

services

and technologies

for a better environment

dekonta



TEPELNĚ PODPOROVANÁ ANAEROBNÍ BIODEGRADACE CHLOROVANÝCH ETHYLENŮ V PODZEMNÍ VODĚ

**Vladislav Knytl, Petra Najmanová, Jana Steinova,
Jiřina Macháčková, Jan Nemeček**



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
www.tul.cz

Thermobiorem

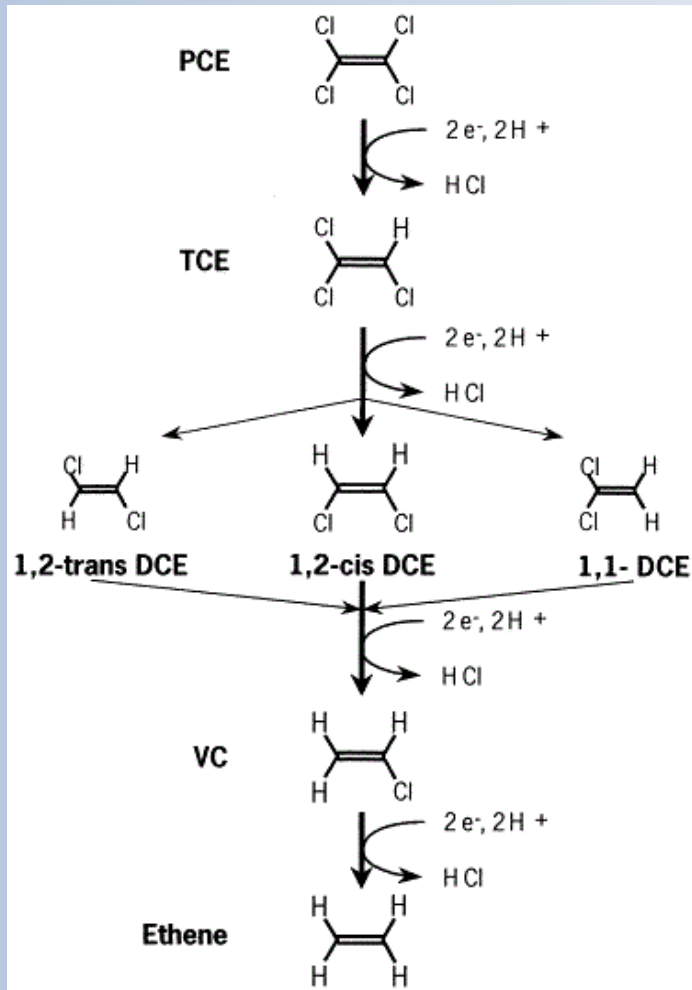
TH01031225

Vývoj a testování metody tepelně podporované in-situ anaerobní bioremediace chlorovaných kontaminantů v horninovém prostředí (Thermo-Bio-Rem) (2015-2018, TA0/TH)

2015 -2017



Biologická reduktivní dechlorace



(Smidt et al., 2000)

- anaerobní biodegradační proces
- ClE akceptorem elektronu a atom chloru v jeho molekule je nahrazen atomem vodíku
- Pokud se jedná o biologickou reakci, kdy mikroorganismy využívají energii a uhlík pro svou existenci získávají z jiných organických látek (substrát)–BRD - halorespirace
- *Dehalococcoides* spp. – schopnost dechlorace PCE až na ethen/ethan
- Optimální teploty růstu těchto bakterií je vyšší než průměrná teplota ve vrtech → zvýšení teploty podzemní vody → urychlení BRD

Techniky ohřevu horninového prostředí

- využívají se obecně pro zlepšení fyzikálně-chemické vlastnosti polutantu (mobilizace) → lepší sanovatelnost mechanicko-fyzikální sanací
- propařování, venting, mikrovlnný ohřev atd. – řada z nich není pro podporu BRD vhodná – vysoké teploty, inhibice

Techniky vhodné pro stimulaci biodegradačních procesů – děleny dle dvou kritérií :

Ex-situ – je zasakováno ohřáté médium – využití odpadního tepla, solární energie, elektrické energie

In-situ - energie je do podzemí dodávána v jiné formě – ohříváč ve vrtu, tepelně vodivostní ohřev, elektrický ohřev, elektromagnetické vlnění



