

Rensning af MTBE-forurenede grundvand vha. propanoxiderende mikroorganismer

Per Loll & Claus Larsen
Dansk Miljørådgivning A/S

Kaj Henriksen
Aalborg Universitet

Miljøprojekt **Nr. 1173** 2007
Teknologiudviklingsprogrammet for
jord- og grundvandsforurening

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

FORORD	5
RESUMÉ.....	7
SUMMARY	9
1 INDLEDNING	11
1.1 Baggrund.....	11
1.2 Formål og projektstruktur	12
2 DEL I: BATCHFORSØG	13
2.1 Teori.....	13
2.1.1 <i>Biologisk nedbrydning af organiske stoffer</i>	13
2.1.2 <i>Nedbrydning af MTBE</i>	15
2.1.3 <i>Mikrobiologisk vækst</i>	16
2.1.4 <i>Temperatures betydning</i>	17
2.2 Resultater	17
2.2.1 <i>Fremelskning, selektion og opformering</i>	18
2.2.2 <i>Mikroorganismernes vækst</i>	18
2.2.3 <i>Nedbrydning af propan</i>	20
2.2.4 <i>Nedbrydning af MTBE</i>	22
2.2.4.1 <i>Afhængighed af propan-koncentrationen</i>	22
2.2.4.2 <i>Afhængighed af MTBE-koncentrationen</i>	23
2.2.5 <i>Temperatur-følsomhed</i>	25
2.2.6 <i>Ilt-følsomhed</i>	28
2.2.7 <i>BTEX-følsomhed</i>	30
2.2.8 <i>Substrattilførsel</i>	33
2.2.9 <i>Nedbrydningsprodukter</i>	36
2.2.10 <i>Øvrige forhold</i>	41
2.2.10.1 <i>Vandtype</i>	41
2.2.10.2 <i>Biomasseseperation</i>	42
2.3 <i>Sammenfatning og vurdering</i>	43
3 DEL II: REAKTORFORSØG.....	47
3.1 Teori.....	47
3.1.1 <i>Reaktorvolumen og hydraulisk opholdstid</i>	47
3.1.2 <i>Reaktordesign</i>	47
3.1.2.1 <i>Kontinuert reaktor</i>	48
3.1.2.2 <i>Sekventiel batch reaktor (SBR)</i>	49
3.1.2.3 <i>Overslagsberegninger</i>	51
3.2 <i>Forsøgsopstilling</i>	53
3.3 <i>Resultater</i>	55
3.3.1 <i>MTBE-nedbrydning ved 0,19 mg propan/L</i>	56
3.3.2 <i>MTBE-nedbrydning ved 0,32 mg propan/L</i>	59
3.4 <i>Sammenfatning og vurdering</i>	63

4 DEL III: POTENTIALIA FOR ON-SITE RENSNING	65
4.1 Opskaleringsberegninger	65
4.1.1 Forudsætninger	65
4.1.2 Beregninger	67
4.2 Økonomiske beregninger	68
4.2.1 Forudsætninger	68
4.2.1.1 Anlægskomponenter	68
4.2.1.2 Driftsposter	70
4.2.1.3 Prisfastsættelse	70
4.2.2 Beregninger	72
4.3 Sammenfatning og vurdering	73
5 REFERENCER.....	75
Bilag A: Laboratorieprocedurer	79
A.1: Fremelskning, selektion og opformering	79
A.2: Mikroorganismernes vækst.....	80
A.3: Nedbrydning af propan.....	81
A.4: Nedbrydning af MTBE.....	81
A.5: Temperatur-følsomhed.....	82
A.6: Ilt-følsomhed.....	82
A.7: BTEX-følsomhed.....	82
A.8: Substrattilførsel	83
A.9: Nedbrydningsprodukter	84
Bilag B: Næringsmedie	85
Bilag C: Kemisk vandanalyse	87
Bilag D: Numerisk model	89
Bilag E: Beregning af nødvendig tilsætning af næringsalte	93
Bilag F: Eksempel på beregning af enhedspris.....	95
F.1: Anlægsomkostninger.....	95
F.2: Driftsomkostninger	95
F.3: Samlet opgørelse.....	96

Forord

Denne rapport skitserer resultaterne fra et samarbejdsprojekt mellem Dansk Miljørådgivning A/S og Sektion for Miljøteknologi, Aalborg Universitet. Projektet er udført under og finansieret af Miljøstyrelsens Teknologiuudviklingsprogram for jord- og grundvandsforurening.

Rapporten er udarbejdet af Per Loll og Claus Larsen, Dansk Miljørådgivning A/S, samt Kaj Henriksen, Sektion for Miljøteknologi på Aalborg Universitet.

Rapporten er udarbejdet på baggrund af laboratorieundersøgelser udført af Rasmus Johansen, Laila Kleis Pedersen, Steingerður Gná Kristjánsdóttir, Birgitte Andersen og Mette Sykes Hansen, Sektion for Miljøteknologi på Aalborg Universitet.

Resumé

Formål og strategi

Formålet med projektet er at afklare om der er teknisk og økonomisk potentiale i at rense MTBE-forurenet grundvand i en bioreaktor indeholdende en berigelseskultur af propanoxiderende mikroorganismer. Den overordnede strategi for projektet har været, at gennemføre en række laborieforsøg i hhv. batch-flasker og bench-skala reaktorer, for at opnå et detaljeret kendskab til teknikken styrker og svagheder. På baggrund af disse resultater er der udført opskaleringsberegninger og økonomiske overslag for en on-site anvendelse af teknologien.

Batchforsøg

I batchforsøgene er der undersøgt en lang række faktorer, der vurderes at kunne have betydning for opstarten og driften af en eventuel on-site reaktor indeholdende en berigelseskultur af propanoxiderende mikroorganismer. Her er det bl.a. vurderet, at det er forholdsvist let at fremelske og opformere en kultur af MTBE-nedbrydende propanoxiderende mikroorganismer. Det er ligeledes vurderet, at den aktuelle kultur er forholdsvist temperaturfølsom, og derfor nedbryder MTBE forholdsvist langsomt ved typiske grundvandstemperaturer (10-15°C). Kulturen er, selvom den er aerob, ikke særligt følsom overfor iltkoncentrationen og det er vist, at ca. 88% af nedbrydningshastigheden er bevaret ved iltkoncentrationer på over 2 mg/L. Kulturen kan nedbryde benzen, om end dette medfører en nedsættelse af MTBE-nedbrydningshastigheden.

Reaktorforsøg

Reaktorforsøgene er udført i en såkaldt sekventiel batch reaktor (SBR), der fungerer ved at det rensningskrævende grundvand opsamles i en opholdstank og med jævne mellemrum pumpes over en selve bioreaktoren til behandling. I bioreaktoren foregår nedbrydningen principielt som i en lukket batch-falske, og når udløbskravet for MTBE er nået, lukkes det rensede vand ud, og reaktoren fyldes på ny med forurenet vand fra opholdstanken. På baggrund af forsøgene er det vurderet, at der bør køres med en forholdsvist høj initialkoncentration af propan (~0,3 mg/L) for at opnå en balance imellem opretholdelse af en permanent effektiv MTBE-nedbrydning, og et minimalt forbrug af propan og ilt. Det er ligeledes vurderet, at en god indikation på at en reaktor opereres med en sådan god balance imellem en effektiv MTBE-nedbrydning og et minimalt propanforbrug er, at der kan observeres en lille tilvækst i biomassen, selvom reaktoren ikke drives med henblik på vækst af biomasse.

Perspektiver for on-site rensning

På baggrund af resultaterne opnået i batch- og reaktorforsøgene er der opstillet 6 opskaleringsscenarier med forskellige antagelser vedr. indløbskoncentration, udløbskrav og kulturens temperaturfølsomhed, og der er udført økonomiske overslagsberegninger for tre forskellige hydrauliske belastninger (2, 5 og 10 m³/time) samt for forskellige afskrivningsperioder (5 og 10 år). For disse scenarier er der beregnet enhedspriser på mellem på mellem 3,4 og 18,7 kr./m³ MTBE-forurenet vand, der renses, og det er vurderet, at teknologien har størst teknisk-økonomisk potentiale som massefjernelsesenhed (reduktion af MTBE-koncentrationen med 80-90%) i kombination med anden teknologi til efterpolering, f.eks. aktiv-kul.

Summary

Purpose and strategy

The purpose of this project is to investigate whether MTBE-contaminated groundwater can be treated cost-effectively in on-site bioreactors containing propane-oxidizing micro-organisms. The strategy was to perform a series of laboratory experiments in batch and bench-scale reactors in order to obtain detailed information on the strengths and weaknesses of the technology. Based on the results of these experiments, a series of technical and financial up-scaling calculations were made.

Batch experiments

A series of batch experiments examined an extensive series of factors that could play a major role in the success of starting and running an on-site reactor using the mixed culture of propane-oxidizers. It was found that it is relatively easy to select and grow a culture of MTBE-degrading propane-oxidizers. The present culture was shown to be relatively temperature sensitive, and this explains why degradation of MTBE at typical Danish groundwater temperatures of 10-15°C is relatively slow. Even though the culture is aerobic, it was shown to be relatively insensitive to oxygen concentration. Hence, 88% of the degradation capacity is retained at oxygen concentrations above 2 mg/L. The culture degrades benzene although the presence of benzene inhibits the degradation of MTBE.

Reactor experiments

The reactor experiments were performed in a so-called sequencing batch reactor, where the groundwater is pumped into a retention tank. At intervals, the water is pumped from the retention tank into the bioreactor, where it is treated. In the bioreactor, the treatment proceeds as in a closed batch experiment, and when the MTBE concentration reaches the specified outlet concentration, the cleansed water is let out of the reactor, and the reactor is refilled with polluted water from the retention tank. Based on the experiments, it is recommended that the initial propane concentration is set relatively high (~0,3 mg/L) in order to obtain a good balance between a permanently high MTBE degradation capacity, and minimal consumption of propane and oxygen. It is hypothesized that a good indicator of a reactor with a good balance between the degradation capacity and consumption of propane can be observed through a small constant increase in biomass concentration; even though the reactor is not run with the purpose of biomass production.

Prospects for on-site treatment

Based on the results of the batch and reactor experiments, six up-scaling scenarios, with different assumptions regarding the inlet and outlet concentrations and the temperature dependency of the degradation processes were constructed, and financial calculations were performed for three different hydraulic loadings (2, 5 and 10 m³/h) and two different write-off periods (5 and 10 years). For these scenarios, unit treatment prices of DKK 3.4 to 8.7 per m³ were calculated, and it was concluded that the technical-financial potential of the technology is as a mass removal unit (80-90% reduction of the MTBE concentration) in combination with another technology for reaching low outlet requirements; e.g. activated carbon.

1 Indledning

1.1 Baggrund

MTBE i oppumpet grundvand

I forbindelse med afværgepumpning på MTBE-forurenede lokaliteter oppumpes ofte grundvand indeholdende MTBE og andre benzinrelaterede forureningskomponenter, herunder BTEX'er.

On-site rensning

I litteraturen anføres det ofte, at de teknikker, der anvendes til on-site rensning af benzinforurenede grundvand ikke er cost-effektive til rensning af MTBE-forurenede grundvand (Keller et al., 2000a). Dette skyldes, at metoderne f.eks. er baseret på faseoverflyttelse ved stripping eller adsorption og, at MTBE's fysiske-kemiske egenskaber ikke er befordrende for en sådan faseoverflyttelse, sammenlignet med andre benzinstoffer.

Aktiv-kul filtrering

Aktiv-kul filtrering er en forholdsvis velkendt, pålidelig og cost-effektiv metode til on-site rensning af oppumpet grundvand for indhold af f.eks. BTEX'er. I modsætning hertil ses det ofte anført, at aktiv-kul filtrering ikke udgør nogen attraktiv løsning til rensning af MTBE-forurenede grundvand. Et udsagn, der nok delvist skal ses i lyset af at der sammenlignes med omkostningerne ved rensning af BTEX-forurenede grundvand og ikke ved rensning af MTBE-forurenede grundvand.

I Miljøstyrelsen (1999) anføres det, i modsætning til ovenstående, at rensning for MTBE ikke nødvendigvis vil fordyre en afværgeforanstaltning baseret på aktiv-kul filtrering væsentligt, hvis der alligevel skal fjernes BTEX'er. Dette er dog under forudsætning af, at kapitalomkostningerne udgør en væsentlig andel af de samlede omkostninger i forbindelse med afværgeforanstaltningen.

I Miljøstyrelsen (2003) er der foretaget en teknisk og økonomisk vurdering af aktiv-kul filtrering til rensning af MTBE-forurenede grundvand. Det er i Miljøstyrelsen (2003) anslået, at rensningsprisen for anlæg med en driftsperiode på 10 år, et flow på mellem 5 og 20 m³/time samt en indløbskoncentration mellem 0,2 og 1 mg MTBE/L ligger på mellem ca. 4,5 og 8,5 kr./m³. De laveste enhedspriser opnås ved højt flow og lave indløbskoncentrationer. Det er endvidere anslået, at prisen for rensning af MTBE-forurenede vand er 7 gange højere end for benzen-forurenede grundvand ved en indløbskoncentration på 1 mg/L og rensning til et niveau på 5 µg/L, svarende til Miljøstyrelsens grundvandskvalitetskriterium.

Kombination af on-site teknikker

Keller et al. (2000b) har vist, at der ved at kombinere forskellige teknikker; f.eks. stripping, membranfiltrering og aktiv-kul filtrering, kan opnåes cost-effektivt til meget lave MTBE-koncentrationer.

Teknikker specielt egnet til MTBE

Det vurderes dog, at der er basis for at udvikle og afprøve alternative teknikker, der ved at være specielt designede til behandling af MTBE-forurenede grundvand, kan være cost-effektive i forhold til teknikker, der oprindeligt er designet til rensning for andre forureningskomponenter.

Biofiltre

I Miljøstyrelsen (1999) er det således vurderet, at biologiske filtre potentielt kan udfylde en plads i rækken af on-site teknikker til rensning af

MTBE-forurenet grundvand og, at biofiltre har potentiale til (en total) omdannelse af MTBE til ufarlige nedbrydningsprodukter, hvorimod mange af de øvrige teknikker udelukkende er baseret på faseoverflytning.

Biofiltre kan enten benyttes som eneste løsning eller i kombination med konventionelle løsninger til for- og/eller efterbehandling (Arvin et al., 2003). Den bedste løsning vil bl.a. afhænge af de aktuelle mikroorganismers nedbrydningsmæssige egenskaber og deres robusthed overfor øvrige forureningskomponenter.

Biologisk nedbrydning af MTBE

I forbindelse med biologisk nedbrydning af MTBE foreligger der i litteraturen flere eksempler på, at f.eks. alkanoxiderende mikroorganismer er benyttet til at nedbryde MTBE cometabolisk (Steffan et al., 1997; Hyman og O'Reilly, 1999). Nærværende projekt tager afsæt i resultaterne opnået i disse studier.

1.2 Formål og projektstruktur

Formål

Formålet med projektet er at afklare om der er teknisk og økonomisk potentiale i at rense MTBE-forurenet grundvand i en bioreaktor indeholdende en berigelseskultur af alkanoxiderende mikroorganismer.

Strategi

Den overordnede strategi for projektet har været, at gennemføre en række laboratorieforsøg for at opnå et detaljeret kendskab til teknikkenes styrker og svagheder, inden den eventuelt tages i brug i felten.

Projektstruktur

Projektet er således opdelt i tre dele:

1. Fremelskning og karakterisering af MTBE-nedbrydende biomasse.
2. Opstilling og drift af en laboratorieskala bioreaktor.
3. Vurdering af potentiale for on-site rensning.

Indledende vurdering

Heraf er en del af resultaterne fra projektets første del afrapporteret i Miljøstyrelsen (2001), sammen med en indledende vurdering af metodens potentiale til on-site rensning af MTBE-forurenet grundvand.

Yderligere forsøg

På baggrund af erfaringerne og resultaterne i Miljøstyrelsen (2001) er der gennemført en række yderligere forsøg. Formålet med disse forsøg var dels at erstatte og dels at supplere allerede gennemførte forsøg.

Samlet vurdering

Nærværende rapport har således til formål, at sammenstille forsøgsresultaterne for at give en præsentation af teknologiens stadium i skrivende stund, samt at foretage en samlet vurdering af metodens potentiale til on-site rensning af MTBE-forurenet grundvand.

Da det er tilstræbt, at denne rapport skal kunne læses uafhængigt af Miljøstyrelsen (2001) forekommer der i nogen grad en indholdsmæssig overlappning mellem denne rapport og Miljøstyrelsen (2001).

2 Del I: Batchforsøg

2.1 Teori

2.1.1 Biologisk nedbrydning af organiske stoffer

Der er to primære årsager til at mikroorganismer foretager nedbrydning af organiske forureningskomponenter; dels skaffer de sig energi til livsvigtige processer (enzymproduktion m.v.) og dels skaffer de sig kulstof til opbygning af ny cellebiomasse. Afsnit 2.3 indeholder en særskilt gennemgang af teorien omkring mikrobiologisk vækst.

Energi

For at der kan frigives energi ved nedbrydningsprocesserne kræves det, at der sker en oxidation af de organiske stoffer. Derfor foregår nedbrydningen under forbrug af relativt oxiderede forbindelser (elektronacceptorer) samt dannelse af reducerede forbindelser; under ét betegnet *redoxprocesser*. Tabel 2.1 viser processerne opstillet med de energimæssigt mest favorable nedbrydningsveje først.

Tabel 2.1: Redoxprocesser til nedbrydning af organisk stof.

Proces	Elektronacceptor
Aerob respiration	O ₂
Nitratreduktion	NO ₃ ⁻
Jernreduktion	Fe ³⁺
Manganreduktion	Mn ⁴⁺
Sulfatreduktion	SO ₄ ²⁻

Overordnet set kan det forventes, at nedbrydning ved aerob respiration foregår hurtigst og medfører størst energiudbytte for mikroorganismene, hvorfor denne proces umiddelbart er mest interessant i bioreaktorsammenhæng.

Nedbrydningstyper

Under hensyntagen til dækningen af mikroorganismernes behov for energi og kulstof, kan nedbrydningen af et organisk forureningsstof inddeles i to overordnede kategorier:

1. Primær nedbrydning.
2. Cometabolisk nedbrydning.

Primær nedbrydning

Ved primær nedbrydning er mikroorganismene i stand til at vokse direkte på forureningsstoffet, der fungerer både som energi- og kulstofkilde.

Cometabolisk nedbrydning

Ved cometabolisk nedbrydning er mikroorganismene *ikke* i stand til at leve og vokse udelukkende på forureningsstoffet, men får dækket deres energi- og kulstofbehov ved nedbrydning af et andet stof (primærsubstratet). Cometabolisk nedbrydning skyldes ofte, at der er en vis struktur-mæssig lighed imellem cosubstratet og primærsubstratet og, at mikroorganismernes enzymsystem er så uspecifikt, at det ikke skelner imellem de to stoffer.

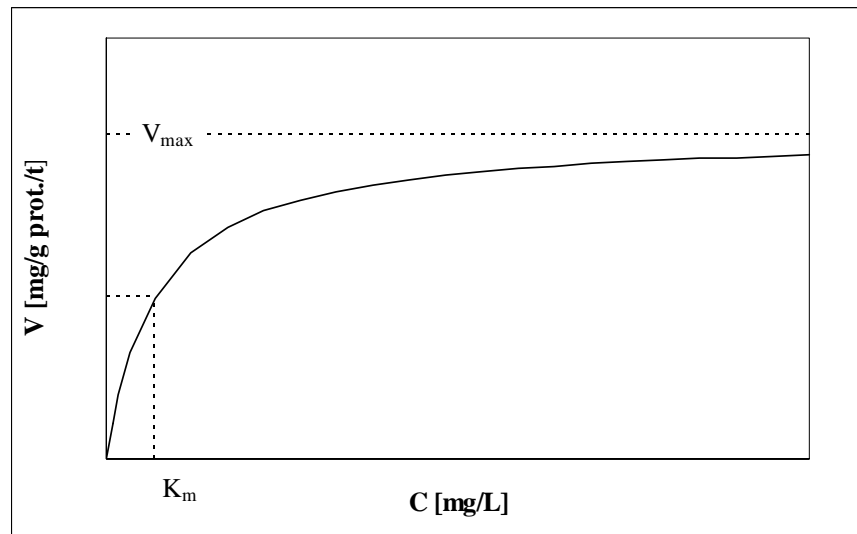
Matematisk beskrivelse

Mikrobiel nedbrydning af et organisk stof kan generelt beskrives vha. Michaelis-Menten ligningen, der udtrykker omsætningshastighedens afhængighed af koncentrationen af primærsubstrat.

$$V = V_{\max} \frac{S}{K_m + S} \quad (2.1)$$

hvor V er den aktuelle omsætningshastighed [mg substrat/g protein/time], V_{\max} er den maksimale omsætningshastighed [mg substrat/g protein/time], S er substratkoncentrationen [mg/L] og K_m er halvmætningskonstanten [mg substrat/L], dvs. den koncentration, hvor der opnås $0,5 \cdot V_{\max}$.

Figur 2.1 viser en grafisk repræsentation af Michaelis-Menten relationen.



Figur 2.1: Michaelis-Menten relationen.

Forudsætninger

Michaelis-Menten relationen er teoretisk set kun gældende for en renkultur, der nedbryder et enkelt substrat under veldefinerede betingelser mht. temperatur og tilgængeligheden af næringssalte og elektronacceptorer. På trods af dette giver relationen ofte en ganske god empirisk beskrivelse af nedbrydningskinetikken under mindre ideelle forhold.

Forsøg

Den maksimale omsætningshastighed og halvmætningskonstanten kan bestemmes eksperimentelt ved at udføre en række nedbrydningsforsøg ved forskellige substratkoncentrationer. Til hvert nedbrydningsforløb bestemmes en nedbrydningsrate i forsøgets start (initialraten), der plottes som funktion af startkoncentrationen. Dernæst fittes ligning 2.1 til de plottede data indtil de bedste estimater på V_{\max} og K_m er opnået.

Ved bestemmelse af Michaelis-Menten relationen for cometabolisk nedbrydning er det væsentligt at påpege, at nedbrydningshastigheden for co-substratet står i omvendt forhold til koncentrationen af primærsubstratet. Derfor udføres forsøgsrækken ved en veldefineret koncentration af primærsubstrat.

2.1.2 Nedbrydning af MTBE

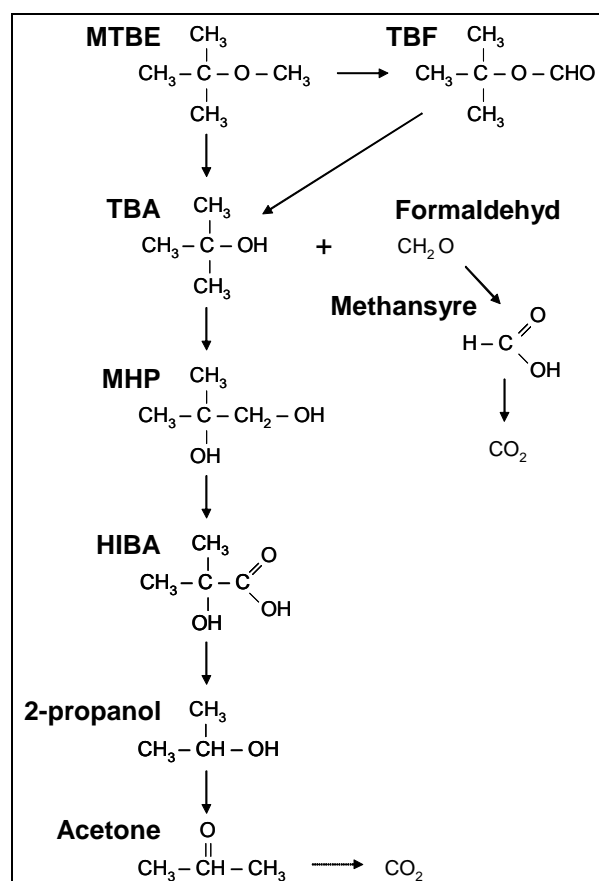
MTBE nedbrydes

I 1994 fremkom de første videnskabelige studier, der påviste nedbrydning af MTBE af mikroorganismer, under aerobe forhold (Salanitro et al., 1994) og methanogene forhold (Mormile et al., 1994; Yeh og Novak, 1994). Indtil da havde det været en almindelig antagelse, at MTBE ikke var bionedbrydeligt. Siden 1994 har en lang række studier påvist mikrobiologisk nedbrydning af MTBE under forskellige redox-forhold.

