻	0.27	SCH ₃	0.42
OCOCH ₃	0.89	NH ₂	0.40
OCH ₃	0.66	N(CH ₃) ₂	0.22
CO ₂ R	0.66	N ⁺ (CH ₃) ₃	2.00
COCH ₃	0.62	NO ₂	1.40
C ₆ H ₅	0.22	CN	1.25
CH=CH ₂	0.12	C ₆ H ₄ CH ₂	0.08

Tabel 8. Overzicht van het verschil in hybridisatie-energie van een aantal reactiecentra.

Reactiecentrum	Energie-verschil (kcal/mol)
Alkaan (inclusief methaan-derivaten)	63.2
Alkeen	53.8
Phenyl	20.0