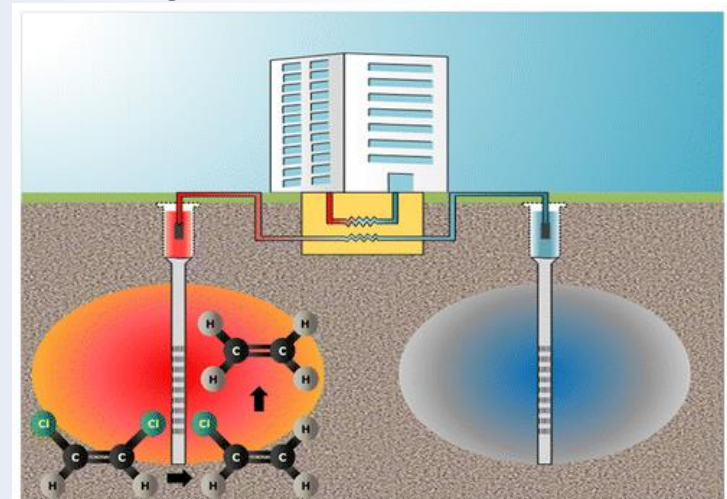
Techniky ohřevu horninového prostředí

pro podporu biodegradace dostačuje jen mírný ohřev podzemní vody → injektáž teplé vody či ohřívání vody ve vrtu

- technicky snadno proveditelné
- ekonomicky přijatelné metody – zvláště pokud je přítomen zdroj odpadního tepla
- možnost snadno regulovat teplotu

cirkulaci podzemní vody lze použít i pro distribuci fermentujícího substrátu v horninovém prostředí, který je pro urychlení biologické reduktivní dechloraci nezbytný

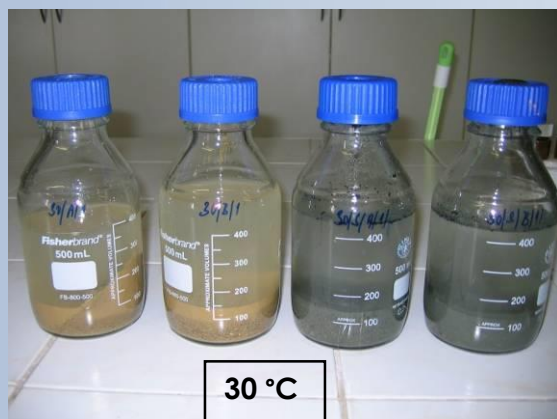
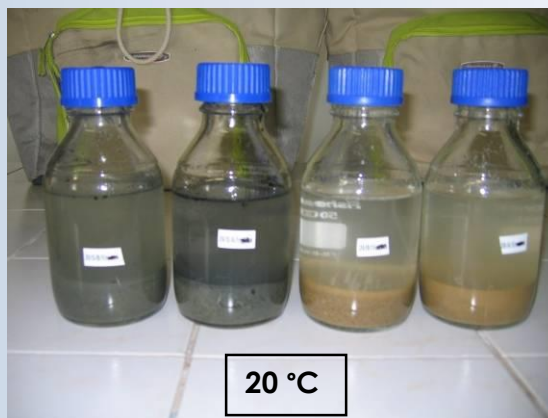
-ATES - Aquifer Thermal Energy Storage
- možné propojení s BRD – výzkum posledních let



Laboratorní testy tepelně podporované BRD

- podzemní voda - 9 500 µg/l suma CIE; dominantní TCE
- vsádkové laboratorní testy - anaerobní podmínky, 200g zeminy/400 ml podzemní vody
 - dodaný substrát syrovátka 1g/l vs. vs kontroly bez substrátu
 - paralelní stanovení jednotlivých variant
- doba trvání 9 týdnů; 4 různé teploty:
 - 10 °C** – teplota simulující průměrnou teplotu podzemních vod v ČR;
 - 20 °C** – ohřev podzemní vody o 10 °C;
 - 30 °C** – optimální teplota růstu pro většinu bakterií i haloferofilních (např. *Dehalobacter*, *Desulfitobacterium*, *Desulfuromonas*);
 - 40 °C** – optimální teplota termofilních bakterií; teplota, při které mohou dehalogenační bakterie ještě růst

Laboratorní testy tepelně podporované BRD



Chemické analýzy: CIE (VC, 1,1-DCE, *cis*- a *trans*-1,2-DCE, TCE, PCE), TOC, chloridy, ethan, ethen a metan