Aerob nedbrydning

Under aerobe forhold er der således påvist såvel primær nedbrydning af MTBE (Steffan et al. 2000; Deeb et al., 2001) som cometabolisk nedbrydning vha. alkanoxiderende mikroorganismer (Steffan et al., 1997; Hyman og O'Reilly, 1999; Miljøstyrelsen 2001). Det vurderes, at længere tids eksponering for MTBE er en væsentlig forudsætning for at der naturligt findes primære MTBE-nedbrydere, mens aerob cometabolisk nedbrydning af MTBE tilsyneladende er forholdsvis udbredt (Loll et al., 2003).

Ud fra den tilgængelige litteratur vurderes biologisk nedbrydning af MTBE under aerobe forhold i store træk at følge forløbet angivet i figur 2.2. På nuværende tidspunkt findes der kommercielt tilgængelige kemiske analyser for MTBE, TBF, TBA, 2-propanol og acetone.



Figur 2.2: Aerob nedbrydningsvej for MTBE (frit efter Steffan et al., 1997 og Deeb et al., 2000).

2.1.3 Mikrobiologisk vækst

Kulstof Mikroorganismernes celledmateriale består af ca. 50% kulstof, hvorfor der kræves forholdsvis meget kulstof til biovækst. I forbindelse med nedbrydningen af organiske forureningsstoffer i jord og grundvand skaffes det nødvendige kulstof oftest fra forureningsstofferne (heterotrof vækst).

Næringssalte Udover kulstof kræves også næringssalte, primært kvælstof og fosfor, hvor der for heterotrof omsætning kan regnes med et nødvendigt forhold imellem biomassekulstof (C), kvælstof (N) og fosfor (P); det såkaldte C:N:P-forhold, på 100:10:1 (EPA, 1995). Endvidere kræves mindre mængder af de såkaldte sporstoffer (f.eks. metaller).

Matematisk beskrivelse Mikrobiel vækst kan generelt beskrives vha. Monod-ligningen, der udtrykker væksthastighedens afhængighed af substratkoncentrationen.

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_s + S} \quad (2.2)$$

hvor μ er den aktuelle specifikke væksthastighed [d^{-1}], μ_{\max} er den maksimale specifikke væksthastighed [d^{-1}], S er substratkoncentrationen [mg/L] og K_s er halvmætningskonstanten [mg substrat/L], dvs. den koncentration, hvor der opnås $0,5 \cdot \mu_{\max}$.

Forudsætninger Monod-ligningen beskriver udelukkende væksthastighedens afhængighed af substratkoncentrationen, hvorfor den kun gælder under givne betingelser mht. alle andre faktorer; f.eks. tilgængeligheden af næringssalte og elektronacceptorer samt temperaturen.

Bestemmelse af μ_{\max} Det bemærkes, at når substratkoncentrationen bliver meget høj (går mod uendeligt), så nærmer værdien af μ sig μ_{\max} . Den maksimale specifikke væksthastighed kan således bestemmes ud fra et forsøg, udført med en forholdsvis lav biomassekoncentration ved forsøgets start samt en høj substratkoncentration og under veldefinerede betingelser mht. biomassevækst, f.eks. hvor ilt og næringssalte er i overskud (men ikke findes i toksiske niveauer). Da biomassevæksten er stærkt temperaturfølsom udføres forsøget ved en veldefineret temperatur. Dernæst måles der løbende på biomassekoncentrationen og der kan observeres eksponentiel vækst, der kan beskrives vha. ligning 2.3.

$$X(t) = X_0 \cdot e^{(\mu_{\max} \cdot t)} \quad (2.3)$$

hvor X er biomassen [mg protein/L] til et givent tidspunkt t [d] og X_0 er biomassekoncentrationen ved starten af forsøget [mg protein/L].

Fordoblingstid Ud fra ligning 2.3 kan man bestemme den tid det tager for biomassen at vokse til dobbelt størrelse; fordoblingstiden T_d .

$$T_d = \frac{\ln(2)}{\mu_{\max}} \quad (2.4)$$

2.1.4 Temperaturenens betydning

Mikrobiologiske processer som nedbrydning eller vækst er ofte forholdsvis temperaturafhængige, idet mikroorganismene vil være tilpasset til et mere eller mindre snævert temperaturinterval, svarende til de betingelser, hvorunder de er opvokset eller fremelsket.

Matematisk beskrivelse

Ved beskrivelse af temperaturafhængigheden for mikrobielle nedbrydnings- eller vækstrater kan benyttes en relation baseret på Q_{10} (Helweg, 1988).

$$V_{T_2} = V_{T_1} \cdot Q_{10}^{\frac{T_2 - T_1}{10}} \quad (2.5)$$

hvor T_1 er temperaturen, hvorved en mikrobiel rate er målt [$^{\circ}\text{C}$], T_2 er den temperatur, som raten ønskes korrigeret til [$^{\circ}\text{C}$], V_{T_1} er raten målt ved T_1 [mg/g protein/time] eller [d^{-1}], V_{T_2} er raten svarende til T_2 [mg/g protein/time] eller [d^{-1}] og Q_{10} angiver hvor mange gange raten mindskes, hvis temperaturen sænkes med 10°C .

Såfremt der er målt mikrobielle rater ved to forskellige temperaturer kan Q_{10} i ligning 2.5 isoleres, hvorved følgende udtryk opnås.

$$Q_{10} = \exp\left(\frac{\ln(V_{T_2}/V_{T_1})}{(T_2 - T_1)/10}\right) \quad (2.6)$$

Q_{10} -værdien for vækst- eller nedbrydningsrater kan forventes at ligge i intervallet 1,5 - 3,5.

2.2 Resultater

Vurdering af teknisk potentiale

Der er udført en række batchforsøg for at kunne vurdere det overordnede tekniske potentiale i at rense MTBE-forurenede grundvand vha. en berigelseskultur af alkanoxiderende mikroorganismer, samt for at afdække eventuelle begrænsninger i metodens anvendelse:

1. Fremelskning, selektion og opformering.
2. Mikroorganismernes vækst.
3. Nedbrydning af propan.
4. Nedbrydning af MTBE.
5. Temperatur-følsomhed.
6. Ilt-følsomhed.
7. BTEX-følsomhed.
8. Substratførsel.
9. Nedbrydningsprodukter.
10. Øvrige forhold.

Laboratorieprocedurer

Forsøgene gennemgås i det følgende, mens detaljerne omkring fremgangsmåden ved forsøgsudførelsen er nærmere beskrevet i bilag A.

2.2.1 Fremelskning, selektion og opformering

<i>Formål</i>	Formålet med denne del af projektet var at frembringe en cometabolisk berigelseskultur med MTBE-nedbrydende egenskaber. På baggrund af litteraturoplysninger blev det indledningsvist besluttet, at benytte tre alkaner som mulige primærsubstrater: isopentan, isobutan og propan, og ud fra en screening af disse kulturer udvælge den mest lovende til videre karakteristik, opformering og brug i en laboratorieskala bioreaktor.
<i>Resultater</i>	Screeningsresultaterne fremgår af Miljøstyrelsen (2001), sammen med en beskrivelse af berigelsesproceduren. I det følgende opsummeres resultaterne af screeningen, hvorefter der fokuseres på den udvalgte kultur.
<i>Isopentan som substrat</i>	I Miljøstyrelsen (2001) blev det konkluderet, at kulturen, der var opformet på isopentan havde op til fem gange højere MTBE-nedbrydningsrater end kulturen, der var fremelsket på propan. Dog var isopentan det af de tre substrater der stillede størst krav til håndtering og materialevalg. Dette skyldes dels, at isopentan er det mindst vandopløselige af de tre substrater, og dels, at isopentan har tendens til at opløse plastic- og gummidele. Følgelig blev det fravalgt at arbejde videre med isopentan som substrat.
<i>Isobutan og propan som substrat</i>	For den isobutanberigede kultur blev der observeret MTBE-nedbrydningsrater, der var ca. 30–75% højere end for kulturen beriget med propan, og der er i Miljøstyrelsen (2001) foretaget et parallelt forsøgsprogram for de isobutan- og propanberigede kulturer, mht. en række faktorer. Af Miljøstyrelsen (2001) fremgår det, at den isobutanberigede kultur blev fundet marginalt mere effektiv end den propanberigede kultur, hvorfor den, alt andet lige, vil medføre en mere økonomisk bioreaktordrift.
<i>Endeligt valg af primærsubstrat</i>	Efterfølgende forsøg viste, at der ved gentagen fremelskning opnås mere ensartede egenskaber og bedre MTBE-nedbrydende egenskaber for den propanberigede kultur, hvorfor der i det følgende fokuseres på egenskaberne for den propanoxiderende kultur. I bilag A.1 er det bedste bud på den mest effektive berigelsesprocedure til opnåelse af en propanoxiderende berigelseskultur med MTBE-nedbrydende egenskaber gengivet.
<i>Opformering</i>	Efter fremelskning og selektion af de propanoxiderende mikroorganismer blev der foretaget en opformering for at skaffe biomasse nok til de følgende batchforsøg og til driften af to laboratorieskala bioreaktorer, samt for at have biomasse ”på lager” i tilfælde af uheld i reaktorerne. Proceduren ved opformering er beskrevet i bilag A.1.

2.2.2 Mikroorganismernes vækst

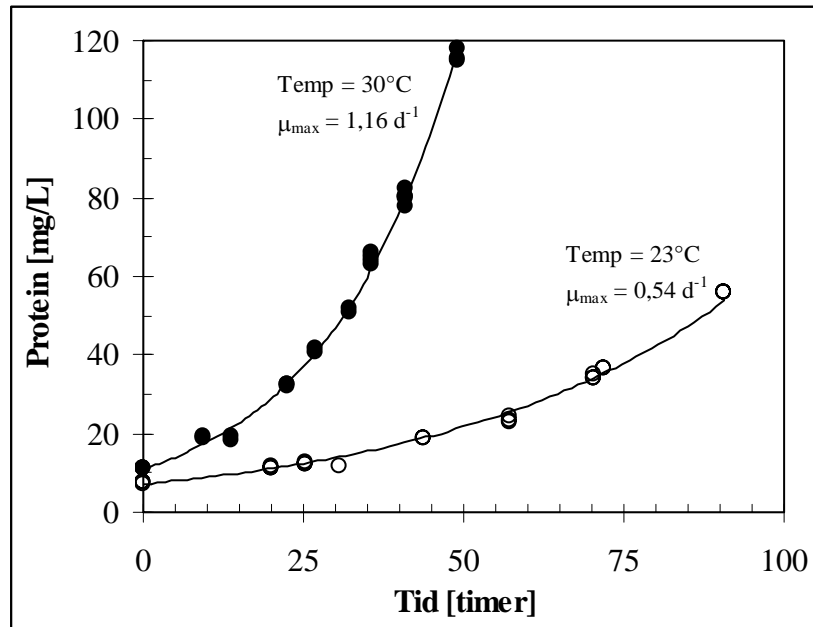
<i>Formål</i>	Der er to årsager til, at det er interessant at undersøge, hvor hurtigt mikroorganismene vokser. Dels har det betydning for den tid det tager at opstarte en ny bioreaktor og dels er der i de fleste typer af bioreaktorer et tab af biomasse med udløbsvandet, som f.eks. skal modsvares af vækst eller en mekanisme til biomassetilbageholdelse. Formålet med denne del af projektet var således, at bestemme den maksimale væksthastighed for de propanoxiderende mikroorganismer.
---------------	--

Fremgangsmåde

Da den specifikke væksthastighed er meget temperaturafhængig blev der udført vækstforsøg ved temperaturer på hhv. 23 og 30°C. Den propanoxiderende kultur blev tilsat substrat og ilt i overskud og biomassekoncentrationen blev monitoreret over en periode på op til 4 døgn. Fremgangsmåden ved forsøget er beskrevet i bilag A.2.

Resultater

Resultaterne for de udførte forsøg er afbildet i figur 2.3 og det teoretiske grundlag for databehandlingen er gennemgået i afsnit 2.1.3.



Figur 2.3: Vækstkurver for den propanoxiderende berigelseskultur.

Som det fremgår af figur 2.3 blev der fundet vækstrater for kulturen på ca. 0,5 - 1,2 d^{-1} ved 23 - 30°C. Disse rater svarer til, at biomassen, under ideelle betingelser med hensyn til adgangen til propan, ilt og næringssalte, fordobles for hhv. hver 31. time (23°C) og hver 14. time (30°C).

Diskussion

De observerede vækstrater ligger i den lave ende af det der i litteraturen er rapporteret for alkanoxiderende bakterier, men i den høje ende af værdier rapporteret for bakterier, der grov udelukkende på MTBE. Typiske vækstrater for alkanoxiderende bakterier ved 30°C ligger således i intervallet 1,1 - 4,6 d^{-1} (Heick og Sørensen, 1999; Garnier et al., 1999), mens vækstrater for rene MTBE-nedbrydere ved 20 - 30°C typisk ligger i intervallet $<0,01 - 0,86 \text{ d}^{-1}$ (Salanitro et al., 1994; Cowan og Park, 1996; Steffan et al., 2000; Fortin et al., 2001, Arvin et al., 2003).

Opstart af ny reaktor

I forhold til opstart af en ny reaktor vurderes det, at kulturen vokser tilstrækkeligt hurtigt til, at man kan have den nødvendige biomasse indenfor en periode på omkring 2 - 3 måneder. Efter opstart er det et spørgsmål om, at have noget biomasse "på lager", således at man ikke skal begynde forfra hvis et eventuelt driftsuheld fører til at biomassen dræbes.

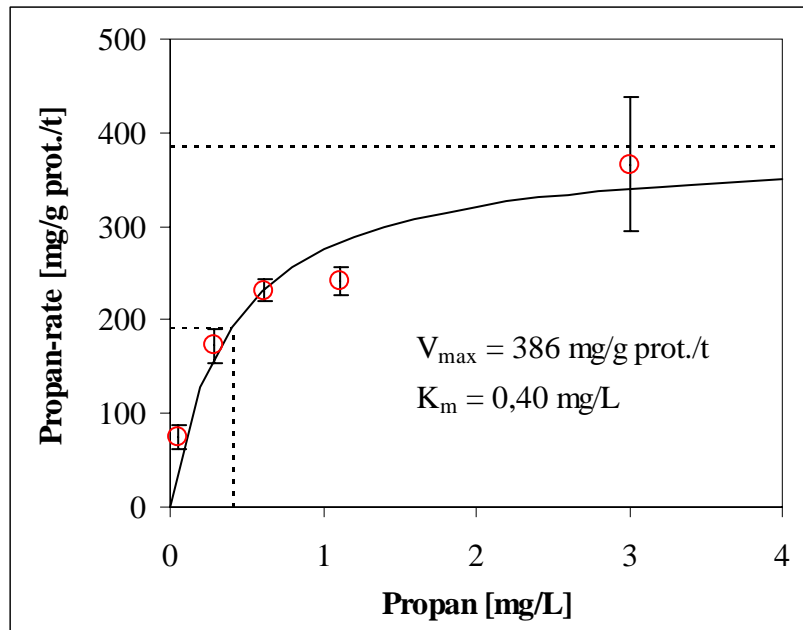
Tilbageholdelse af biomasse påkrævet

På baggrund af de observerede vækstrater vurderes det, at være urealistisk at opretholde en ønsket biomassekoncentration i en kontinuert bioreaktor med suspenderet biomasse ved vækst alene. I Miljøstyrelsen (2000) er det vurderet, at hydrauliske opholdstider på mindst 80 timer vil

være påkrævet hvis biomassekoncentrationen i en kontinuert reaktor ved 10°C skal opretholdes ved vækst alene. Sådanne opholdstider vurderes at være urealistiske i forhold til on-site anvendelse af teknologien, hvorfor det vurderes, at være påkrævet med en form for tilbageholdelse af biomassen, såfremt der benyttes et kontinuert reaktordesign. Mulige reaktordesigns er diskuteret i kapitel 3, mens der i afsnit 2.2.10.2 er foretaget en indledende undersøgelse af mulige mekanismer til biomassetilbageholdelse.

2.2.3 Nedbrydning af propan

<i>Formål</i>	Hastigheden hvormed mikroorganismene omsætter primærsubstratet afhænger af koncentrationen. Da en bioreaktor i princippet kan køres ved forskellige koncentrationer af propan blev der derfor udført forsøg til bestemmelse af nedbrydningskinetikken for propan. Populært sagt kan forsøgene benyttes til at fastlægge brændstoføkonomien for reaktoren, som funktion af de valgte driftsbetingelser mht. koncentration.
<i>Teori</i>	Nedbrydningskinetikken for primærsubstratet (propan) kan beskrives vha. Michaelis-Menten relationen, jf. ligning 2.7.
	$V_{propan} = V_{max,propan} \cdot \frac{S_{propan}}{K_{m,propan} + S_{propan}} \quad (2.7)$
	<p>hvor V_{propan} er den aktuelle omsætningshastighed [mg propan/g protein/time], $V_{max,propan}$ er den maksimale omsætningshastighed [mg propan/g protein/time], S_{propan} er koncentrationen [mg propan/L] og $K_{m,propan}$ er halvmætningskonstanten [mg propan/L], dvs. den propankoncentration, hvor der opnås $0,5 \cdot V_{max,propan}$.</p>
<i>Fremgangsmåde</i>	Propanomsætningsraten blev bestemt ved 5 forskellige propankoncentrationer samt ved en initial MTBE-koncentration på ca. 10 mg/L. Kulturen blev placeret i serumflasker ved 23°C og propankoncentrationen blev monitoreret over en periode på op til 60 timer. Raterne er bestemt som initiale rater. Den nærmere fremgangsmåde ved forsøget er beskrevet i bilag A.3, mens teorien omkring databehandlingen er beskrevet i afsnit 2.1.
<i>Resultater</i>	Mikroorganismernes omsætningsrate som funktion af propankoncentrationen fremgår grafisk af figur 2.4. Af figuren fremgår også 95% konfidensintervaller samt ligning 2.7 fittet til middelerterne.



Figur 2.4: Propanrate som funktion af propankoncentrationen.

Som det fremgår af figur 2.4 blev der opnået estimater for V_{max} og K_m på hhv. 386 mg propan/g protein/t og 0,40 mg propan/L, hvorved den resulterende Michaelis-Menten relation til beskrivelse af propanomsætningsraten som funktion af propankoncentrationen (ved en MTBE-koncentration på ca. 10 mg/L) er givet ved ligning 2.8.

$$V_{propan} = 386 \cdot \frac{S_{propan}}{0,40 + S_{propan}} \quad (2.8)$$

Diskussion

I forbindelse med ligning 2.8 er den umiddelbart mest interessante parameter den estimerede K_m -værdi på 0,40 mg propan/L. Jo lavere denne værdi er, desto højere er mikroorganismernes affinitet for substratet; dvs. jo større er mikroorganismernes relative effektivitet ved forholdsvist lave koncentrationer. I den forbindelse er det interessant at bemærke, at den tilsvarende værdi bestemt for berigelseskulturen i projektets første fase var 9 mg propan/L, mens V_{max} -værdien lå på samme niveau, 405 mg/g protein/L (Miljøstyrelsen, 2001). Denne observation tyder således på at den fortsatte selektion af kulturen har medført, at den er blevet betydeligt mere effektiv til at nedbryde propan ved lave koncentrationer.

Idet cometabolisk nedbrydning af to substrater (primær- og sekundærsubstratet; propan og MTBE) antageligt foregår ved at det samme enzymsystem er så uspecifikt, at det nedbryder begge stoffer må der forventes en grad af konkurrence imellem de to substrater. Hvis man som ovenfor fokuserer på nedbrydningsraterne for propan vil man, alt andet lige, forvente lavere propanomsætningsrater jo højere MTBE-koncentrationen er. Det er således værdt at bemærke, at ovenstående relation er gældende ved en MTBE-koncentration på ca. 10 mg/L, og at det må forventes, at nedbrydningsraterne for propan, alt andet lige, er højere ved lavere MTBE-koncentrationer.

Litteraturværdier

Til sammenligning med den estimerede K_m -værdi for de propanoxiderende mikroorganismer kan det oplyses, at Garnier et al. (1999) fandt en K_m -værdi på 0,0029 mg pentan/L for en renkultur af pentanoxiderende mi-

kroorganismer med MTBE-nedbrydende egenskaber, dvs. at denne mikroorganisme har mere end 100 gange så stor substrataffinitet som den propanoxiderende berigelseskultur, der er undersøgt i dette studie. Garnier et al. (1999) fandt en V_{max} -værdi for pentannedbrydning på ca. 210 mg pentan/g protein/t (ca. værdi omregnet fra g biomasse til g protein); dvs. en værdi der er ca. halvt så stor som værdien for den undersøgte propanoxiderende berigelseskultur.

Substratforbrug for bioreaktor

Ud fra ligning 2.8 kan man estimere substratforbruget for en given bioreaktor. Hvis det eksempelvis vælges at køre reaktoren ved en konstant propankoncentration omkring 0,3 mg/L og der antages en biomassekoncentration i reaktoren på 1 g protein/L, kan omsætningshastigheden for propan (og den nødvendige tilsætning) estimeres til ca. 165 mg propan/L reaktor/t. I forhold til driftsøkonomien for en given bioreaktor er det i forhold til ligning 2.8 væsentligt at påpege, at jo lavere en koncentration, der vælges, jo lavere bliver propanforbruget og det tilsvarende iltforbrug. Da mikroorganismernes energi- og kulstofbehov dækkes udelukkende ved omsætning af propan er der dog en nedre tærskelværdi for hvor lidt propan mikroorganismene kan nøjes med på sigt.

2.2.4 Nedbrydning af MTBE

Formål

Da der er tale om cometabolisk nedbrydning, hvor propan og MTBE i væskefasen er i konkurrence om mikroorganismernes enzympladser, må det forventes, at MTBE-nedbrydningsraten vil afhænge af propankoncentrationen. Jo højere propankoncentrationen er, jo lavere forventes MTBE-nedbrydningsraten at være.

Derudover vil MTBE-omsætningshastigheden afhænge af MTBE-koncentrationen, således at jo højere MTBE-koncentrationen er, jo højere vil MTBE-omsætningsraten også være.

Bestemmelsen af MTBE-nedbrydningsratens afhængighed af propan- og MTBE-koncentrationen bliver således afgørende for at kunne udføre en kvalificeret dimensionering af en bioreaktor til en given rensningsopgave.

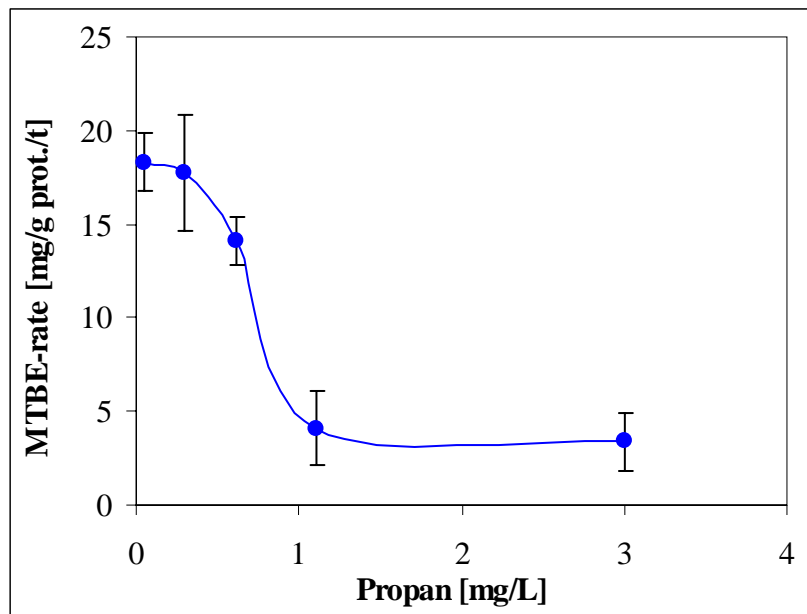
2.2.4.1 Afhængighed af propan-koncentrationen

Fremgangsmåde

Der blev indledningsvist lavet et forsøg til bestemmelse af MTBE-nedbrydningsratens afhængighed af propan-koncentrationen. Til forsøget blev der opstillet 5 serumflasker indeholdende en suspension af mikroorganismene. Flaskerne blev lukket med gastætte propper og tilsat 10 mg MTBE/L. Herefter blev der tilsat propan til de 5 flasker, således at koncentrationen i flaskerne varierede fra ca. 0,05 – 3 mg/L. Herefter blev kulturen placeret ved 23°C og MTBE-koncentrationen blev monitoreret over en periode på op til 60 timer. Den nærmere fremgangsmåde ved forsøget er beskrevet i bilag A.4.