Ostatní parametry: pH, ORP, elektrická konduktivita, psychofilní bakterie a SRB

Molekulární metody: detekce genů kódujících enzymy vinylchlorid reduktázu a genů 16S rRNA specifických pro vybrané halorespirační bakterie

Jednotlivé varianty laboratorního testu BRD po 3. týdnech inkubace při různých teplotách

Molekulární biologické metody obecně

- sledování změny ve složení bakteriálního společenstva podílejícího se na biodegradaci CIU a detekce přítomných aktivních enzymů

1. **Izolace DNA** – základ molekulární genetiky - komerční kity adsorpci nukleových kyselin
2. **Kvantitativní PCR (qPCR)** - polymerázová řetězová reakce - metoda rychlého a snadného zmnožení úseku DNA založena na principu replikace nukleových kyselin
 - **sledovány hladiny enzymů (dehalgenáz)** vytipovaných pro sledování probíhající dehalogenace (*vcrA* a *bvcA*) – dehalogenázy rozkládající vinylchlorid
 - **hladiny specifických bakteriálních druhů či skupin**, které svou přítomností podporují hypotézu probíhající anaerobní dechlorace

Molekulární biologické metody v rámci laboratorních testů

Detekce následujících skupin mikroorganismů:

1. síran-redukující bakterie

2. denitrifikační bakterie

3. bakterie degradující chlorované uhlovodíky:

- geny kódující reduktivní dehalogenázy
- 16S rRNA geny specifické pro konkrétní bakteriální rody se známou schopností reduktivní dehalogenace (rody *Dehalococcoides* sp., *Dehalobacter* sp. a *Desulfitobacterium* sp).
- celková bakteriální biomasa pomocí genu 16S rRNA



Microbiology: An Evolving Science, Third Edition Figure 14.25b
Copyright © 2014 W. W. Norton & Company, Inc.

Primery využité pro kvantitativní PCR během laboratorních zkoušek

Název primeru	Sekvence 5'-3'	Specifická	Zdroj
Dre441F	GTTAGGGAAGAACGGCATCTGT	<i>Dehalobacter</i> sp.; gen 16S rRNA	Smits et al., 2004
Dre645R	CCTCTCCTGTCTCAAGCCATA		
DHC793f	GGGAGTATCGACCCTCTCTG	<i>Dehalococcoides</i> sp.; gen 16S rRNA	Yoshida et al., 2005
DHC946r	CGTTYCCCTTTTCRGTTCACT		
Dsb406F	GTACGACGAAGGCCTTCGGGT	<i>Desulfitobacterium</i> sp.; gen 16S rRNA	Smits et al., 2004
Dsb619R	CCCAGGGTTGAGCCCTAGGT		
bvcA277F	TGGGGACCTGTACCTGAAAA	gen kódující vinylchlorid-reduktázu, <i>Dehalococcoides</i> sp. strain BAV-1	Behrens et al., 2008
bvcA523R	CAAGACGCATTGTGGACATC		
vcrA880F	CCCTCCAGATGCTCCCTTTA	gen kódující vinylchlorid-reduktázu, <i>Dehalococcoides</i> sp. strain VS	Behrens et al., 2008
vcrA1018R	ATCCCCTCTCCCGTGAACC		
RH1-aps-F	CGCGAAGACCTKATCTTCGAC	síran-redukující bakterie: gen kódující adenosin-5'-fosfosulfát reduktázu	Ben-Dov et al.; 2007
RH2-aps-R	ATCATGATCTGCCAGCGGCCGGA		
nirK876	ATYGGCGGVCA YGGCGA	denitrifikační bakterie: gen kódující nitrát-reduktázu	Henry et al., 2004
nirK1040	GCCTCGATCAGRTRTGGTT		
16SqPCR-F	TCCTACGGGAGGCAGCAGT	všechny bakterie: gen pro 16S rRNA	Clifford et al., 2012
16SqPCR-R	GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT		

Výsledky vstupních analýz PV a zeminy ze zájmové lokality

Podzemní voda; vrt IN-3	Jednotky	Vstup A	Vstup B	Průměr
1,1-dichlorethen	µg/l	<10	<10	<10
cis-1,2-dichlorethen	µg/l	3 200	2 689	2 945
trans-1,2-dichlorethen	µg/l	<10	<10	<10
trichlorethen	µg/l	5 990	6 230	6 110
tetrachlorethen	µg/l	317	325	321
vinylchlorid	µg/l	39	28	34
Σ chlorovaných ethenů	µg/l	9 546	9 272	9 409
acetylen	µg/l	<1,0	<1,0	<1,0
ethan	µg/l	1,4	1,8	1,6
ethen	µg/l	<1,0	<1,0	<1,0
methan	µg/l	4,6	6,9	5,8
TOC	mg/l	59,3	47,1	53,2
chloridy	mg/l	91,5	88,6	90,1
pH	---	7,1	7,2	7,2
elektrická vodivost	mS/m	124	113	119
ORP	mV	212,3	167,2	189,8
psychofilní bakterie	KTJ/ml	3,00E+01	1,00E+02	6,50+01
SRB	KTJ/ml	0	0	0

Zemina	Jednotky	Výsledek
sušina	%	88,8
1,1-dichlorethen	mg/kg sušiny	< 0,05
cis-1,2-dichlorethen	mg/kg sušiny	< 0,05
trans-1,2-dichlorethen	mg/kg sušiny	< 0,05
trichlorethen	mg/kg sušiny	0,12
tetrachlorethen	mg/kg sušiny	< 0,05
vinylchlorid	mg/kg sušiny	< 0,05

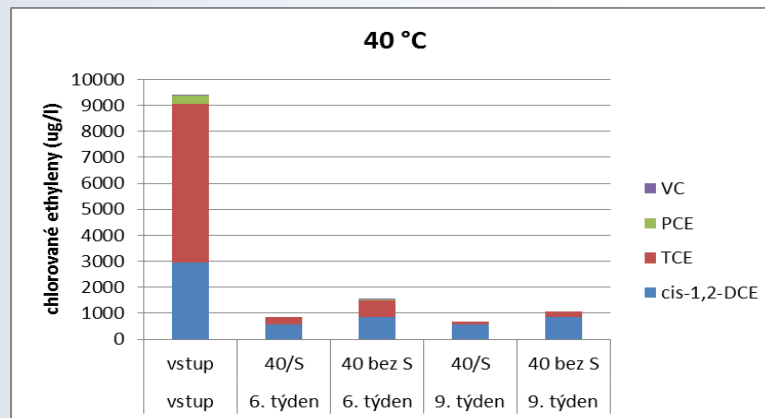
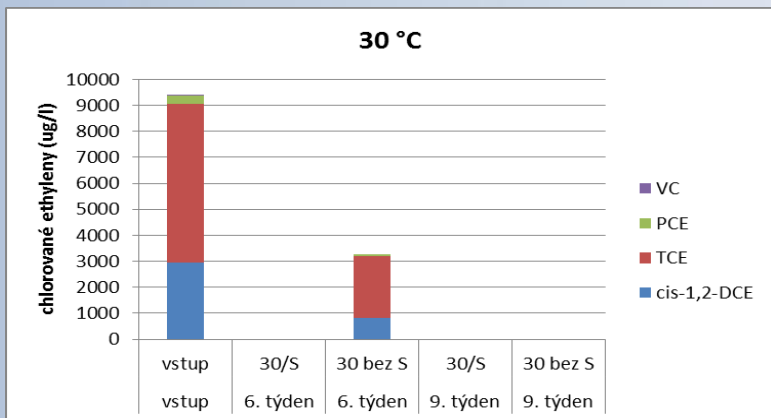
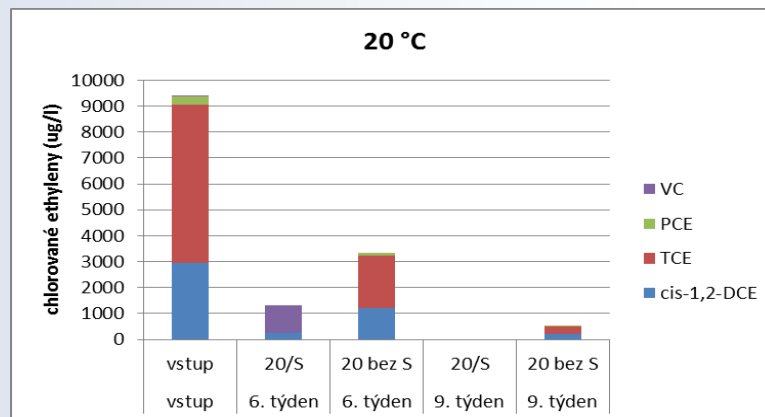
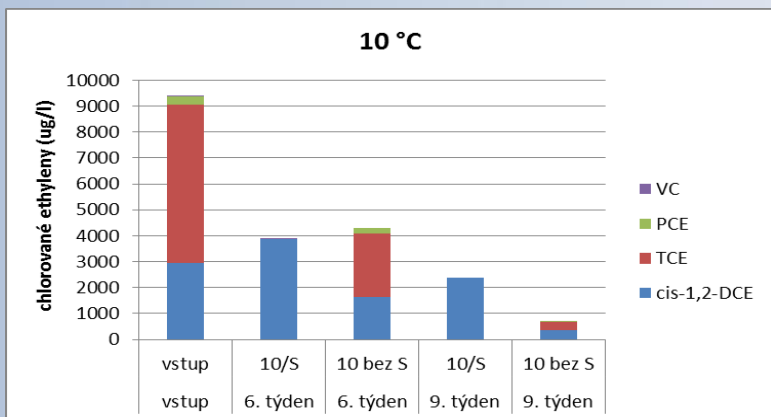
RCADIS CZ a s., Laborator geomechaniky a terénní měření