Resultater

De initiale MTBE-rater, samt 95% konfidensintervallet på disse som funktion af propankoncentrationen fremgår grafisk af figur 2.5.



Figur 2.5: MTBE-rate som funktion af propankoncentrationen.

Diskussion

Som det fremgår af figur 2.5 er der observeret en næsten konstant rate på ca. 18 mg MTBE/g protein/t ved propankoncentrationer på mellem 0,05 og 0,3 mg/L. Ved højere propankoncentrationer observeres et kraftigt fald i MTBE-raten og ved propankoncentrationer på over ca. 1 mg/L er raten faldet til et næsten konstant niveau omkring 3,5 til 4 mg MTBE/g protein/t. Ca. 80% af den maksimale MTBE-rate er bibeholdt hvis propankoncentrationen holdes under 0,5 mg propan/L, hvorfor det vurderes, at dette område er mest interessant i forhold til driften af en bioreaktor.

Sammenlignes ovenstående resultater med resultaterne opnået i Miljøstyrelsen (2001) konkluderes det, at den fortsatte selektion tilsyneladende har medført, at kulturen er blevet mere effektiv til at nedbryde MTBE ved forholdsvis lave propankoncentrationer. Ved propankoncentrationer under 0,6 mg/L er der således observeret 50-100% større rater i de seneste forsøg, mens der ved højere propankoncentrationer er observeret god overensstemmelse i mellem de opnåede rater.

2.2.4.2 Afhængighed af MTBE-koncentrationen

Fremgangsmåde

For at bestemme MTBE-ratens afhængighed af MTBE-koncentrationen blev der opstillet 5 serumflasker indeholdende en suspension af mikroorganismene. Flaskerne blev lukket med gastætte propper og tilsat propan, svarende til en koncentration på ca. 0,06 mg/L. Herefter blev der tilsat MTBE til de 5 flasker, således at koncentrationen i flaskerne varierede fra ca. 4,5 til 200 mg/L. Herefter blev kulturen placeret ved 23°C og MTBE-koncentrationen blev monitoreret over en periode på op til 5 timer. Den nærmere fremgangsmåde ved forsøget er beskrevet i bilag A.4.

Teori

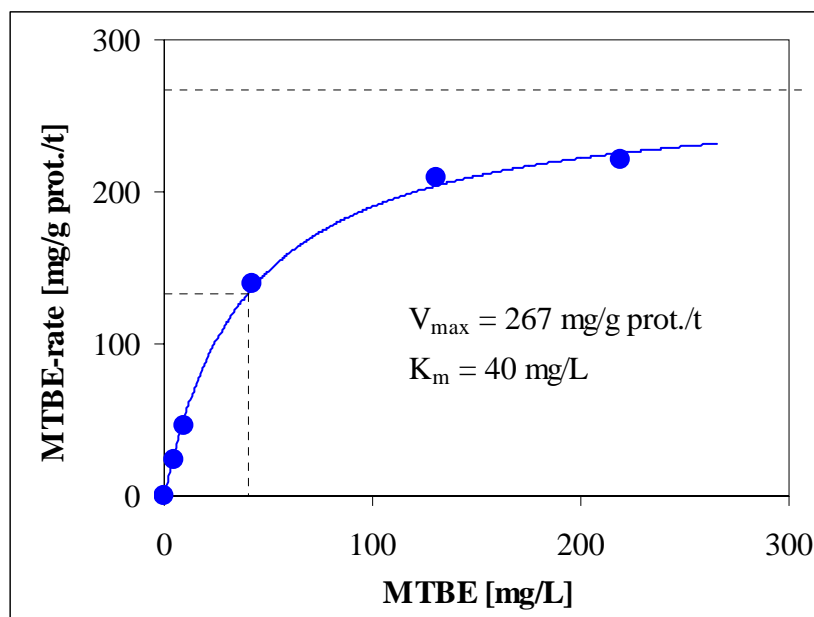
Nedbrydningskinetikken for MTBE kan, ligesom for propan, beskrives vha. Michaelis-Menten relationen.

$$V_{MTBE} = V_{\max, MTBE} \cdot \frac{S_{MTBE}}{K_{m, MTBE} + S_{MTBE}} \quad (2.9)$$

hvor V_{MTBE} er den aktuelle omsætnings hastighed [mg MTBE/g protein/time], $V_{max, MTBE}$ er den maksimale omsætnings hastighed [mg MTBE/g protein/time], S_{MTBE} er koncentrationen [mg MTBE/L] og $K_m, MTBE$ er halvmætningskonstanten [mg MTBE/L], dvs. den MTBE-koncentration, hvor der opnås $0,5 \cdot V_{max, MTBE}$.

Resultater

Mikroorganismernes MTBE-rate som funktion af MTBE-koncentrationen fremgår grafisk af figur 2.6, sammen med ligning 2.9 fittet til raterne. Den aktuelle frekvens af målingerne berettiger desværre ikke til beregning af meningsfyldte konfidensintervaller for raterne.



Figur 2.6: MTBE-rate som funktion af MTBE-koncentrationen.

Som det fremgår af figur 2.6 blev der opnået estimater for V_{max} og K_m på hhv. 267 mg MTBE/g protein/t og 40 mg MTBE/L, hvorved den resulterende Michaelis-Menten relation til beskrivelse af MTBE-raten som funktion af MTBE-koncentrationen (ved en propan-koncentration på ca. 0,06 mg/L) er givet ved ligning 2.10.

$$V_{MTBE} = 267 \cdot \frac{S_{MTBE}}{40 + S_{MTBE}} \quad (2.10)$$

Diskussion

I forbindelse med de opnåede resultater er det interessant, at der er opnået en K_m -værdi på kun 40 mg/L, mens der i tidligere forsøg med en berigelseskultur af propanoxiderende bakterier udført på Aalborg Universitet blev observeret en K_m -værdi på 142 mg/L (Heick og Sørensen, 1999). Endvidere blev der i projektets første fase opnået en K_m -værdi på 128 mg/L for en berigelseskultur af isobutanoxiderende mikroorganismer (Miljøstyrelsen, 2001). I forhold til studiet af Heick og Sørensen (1999) er der endvidere opnået en væsentligt højere V_{max} -værdi idet værdien opnået af Heick og Sørensen (1999) var på 43 og mg/g protein/t, svarende til ca. en faktor 6 lavere end i dette studie.

Litteraturværdier

Til sammenligning med resultaterne for de propanoxiderende mikroorganismer kan det yderligere oplyses, at der i litteraturen typisk er opnået K_m -værdier for andre alkanoxiderende mikroorganismer i størrelsesordenen 80-210 mg MTBE/L (Hyman et al., 1998; Garnier et al., 1999), mens der i enkelte studier er opnået K_m -værdier på ≤ 40 mg MTBE/L (Hyman et al., 2000; Hyman et al., 2001). Tilsvarende er der for alkanoxiderende mikroorganismer i litteraturen rapporteret V_{max} -værdier i mellem 11 og 270 mg MTBE/g protein/t (Hyman et al., 1998; Heick og Sørensen, 1999; Hyman et al., 2000).

MTBE-rater ved lave koncentrationer

I forbindelse med ovenstående sammenligninger er det væsentligt at bemærke, at det er kombinationen af en lav K_m -værdi og en høj V_{max} -værdi der er afgørende for om der kan forventes opnået høje nedbrydningsrater ved forholdsvis lave koncentrationer. Set i det perspektiv vurderes den undersøgte propanoxiderende kultur at være langt mere effektiv ved lave koncentrationer end øvrige alkanoxiderende kulturer præsenteret i den internationale litteratur. Således ligger MTBE-raterne for den aktuelle kultur ved koncentrationer under 1 mg MTBE/L en faktor 3 – 7 over raterne for de kulturer, der er præsenteret i litteraturen.

2.2.5 Temperatur-følsomhed

Formål

Alle de ovenstående nedbrydningsrater er bestemt ved en laboratorietemperatur på ca. 23°C mens der under danske forhold typisk kan forventes en temperatur på omkring 10 - 12°C for oppumpet grundvand. Da mikroorganismernes aktivitet, alt andet lige, kan forventes at være langt højere ved 23°C end ved 10 - 12°C er det således væsentligt at kende til kulturens egenskaber ved de forholdsvis lave temperaturer, der svarer til typiske driftsforhold. Ved kendskab til mikroorganismernes temperaturfølsomhed kan de laboratoriebestemte nedbrydningsrater således omregnes til forventede rater ved en realistisk grundvandstemperatur.

Q_{10} for vækst

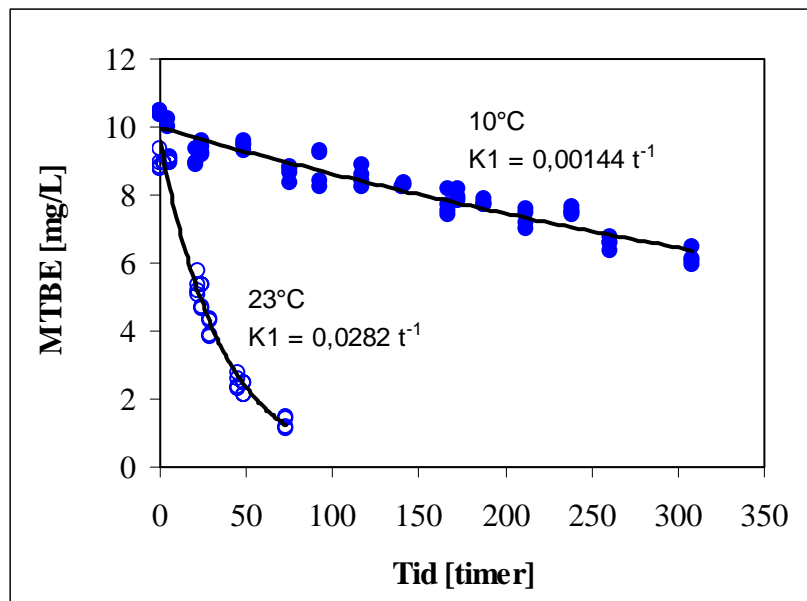
På baggrund af vækstraterne fundet ved hhv. 23 og 30°C i afsnit 2.2.2 kan der ved hjælp af ligning 2.6 beregnes en Q_{10} -værdi på 3,0 for den propanoxiderende kultur.

Fremgangsmåde

For at opnå et direkte mål for kulturens temperaturfølsomhed i forhold til nedbrydning af MTBE blev der udført nedbrydningsforsøg ved hhv. 10 og 23°C. Der blev opstillet 2 serumflasker ved hver temperatur. En akklimatiseret suspension af kulturen blev placeret i serumflasker og tilsat hhv. MTBE og propan i mængder svarende til 10 mg MTBE/L og 0,19 mg propan/L. MTBE-koncentrationen blev herefter fulgt over en periode på op til 300 timer. Den nærmere fremgangsmåde ved forsøget er beskrevet i bilag A.5.

Resultater

Nedbrydningsforløbet for MTBE ved de to temperaturer fremgår grafisk af figur 2.7, sammen med 1. ordens nedbrydningsforløb fittet til alle data i måleserierne. Da der var god overensstemmelse i mellem de udførte dobbeltforsøg er 1. ordens-raterne fittet til den samlede datamængde for hver temperatur.



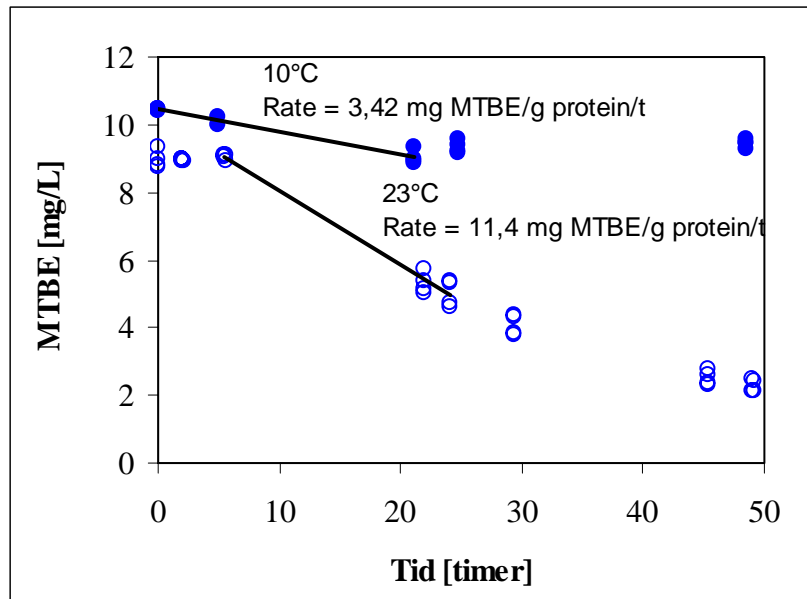
Figur 2.7: Førsteordens MTBE-rater ved 10 og 23°C.

Som det fremgår af figur 2.7 kan der, mht. MTBE-raterne, umiddelbart konstateres en forholdsvis stor temperaturfølsomhed for de propanoxide-rende mikroorganismer. For at kunne foretage beregningen af Q_{10} er det nødvendigt, at normere 1. ordens-raterne mht. begyndelseskonzentrationen, der ikke var ens for de to temperaturer. Når denne normering er foretaget kan Q_{10} -værdien beregnes til 8,8 - gældende for MTBE-nedbrydning i temperaturintervallet 10 – 23°C; dvs. en forholdsvis høj værdi.

Diskussion

I forbindelse med ovenstående nedbrydningsforsøg er der udelukkende blevet målt MTBE. Der er således ikke blevet monitoreret for ilt og propan, hvorfor det ikke med sikkerhed kan konkluderes, at der er overskud af primærsubstrat og elektronacceptor over længere forsøgsperioder. Dette vurderes ikke at være kritisk i forhold til forsøgene udført ved 23°C, da det i flere indledende forsøg er konstateret, at disse faktorer ikke bliver begrænsende ved forsøgsperioder på op til ca. 60 timer. I modsætning hertil kan der ikke siges noget entydigt om en mulig substrat- eller elektronacceptor-begrænsning i forsøget udført ved 10°C. Der er således ikke sikkerhed for at de opnåede resultater ved 10°C, og dermed den meget lavere nedbrydningsaktivitet, udelukkende skyldes den lavere temperatur.

Da der endvidere ser ud til at kunne være tale om en kortere lag-fase i nedbrydningsforløbet ved 23°C er der for at opnå et andet bud på temperaturens indflydelse fittet initiale nedbrydningsrater til data i starten af forsøget (eksklusiv vurderet lag-fase). Resultaterne fremgår af figur 2.8.



Figur 2.8: Initiale MTBE-rater ved 10 og 23°C.

Indsættes initialraterne fra figur 2.8 i ligning 2.6 kan der beregnes en Q_{10} -værdi på 2,5, som er gældende i temperaturintervallet mellem 10 og 23°C; altså en væsentligt lavere værdi end den opnået på baggrund af de totale måleserier. Samlet set vurderes det umiddelbart, at denne Q_{10} -værdi ligger i den absolut laveste ende af hvad der er gældende for kulturen.

Litteraturværdier

Til sammenligning med de opnåede resultater for den propanoxiderende kultur kan det nævnes, at der, på baggrund af data i Steffan et al. (1997), kan beregnes Q_{10} -værdier for MTBE- og TBA-nedbrydning på mellem 1,5 og 3,5 (13 - 28°C) for to renkulturer af propanoxiderende mikroorganismer. For en blandingskultur af isobutanoxiderende mikroorganismer observerede Johansen et al. (2001) en Q_{10} -værdi for MTBE-nedbrydningsaktiviteten på 1,6 (10 - 23°C) mens der for væksten af samme kultur observeredes en Q_{10} på 1,9 (23 - 30°C). På baggrund af oplysninger i Arvin et al. (2003) kan der for MTBE-nedbrydning med en blandingskultur af primære MTBE-nedbrydere beregnes en Q_{10} -værdi på 1,75 (10 - 20°C), mens der på baggrund af data i Cowan og Park (1996) for vækst af en blandingskultur af primære MTBE-nedbrydere kan beregnes en Q_{10} -værdi på 2,4 (20 - 30°C). Sammenstilles ovenstående litteraturoplysninger er der altså fundet Q_{10} -værdier for vækst og nedbrydningsaktivitet der spænder over værdier fra 1,5 til 3,5 (typisk under 2,5) for en række forskellige temperaturer i området 10 - 30°C.

Opsummering

Som det fremgår af det ovenstående er det ikke muligt, at drage nogen entydig kvantitativ konklusion vedrørende den aktuelle propanoxiderende kulturs temperaturfølsomhed, udover at Q_{10} -værdien mht. MTBE-nedbrydning vurderes at ligge i mellem 2,5 og 8,8. Ved sammenligning med en række studier præsenteret i litteraturen må det, ud fra en betragtning om at værdien på 2,5 vurderes at være et absolut minimum, umiddelbart konkluderes, at kulturen er forholdsvis temperaturfølsom.

Reaktordrift ved 12°C

Såfremt det antages, at driften af en given on-site reaktor vil ske ved en temperatur på 12°C, vil de observerede nedbrydningsrater ved 23°C, afhængigt af Q_{10} -værdien skulle divideres med mellem 2,7 og 11. På bag-

grund af de observerede resultater anbefales det, at der, inden opstilling af en eventuel bioreaktor udføres et indledende batchforsøg ved den aktuelle grundvandstemperatur, således at det kan afgøres om den faktiske nedbrydningsrate er tilstrækkelig til at opnå et fornuftigt reaktordesign.

2.2.6 Ilt-følsomhed

Formål

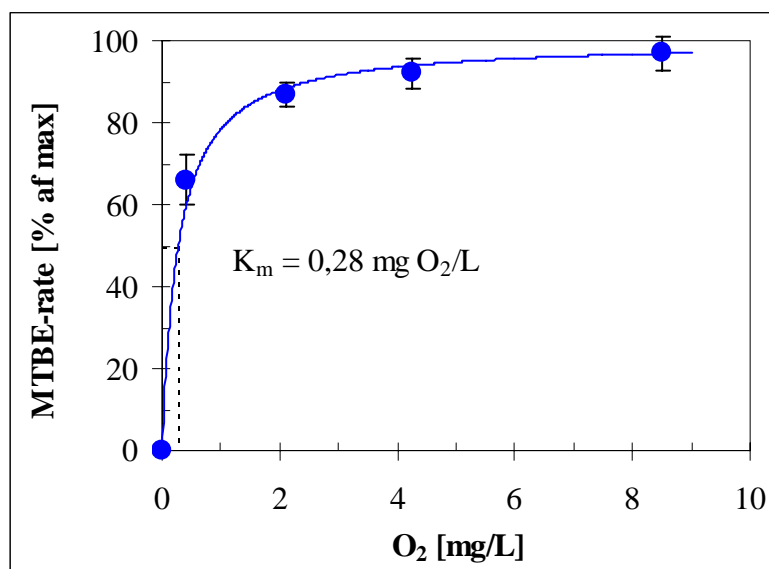
Ovenstående nedbrydningsforsøg er udført ved tilsætning af ilt i overskud og med kraftig omrystning, dvs. under forhold hvor mikroorganismene i princippet har ubegrænset adgang til ilt. I en given bioreaktor kan man forestille sig, at iltkoncentrationen ikke altid og alle steder i reaktoren svarer til ilt-mætning, dvs. hvor mikroorganismene ikke har ubegrænset adgang til ilt. Da en lav iltkoncentration muligvis kan påvirke mikroorganismernes nedbrydningsaktivitet var formålet med nærværende forsøg at bestemme mikroorganismernes ilt-følsomhed udtrykt ved deres aktivitetsniveau som funktion af iltkoncentrationen.

Fremgangsmåde

For at bestemme kulturens ilt-følsomhed i forhold til nedbrydning af MTBE blev der udført nedbrydningsforsøg med 5 forskellige iltkoncentrationer, varierende fra 0 til ca. 8,5 mg O₂/L, samt ved en initial MTBE-koncentration på ca. 10 mg/L og en koncentration af primærsubstrat på 0,05 mg/L. Kulturen blev placeret i serumflasker ved 23°C og MTBE-nedbrydningen blev monitoreret over en periode på op til ca. 40 timer. Den nærmere fremgangsmåde ved forsøget er beskrevet i bilag A.6.

Resultater

Den relative MTBE-rate som funktion af iltkoncentrationen fremgår af figur 2.9, sammen med estimerede 95% konfidensintervaller på raterne.



Figur 2.9: Relative MTBE-rater som funktion af iltkoncentrationen.

Diskussion

Som det fremgår af figur 2.9 stiger MTBE-raten forholdsvis hurtigt som funktion af iltkoncentrationen, hvilket indikerer, at ilt-følsomheden for mikroorganismene ikke er særligt stor. For at få en kvantitativ beskrivelse af MTBE-ratens afhængighed af iltkoncentrationen (dvs. ilt-følsomheden) er der fittet en Michaelis-Menten kurve til middelerterne. K_m -værdien opnået ved dette fit er på 0,28 mg O₂/L, hvilket indikerer, at 50% af

den maksimale MTBE-rate opnås ved en iltkoncentration på 0,28 mg/L. Den resulterende beskrivelse kan udtrykkes ved ligning 2.11.

$$V_{MTBE} = V_{O_2\text{-mætning}} \cdot \frac{C_{O_2}}{0,28 + C_{O_2}} \quad (2.11)$$

hvor V_{MTBE} er nedbrydningsraten ved en given iltkoncentration [mg MTBE/g protein/time], $V_{O_2\text{-mætning}}$ er nedbrydningsraten ved ubegrænset adgang til ilt [mg MTBE /g protein/time] og C_{O_2} er iltkoncentrationen [mg O₂/L].

Litteraturværdier

Til sammenligning med de opnåede resultater for den propanoxiderende kultur kan det nævnes, at der på baggrund af data for en blandingskultur af MTBE-nedbrydende mikroorganismer i Koenigsberg et al. (1999) kan estimeres en K_{m,O_2} på ca. 4 - 5 mg/L, mens Fortin et al. (2001) fandt en K_{m,O_2} på 6,2 mg/L for en blandingskultur af primære MTBE-nedbrydere. Begge disse værdier er altså væsentligt højere end værdien for den aktuelle mikrobielle kultur, hvilket indikerer, at den aktuelle propanoxiderende kultur er mere effektiv ved lave iltkoncentrationer.

Sammenligning af iltfølsomhed

Ved en iltkoncentration på f.eks. 2 mg/L vil MTBE-raten for den aktuelle kultur være reduceret med ca. 12% i forhold til den maksimale rate, jf. figur 2.9, mens raten vil være reduceret med mellem 65 og 75% for de øvrige kulturer. Den faktiske MTBE-rate ved en given iltkoncentration vil selvfølgelig afhænge af ratens absolutte niveau.

Betydning for bioreaktordrift

I forhold til drift af en bioreaktor med en kultur af de propanoxiderende mikroorganismer anbefales det, på baggrund af ovenstående resultater, at iltkoncentrationen i en given bioreaktor tilstræbes holdt over ca. 2 mg O₂/L for ikke at opleve en større reduktion i reaktorens nedbrydningskapacitet. I den forbindelse er det væsentligt at holde sig for øje, at den iltkoncentration, der refereres til er den koncentration, som den enkelte mikroorganisme oplever (altså på mikro-niveau), mens den koncentration, der typisk vil kunne måles f.eks. med en ilt-elektrode er koncentrationen i reaktorens bulk-væskefase (på makro-niveau).

Forskellen i mellem de to niveauer vil typisk opstå, hvis mikroorganismerne ikke findes suspenderet som enkeltceller i væskefasen, men har en tendens til at klumpe sig sammen. I dette tilfælde vil en organisme, der sidder i midten af klumpen kunne opleve en lavere iltkoncentration end en organisme, der befinder sig i umiddelbar kontakt med reaktorens bulk-væskefase (og altså den koncentration man vil kunne måle med en ilt-elektrode). For at sikre sig, at den mikroorganisme, der sidder i midten af klumpen har optimale betingelser kan det således være nødvendigt at hæve koncentrationen i bulk-væskefasen til et højere niveau.

Omfanget af ovenstående problemstilling kan ikke afklares på forhånd, da det vil afhænge af en række faktorer; herunder biomassekoncentrationen, mikroorganismernes tendens til at klumpe sig sammen samt reaktorens evne til at "homogenisere" kulturen. For en given reaktor kan problemets omfang dog undersøges ved at ændre på iltkoncentrationen i bulk-væskefasen og sammenholdes reaktorens volumetriske omsætnings-hastighed (mg MTBE omsat pr. time) under de forskellige betingelser.