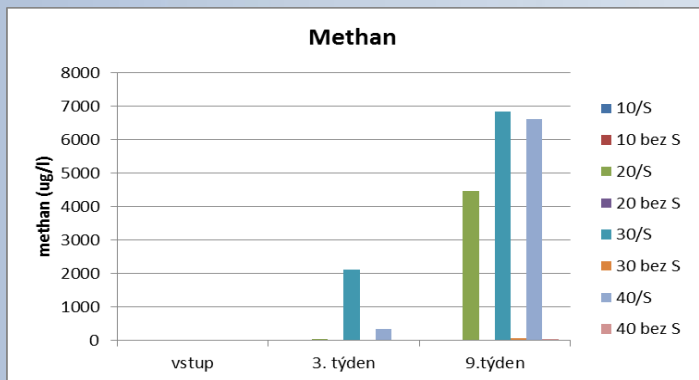
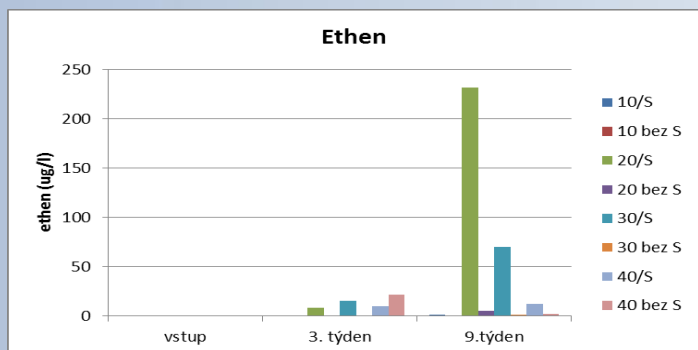
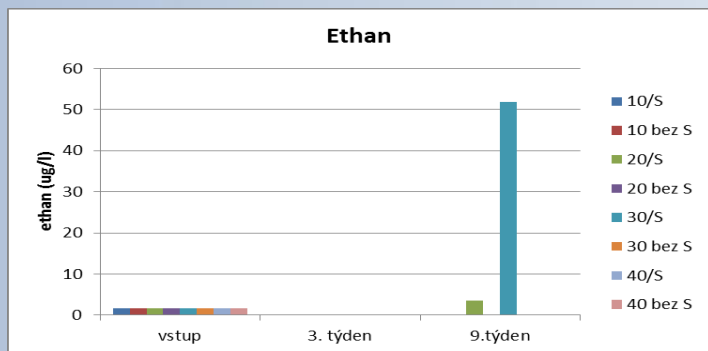


Název zakázky: Síťová analýza - Uherský Brod
 Číslo zakázky: 1505382034
 Číslo vorku: 40395
 Sonda: 1

Zařídění podle: ČSN 73 8133 S3 S-F
 ČSN EN ISO 14688-2: grňa
 Odhad z křivky zrnitosti: samržavost: mírně namrzavá
 propustnost: málo propustná

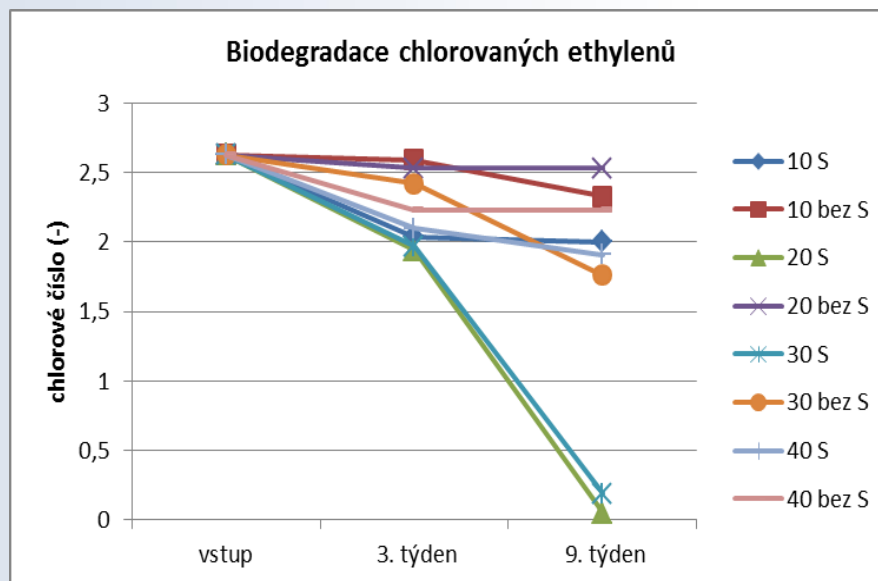
Výsledky



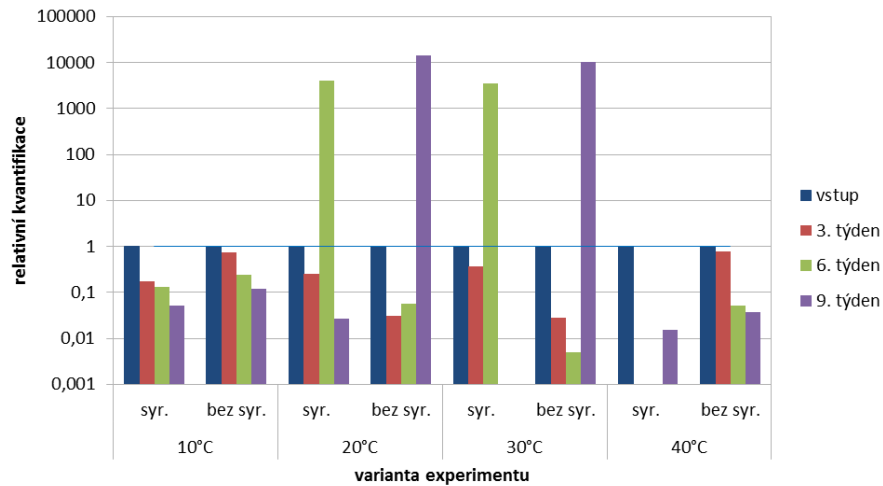


chlorové číslo (chloridový index) - popis stádia degradace matečných kontaminantů (TCE a PCE) na produkty rozkladu (VC a ethen) podle Bewley et al. (2015):

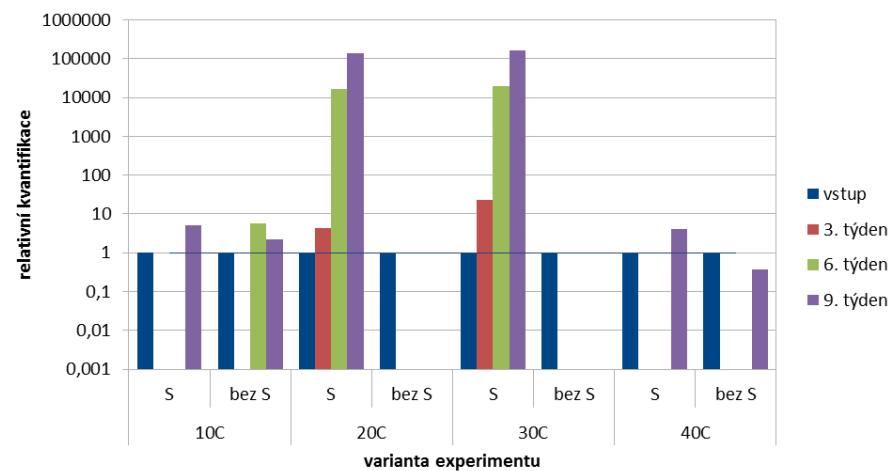
$$\frac{4[PCE] + 3[TCE] + 2[DCE] + 1[VC] + [ethen]}{([PCE] + [TCE] + [cis - DCE] + [VC] + [ethen])}$$