2.2.7 BTEX-følsomhed

Formål

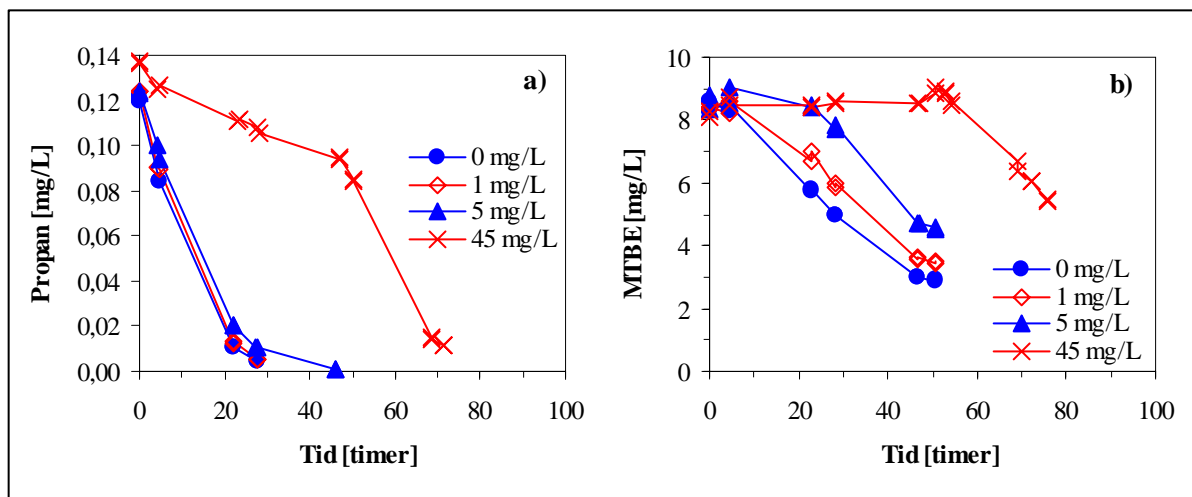
Alle de ovenstående nedbrydningsforsøg for MTBE er udført, hvor kun primærsubstrat og MTBE er til stede. I modsætning hertil vil der i forbindelse med benzinforurenet grundvand typisk være andre benzinkomponenter til stede i det vand, der skal renses, og der er risiko for at tilstedeværelsen af disse andre stoffer kan have en negativ indflydelse på mikroorganismernes evne til at nedbryde MTBE. Der er derfor udført forsøg, der kan give en indikation af hvordan den aktuelle mikrobielle kultur påvirkes af tilstedeværelsen af andre benzinkomponenter.

Fremgangsmåde

For at undersøge kulturens følsomhed i forhold til tilstedeværelsen af andre benzinkomponenter blev der udført forsøg med nedbrydning af MTBE ved fire forskellige benzen-koncentrationer, varierende fra 0 til 45 mg/L, samt ved en MTBE-koncentration på ca. 8,4 mg/L og en substratkoncentration på ca. 0,12 mg/L. Kulturen blev placeret i serumflasker ved 23°C og propan-, MTBE- og benzen-koncentrationen blev monitoreret over en periode på op til ca. 80 timer. Forsøget er beskrevet i bilag A.7.

Resultater

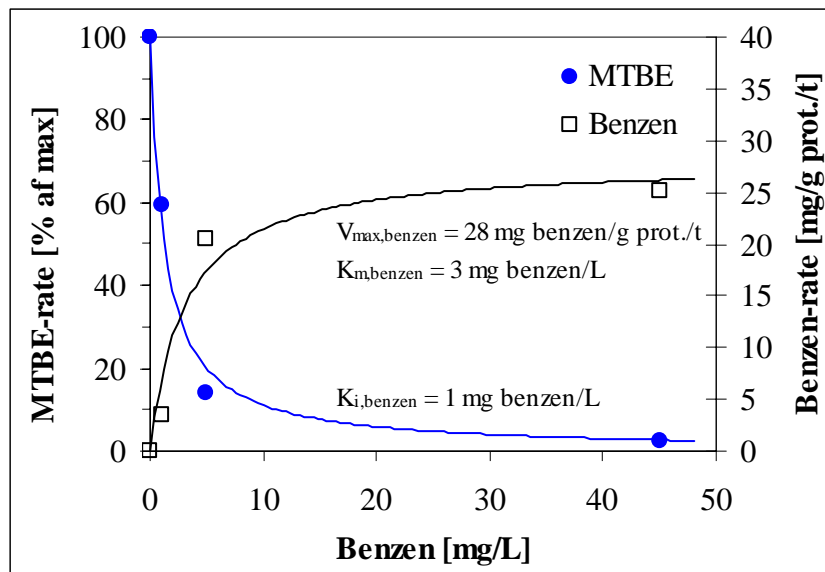
Det tidsmæssige forløb af hhv. propan- og MTBE-koncentrationen fremgår af figur 2.10.



Figur 2.10: Nedbrydningsforløb for propan og MTBE.

Som det fremgår af figur 2.10 sker der ikke nogen hæmning af propannedbrydningen ved benzen-koncentrationer på op til 5 mg/L, mens der sker en hæmning ved en benzen-koncentration på 45 mg/L. I modsætning hertil sker der en hæmning af MTBE-nedbrydningen allerede ved en benzen-koncentration på 1 mg/L. Det blev konstateret, at kulturen var i stand til at nedbryde benzen.

For at visualisere benzen-koncentrationens indflydelse på mikroorganismernes evne til at nedbryde MTBE viser figur 2.11 de relative MTBE-rater som funktion af benzen-koncentrationen. Figuren viser også de initiale benzen-rater samt et Michaelis-Menten forløb fittet til disse rater.



Figur 2.11: Relative MTBE-rater som funktion af benzenkoncentrationen samt Michaelis-Menten kurve for benzen.

Inhibering af MTBE-nedbrydningen

For at kvantificere benzen-koncentrationens indflydelse på MTBE-nedbrydningsraterne er det i det følgende antaget, at benzen-koncentrationen påvirker MTBE-nedbrydningen via en mekanisme, svarende til kompetitiv inhibering. Ved denne type inhibering antages det, at det er det samme enzym, der foretager nedbrydningen af både MTBE og benzen. Mekanismen svarer endvidere til den mekanisme, der typisk antages at gælde for cometabolisk nedbrydning af MTBE via alkanoxiderende mikroorganismer.

Det bør bemærkes, at der ikke findes noget belæg for at det rent faktisk er denne mekanisme, der påvirker benzens indflydelse på MTBE-nedbrydningen. Der er således udelukkende tale om en empirisk sammenhæng, der giver en god beskrivelse af de observerede data. Den resulterende beskrivelse er en modifikation af ligning 2.1:

$$V_{MTBE} = V_{max} \cdot \frac{S_{MTBE}}{K_m \cdot \left(1 + C_{benzen} / K_{i,benzen}\right) + S_{MTBE}} \quad (2.12)$$

hvor V_{MTBE} er MTBE-raten ved en given benzen-koncentration [mg MTBE/g protein/time], V_{max} er den maksimale MTBE-rate uden benzen [mg MTBE /g protein/time], jf. ligning 2.10, C_{benzen} er benzen-koncentrationen [mg/L] og $K_{i,benzen}$ er inhiberingskonstanten [mg benzen/L], der udtrykker ved hvilken benzen-koncentration mikroorganismernes affinitet for MTBE halveres. Jo lavere $K_{i,benzen}$ er, jo mere påvirkes MTBE-nedbrydningen i negativ retning.

Som det fremgår af figur 2.11 er $K_{i,benzen}$ estimeret til en værdi på ca. 1 mg benzen/L ud fra de aktuelle data. Ved en MTBE-koncentration på 1 mg/L svarer denne inhiberingskonstant til, at en benzen-koncentration på ca. 1,05 mg/L vil medføre en halvering af MTBE-raten, mens en benzenkoncentration på f.eks. 0,3 mg/L vil føre til en ca. 20% reduktion af raten.

Benzen-nedbrydning

Af figur 2.11 ses det endvidere, at mikroorganismene er i stand til at nedbryde benzen såvel som MTBE. Michaelis-Menten beskrivelsen af nedbrydningskinetikken for benzen ved ca. 8,4 mg MTBE/L og 0,13 mg propan/L fremgår af ligning 2.13.

$$V_{benzen} = 28 \cdot \frac{C_{benzen}}{3 + C_{benzen}} \quad (2.13)$$

hvor V_{benzen} er nedbrydningsraten [mg benzen/g protein/time] og C_{benzen} er benzen-koncentrationen [mg/L].

Hvis der foretages en sammenligning af nedbrydningskinetikken for MTBE og benzen kan det, på trods af den relativt store forskel i V_{max} - og K_m -værdierne, konstateres, at de absolutte rater for nedbrydning af MTBE og benzen under de givne betingelser er stort set identiske ved koncentrationer lavere end ca. 2 mg/L, jf. hhv. ligning 2.10 og 2.12.

Benzen ikke toksisk

På baggrund af de udførte forsøg kan det endvidere konstateres, at selv om nedbrydningen af MTBE inhiberes af tilstedeværelsen af benzen, når begge stoffer er til stede, så fortsætter den tilsyneladende med ureduceret hastighed fra det øjeblik benzen er komplet nedbrudt. Med andre ord ser der ikke ud til at være nogen toksisk/vedvarende effekt af benzen i de undersøgte koncentrationsniveauer.

Litteraturstudie

Deeb et al. (2001) fandt for en renkultur af MTBE-nedbrydere, at ethylbenzen og xylener medførte en fuldstændig inhibering af MTBE-nedbrydningen, mens toluen og benzen kun delvist inhiberede MTBE-nedbrydningen. Koenigsberg et al. (1999) undersøgte en blandingskultur der var i stand til at nedbryde MTBE og fandt, at benzen inhiberede MTBE-nedbrydningen. På baggrund af deres data kan det beregnes, at benzenkoncentrationer på 0,15 og 0,3 mg/L sænkede MTBE-raten med hhv. ca. 20 og 70%. Johansen et al. (2001) undersøgte MTBE-nedbrydningen for isobutanoxiderende mikroorganismer og fandt, at benzen inhiberede dem. På baggrund af resultaterne i studiet kan der estimeres en $K_{i,benzen}$ på ca. 2,1 mg/L. Loll (2002) undersøgte toluens betydning for hhv. ren og cometabolisk MTBE-nedbrydning for mikroorganismer fra et benzinforurenset grundvandssediment. Forsøgene viste, at den rene MTBE-nedbrydning blev totalt inhiberet af toluen. For cometabolisk nedbrydning med propan som primærsubstrat blev der konstateret en 60% reduktion af MTBE-raten. I begge tilfælde kunne det konstateres, at nedbrydningen fortsatte med uforandret rate når toluen var nedbrudt. I Miljøstyrelsen (2004) blev det fundet, at BTEX tilsyneladende havde en positiv indflydelse på MTBE-nedbrydningen.

Sammenfatning

Sammenfattes ovenstående oplysninger vurderes det, at de fleste MTBE-nedbrydere også er i stand til at nedbryde BTEX'er, men at der oftest observeres hel eller delvis inhibering af MTBE-nedbrydningen indtil BTEX'erne er nedbrudt. I de fleste tilfælde genoptages MTBE-nedbrydningen med uformindsket hastighed når BTEX'erne er nedbrudt. Egenskaberne for den aktuelle propanoxiderende blandingskultur er således i overensstemmelse med hovedparten af de resultater, der er præsenteret i litteraturen.

Betydning for bioreaktordrift

På baggrund af de foreliggende resultater for benzen vurderes det umiddelbart, at tilstedeværelsen af BTEX'er i indløbsvandet til en given bioreaktor ikke vil være katastrofalt i forhold til MTBE-nedbrydningen, om end det må påregnes, at MTBE-nedbrydningen vil foregå med reduceret hastighed. Såfremt det oppumpede grundvand indeholder både MTBE og BTEX'er er det muligt, at en samlet set optimal rensning af det forurenede grundvand opnås ved at foretage en forbehandling med henblik på BTEX-fjernelse inden MTBE-filteret.

I forhold til ovenstående bør det dog anføres, at Deeb et al. (2001) observerede, at toluen og benzen kun delvist inhiberede MTBE-nedbrydningen mens ethylbenzen og xylener medførte en fuldstændig inhibering. Da de aktuelle forsøg kun er udført for benzen kan det således ikke udelukkes, at øvrige benzinkomponenter i grundvandet kan have en effekt, der er væsentligt forskellig fra benzens og det anbefales at gennemføre batchforsøg med den aktuelle forureningssammensætning inden en eventuel reaktor sættes op på en aktuel forurennet lokalitet.

2.2.8 Substrattilførsel

Formål

I forbindelse med driften af en bioreaktor kan propan evt. tilføres pulserende. I perioderne mellem pulstilsætningerne kan det vælges, at køre med perioder, hvor der ikke er propan til stede (sulteperioder). Såfremt MTBE-nedbrydningsaktiviteten kan bibeholdes i kortere perioder uden tilsætning af propan vil den samlede propantilsætning kunne mindskes. Dette vil ligeledes medføre en reduktion af iltbehovet, der ved fuldstændig mineralisering af propan er ca. 3,6 g ilt/g propan. Der er således potentiale for at mindske den nødvendige masseoverførsel af gasser (propan og ilt) til reaktorens væskefase, med en mulig driftsbesparelse til følge.

Formålet med forsøgene var således, at undersøge hvordan mikroorganismernes aktivitet påvirkes under forskellige former for pulserende propantilsætning; herunder efter kortere sulteperioder.

Teori

Ved cometabolisk nedbrydning af MTBE med propan som primærsubstrat forventes det, at tilstedeværelsen af propan er en forudsætning for at aktivere det enzymesystem, der sørger for nedbrydningen af både propan og MTBE. Med mindre der er propan tilstede i mikroorganismernes omgivelser produceres enzymet ikke, og der kan således ikke forventes at foregå en nedbrydning af hverken propan eller MTBE. På den anden side er der mulighed for en fortsat enzym- og nedbrydningsaktivitet efter propan er opbrugt, hvis mikroorganismene har opbygget et tilstrækkeligt energilager i den forudgående periode med tilstedeværelse af propan.

Fremgangsmåde

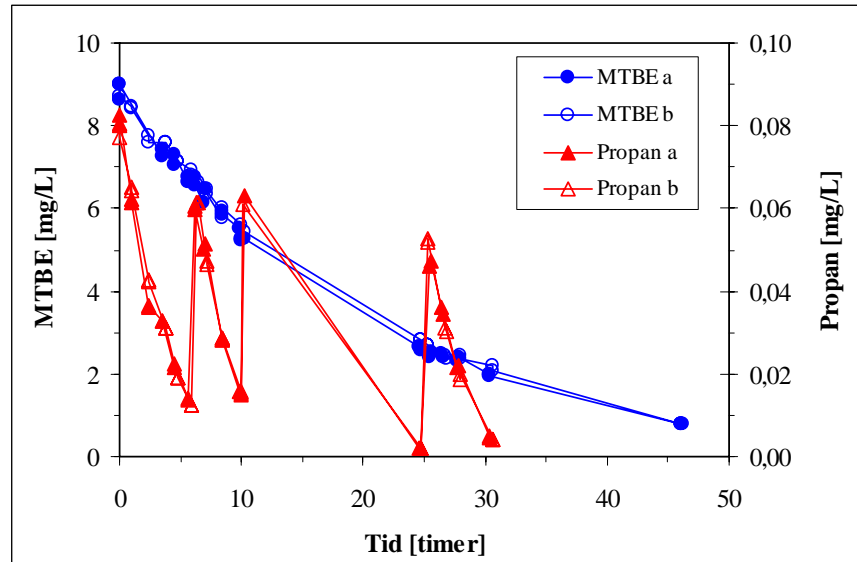
For at undersøge kulturens evne til at nedbryde MTBE under forskellige strategier mht. pulserende propantilførsel blev der udført følgende nedbrydningsforsøg:

1. Ét nedbrydningsforløb for MTBE med gentagne tilsætninger af propan, uden mellemliggende sulteperioder.
2. Ét nedbrydningsforløb for MTBE og propan efter hhv. 0, 1 og 2 dages periode uden tilstedeværelse af propan.
3. Fornyet tilsætning af MTBE til ovenstående forsøg med 0 dages sult, uden fornyet propantilsætning (ca. 40 timers sult).

Forsøgene blev udført ved 23°C, en MTBE-koncentration på ca. 8,5 mg/L, og en initial propan-koncentration på ca. 0,06 mg/L. MTBE- og propankoncentrationen blev målt over en periode på ca. 50 timer. Forsøgene er nærmere beskrevet i bilag A.8.

Resultater

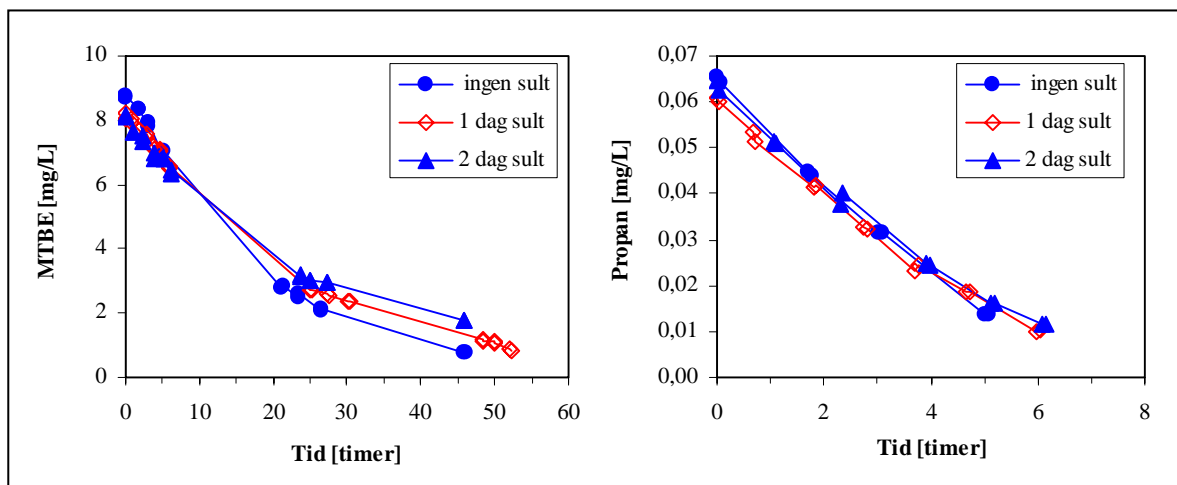
Det tidsmæssige forløb af hhv. MTBE- og propan-koncentrationen ved gentagne propan-tilsætninger fremgår af figur 2.12. Grafen viser resultaterne fra to parallelforsøg.



Figur 2.12: Nedbrydningsforløb med gentagne propan-tilsætninger.

Som det fremgår af figur 2.12 er der konstateret god overensstemmelse imellem de udførte parallelforsøg for både MTBE og propan. Disse resultater benyttes som reference i forhold til de øvrige forsøg.

I figur 2.13 er resultaterne vist for ét nedbrydningsforløb af MTBE og propan efter hhv. 0, 1 og 2 dage uden tilstedeværelse af propan. Bemærk de forskellige tidsakser for de to grafer.

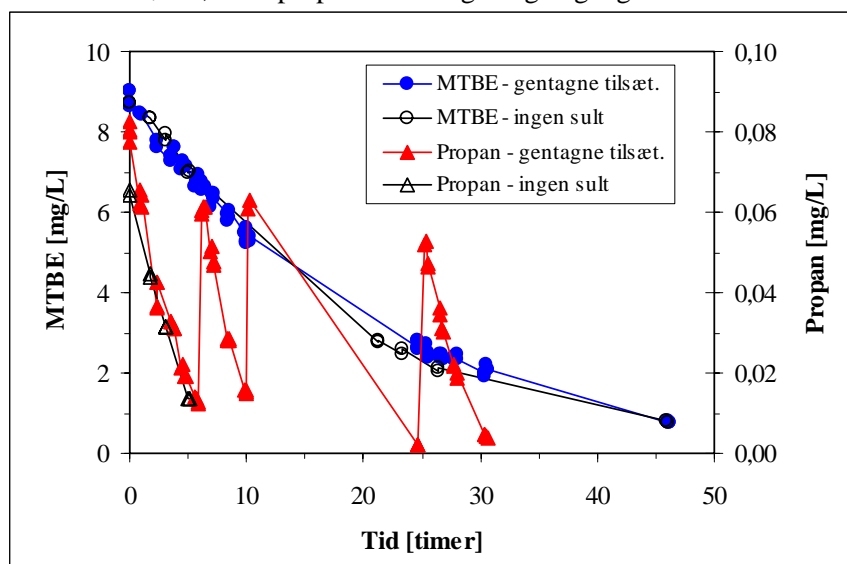


Figur 2.13: Nedbrydningsforløb efter forskellige sulteperioder.

Som det fremgår af figur 2.13 er der, sammenlignet med 0 dages sult, en svag tendens til at MTBE-nedbrydningen går langsommere efter 1 og 2 dages sult, hvorimod propan-nedbrydningen foregår med stort set uænd-

ret hastighed. Kvantitativt er initialraten for MTBE nedsat med ca. 25%, mens halveringstiden er forøget med ca. 12-13%. Målt på initialraten og halveringstiden er resultaterne stort set identiske efter 1 og 2 dages sult.

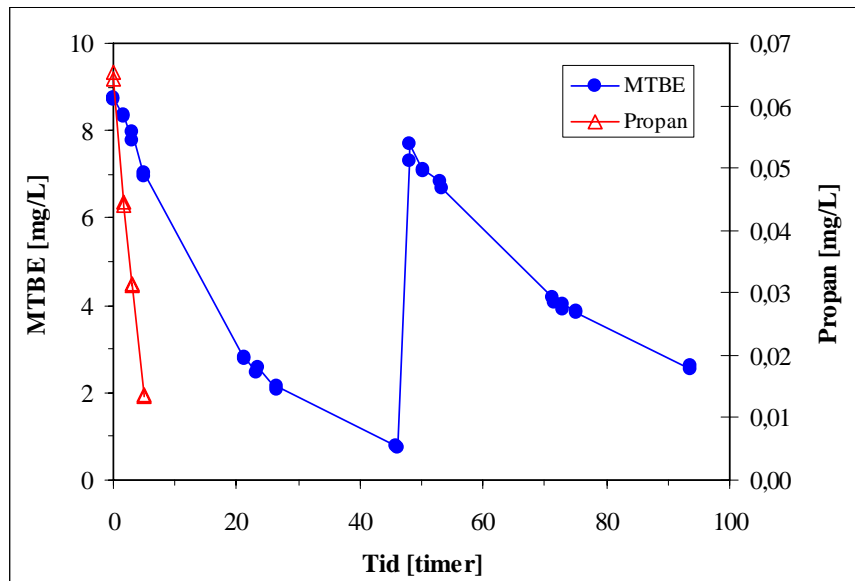
Figur 2.14 viser en sammenligning af nedbrydningsforløbet efter 0 dages sult med forløbet, hvor propan er tilsat gentagne gange.



Figur 2.14: Sammenligning af nedbrydningsforløb.

Som det fremgår af figur 2.14 er der konstateret næsten identiske nedbrydningsforløb i de to forsøg. Det mest markante er således, at der tilsyneladende ikke sker nogen ændring i MTBE-nedbrydningshastigheden, hvad enten der tilsættes propan gentagne gange eller kun en enkelt gang. I forsøget med gentagne tilsætninger forbruges der dog ca. 4 gange mere propan ved nedbrydningen af den samme mængde MTBE.

Der blev således udført forsøg for at se om kulturen er i stand til at opretholde MTBE-nedbrydningsaktiviteten i endnu længere perioder efter bare en enkelt propantilsætning. Figur 2.15 viser resultaterne fra 0 dages sult, hvor der efter 48 timer er tilsat yderligere MTBE. På dette tidspunkt har kulturen skønsomt været uden propan i mere end 40 timer, mens den i slutningen af forsøget har sultet i op mod 90 timer.



Figur 2.15: Nedbrydningsforløb ved gentagen tilsætning af MTBE.

Som det fremgår af figur 2.15 er der efter endnu en tilsætning af MTBE, uden yderligere propantilsætning, konstateret en fortsat nedbrydning af MTBE. Der er dog observeret et markant fald i nedbrydningsraten, med ca. en halvering af den initiale nedbrydningsrate og en tilsvarende fordobling af halveringstiden for MTBE. Det kan dermed konstateres, at kulturen tilsyneladende mister en større del af sin MTBE-nedbrydningseffektivitet ved mellem 40 og 90 timers sult.