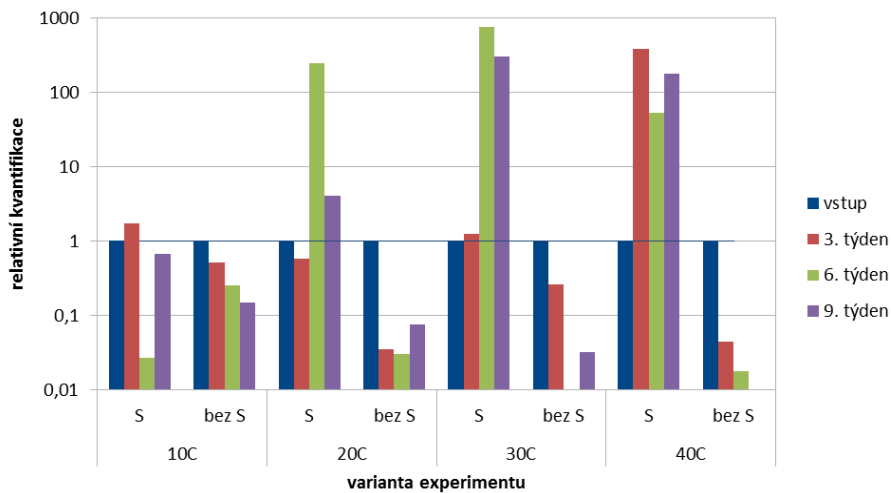
Dehalococcoides sp. (DHC-RT)



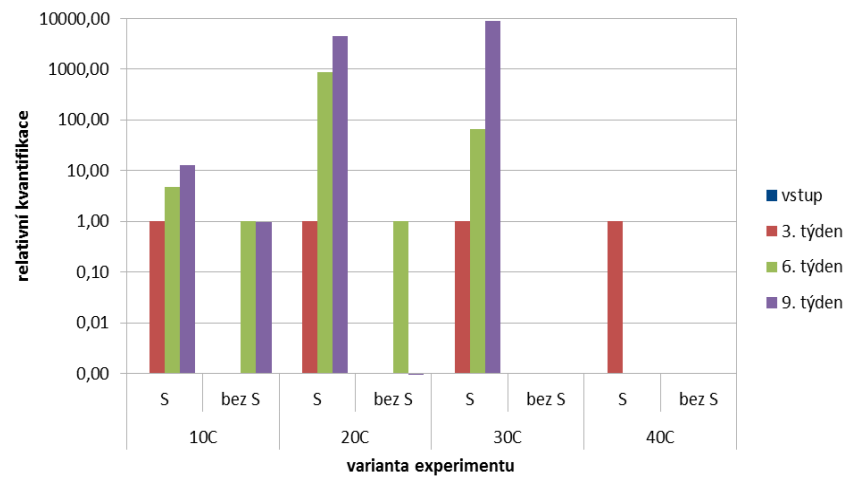
vcrA



Dehalobacter sp. (Dre)



bvcA



Závěry testů

- výsledky molekulárně biologických analýz velice dobře korespondují chemickými výsledky
- porovnání teplot 20 a 30 °C - v případě nižší teploty bylo dosaženo lepších výsledků (nejnižší chlorové číslo, nejvyšší produkce ethenu i chloridů)
- k největšímu rozvoji studovaných mikroorganismů došlo při ohřevu na teploty 20 °C a 30 °C ve variantách se syrovátkou; 40 °C nárůst množství těchto organismů neumožňuje, dáno jejich ekologickým optimem
- pro rozvoj halorespirujících organismů při teplotách 20 °C a 30 °C dodání syrovátky má jednoznačně pozitivní vliv

Vzhledem k tomu, že průměrná teplota testované podzemní vody na lokalitě je 15 °C, zvýšení teploty o pouhých 5 °C může značně urychlit proces biologické reduktivní dechlorace, což má vysoký potenciál pro remediaci kontaminovaných lokalit chlorovanými rozpouštědly.