Sammenfatning

På baggrund af de udførte forsøg vurderes det, at kulturen er i stand til at genoptage nedbrydningen af både MTBE og propan efter kortere sulteperioder (1 til 2 dage), dog med et mindre tab i nedbrydningseffektiviteten for MTBE. Endvidere vurderes det, at kulturen er i stand til at gennemføre et fuldstændigt nedbrydningsforløb for MTBE med bare en enkelt propantilsætning, uden at dette betyder længere omsætningstider for MTBE. Til gengæld sker der ca. en fordobling i omsætningstiden ved et efterfølgende nedbrydningsforløb for MTBE.

Betydning for bioreaktordrift

På baggrund af de opnåede resultater vurderes det, at der ved at benytte f.eks. pulserende propantilførsel med indlagte sulteperioder, er mulighed for at reducere behovet for masseoverførsel af gasser til reaktorens væskefase. Dette åbner bl.a. mulighed for en reduktion af driftsomkostningerne forbundet med forbruget af propan og ilt.

Da kulturen endvidere er i stand til at overleve sulteperioder på op til 2 dage, uden væsentligt tab i nedbrydningseffektiviteten, vurderes der endvidere, at være tale om en vis robusthed i forhold til eventuelle driftsuheld i forhold til propantilførslen.

2.2.9 Nedbrydningsprodukter

Formål

I litteraturen ses det anført, at der ikke altid kan forventes en fuldstændig mineralisering af MTBE til CO₂ og vand, dvs. at der kan ske en ophobning af mellemprodukter under nedbrydningen af MTBE. Formålet med nærværende forsøg var at undersøge om mikroorganismene er i stand til

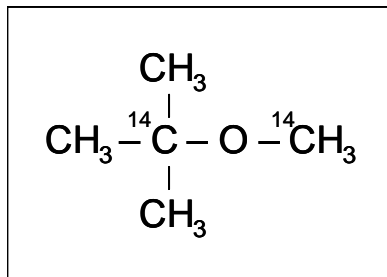
at foretage en fuldstændig nedbrydning af MTBE til CO₂ og vand, eller om der eventuelt sker en ophobning af kritiske nedbrydningsprodukter.

Teori

Den forventede nedbrydningsvej for MTBE fremgår af figur 2.2. Ifølge Deeb et al. (2000) kan det forventes, at TBF (tertiær-butyl format) hurtigt nedbrydes (biotisk og abiotisk) til TBA (tertiær-butyl alkohol). Både 2-propanol og acetone er forholdsvist letnedbrydelige. TBA er tilsyneladende det af de analyserbare nedbrydningsprodukter, der har størst tendens til at blive ophobet. Når nedbrydningen foretages af en blandingskultur, som det er tilfældet med den aktuelle kultur, må det alt andet lige forventes, at problemer med ophobning af nedbrydningsprodukter er mindre udtalt end når den foretages af en renkultur.

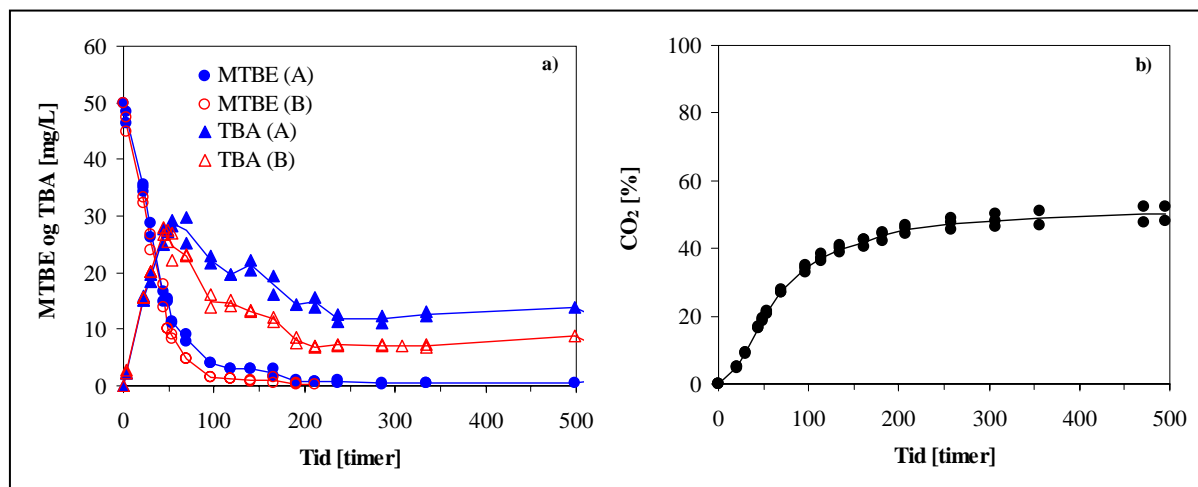
Fremgangsmåde

For at undersøge mikroorganismernes evne til at mineralisere MTBE blev der udført nedbrydningsforsøg med MTBE, der er radioaktivt mærket (¹⁴C) i to kulstofatomer, jf. figur 2.16.



Figur 2.16: Radioaktivt mærket MTBE.

Forsøgene blev udført ved en MTBE-koncentration på 50 mg/L og en primærsubstratkoncentration på ca. 0,5 mg/L. På baggrund af litteraturoplysningerne vurderes det, at TBA er det af nedbrydningsprodukterne, der har størst tendens til at blive ophobet, hvorfor der er fokuseret på dette nedbrydningsprodukt i forsøgene. Der blev udført dobbeltforsøg til bestemmelse af MTBE- og TBA-koncentrationen som funktion af tiden, mens der blev udført trippelbestemmelse af CO₂-udviklingen. Der blev ligeledes udført et kontrolforsøg. Forsøgene blev udført ved 23°C over en periode på op til 21 døgn. De nærmere detaljer omkring forsøget er beskrevet i bilag A.9.



Figur 2.17: Koncentrationsforløb for (a) MTBE og TBA samt (b) ¹⁴C₂, som % af den teoretiske mængde ved 100% mineralisering.

Som det fremgår af figur 2.17 er der god overensstemmelse imellem tendenserne for de to replikatforsøg til bestemmelse af MTBE og TBA, om end der er nogen forskel i TBA-niveauet. Der er god overensstemmelse imellem replikatforsøgene til bestemmelse af CO₂-udviklingen.

TBA nedbrydes

Som det fremgår af figur 2.17a) ses der i begyndelsen af forsøget (til ca. 50 timer) en markant nedbrydning af MTBE samt en ophobning af TBA. Efterfølgende sker der et fald i TBA-koncentrationen og det kan således direkte konstateres, at mikroorganismene er i stand til at nedbryde TBA.

MTBE-nedbrydning og sulteperioder

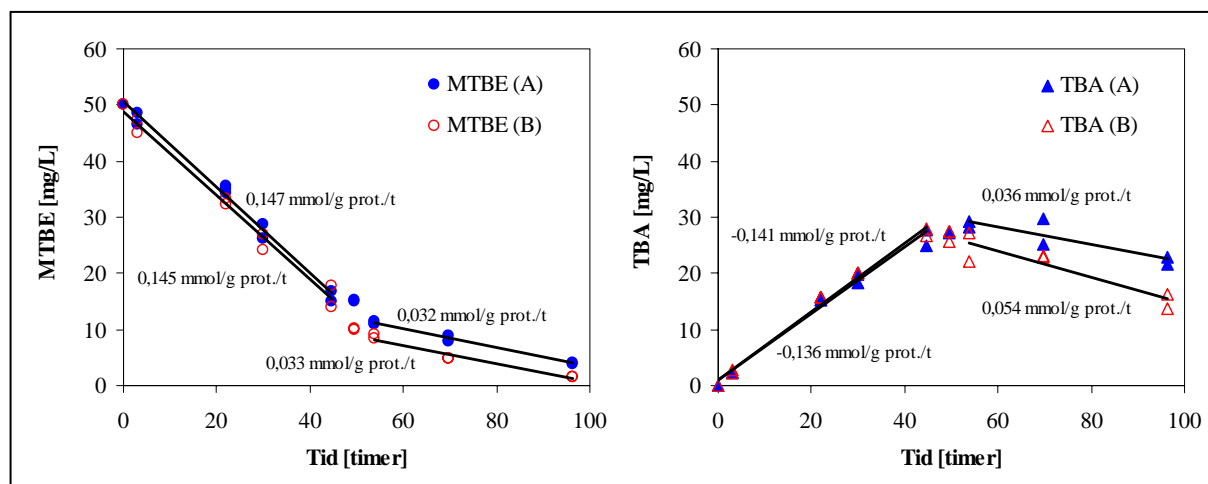
Efter ca. 120 timer er MTBE nedbrudt til et niveau omkring 2-4 mg/L og der sker tilsyneladende ingen yderligere nedbrydning. Der er derfor tilsat ilt, hvilket ikke gav anledning til yderligere nedbrydning. Efter 145 timer er det konstateret, at primærsubstratet er omsat, hvorfor der er tilsat mere. Der ses derefter yderligere nedbrydning af både MTBE og TBA og efter ca. 240 timer er MTBE nedbrudt til et niveau omkring detektionsgrænsen på 0,2 mg/L. På denne baggrund kan det konkluderes, at mikroorganismene kræver tilstedeværelse af primærsubstrat for en fortsat nedbrydning af MTBE. Som anført i afsnit 2.2.8 har forsøg med sultning dog vist, at mikroorganismene efter perioder på op til 48 timer uden primærsubstrat har bevaret ca. 75% af deres maksimale nedbrydningspotentiale.

Ophør i TBA-nedbrydningen

Efter at MTBE er nedbrudt til et niveau omkring detektionsgrænsen observeres der ingen yderligere nedbrydning af TBA. Der ses dog stadig en udvikling af CO₂, hvilket må formodes at skyldes en fortsat mineralisering af nedbrydningsprodukter, der ligger efter TBA i nedbrydningsrækken. Umiddelbart tyder det således på, at der efter fjernelsen af MTBE er sket en inhibering af den del af biomassen, der foretager nedbrydningen af TBA, mens den del af biomassen, der foretager en mineralisering af andre nedbrydningsprodukter stadig er svagt aktiv. På baggrund af forsøget kan det ikke afgøres om nedbrydningen af TBA afhænger af tilstedeværelsen af MTBE eller om det er et tilfælde, at TBA-nedbrydningen ophører samtidig med at MTBE forsvinder.

Nedbrydningsrater

På baggrund af resultaterne i figur 2.17 er der bestemt nedbrydningsrater for MTBE og netto-rater for TBA i to forskellige tidsrum af nedbrydningsforløbet. Der er tale om netto-rater for TBA, idet der samtidig med nedbrydningen af TBA også sker en dannelse af TBA ved nedbrydningen af MTBE. Raterne er udregnet i enheden [millimol MTBE/TBA/g protein/time], da der ved nedbrydningen af ét mol MTBE dannes ét mol TBA; raterne for MTBE og TBA er således direkte sammenlignelige. Resultaterne fremgår af figur 2.18.



Figur 2.18: Nedbrydningsrater for MTBE og netto-rater for TBA i to forskellige tidsrum.

Resultaterne fra figur 2.18 er sammenfattet i tabel 2.2, hvor raterne for TBA er beregnet som summen af den observerede netto-rate for TBA og MTBE-nedbrydningsraten (for at korrigere for den simultane dannelse af TBA ved nedbrydning af MTBE). Tabellen angiver middelformaterne for de replikatforsøgene i hvert tidsrum. Raterne er angivet i enheden [mg/g protein/time] til sammenligning med tidligere opnåede resultater.

Tabel 2.2: Nedbrydningsrater for MTBE og TBA.

Tidsrum [timer]	MTBE	TBA	MTBE	TBA
	[mmol/g prot./t]		[mg/g prot./t]	
0 – 45	0,146	0,008	12,9	0,57
50 - 95	0,032	0,077	2,8	5,7

Af tabel 2.2 fremgår det, at der i starten af forsøget er konstateret en væsentligt lavere nedbrydningsrate for TBA end for MTBE (5-6 %), mens der senere er konstateret en ca. 2,4 gange højere TBA-rate end MTBE-rate. Når dette vurderes er der to primære forhold der skal holdes for øje:

1. Da der er tale om en blandingskultur er det ikke nødvendigvis de samme organismer, der foretager nedbrydningen af de to stoffer.
2. Der er væsentlige forskelle imellem koncentrationsniveauerne for de to stoffer i de to tidsrum og raternes absolutte størrelse må i henhold til Michaelis-Menten ligningen forventes at være afhængig af koncentrationsniveauet. I det første tidsrum er der således tale om en forholdsvis stor MTBE-koncentration og en lav TBA-koncentration, mens det modsatte er tilfældet i det andet tidsrum.

Massebalance

Efter ca. 13 dage (307 timer) er den ene af flaskerne til CO₂-bestemmelse opsplittet for at kunne opstille en massebalance for ¹⁴C-mærket kulstof.

Ud fra den udviklede $^{14}\text{CO}_2$ og de målte koncentrationer af MTBE og TBA er der ligeledes opstillet en massebalance til tiden 50 timer, hvor koncentrationen af TBA topper. Resultaterne fremgår af tabel 2.3.

Tabel 2.3: Massebalance for ^{14}C -mærket kulstof.

Tidspunkt [timer]	MTBE [%]	TBA [%]	CO_2 [%]	Øvrige nedbrydningsprodukter [%]	Biomasse [%]
50	20-30	29-30	19	20-32*	20-32*
307	0-1	8-13	46-50	27-33 α	11

* = Sum af ^{14}C -mærket kulstof i øvrige nedbrydningsprodukter, biomasse og evt. abiotisk tab.

α = Sum af ^{14}C -mærket kulstof i øvrige nedbrydningsprodukter og evt. abiotisk tab.

Biomasseindbygning

I forhold til resultaterne i tabel 2.3 er det umiddelbart bemærkelsesværdigt, at ca. 11% af det ^{14}C -mærkede kulstof er blevet indbygget i biomassen når nedbrydningen antages at foregå ved cometabolisme, hvor MTBE ikke er en kulstofkilde for mikroorganismernes vækst. Denne indbygningsprocent svarer således til det der typisk observeres for kulturer af primære MTBE-nedbrydere (Miljøstyrelsen, 2004). I den forbindelse er det dog igen værd at bemærke, at den totale mineralisering af MTBE i blandingskulturen formentlig foretages af en række forskellige mikroorganismer og, at nogle af MTBE's nedbrydningsprodukter formentlig virker som kulstofkilde for en del af biomassen.

Mineralisering

I forhold til spørgsmålet om mikroorganismernes evne til at foretage en fuldstændig mineralisering af MTBE, er det bemærkelsesværdigt, at der ved forsøgets afslutning stadig er ca. 40% af det ^{14}C -mærkede kulstof, der befinder sig i fraktionerne "TBA" og "øvrige nedbrydningsprodukter". At dømme ud fra figur 2.17b) har denne fraktion været nogenlunde konstant fra omkring 240 timer. Når det tages i betragtning, at kulturen frem til dette tidspunkt har været i stand til at nedbryde TBA, men efter dette tidspunkt hverken nedbryder TBA eller de øvrige metabolitter i nævneværdig grad, vurderes det umiddelbart, at være et tegn på, at der er sket ophobning af en toksisk metabolit, der ligger efter TBA i nedbrydningsrækken, og som kulturen ikke er i stand til at nedbryde. Denne konklusion understøttes umiddelbart af, at der i forsøget er udviklet maksimalt 50% $^{14}\text{CO}_2$, hvilket kunne stamme fra den del af nedbrydningen, der går over formaldehyd og methansyre (jf. figur 2.2).

Toksisk inhibering?

Hvorvidt kulturen er i stand til at foretage en fuldstændig mineralisering af MTBE kan ikke afgøres entydigt ud fra ovenstående resultater, om end der er indikationer på, at der ved nedbrydningen af TBA sker en ophobning af en toksisk metabolit, som kulturen ikke er i stand til at nedbryde. På den anden side ser det ikke umiddelbart ud til at denne ophobning har indflydelse på nedbrydningen af MTBE, som fjernes til under detektionsgrænsen. På baggrund af andre forsøg med kulturen, hvor MTBE-tilsætningen er gentaget efter endt nedbrydning er det endvidere observeret, at MTBE-nedbrydningen foretages med uændret hastighed, og dermed ikke påvirkes irreversibelt. Det er således ikke muligt, at konkludere noget entydigt vedrørende en mulig ophobning af toksiske metabolitter.

Betydning for bioreaktordrift

På baggrund af det udførte forsøg vurderes det, at kulturen er i stand til at foretage en nedbrydning af såvel MTBE som TBA, om end der er tegn på at der evt. sker en ophobning af en eller flere toksiske metabolitter, der ligger efter TBA i nedbrydningsrækken. Hvis der, ved opstillingen af en

given reaktorløsning, bliver stillet krav til indholdet af metabolitter i det afledte vand (evt. til indholdet af enkeltkomponenter), anbefales det, at der udføres yderligere forsøg for at afdække problemstillingen.

2.2.10 Øvrige forhold

Følgende øvrige forhold, af mulig betydning ved driften af en given bioreaktor, er undersøgt kvalitativt eller semi-kvantitativt:

1. Vandtypen
2. Biomasseseparation

Hvert af disse forhold er summarisk gennemgået i det følgende.

2.2.10.1 Vandtype

Formål

Umiddelbart ville det være fordelagtigt, hvis en bioreaktor, indeholdende den aktuelle kultur af mikroorganismer ville kunne fungere optimalt uanset vandtypen. Da der er tale om en anabolsk nedbrydning (med opbygning af biomasse) vil der dog være behov for næringssalte i et eller andet omfang. Spørgsmålet er så om den aktuelle vandtype indeholder tilstrækkeligt med næringssalte (primært kvælstof og fosfor), eller om det vil være nødvendigt at supplere med eksterne næringssalte.

Nedbrydning i hanevand langsommere

For at søge et indledende svar på dette spørgsmål blev der udført et indledende forsøg hvor én flaske blev tilsat Aalborg hanevand, jf. den kemiske analyse i bilag C, mens en anden blev tilsat næringsmedie (som i alle de øvrige forsøg). Propan blev tilsat i en initialkoncentration på 0,63 mg/L. Forsøget viste, at propannedbrydningen foregik ca. 2,5 gange langsommere i hanevand end i næringsmedie, hvilket indikerede, at der i det aktuelle hanevand evt. kunne være tale om næringssaltbegrænsning.

Muligvis fosforbegrænsning

I forhold til almindelig heterotrof omsætning regnes typisk med et nødvendigt forhold imellem biomassekulstof, kvælstof og fosfor (C:N:P-forholdet) på 100:10:1, jf. afsnit 2.1.3. En overslagsberegning viser, at der i det aktuelle forsøg med Aalborg hanevand var et C:N:P-forhold i størrelsesordenen 100:28:0,01 hvorfor det umiddelbart vurderes, at fosfor kan have været en begrænsende faktor i forhold til at opnå en effektiv nedbrydning af propan – og dermed evt. også MTBE.

Betydning for bioreaktordrift

På baggrund af ovenstående resultat vurderes det, at der, i forbindelse med projekteringen af en given bioreaktor, som minimum bør udføres en indledende kemisk analyse for indhold af kvælstof og fosfor på grundvandet fra den aktuelle lokalitet, samt gennemføres en overslagsberegning for at sikre, at C:N:P-forholdet ligger omkring det tilrådelige.

2.2.10.2 Biomasseseperation

Formål og baggrund

Johansen et al. (2001) udførte forsøg, der viste, at den propan-oxiderende kultur ikke umiddelbart var villig til at sætte sig fast på et bæremedie (PVC-ringe, Rockwool, Kvartsuld). På den baggrund vurderes det at være hensigtsmæssigt, at benytte kulturen suspenderet i reaktorvandet, analogt til aktiv-slam anlæg. Denne form for drift kræver dog foranstaltninger til separation af biomassen fra det rensede vand, hvorfor der er udført indledende forsøg til undersøgelse af tre mulige separationsteknikker: Membranfiltrering, sedimentation og flotation.

Membranfiltrering

Der blev benyttet en laboratorieskala Biosep™ membran, venligst udlånt af Krüger A/S. Membranen fungerer ved at der sidder et bundt spaghetti-lignende fibre i et eksternt kammer. Fibrene er hule og har en ydre og indre diameter på hhv. 1,9 og 0,9 mm. Selve fibermaterialet er porøst, med porestørrelser på mellem 0,03 og 0,1 µm. Ved at passere det rensede vand med suspenderet biomasse på fibrenes ydersider og påføre fiberhulrummet et vakuum, trækkes det rensede vand ind i fibrenes hulrum og ud af den ene ende, mens biomassen bliver frafiltreret på fibrenes yderside. Efterfølgende afrives biomassen fra fibrenes yderside, dels ved at returskylle, evt. med nyt rensningskrævende grundvand, og dels ved at injicere luftbobler i kammerets bund.

Membranen var særdeles effektiv til at tilbageholde biomassen og viste sig ved senere benyttelse i reaktorforsøgene ligeledes at være driftsikker. Ved anvendelse i en fuldskala reaktor kan membranmodulet evt. placeres internt i reaktorvoluminet, hvorved der opnås et betydeligt simplere design. Fordelen ved en intern placering er, at der ikke er behov for en særskilt pumpe til at pumpe biomassesuspensionen fra reaktoren til membrankammeret og tilbage igen; ulemper er, at der ikke med samme fleksibilitet kan udføres regelmæssig vedligeholdelse og service på filteret. En klar ulempe ved brug af et membranfilter til et fuldskala filter er, at det er en forholdsvis højteknologisk løsning, der kræver en betydelig anlægsinvestering, samt potentielt er forholdsvis krævende i styring, regulering og overvågning.

Sedimentation

Efter igangsættelse af reaktorforsøgene med benyttelse af Biosep™-membranen blev der derfor udført et simpelt forsøg for at undersøge om det er muligt at benytte sedimentation som separationsmekanisme. Det vurderes umiddelbart, at sedimentation, vil kunne benyttes med et minimalt behov for styring, regulering og overvågning, og dermed vil kunne være et meget omkostningseffektivt alternativ til membranfiltreringen.

Forsøget blev udført i et 3 liters bægerglas på ca. 50 centimeters højde, med mulighed for at udtage væskeprøver i tre dybder. Koncentrationen af biomassen blev målt i hver dybde til forskellige tidspunkter. Forsøget viste, at der efter ca. 26 minutter var opnået sedimentation af alle sedimenterbare mikroorganismer, og der skete ingen yderligere sedimentation til forsøgets afslutning efter ca. 80 timer. På dette tidspunkt befandt ca. 75% af biomassen sig i de nederste ca. 10% af væskevoluminet. Et efterfølgende screeningsforsøg viste, at den sedimenterede biomasse havde en initial MTBE-nedbrydningsrate, der var ca. 2,5 gange højere end den biomasse, der stadig var i suspensionen efter 80 timer.

Umiddelbart vurderes det, at en sedimentationstid på ca. 30 minutter for en fuldskala bioreaktor er lidt højere end ønsket. Det udførte forsøg viser dog ganske lovende resultater, idet det tilsyneladende er den mest effektive biomasse, der har tendens til at sedimentere. Endvidere vurderes det umiddelbart, at der ved gentagne sedimentationsforløb, evt. med kortere og kortere sedimentationstider, vil ske en selektion af de mikroorganismer, der er bedst til at sedimentere (og muligvis er de bedste MTBE-nedbrydere). Det vurderes således samlet, at der er et stort teknisk og økonomisk potentiale i at benytte sedimentation til biomasseseparation i forbindelse med driften af et givent fuldskalaanlæg.

Flotation

Mod slutningen af projektet blev der ligeledes udført et forsøg for at afgøre om der er mulighed for at benytte flotation som separationsmekanisme. Såfremt mikroorganismene kan flotere ved indblæsning af luftbobler i bunden af en bioreaktor, evt. gennem det samme system der benyttes til indblæsning af ilt og propan, vurderes det umiddelbart, at kunne give en meget hurtig og omkostningseffektiv separation.

Forsøget blev udført i et 3 liters bægerglas, og flotationen blev sikret med indføring af luft-overmættet vand via en slange nær glassets bund. Forsøget viste rent visuelt en meget effektiv flotering af det meste af biomassen på under et minut. Der blev ikke udført kvantitative forsøg til bestemmelse af hvor stor en %-del af biomassen, der var floteret eller til bestemmelse af de nedbrydningseffektiviteten i de respektive faser. På baggrund af det overbevisende visuelle resultat ved forsøget vurderes det dog umiddelbart, at flotation har potentiale ved en drift af en eventuel bioreaktor.

2.3 Sammenfatning og vurdering

Fremelskning og vækst

Ved gentagne forsøg er det konstateret, at det er forholdsvis let, at fremelske propanoxiderende mikroorganismer med MTBE-nedbrydende egenskaber. De observerede vækstrater for mikroorganismene svarer til, at biomassen, under ideelle betingelser med hensyn til propan, ilt og næringssalte, fordobles for hhv. hver 14. - 31. time (ved hhv. 30 og 23°C). Såfremt der anvendes et kontinuert reaktordesign vurderes det, at en form for tilbageholdelse af biomassen er påkrævet. I forhold til opstart af en ny reaktor vurderes det, at den nødvendige biomasse kan fremelskes og opformeres indenfor en periode på omkring 2 - 3 måneder.

Nedbrydning af propan og MTBE

Der er udført en række forsøg, der viser, at mere end 80% af den maksimale MTBE-nedbrydningsrate kan bibeholdes ved propankoncentrationer mindre end ca. 0,5 mg/L, ligesom der er udført forsøg til estimering af nedbrydningshastighederne for hhv. propan og MTBE på baggrund af deres respektive koncentrationer. Resultaterne kan benyttes ved et indledende design af en given on-site reaktor.

Temperatur

Det er konstateret, at den aktuelle kultur tilsyneladende er forholdsvis temperaturfølsom, således at der ved typiske danske grundvandstemperaturer (10-12°C) kan forventes 3 til 11 gange lavere MTBE-nedbrydningsrater end ved en temperatur på 23°C ($Q_{10} = 2,5-8,8$), svarende til den temperatur hvorved alle de øvrige forsøg er udført.

Ilt

Med hensyn til iltkoncentrationen anbefales det umiddelbart, at koncentrationen i reaktorens bulk væskefase holdes over ca. 2 mg O₂/L for ikke

at opleve en større reduktion i reaktorens nedbrydningskapacitet. Hvis mikroorganismene har tendens til at klumpe sig sammen under de aktuelle driftsbetingelser (omrøring m.v.) kan det være nødvendigt at hæve iltkoncentrationen i væskefasen.

Benzen

Den aktuelle kultur er i stand til at nedbryde benzen med ca. samme hastighed som MTBE (ved koncentrationer under 2 mg/L), men det er konstateret, at benzen medfører en reduceret nedbrydningshastighed for MTBE. Da der kun er udført forsøg med benzen kan det ikke udelukkes, at de øvrige BTEX'er har en anderledes effekt på MTBE-nedbrydningen. Hvis indløbsvandet indeholder både MTBE og BTEX'er er det derfor muligt, at den samlet set økonomisk mest fordelagtige rensning af det forurenede grundvand opnås ved at indsætte et forfilter til BTEX-fjernelse inden MTBE-filteret.

Substrattilførsel

På baggrund af resultaterne for den aktuelle kultur vurderes det, at driftsomkostningerne forbundet med tilsætning og masseoverførsel af propan og ilt kan holdes nede ved at benytte pulserende propantilførsel med kortere sulteperioder imellem pulstilsætningerne. Den undersøgte kultur har endvidere vist sig i stand til at overleve sulteperioder på op til 2 dage, uden væsentligt tab i nedbrydningseffektiviteten, hvorfor den vurderes at være forholdsvis robust i forhold til eventuelle driftsuheld af kortere varighed.

Nedbrydningsprodukter

Forsøg har vist, at kulturen er i stand til at foretage en nedbrydning af såvel MTBE som TBA, om end der er tegn på at der evt. sker en ophobning af en eller flere metabolitter, der ligger efter TBA i nedbrydningsrækken.

Næringssalte

Forsøg med Aalborg hanevand har vist, at der for aktuelle vandtyper kan opstå en næringssaltbegrænsning, der hæmmer MTBE-nedbrydningen. Dette forhold kan indledningsvist afklares ved at foretage en kemisk analyse for indhold af kvælstof og fosfor på grundvandet fra den aktuelle lokalitet, samt foretage en overslagsberegning for at sikre, at C:N:P-forholdet ligger omkring 100:10:1. Det kan således vise sig nødvendigt at tilsætte næringssalte til indløbsvandet for at opnå en hensigtsmæssig nedbrydning af MTBE.

Biomassetilbageholdelse

I forhold til at opnå en tilstrækkelig høj biomassekoncentration i en given bioreaktor har indledende kvalitative forsøg vist, at både sedimentation og flotation kan vise sig at være omkostningseffektive alternativer til membranfiltrering, der vurderes at være et sikkert (om end dyrt) alternativ.

Forforsøg og opstart

Såfremt det påtænkes at opstarte en reaktor til biologisk MTBE-fjernelse med en propanoxiderende mikrobiologisk kultur anbefales det, at der udføres en række forforsøg til afklaring af nogle af kulturens nedbrydningsegenskaber under de aktuelle feltbetingelser:

- Grundvandstypen (næringssalte m.v.).
- Forureningsniveau og -sammensætning (herunder BTEX'er).
- Temperatur.
- Betydningen af iltkoncentrationen vil kunne afklares i reaktorens indkøringsfase ved at justere på iltkoncentrationen og plote rensningsgraden som funktion af denne.

- Hvis der stilles krav til indholdet af metabolitter i det afledte vand, anbefales det, at der udføres et forforsøg for at afdække om der under de aktuelle betingelser sker en ophobning af nedbrydningsprodukter.

3 Del II: Reaktorforsøg

3.1 Teori

3.1.1 Reaktorvolumen og hydraulisk opholdstid

Hvis det vand, der skal renses stammer fra eksempelvis en afværgepumpe vil både indløbsflow og –koncentration (og dermed massebelastningen) være givet på forhånd. Er udløbskravet ligeledes givet, eksempelvis svarende til Miljøstyrelsens grundvandskvalitetskriterium på 5 µg/L, så vil den påkrævede specifikke massefjernelse for anlægget ligeledes være givet. I dette tilfælde vil det nødvendige reaktorvolumen, i henhold til ligning 3.1, være omvendt proportionalt med anlæggets volumetriske omsætningskapacitet. Med andre ord, så kan anlæggets størrelse minimeres, hvis der sikres en hurtig omsætning af den MTBE, der kræves fjernet i reaktoren.

$$Vol. = \frac{Q \cdot (C_{MTBE,ind} - C_{MTBE,ud})}{V_{MTBE} \cdot X} \quad (3.1)$$

hvor $Vol.$ er det nødvendige aktive reaktorvolumen [L], Q er den hydrauliske belastning [L/time], C_{MTBE} er MTBE-koncentrationen i hhv. ind- og udløbsvandet [mg MTBE/L], V_{MTBE} er den specifikke MTBE-nedbrydningsrate [mg MTBE/g protein/time] og X er biomassekoncentrationen i reaktoren [mg protein/L].

Som det fremgår af kapitel 2, så afhænger den specifikke MTBE-nedbrydningsrate (V_{MTBE}) af en lang række faktorer, herunder de aktuelle mikroorganismer, koncentrationen af MTBE, propan og ilt samt temperaturen, næringssalte, tilstedeværelsen og koncentrationen af andre forureningskomponenter, pH m.v. Den størrelse, der indgår i ovenstående ligning, er den samlede specifikke omsætningsrate, der fås ved korrektion for de nævnte faktorer.

Hydraulisk opholdstid

Den nødvendige hydrauliske opholdstid (T_h) er givet ved ligning 3.2.

$$T_h = \frac{Vol.}{Q} = \frac{C_{MTBE,ind} - C_{MTBE,ud}}{V_{MTBE} \cdot X} \quad (3.2)$$

3.1.2 Reaktordesign

Der kan umiddelbart opstilles tre overordnede kriterier mht. valget af bio-reaktordesign:

1. Effektivt og kompakt/pladsbesparende.
2. Lave anlægsomkostninger.
3. Lave driftsomkostninger.

Effektivt og kompakt

Hvis både indløbsflow og –koncentration, og dermed massebelastningen, er givet på forhånd, kan det ud fra ligning 3.1 sluttet, at muligheden for at minimere det nødvendige reaktorvolumen er begrænset til at øge den vo-

lometriske omsætningskapacitet. Den tilbageværende design- og driftsmæssige udfordring ligger således i at opbygge og opretholde en høj biomassekoncentration i reaktoren, samt i, at skabe betingelser, der giver den højst mulige specifikke nedbrydningsrate.

Anlægsomkostninger

Anlægsomkostningerne kan principielt holdes nede ved at sikre et ukompliceret og kompakt reaktordesign, der er baseret på forholdsvist få komponenter, samt med udstrakt brug af standardkomponenter og et minimalt behov for udstyr til styring, regulering og overvågning (SRO).

Driftsomkostninger

Driftsomkostningerne kan holdes nede ved, at sikre et minimalt behov for tilsyn og SRO-enheder samt ved at sikre et lavt forbrug af elektricitet, ilt og primærsubstrat (propan).

Mulige designs

Eftersom den aktuelle kultur ikke synes tilbøjelig til at hæfte sig på et eventuelt bæremedium synes designmulighederne begrænset til reaktordesigns, der bygger på at holde biomassen suspenderet i reaktorvandet. Dette design er analog med den måde batchforsøgene i afsnit 2 er udført på, og princippet for f.eks. aktiv-slam anlæg på de kommunale rensningsanlæg.

Der er to overordnede muligheder mht. reaktordesign baseret på en suspension af mikroorganismer:

1. Kontinuert gennemløbsreaktor.
2. Sekventiel Batch Reaktor (SBR).

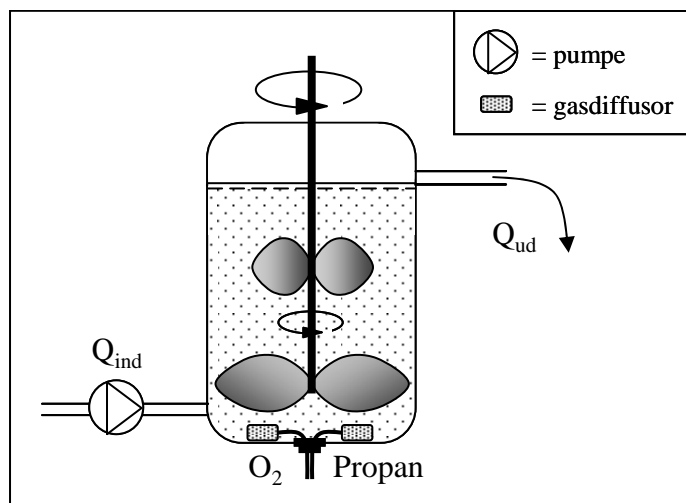
De to reaktortyper er gennemgået i det følgende.

3.1.2.1 Kontinuert reaktor

Princip

Den kontinuerede reaktor virker ved, at forurenede grundvand fra afværgepumpningen (kontinuert) løber ind og bliver opblandet med det vand, der allerede er i reaktoren. Her vil det fortrænge et volumen, der svarer til det volumen, der er løbet til, således at $Q_{ud} = Q_{ind}$. Næringssalte, propan og ilt tilføres reaktoren kontinuert i mængder/koncentrationer, der sikrer den ønskede (maksimale) volumetriske omsætningskapacitet.

Kvaliteten af det rensede vand i udløbet svarer til kvaliteten af det vand der er i reaktoren, hvorfor koncentrationen af alle stoffer i udløbet er lig koncentrationen i reaktoren. Den principielle opbygning for gennemløbsreaktoren fremgår af figur 3.1.



Figur 3.1: Principiel opbygning af gennemløbsreaktor.

De ovenfor nævnte egenskaber for gennemløbsreaktoren kan have nogle uheldige konsekvenser for reaktordriften i nærværende sammenhæng.

Lav omsætningskapacitet

Eksempelvis betyder det, at hvis kravet til afløbskvaliteten for MTBE er $5 \mu\text{g/L}$, svarende til Miljøstyrelsens grundvandskvalitetskriterium, så må koncentrationen inde i filteret (den som mikroorganismene oplever) også maksimalt være $5 \mu\text{g/L}$. Da den volumetriske MTBE-omsætningskapacitet samtidig afhænger af MTBE-koncentrationen, jf. Michaelis-Menten relationen i ligning 2.10, betyder det, at omsætningskapaciteten dikteres direkte af udløbskravet; jo skrappe krav til udløbskvaliteten, jo lavere bliver den opnåelige omsætningskapacitet for anlægget.

Højt forbrug

Ydermere betyder det, at de betingelser, der er optimale for at opnå en høj omsætningsrate; f.eks. koncentration af propan, ilt og næringssalte, ligeledes vil være gældende for udløbsvandet. Der hældes så at sige propan og ilt i afløbet, efter der er brugt ressourcer på at overføre dette til reaktortvandet. Ligeledes kan det, afhængigt af afledningssituationen, naturligvis være et problem, at det rensede vand indeholder næringssalte.

Simpelt design

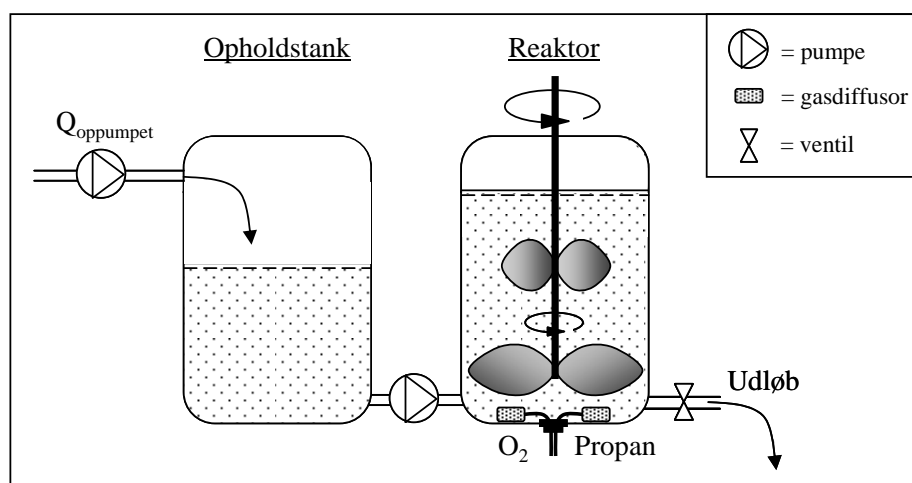
På den anden side er der tale om et forholdsvist simpelt design med brug af få anlægskomponenter; herunder med et minimalt behov for SRO-enheder, hvilket, alt andet lige, vil medføre lave anlægs- og driftsomkostninger. De designmæssige konsekvenser er illustreret og sammenlignet med SBR-designet via nogle overslagsberegninger i afsnit 3.1.2.3.

3.1.2.2 Sekventiel batch reaktor (SBR)

Princip

Den sekventielle batch reaktor virker ved at forurenede grundvand fra afværgepumpningen (kontinuert) løber ind i en opholdstank af ca. samme volumen som selve reaktoren. Med jævne mellemrum pumpes vandet fra opholdstanken over i selve reaktoren. Herefter lukkes for indløbet til reaktoren, og den biologiske proces gives tid til at forløbe. Under nedbrydningen starter MTBE-koncentrationen således med at være høj, mens den gradvist bliver lavere og lavere, under forbrug af propan, ilt og næringssalte. Når MTBE-koncentrationen har nået et niveau svarende til udløbskriteriet, åbnes udløbsventilen, og det rensede vand tappes af. Udløbsventilen lukkes og der pumpes på ny forurenede vand fra opholdstanken.

ken over i den biologiske reaktor. Den principielle opbygning for en sekventiel batch reaktor fremgår af figur 3.2.



Figur 3.2: Principiel opbygning af sekventiel batch reaktor.

De ovenfor nævnte principper for SBR-designet har nogle åbenlyse fordele og ulemper i forhold til on-site rensning af forurenede grundvand.

Høj omsætningsrate

Den primære fordel ved SBR-designet er, at det giver anledning til højere omsætningsrater for det primære forureningsstof (altså MTBE) end f.eks. det kontinuerte reaktordesign. Dette skyldes, at MTBE-koncentrationen i starten af nedbrydningsforløbet er forholdsvis høj, hvilket i henhold til Michaelis-Menten ligningen giver anledning til høje volumetriske omsætningsrater. Kun i slutningen af rensningsprocessen, når MTBE-koncentrationen er ved at nå ned på udløbskravet, vil omsætningsraten være lige så lav som for det kontinuerte reaktordesign.

Lav hydraulisk opholdstid

Den højere omsætningsrate giver, alt andet lige, anledning til en lavere nødvendig hydraulisk opholdstid, jf. ligning 3.2, og dermed et mindre nødvendigt reaktortvolumen, samt et mere kompakt anlæg. På den anden side kræver fyldning og tømning af bioreaktoren tid, ligesom der kan være et tidsforbrug forbundet med tilbageholdelse af den suspenderede biomasse (sedimentation, flotation eller membranfiltrering).

Lavt substratforbrug

Sammen med en lav opholdstid opnås et lavt substratforbrug, som skyldes, at en given mængde MTBE, nedbrydes på et kortere tidsrum, hvor mikroorganismene når at forbruge en mindre mængde propan.

Lavt iltforbrug

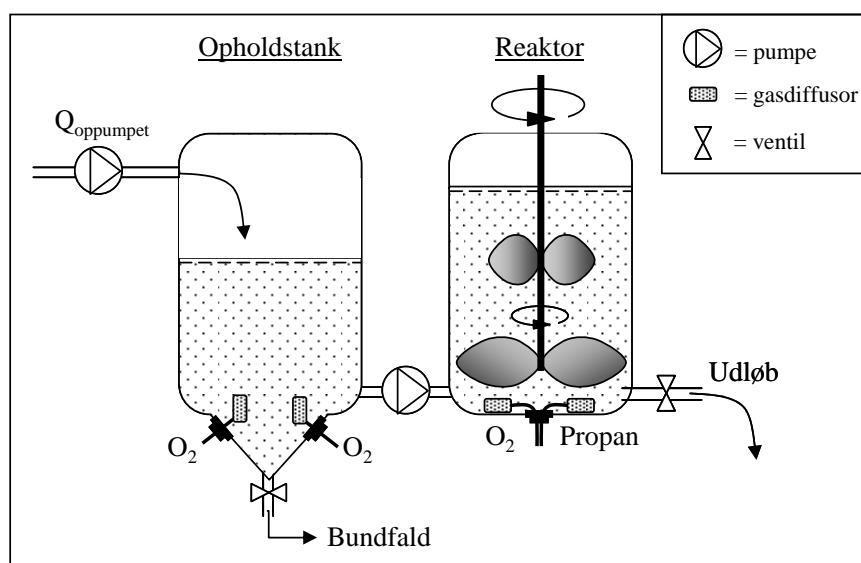
Med et lavt substratforbrug følger også et lavt iltforbrug, og dermed et mindre behov for masseoverførsel af gas (propan og ilt) til væskefasen.

Opholdstank påkrævet

Som anført ovenfor kræver designet dog, at der opstilles en opholdstank til opsamling af det oppumpede grundvand mens de biologiske processer forløber i bioreaktoren. Alt andet lige må dette naturligvis betragtes som en ulempe, set i forhold til f.eks. det kontinuerte reaktordesign.

På den anden side giver SBR-designet, som nævnt ovenfor, anledning til et mere kompakt design af selve biofilteret, således at den samlede anlægsstørrelse ikke nødvendigvis bliver dobbelt så stor.

Ydermere er der mulighed for, med få justeringer, at udbygge opholdstanken til et (aerobt) forfilter til udfældning af jern og mangan samt fjernelse af f.eks. BTEX, jf. figur 3.3; foranstaltninger der kan vise sig hensigtsmæssige eller nødvendige, uanset hvilket reaktordesign, der benyttes.



Figur 3.3: SBR-reaktor med opholdstank ombygget til forfilter.

Kompliceret design

Samlet set vurderes SBR-designet, at være betydeligt mere kompliceret end det kontinuerte design. Som konsekvens af dette må der påregnes et betydeligt behov for SRO-enheder, for at opnå en optimering af de biologiske processer, herunder til løbende monitorering (og regulering) af MTBE-, propan-, ilt- og næringssaltkoncentrationerne. Derudover kræves der enheder til styring og regulering af pumper, ventiler og biomasseseparation, hvilket, alt andet lige, vil medføre høje anlægs- og driftsomkostninger. Det komplicerede design må ligeledes forventes at give anledning til større omkostninger til opsætning og indkøring af et givent anlæg.

De designmæssige konsekvenser ved SBR-designet er illustreret og sammenlignet med det kontinuerte design via nogle overslagsberegninger i afsnit 3.1.2.3.

3.1.2.3 Overslagsberegninger

Numerisk model

På baggrund af Michaelis-Menten kinetik, samt resultaterne opnået i batchforsøgene er der udarbejdet en numerisk model, som er benyttet i nedenstående overslagsberegninger for SBR-anlægget. Modellens ligningsgrundlag og forudsætninger er beskrevet i bilag D.

Beregningsgrundlag

Der tages udgangspunkt i design af et biologisk filter til en hydraulisk belastning på $2 \text{ m}^3/\text{time}$, 90% massefjernelse, samt Michaelis-Menten relationerne for omsætningsraten for propan og MTBE (hhv. ligning 2.8 og 2.10). Ydermere antages en biomassekoncentration i anlægget på 2 mg biomasse/L ($\approx 1 \text{ g protein/L}$) samt, at der opretholdes næroptimale forhold mht. ilt (4 mg/L), propan ($0,3 \text{ mg/L}$) og næringssalte. Anlægget drives ved 23°C , svarende til temperaturen under batchforsøgene.

I en SBR-reaktor kan propankoncentrationen variere under nedbrydningsforløbet. I beregningerne er propankoncentrationen således sat til $0,2\text{-}0,4$

mg/L, så den er sammenlignelig med middelværdien på 0,3 mg/L antaget i beregningerne for den kontinuerte reaktor.

Rensning fra 10 til 1 mg MTBE/L

Vi betragter først et biofilter, der er designet til at rense fra 10 mg MTBE/L i indløbet til 1 mg MTBE/L i udløbet (90% rensning). Anlægget behandler altså 2 m³/time og fjerner 18 g MTBE/time.

Under disse betingelser estimeres det nødvendige reaktorvolumen for en kontinuert reaktor til 3 m³, svarende til en hydraulisk opholdstid på 1,5 time, og et biologisk propanforbrug på ca. 230 g propan/m³ rensset vand (ca. 25 g propan/g MTBE).

For SBR-reaktoren estimeres den hydrauliske opholdstid til 0,4 time, svarende til et effektivt reaktorvolumen på 0,8 m³, og et biologisk propanforbrug på ca. 60 g propan/m³ rensset vand (ca. 6,7 g propan/g MTBE). Ved SBR-designet må der dog påregnes ekstra anlægskapacitet, idet der går tid med fyldning, tømning og biomasse separation. Hvis det "inaktive" tidsrum skønnes til samlet 12 minutter, vil det svare til en forøgelse af den hydrauliske opholdstid på 50%, hvorfor det faktiske reaktorvolumen bliver 1,2 m³, i stedet for 0,8 m³. Samtidig er der behov for en opholdstank af samme størrelse som reaktoren, således at det samlede tankvolumen bliver 2,4 m³.

Som det ses af ovenstående sammenligning kan det samlede tankvolumen skønsmæssigt mindskes med 20% ved anvendelse af SBR-designet frem for det kontinuerte design, inklusiv den påkrævede opholdstank. Ydermere mindskes det specifikke propanforbrug med næsten 75%.

Rensning fra 1 til 0,1 mg MTBE/L

Hvis vi nu betragter et biofilter, der er designet til at rense fra 1 mg MTBE/L i indløbet til 0,1 mg MTBE/L i udløbet, har vi et anlæg, der behandler altså 2 m³/time og fjerner 1,8 g MTBE/time.

For begge anlægskonstruktioner opnås stort set samme hydrauliske konfiguration som ovenfor (ca. 5% reduktion af hydraulisk opholdstid og anlægsvoluminer). For det kontinuerte anlæg beregnes et biologisk propanforbrug på ca. 225 g propan/m³ rensset vand, svarende til ca. 250 g propan/g MTBE. For SBR-designet opnås tilsvarende et biologisk propanforbrug på ca. 56 g propan/m³ rensset vand, svarende til ca. 60 g propan/g MTBE.

Den relative gevinst ved at benytte SBR-designet, både mht. anlægsstørrelse og det specifikke propanforbrug, er altså det samme for de to scenarier.

Iltforbrug

Hvis der antages et specifikt iltforbrug forbundet med nedbrydningen af propan og MTBE på hhv. 3,4 og 2,7 g ilt/g substrat, svarende til lav vækst på propan og fuldstændig mineralisering af MTBE, kan der for ovenstående scenarier beregnes et iltbehov på 800 og 230 g ilt/m³ rensset vand for hhv. den kontinuerte reaktor og SBR-reaktoren.