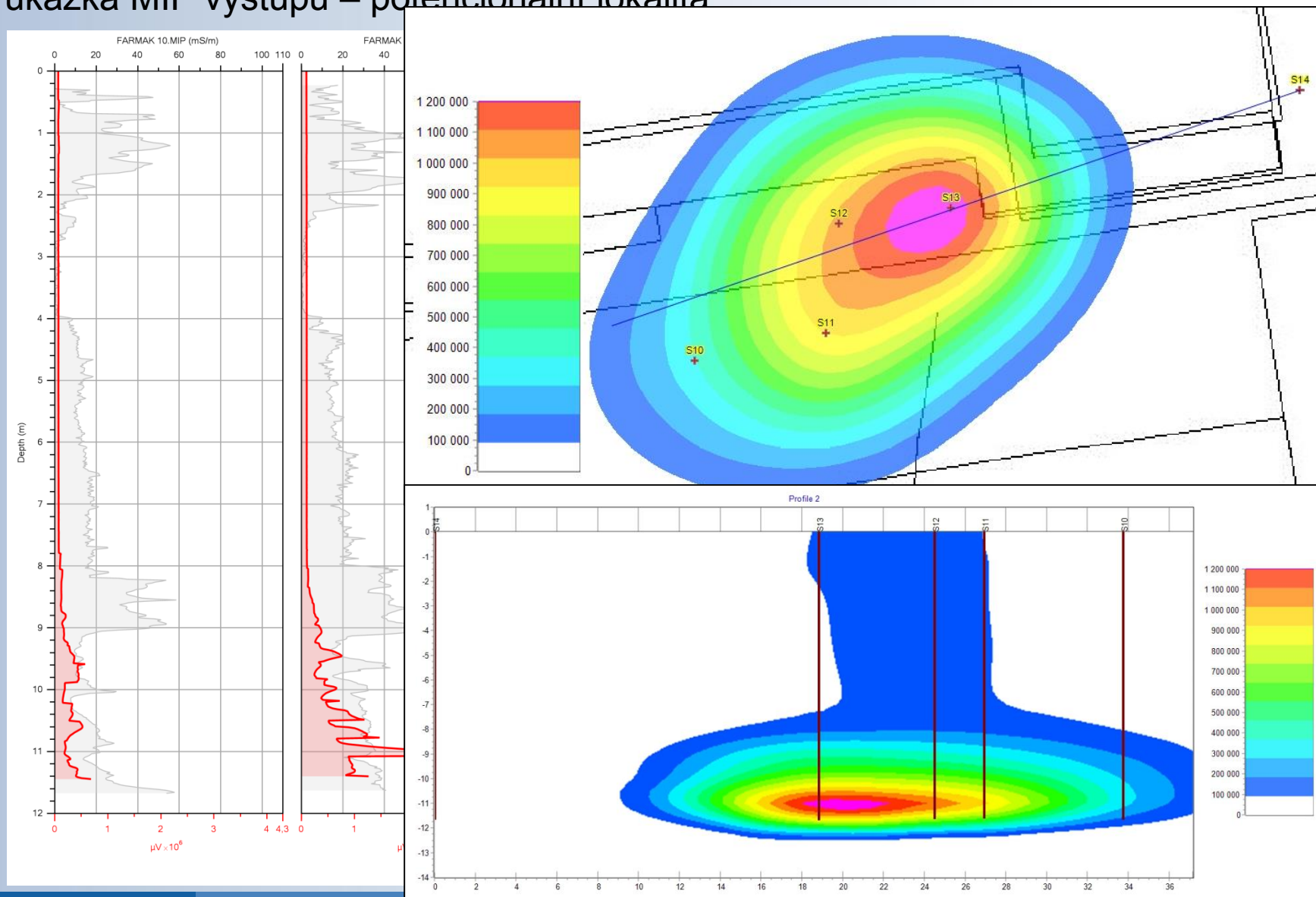
Výhled - pilotní ověření

- pilotní ověření – matematický model ohřevu, studie proveditelnosti – výběr vhodného typu ohřevu
 - výběr vhodných lokalit
 - již proběhly prvotní pilotní testy – solární ohřev
-
- MIP (Membrane Interface Probe) průzkum + vrtná souprava Geoprobe 7822DT



Pilotní ověření

➤ ukázka MIP výstupu – potencionální lokalita



Výhled - pilotní ověření

- MIP (Membrane Interface Probe) průzkum + vrtná souprava Geoprobe 7822DT
- instalace sítě piezometrů – odběr a monitoring teploty podzemní vody
- MIP – využití i na monitoring pilotních testů:



- úprava = port pro odběry půdního vzduchu – vzorkovací zařízení i do velkých hloubek
- SKC trubičky - speciace VOCs – užitečné pro hodnocení poměrové zastoupení degradačních produktů BRD – VC, DCE, ethan, ethen

Děkuji za pozornost