Masseoverførsel

Ud fra ovenstående overslagsberegninger kan det beregnes, at der for det kontinuerte reaktordesign samlet set skal overføres ca. 1.000 g ilt og propan (gas) pr. m³ vand der renses, mens der for SBR-designet skal overføres ca. 290 g ilt og propan pr. m³ vand, der renses. I begge tilfælde er der

tale om ganske betragtelige mængder, der vurderes at ville stille forholdsvis store krav til den tekniske løsning af gas-væske overførsel.

Masseoverførsel pr. tid

I forhold til den praktiske udførelse af et biologisk anlæg bliver det springende punkt naturligvis, hvor lang tid der er til at overføre den beregnede mængde gas til væskefasen. Med andre ord, hvor lang bliver den faktiske hydrauliske opholdstid (= behandlingstid) i anlægget. De to vigtigste faktorer af betydning for den faktiske nødvendige opholdstid vurderes at være den opnåelige biomassekoncentration og temperaturen. I den forbindelse er det væsentligt at påpege, at ovenstående beregninger er udført ved en antaget temperatur på 23°C og ikke 10-15°C, som må formodes at ville blive gældende for faktiske on-site anlæg. Samtidig er den anvendte mikrobielle kultur i batchforsøgene fundet ganske temperaturfølsom.

3.2 Forsøgsopstilling

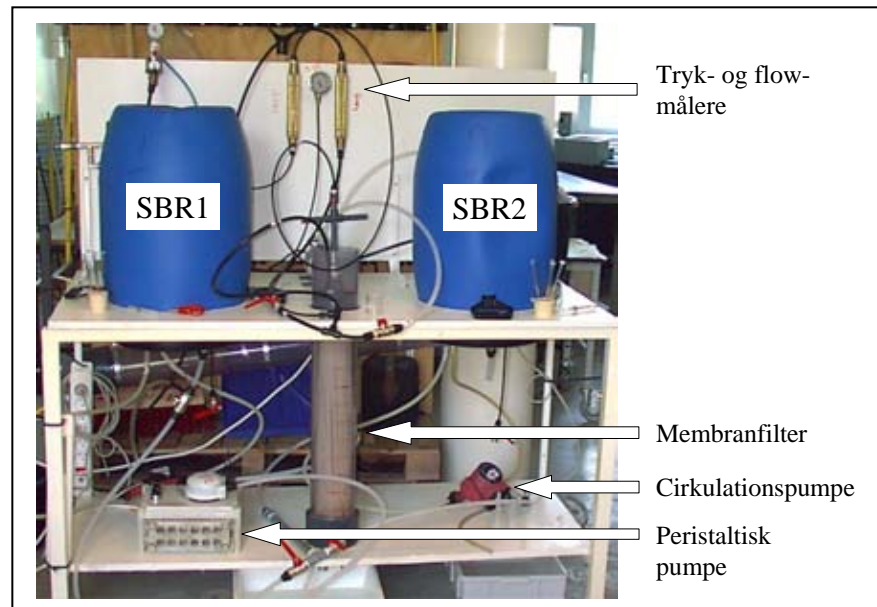
Valg af reaktordesign

På baggrund af ovenstående overvejelser omkring reaktordesign vurderes der umiddelbart, at være en række fordele ved anvendelse af SBR-designet, i form af hurtigere omsætning, lavere nødvendig hydraulisk opholdstid og lavere propan- og iltforbrug, hvorfor forsøgsopstillingen blev baseret på SBR-designet.

Forsøgsopstilling

Forsøgsopstillingen bygger på følgende komponenter, jf. figur 3.4:

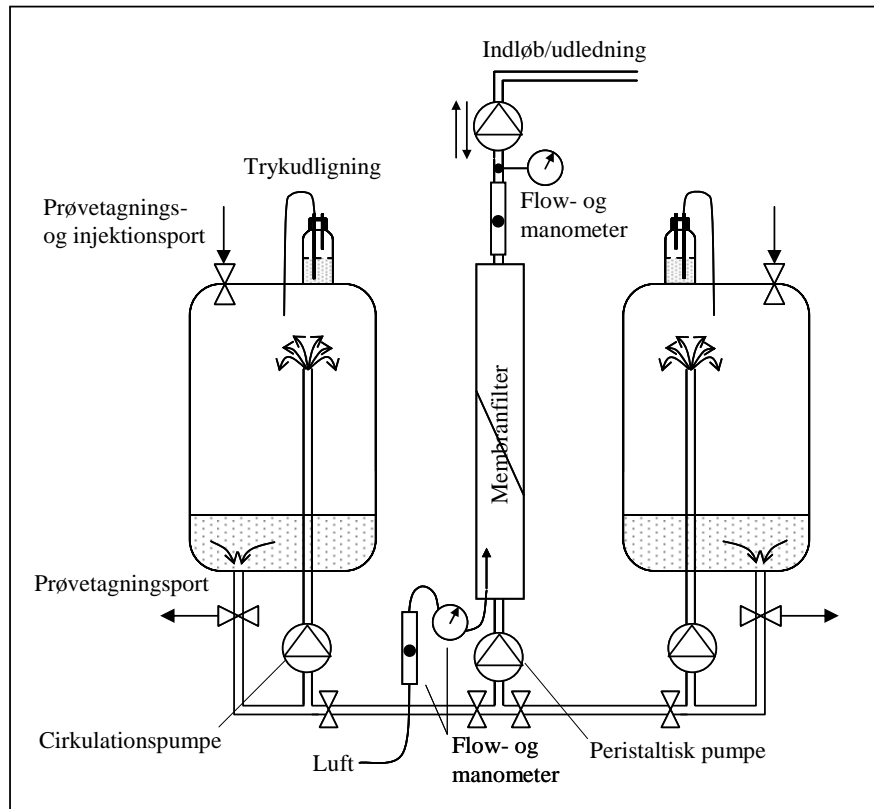
- To 60 L polyethylen reaktorer (SBR1 og SBR2).
- To cirkulationspumper til suspension af biomasse.
- Eksternt membranfilter til biomassetilbageholdelse.
- Manometre og flowmetre til styring af membranfilter.
- Peristaltisk pumpe til frem- og tilbagepumpning af biomasse.



Figur 3.4: Forsøgsopstilling med to parallelt drevne SBR-reaktorer.

To parallelle reaktorer

Det blev valgt at udføre forsøgsopstillingen med to parallelt drevne reaktorer, da dette muliggjorde samtidig afprøvning af to forskellige betingelser mht. substratkoncentrationen. Figur 3.5 viser den skematiske opbygning for de to reaktorer.



Figur 3.5: Skematisk opbygning af reaktoropstillingen.

Gas/væske-forhold

I forsøgsopstillingen blev det valgt at køre med et forholdsvist stort gas/væske-forhold på 5:1 (hhv. 50 L gasfase og 10 L væskefase), der vurderes at ville give u hensigtsmæssigt store reaktorer i forhold til en evt. on-site anvendelse af teknologien. Under de aktuelle forhold blev forholdet valgt ud fra et hensyn om, at have et betydeligt reservoir af gasserne propan og ilt til rådighed for nedbrydningsprocesserne, hvilket var væsentligt, da der blev benyttet en manuel tilsætning af ilt og propan gennem injektionsportene i toppen af hver reaktor, jf. figur 3.5.

Ved den valgte fordeling imellem gas- og væskevolumen samt den aktuelle koncentration af biomasse i reaktorerne kunne der i praksis gennemføres to nedbrydningscykler pr. døgn.

Sekventiel drift

Reaktorernes sekventielle drift blev gennemført med følgende driftsfaser:

1. Fyldning med næringsrigt vand og returskylning af biomasse.
2. Manuel tilsætning af MTBE, propan og ilt.
3. Batch-nedbrydning af MTBE og propan.
4. Tømning og biomassefiltration.

De enkelte driftsfaser gennemgås i det følgende.

Fyldning og returskylning

Vandfyldningen blev foretaget som en "returskylning" af membranfilteret med næringsrigt vand, og tjente desuden det formål, at tilbageføre den frafilterede biomasse til reaktoren (jf. fase 4). Under returskylningen påførtes trykluft via en diffusor i bunden af membran-kassetten; dels for at bevirke en iltning af indløbsvandet og dels for at bevirke en mekanisk afrivning af biomassen fra membranoverfladen.

Tilsætning af MTBE, propan og ilt

Der blev foretaget manuel tilsætning af MTBE, propan og ilt igennem injektionsportene i toppen af reaktorerne. MTBE blev tilsat fra en koncentreret opløsning i en mængde, svarende til en startkoncentration på ca. 10 mg/L, mens propan blev tilsat som gas, i mængder svarende til den ønskede startkoncentration, jf. afsnit 3.3. Ilt blev tilsat som ren ilt, således at iltkoncentrationen til alle tider blev holdt over 2 mg/L. For ikke at skabe overtryk ved tilsætningen af ilt og propan blev der, inden tilsætningen, skabt et vakuum i reaktoren ved at udtrække et tilsvarende volumen af reaktoratmosfæren.

Batch-nedbrydning af MTBE og propan

Under batch-nedbrydningen blev der foretaget en konstant opblanding af gas- og væskefasen, samt opretholdt en suspension af biomasse, via cirkulationspumperne og de etablerede "springvand", jf. figur 3.5. Under nedbrydningen blev der løbende foretaget en monitoring af MTBE-, propan- og iltkoncentrationen i reaktorerne gasfase via injektionsportene i reaktorerne top. Endvidere blev der løbende målt temperatur, pH, opløst ilt og biomassekoncentration (via OD₅₅₀) på væskeprøver udtaget fra prøvetagningsporte installeret på recirkulationsstrengen, jf. figur 3.5.

Tømning og biomassefiltration

Når monitoringsresultaterne viste, at MTBE-koncentrationen havde nået et tilstrækkeligt lavt niveau (mellem 0,2 og 1 mg/L), blev recirkulationspumpen slukket, og den peristaltiske pumpe tændt, således at det biomaseholdige, rensede, vand blev ført fra reaktoren til membranfilteret. Samtidig blev membranfilteret, på udløbssiden, påført et nænsomt undertryk via en anden peristaltisk pumpe, hvorved der opnåedes en opkoncentring af biomasse og frafiltrering af det rensede vand. Den benyttede membranenhed var en Hollow Fiber Membrane (HFM) af typen Bio-sepTM med porestørrelser på 0,03-0,1 µm, venligst udlånt af Krüger A/S.

Trykudligning

Som det fremgår af figur 3.5 er forsøgsopstillingen er udført med trykudligningsanordninger (Mariotte-flasker) installeret i toppen af reaktorerne. Dette var nødvendigt, da forbruget af propan og ilt under nedbrydningsprocesserne, ved en forholdsvis stor biovækst, ellers ville skabe i størrelsesordenen 5-10% undertryk i reaktorerne.

3.3 Resultater

Der er gennemført følgende forsøg i reaktorerne:

1. Opformering af biomasse ved 1,9 mg propan/L.
2. MTBE-nedbrydning ved 0,06 mg propan/L.
3. MTBE-nedbrydning ved 0,19 mg propan/L.
4. MTBE-nedbrydning ved 0,32 mg propan/L.

Opformering af biomasse

I starten af forsøgsserien blev SBR1 benyttet til, at opformere biomasse til de øvrige forsøg i både batch og reaktorer ved en propankoncentration på 1,9 mg/L og en MTBE-koncentration på 10 mg/L. Forsøget i denne reaktor blev således ikke udført som et nedbrydningsforsøg, som det var tilfældet med de øvrige reaktorforsøg, men blev dog, udover til opvækst af biomasse, benyttet til at afprøve og justere reaktoropstillingen.

De tre øvrige reaktorforsøg er udført som MTBE-nedbrydningsforsøg med forskellige propankoncentrationer, svarende til det interval der på

baggrund af figur 2.5 i afsnit 2.2.4, blev skønnet optimalt i forhold til opnåelse af en effektiv MTBE-nedbrydning.

Nedbrydning ved 0,06 mg propan/L

Det første forsøg udført i SBR2 var et nedbrydningsforsøg ved en initial propan-koncentration på 0,06 mg/L, svarende til den laveste koncentration, der er undersøgt i batch. Den faktiske koncentration i forsøget varierede imellem 0,09 og 0,003 mg/L. Formålet med forsøget var at undersøge muligheden for i reaktorsammenhæng at opretholde en tilstrækkelig biomassekoncentration og MTBE-nedbrydning ved en forholdsvis lav substrattilførsel, da dette, alt andet lige, vil medføre lavere driftsomkostninger forbundet med propan- og iltforbrug, samt mindre krav til masseoverførsel af gasser (ilt og propan) til reaktorens væskefase.

Reaktoren blev startet med en forholdsvis lav biomassekoncentration på ca. 9 mg protein/L, og de første tre nedbrydningsforløb forløb over ca. 5 dage, med biomassevækst og høje MTBE-nedbrydningsrater. Efter disse 5 dage begyndte biomassekoncentrationen at falde, og både MTBE- og propannedbrydningen ophørte gradvist. Ved forsøgets afslutning kunne det konstateres, at biomassen tilsyneladende lyserede (gik i opløsning), da den blev suget igennem membranen ved vandskift.

0,06 mg/L ikke nok til opretholdelse af basalmetabolisme

Under forsøget blev der ikke observeret ændringer i temperatur, ilt eller pH der kunne give en forklaring på resultatet, der således må tilskrives den lave propan-koncentration. Ved en initial propan-koncentration på 0,06 mg/L var mikroorganismene således tilsyneladende ikke i stand til at opretholde deres basalstofskifte.

I det følgende gennemgås resultaterne af forsøgene ved 0,19 og 0,32 mg propan/L.

3.3.1 MTBE-nedbrydning ved 0,19 mg propan/L

Propankoncentration

For SBR1 blev der udført nedbrydningsforsøg med en påtænkt initialkoncentration af propan på ca. 0,19 mg/L. De faktiske initiale propankoncentrationer under forsøget varierede imellem 0,15 og 0,20 mg propan/L (middel = 0,17 mg/L).

MTBE-koncentration

Den påtænkte indløbskoncentration af MTBE i forsøget var 10 mg/L, mens de faktiske indløbskoncentrationer varierede imellem 10,6 og 15,5 mg MTBE/L (middel = 12,4 mg/L).

Temperatur

Temperaturen i reaktoren varierede imellem 25,0 og 28,0°C, mens den gennemsnitlige temperatur var 26,6°C.

Ilt

Iltkoncentrationen varierede imellem 3,6 og 7,5 mg O₂/L, med en middeldkoncentration på 5,3 mg O₂/L.

pH

pH varierede imellem 6,8 og 7,0, med en middelværdi på 6,9.

Biomasse

Under forsøget blev der gennemført i alt 9 nedbrydningscykler over en periode på ca. 10 dage (~ 225 timer), og biomassen forblev nogenlunde konstant på et niveau omkring 20 til 25 mg protein/L. Den anvendte biomassekoncentration i forsøget svarer således ca. til 2-2,5% af den biomassekoncentration, der påregnes for et fuldskalaanlæg til on-site rensning af MTBE-forurenede grundvand (1 g protein/L).

Fitning af numerisk model

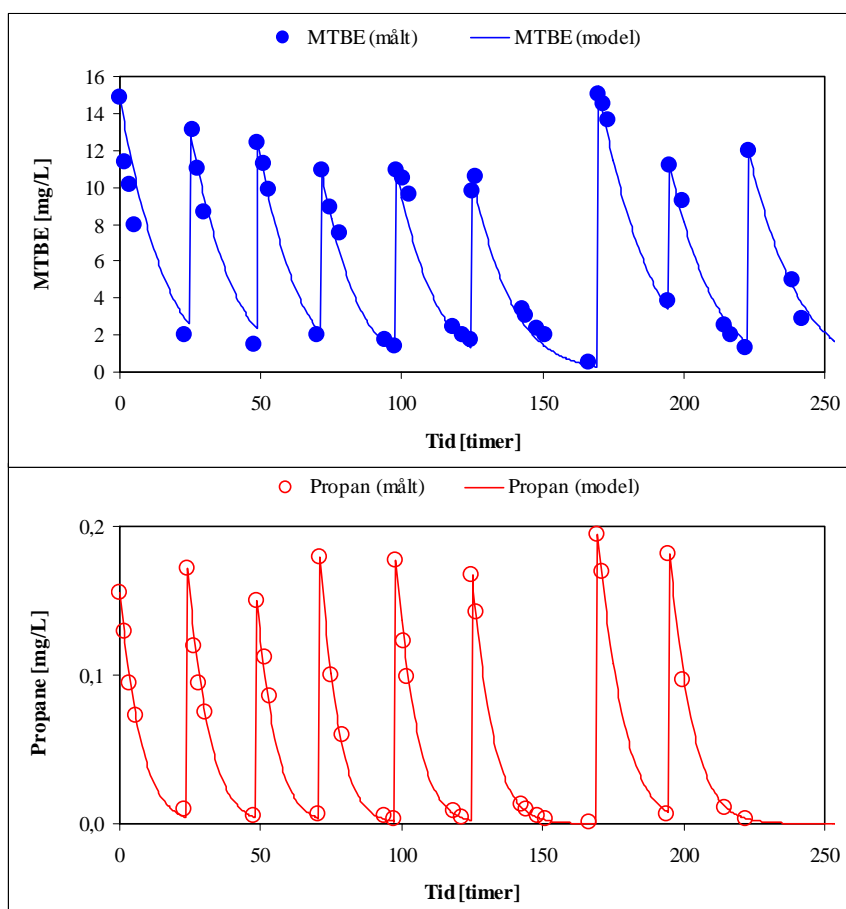
På baggrund af Michaelis-Menten kinetik, samt resultaterne opnået i batchforsøgene er der udarbejdet en numerisk model, jf. beskrivelsen i bilag D, som er fittet til de opnåede resultater for SBR1 ved at justere V_{max} for MTBE og propan indtil det bedste fit imellem måleresultaterne og modelberegningerne er opnået (mindste kvadraters metode).

Denne fremgangsmåde fordrer, at K_m -værdierne, der er holdt konstant lig de værdier, der er fundet i batch-forsøgene (hhv. 40 og 0,4 mg/L) ligeledes er gældende i reaktoren. Den biologiske tolkning af denne forudsætning er, at forskellen imellem de biologiske betingelser i batch- og reaktorforsøgene ikke påvirker substrat-affiniteten, men kun påvirker det absolutte niveau for nedbrydningspotentialet/-raten. Med andre ord, svarer det til, at en andel af biomassen i reaktoren er inaktiv og/eller udfører nedbrydningen med reduceret hastighed, eksempelvis pga. ikke-ideel adgang til substrater eller andre forbrugsstoffer.

Det er ydermere antaget, at biomassen har de samme egenskaber (parameterværdier) igennem hele modelløbet; altså, at der ikke er sket ændringer i biomassens egenskaber, eksempelvis som følge af selektion til de aktuelle betingelser.

Resultater

Der er foretaget særskilte modelleringer af MTBE- og propan-data, som fremgår af figur 3.6, sammen med måleresultaterne.



Figur 3.6: Målt og modelleret nedbrydningsforløb for MTBE og propan ved en initial propankoncentration på ca. 0,19 mg/L.

Modelfitning

Som det fremgår af figur 3.6 er der opnået gode fitninger af den numeriske model til de opnåede måledata; specielt for propan, kun ved fitning af en enkelt modelparameter, nemlig V_{max} . Umiddelbart vurderes der at være tendens til, at MTBE-koncentrationerne overestimeres i starten af forsøget, mens de underestimeres mod slutningen af forsøget. Faktisk er den specifikke nedbrydningsrate i slutningen af forsøget ca. 40% langsommere end i starten af forsøget. Dette tyder på, at den mikrobielle kultur har ændret sig igennem forsøget, således at den var mere effektiv i starten end i slutningen af forsøget. Der kan ikke findes en forklaring på fænomenet i de målte temperaturer, pH-værdier eller iltkoncentrationer.

Middelresultaterne er opsummeret i tabel 3.1.

Tabel 3.1: Forventede og modellerede Michaelis-Menten konstanter.

Stof	K_m [mg/L]	V_{max} [mg/g protein/time] *		Afvigelse [%]
		batch	reaktor	
MTBE	40	267	154 / 233 #	- 42 / - 12 #
Propan	0,40	386	398	+ 3

* = V_{max} -værdier er i batch bestemt ved 23°C og i reaktorforsøget ved 26,6°C.

= Værdi før skråstreg er middelværdi, mens værdien efter skråstregen er bestemt på baggrund af de to første nedbrydningsforløb.

Lavere rater i reaktor

Som det fremgår af tabel 3.1 er der via modelberegningerne konstateret mellem 12 og 40% lavere maksimal nedbrydningsrate for MTBE i reaktorforsøget end forventet fra batchforsøget. For propan er der konstateret overensstemmelse imellem den opnåede rate og raten i batchforsøgene. Hvis det tages i betragtning, at batchforsøgene er udført ved lavere temperatur end reaktorforsøgene, må det dog forventes, at den faktiske forskel er større end umiddelbart angivet i tabel 3.1.

Som det ses af figur 3.6, er der i reaktorforsøget foretaget en simultan tilsætning af propan og MTBE; dvs. at propan kun er tilsat én gang pr. nedbrydningscyklus. I praksis er der således kørt med en grad af gentagen sultning i forsøget, da der ikke konstant har været substrat i overskud. Dette kan muligvis forklare det tilsyneladende gradvise tab af effektivitet i forhold til MTBE-nedbrydningen.

Specifikt substratforbrug

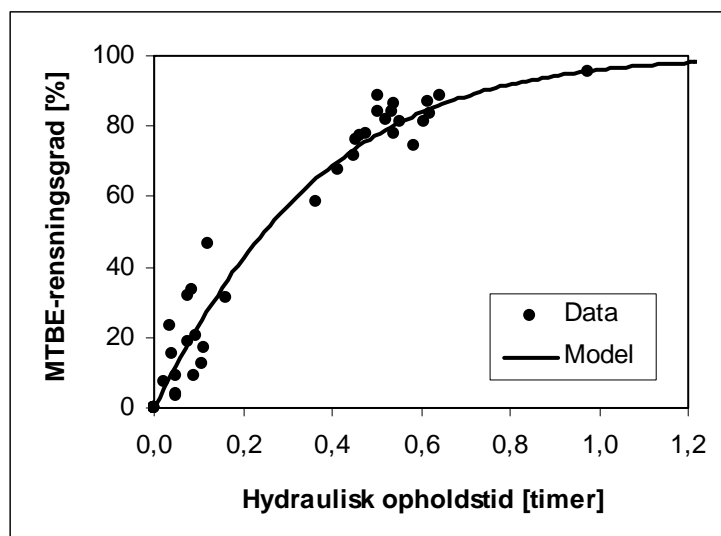
Det specifikke substratforbrug i forbindelse med forsøget var ca. 1,6 g propan/g MTBE.

Rensningsgrad

På baggrund af resultaterne i figur 3.6 kan den opnåede rensningsgrad for MTBE optegnes som funktion af den hydrauliske opholdstid i reaktoren. Der er foretaget en normering til en biomassekoncentration på 1 g protein/L (ca. 2 g biomasse/L), svarende til en forventet realistisk biomassekoncentration ved drift af et fuld-skala on-site anlæg.

Denne normering bygger på en antagelse om, at den enkelte mikroorganisme har lige så let adgang til ilt, næringssalte, propan og MTBE ved 1 g protein/L som ved 0,025 g protein/L. Med et effektivt konstrueret on-site anlæg vurderes dette dog ikke at være urealistisk. Til sammenligning er biomassekoncentrationen i et typisk aktiv-slam anlæg i størrelsesordenen 1,5 – 2,5 gange højere end forudsat for ovenstående fuld-skala anlæg til rensning af MTBE-forurenede grundvand.

Resultatet fremgår af figur 3.7, sammen med et forløb modelleret på baggrund af den fittede middel- V_{max} for MTBE, jf. tabel 3.1.



Figur 3.7: MTBE-rensningsgrad som funktion af hydraulisk opholdstid ved en biomassekoncentration på 1 g protein/L.

Som det ses af figur 3.7 kan der ved en biomassekoncentration på 1 g protein/L og en propankoncentration på ca. 0,17 mg/L forventes en rensningsgrad på 90% ved en effektiv hydraulisk opholdstid på omkring 0,75 timer. I forhold til den forventede hydrauliske opholdstid, jf. overslagsberegningerne i afsnit 3.1.2.3, svarer 0,75 timer til ca. 40% reduktion af V_{max} , som observeret i reaktorforsøget, jf. tabel 3.1.

3.3.2 MTBE-nedbrydning ved 0,32 mg propan/L

Propankoncentration

For SBR2 blev der udført nedbrydningsforsøg med en påtænkt initialkoncentration af propan på ca. 0,32 mg/L. De faktiske initiale propankoncentrationer under forsøget varierede imellem 0,26 og 0,39 mg propan/L (middel = 0,29 mg/L).

MTBE-koncentration

Den påtænkte indløbskoncentration af MTBE i forsøget var 10 mg/L, mens de faktiske indløbskoncentrationer varierede imellem 7,9 og 13,4 mg MTBE/L (middel = 10,5 mg/L).

Temperatur

Temperaturen i reaktoren varierede imellem 26,4 og 27,1°C, mens den gennemsnitlige temperatur var 26,7°C. Den gennemsnitlige rumtemperatur var 22,2°C. Temperaturen i reaktoren var således ca. 4,5 grader højere end i det omgivende rum. Den højere temperatur i reaktoren skyldtes primært opvarmning i centrifugalpumpen, men formentlig også i mindre grad opvarmning pga. de biologiske processer.

Ilt

Iltkoncentrationen varierede imellem 2,5 og 9,5 mg O₂/L, med en middelkoncentration på 5,6 mg O₂/L. En enkelt værdi var under den fastsatte minimumsværdi på 2 mg/L (= 1,5 mg/L).

pH

pH varierede i forsøget imellem 6,6 og 7,1, med en middelværdi på 6,8.

Biomasse

Under forsøget blev der gennemført i alt 23 nedbrydningscykler over en periode på 18 dage (~ 435 timer), og biomassen steg fra et niveau på omkring 40 til ca. 65 mg protein/L. Hovedparten af stigningen skete over en periode på ca. 8 dage fra dag 5 til dag 13. Efter dag 13 forblev biomassekoncentrationen på et konstant niveau omkring 65 mg protein/L. Den opnåede biomassekoncentration i forsøget svarer til 6,5% af den biomassekoncentration, der påregnes for et fuldskalaanlæg til on-site rensning af MTBE-forurenset grundvand (1 g protein/L).

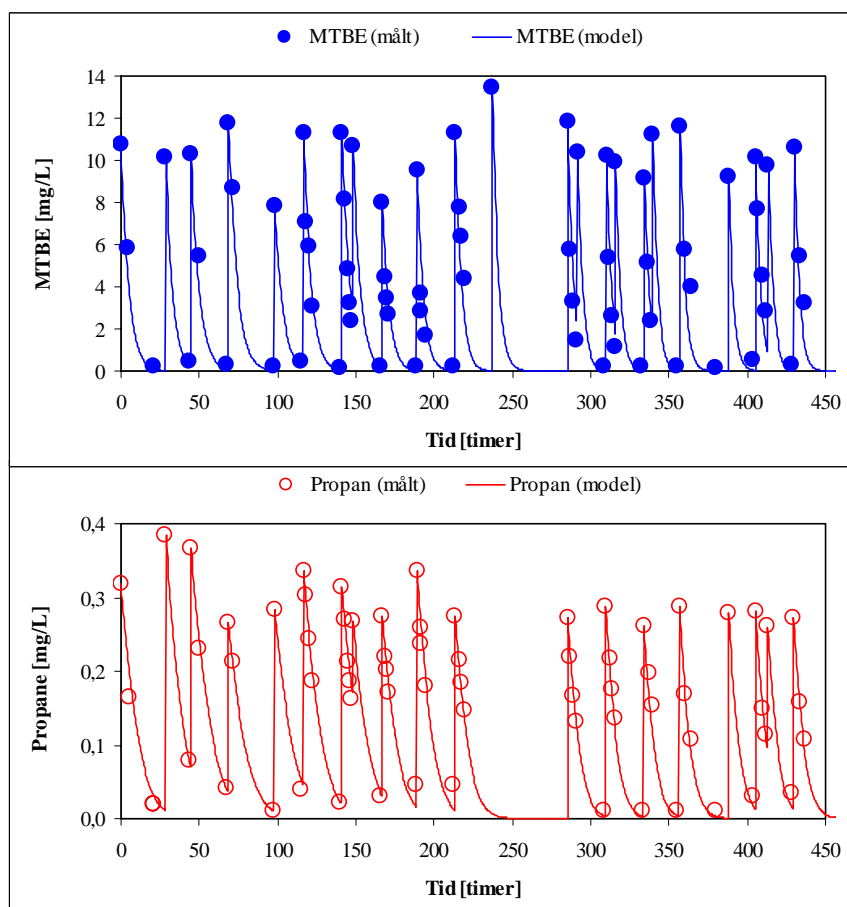
Fitning af numerisk model

Den numeriske model er fittet til de opnåede resultater for SBR2 ved at justere V_{max} for MTBE og propan indtil det bedste fit imellem måleresultaterne og modelberegningerne er opnået (mindste kvadraters metode).

Som nævnt i afsnit 3.4.1 fordrer denne fremgangsmåde, at K_m -værdierne, der er holdt konstant lig de værdier, der er fundet i batch-forsøgene (hhv. 40 og 0,4 mg/L), ligeledes er gældende i reaktoren. Det er ydermere antaget, at biomassen har de samme egenskaber (parameterverdier) igennem hele modelforløbet; altså, at der ikke er sket ændringer i biomassens egenskaber, eksempelvis som følge af selektion til de aktuelle betingelser.

Resultater

Der er foretaget særskilte modelleringer af MTBE- og propan-data, som fremgår af figur 3.9, sammen med måleresultaterne.



Figur 3.9: Målt og modelleret nedbrydningsforløb for MTBE og propan ved en initial propankoncentration på ca. 0,32 mg/L.

Modelfitning

Som det fremgår af figur 3.9 er der opnået ganske gode fitninger af den numeriske model til de opnåede måledata, kun ved fitning af en enkelt modelparameter, nemlig V_{max} . Der er ingen tendens til at modellen giver dårligere prediktion af de målte data i starten eller slutningen af nedbrydningsforløbet, hvilket indikerer, at den mikrobielle kultur ikke afgørende har ændret karakteristika over forsøgsperioden. Resultaterne er opsummeret i tabel 3.2.

Tabel 3.2: Forventede og modellerede Michaelis-Menten konstanter.

Stof	K_m [mg/L]	V_{max} [mg/g protein/time] *		Afvigelse [%]
		batch	reaktor	
MTBE	40	267	226	- 15
Propan	0,40	386	189	- 51

* = V_{max} -værdier er i batch bestemt ved 23°C og i reaktorforsøget ved 26,7°C.

Lavere rater i reaktor

Som det fremgår af tabel 3.2 er der via modelberegningerne konstateret lavere maksimale nedbrydningsrater i reaktorforsøget end forventet fra batchforsøgene; 15 og 51% for hhv. MTBE og propan. Hvis det ydermere tages i betragtning, at batchforsøgene er udført ved lavere temperatur end reaktorforsøgene, må det forventes, at forskellen er endnu større end umiddelbart angivet i tabel 3.2.

De observerede forskelle kan formentlig i nogen grad tilskrives forskelle i forsøgsbetingelserne imellem batch- og reaktorforsøgene. I batchforsøgene havde mikroorganismene således ideel adgang til alle forbrugsstoffer (ilt, næringssalte, propan og MTBE), mens der i reaktoren formentlig vil være tale om større eller mindre grad af adgangs begrænsning til et eller flere stoffer, ligesom der ikke nødvendigvis opnås ligevægt imellem gas- og væskefasen i reaktorforsøget.

Som det ses af figur 3.9, er der foretaget simultan tilsætning af propan og MTBE; dvs. at propan kun er tilsat én gang pr. nedbrydningscyklus. I praksis er der således kørt med en grad af gentagen sultning i forsøget. I forhold til forsøget med en initial propankoncentration på 0,19 mg/L, har der dog i dette forsøg generelt været mere substrat til stede under nedbrydningen, da initialkoncentrationen har været væsentligt højere. Denne forskel i substrattilgængelighed kan muligvis forklare hvorfor der ikke er observeret et tab i MTBE-raten over forsøgsperioden ved en høj initialkoncentration af propan.

Lavere specifikt propanforbrug i reaktor

Umiddelbart er det interessant, at den effektive nedbrydningsrate for MTBE falder mindre end de effektive rate for propan. Umiddelbart kunne dette være et tegn på, at der ikke opnås ligevægt imellem gas- og væskefasen, idet propan primært vil befinde sig i gasfasen, mens MTBE primært vil befinde sig i væskefasen. Dermed vil den propankoncentration som mikroorganismene oplever være mindre end vurderet ud fra en ligevægtsbetragtning. Den faktiske nedbrydningsrate for propan bliver dermed også mindre end estimeret, jf. Michaelis-Menten relationen.

Hvorom alting er, så bevirker den relativt mindre reduktion af MTBE-raten, sammenlignet med propan-raten, at propanforbruget pr. gram MTBE der nedbrydes, bliver mindre end forudsat på baggrund af batch-resultaterne. Hvor der på baggrund af batch-resultaterne kan estimeres et specifikt propanforbrug på 3,1 g propan/g MTBE, så var det faktiske for-

brug i reaktorforsøget på 2,2 g propan/g MTBE, svarende til en reduktion på næsten 30%.

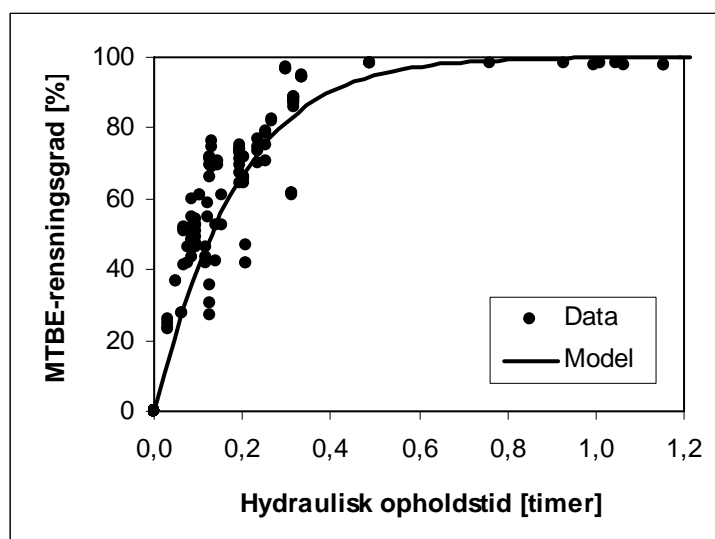
Rensningsgrad

Som det fremgår af figur 3.9, så er der i de fleste tilfælde opnået udløbskoncentrationer omkring eller under detektionsgrænsen på ca. 0,2 mg MTBE/L, svarende til rensningsgrader på mere end 98%.

På baggrund af resultaterne i figur 3.9 kan den opnåede rensningsgrad for MTBE optegnes som funktion af den hydrauliske opholdstid i reaktoren. Da de forskellige nedbrydningsforløb er foregået under forskellige betingelser mht. biomassekoncentrationen (ca. 40 til 65 mg protein/L), og da der umiddelbart kan forventes en omvendt lineær proportionalitet imellem biomassekoncentrationen og nedbrydningshastigheden (og dermed rensningsgraden), er der foretaget en normering til en biomassekoncentration på 1 g protein/L (ca. 2 g biomasse/L), svarende til en forventet realistisk biomassekoncentration ved drift af et fuld-skala on-site anlæg.

Ovenstående betragtning bygger dog på en antagelse om, at den enkelte mikroorganisme har lige så let adgang til ilt, næringssalte, propan og MTBE ved 1 g protein/L som ved 0,065 g protein/L. Som nævnt i afsnit 3.4.1 vurderes dette ikke at være urealistisk med et effektivt konstrueret on-site anlæg.

Resultatet fremgår af figur 3.10, sammen med et forløb modelleret på baggrund af den fittede V_{max} for MTBE, jf. tabel 3.2.



Figur 3.10: MTBE-rensningssgrad som funktion af hydraulisk opholdstid ved en biomassekoncentration på 1 g protein/L.

Som det fremgår af figur 3.10 kan der ved en biomassekoncentration på 1 g protein/L forventes en rensningsgrad på 90% ved en effektiv hydraulisk opholdstid på mellem 0,45 timer, hvilket er i god overensstemmelse med overslagsberegningerne i afsnit 3.1.2.3. og resultaterne i tabel 3.2.

Udbyttekonstant

På baggrund af det faktiske propanforbrug (3.380 mg) og den observerede biomassetilvækst fra ca. 40 til 65 mg protein/L (fra dag 5 til 13), kan den effektive udbyttekonstant (Y_{eff}) estimeres til 0,15 g biomasse/g propan, ved at antage at biomassen på vægtbasis består af ca. 50% protein.

Ved en antaget molmasse for biomassen på 113 g/mol, svarer ovenstående Y_{eff} til ca. 0,06 mol biomasse/mol propan. Denne effektive udbyttekonstant må betragtes som værende i den absolut lave ende af hvad der kan forventes for alkanoxiderende mikroorganismer (0,1 – 0,6 mol/mol).

Det er dog værd at bemærke, at forsøget ikke var optimeret med henblik på at opnå en effektiv biomassevækst, men med henblik på at opnå en effektiv MTBE-nedbrydning. Da en optimal biomassevækst fordrer optimal adgang til substrat (propan), og da den cometaboliske MTBE-nedbrydning foregår i konkurrence med propan, ville en høj effektiv udbyttekonstant på sin vis være et udtryk for, at reaktoren ikke er særligt effektiv mht. nedbrydning af MTBE.

3.4 Sammenfatning og vurdering

Valg af reaktordesign

På grund af overvejelser vedr. de mulige valg af reaktordesign; kontinuert gennemstrømningsreaktor eller sekventiel batch reaktor (SBR), er det valgt at gennemføre pilotforsøget baseret på SBR-designet. Dette valg bundes i forventede lavere driftsomkostninger, og færre praktiske problemer med gas-væske masseoverførsel af ilt og propan, samt et mere kompakt anlægsdesign. Omvendt, forventes SBR-designet at være forbundet med flere omkostninger til styring, regulering og overvågning, da det bygger på en mere effektiv udnyttelse af den mikrobielle kinetik; altså at stofkoncentrationerne ikke er konstante, men varierer i tiden.

Aktuelt reaktordesign

Den anvendte forsøgsopstilling byggede på to serielt drevne SBR-reaktorer på 60 L, med en fordeling mellem gas og væskefase på 5:1. Det høje gas-væske forhold blev benyttet af praktiske årsager, for at mindske den nødvendige frekvens af manuelle tilsætninger af ilt og propan. Blanding af gas- og væskefaserne, samt suspension af biomassen, blev for hver sikret via en cirkulationspumpe, med indtag i reaktorbunden og hævet udløb i reaktorens gasfase. Biomassetilbageholdelse blev sikret via en fælles membranfilterenhed tilkoblet udløbet fra de to reaktorer.

Initialkoncentrationer af propan

Der er gennemført reaktorforsøg med cometabolisk nedbrydning af MTBE ved tre forskellige initialkoncentrationer af propan; hhv. 0,06, 0,19 og 0,32 mg/L, som, i henhold til de udførte batchforsøg, alle er vurderet at ligge i det nær-optimale område mht. MTBE-nedbrydningen.

Propankoncentration = 0,06 og 0,19 mg/L

Ved de to laveste initialkoncentrationer af propan (hhv. 0,06 og 0,19 mg/L) var det ikke muligt at opretholde den mikrobielle kultur eller MTBE-nedbrydningsaktiviteten over længere perioder. Ved 0,06 mg propan/L kunne aktiviteten opretholdes over en periode på ca. 5 døgn, hvorefter al aktivitet ophørte og kulturen blev trukket igennem membranfilteret sammen med udløbsvandet. Ved 0,19 mg propan/L blev MTBE-aktiviteten gradvist forringet med ca. 40% over en periode på 10 døgn, og det blev vurderet, at også denne propantilsætning var utilstrækkelig til at opretholde MTBE-aktiviteten over længere perioder. Begge ovenstående resultater skal dog ses i sammenhæng med, at der kun er tilsat propan én gang pr. MTBE-nedbrydningscyklus, hvorfor konklusionen nok i højere grad gælder den totale mængde propan, der var til rådighed under disse forsøg, end selve koncentrationen.

Propankoncentration =
0,32 mg/L

Ved den højeste initialkoncentration af propan (0,32 mg/L) var det muligt at opretholde en uændret MTBE-nedbrydningsaktivitet over en periode på 18 døgn. På baggrund af en numerisk analyse af de eksperimentelle resultater for denne reaktor er det estimeret, at MTBE-nedbrydningsaktiviteten var nedsat med ca. 15% i forhold til den aktivitet, der blev forventet på baggrund af batch-resultaterne. Ydermere blev det vurderet, at en propantilsætning på én gang pr. MTBE-nedbrydningscyklus var tilstrækkeligt til at ikke blot opretholde den mikrobielle kultur, men også til at der kunne observeres vækst af biomassen. Den effektive udbyttekonstant i forbindelse med væksten blev estimeret til 0,15 g biomasse/g propan.; eller ca. 0,06 mol biomasse/mol propan.

Overordnet vurdering

På baggrund af de udførte reaktorforsøg vurderes det, at det at være yderst væsentligt, at mængden af propan der tilføres reaktoren, samt hvor tit den tilføres, nøje tilpasses behovet for den aktive biomasse. Umiddelbart vurderes det at være mest hensigtsmæssigt, kontinuert at sikre en lille, om end målbar, vækst af biomassen i reaktoren. Dette vil være et sikkert tegn på, at mikroorganismene som helhed har opfyldt behovet til deres basalmetabolisme. På den anden side er det vigtigt, at pointere, at en bioreaktor, hvori der er en væsentlig cometabolisk vækst kan tages som et tegn på, at reaktoren ikke drives optimalt mht. nedbrydning af MTBE. Væksten er et tegn på at der er substrat i overskud, hvilket må formodes at give en unødigt stor substrat-konkurrence i forhold til en effektiv/optimeret nedbrydning af MTBE.

4 Del III: Potentiale for on-site rensning

4.1 Opskaleringsberegninger

Vurderingsgrundlag

I det følgende er der, på baggrund af de opnåede resultater fra batch- og reaktorforsøgene, foretaget nogle opskaleringsberegninger for en sekventiel batch reaktor til rensning af MTBE-forurenede grundvand. Disse beregninger vil danne udgangspunkt for en vurdering af metodens potentiale til praktisk on-site rensning af MTBE-forurenede grundvand; herunder for økonomiske overslagsberegninger for fuld-skala anlæg.

I det følgende skitseres de generelle beregningsforudsætninger, hvorefter opskaleringsberegningerne er gennemgået.

4.1.1 Forudsætninger

De tekniske beregninger er foretaget med den udarbejdede numeriske model, som er beskrevet i bilag D. I det følgende er der foretaget en gennemgang af de forudsætninger, som er fælles for alle beregningerne.

BTEX

Det er antaget, at der ikke er BTEX'er til stede i indløbsvandet til MTBE-reaktoren. Det forudsættes således, at der oppumpes grundvand, der kun er forurenede med MTBE, eller at der er foretaget en forudgående rensning af vandet med henblik på BTEX-fjernelse. En sådan BTEX-fjernelse kan evt. foretages i et aktiv kulfilter, eller udføres som et aerobt biologisk filter, indbygget som en integreret del af den påkrævede opholdstank, jf. figur 3.3. Umiddelbart vurderes en sådan udbygning ikke at ville være særligt omkostningstung, set i forhold til metodens samlede omkostninger.

Jern og mangan

Det antages ligeledes, at der er foretaget en forfældning af jern og mangan, såfremt grundvandstypen måtte kræve dette. Det vurderes umiddelbart, at en sådan ville kunne indbygges i (en del af) opholdstanken; evt. et forkammer til et eventuelt aerobt BTEX-filter, som skitseret ovenfor.

Næringssalte

I alle beregninger er det antaget, at der ikke er næringssaltbegrænsning i forhold til at nedbrydningsprocesserne kan forløbe optimalt. I bilag E er der foretaget en konservativ overslagsberegning over den nødvendige tilsætning af næringssalte, hvoraf det fremgår, at for hver 100 gram propan, der overføres til reaktorens væskefase, skal der tilsættes ca. 3 gram kvælstof og 0,3 gram fosfor i biotilgængelig form. Tilsætning af næringssalte i disse mængder (overskud) vil muligvis medføre et krav om biostabilisering for at mindske eftervækst eller eutrofiering, afhængigt af hvor det rensede grundvand ud- eller afledes. Det er dog muligt, at den tilsatte mængde af næringsstoffer, efter indkøring af anlægget, kan afpasses således, at tilsætningen modsvares af det faktiske mikrobielle optag.

Ilt

Med hensyn til de beregnede iltbehov, forudsættes det, at det specifikke iltforbrug, forbundet med nedbrydningen af propan og MTBE, på hhv. 3,4 og 2,7 g ilt/g substrat, svarende til lav vækst på propan og fuldstændig

mineralisering af MTBE. Dette vil alt andet lige give et konservativt estimat på det biologiske iltbehov. Iltkoncentrationen er i alle beregninger forudsat konstant lig 4 mg O₂/L, svarende til at ca. 93% af den maksimale MTBE-nedbrydningsrate er bibeholdt.

<i>Masseoverførsel</i>	Beregningerne tager ikke hensyn til et eventuelt tab af ilt og propan som følge af en ikke-fuldstændig masseoverførsel fra gas- til væskefasen. De opgivne mængder af ilt og propan svarer således til det biologiske behov. Ved omregning fra det biologiske behov, til de gasmængder, der rent faktisk skal indkøbes og injiceres i reaktoren skal der således multipliceres med en overførselsfaktor (>1).
<i>Biomassekoncentration</i>	Beregningerne er udført med en biomassekoncentration på 2 g biomasse/L, svarende til 1 g protein/L, og omkring en faktor 1,5 – 2,5 lavere end biomassekoncentrationen i et typisk aktiv-slam anlæg.
<i>Temperatur</i>	Temperaturen er i beregningerne forudsat lig 15°C, svarende til oppumpning af vand med en temperatur på ca. 12°C, der er blevet lettere opvarmet i pumper samt under opholdet i reaktorerne. Mht. temperaturafhængigheden af nedbrydningsraterne er der i beregningerne dels antaget en Q ₁₀ på 2,5 og dels en på 8,8, svarende til yderpunkterne i de estimater, der blev opnået for MTBE i batchforsøgene. Det antages, at propannedbrydningens temperaturfølsomhed kan beskrives ved samme Q ₁₀ -værdier.
<i>Propantilsætning</i>	Jævnfør reaktorforsøgene, er der i beregningerne antaget en initialkoncentration af propan på 0,3 mg/L. Det er ydermere antaget, at der foretages en ny propantilsætning når koncentrationen når ned på 0,06 mg/L.
<i>Ikke-ideel adgang til forbrugsstoffer</i>	I henhold til reaktorresultaterne fra SBR2 er der regnet med, at MTBE-raten nedsættes med 15% i forhold til de rater der kan opnås i batch under ideel adgang til diverse forbrugsstoffer. Hvorvidt dette er en konservativ antagelse kan ikke afgøres. Antagelsen bygger på en formodning om at det vil være vanskeligt at få hele biomassen til at fungere optimalt i et fuldskalaanlæg med en biomassekoncentration på 2 g/L, men at der samtidig vil kunne opnås en bedre omrøring, opblanding og overførsel af gas til væskefasen i en industrielt designet reaktor, end i pilotforsøget. Af samme årsag regnes der, konservativt, ikke med en tilsvarende nedsættelse af propan-raten.
<i>Reaktorkonfiguration</i>	Det antages, at SBR-anlægget har en opbygning som skitseret i figur 3.2 og, at reaktoren er udført med en overhøjde svarende til 20% af væskevoluminet til opsamling af evt. overskydende gas. Biomasseseparationen antages at blive foretaget ved flotation, og det samlede tidsforbrug forbundet med flotation, tømning og fyldning antages at udgøre 12 minutter.
<i>Afværgepumpning</i>	Der tages udgangspunkt i, at behovet for rensning af grundvand forurenet med MTBE er opstået i forbindelse med en afværgepumpning af længere varighed. Det forudsættes, at der er kontinuert drift af anlægget, dvs. 24 driftstimer pr. døgn.
<i>Hydraulisk belastning</i>	Det antages, at den hydrauliske belastning af anlægget er 1 m ³ /time; resultaterne er direkte skalérbare mht. den hydrauliske belastning. Dette skyldes, at indløbskoncentrationen af MTBE i alle tilfælde ligger betydeligt under K _m -værdien på 40 mg/L.

4.1.2 Beregninger

Seks scenarier

Der er opstillet i alt seks opskaleringsscenarier, som fremgår af tabel 4.1.

Tabel 4.1: Inddata til opskaleringsscenarier.

Scenarium	MTBE-koncentration [mg/L]		Q ₁₀ [-]
	indløb	udløb	
1	10	1	2,5
2	10	1	8,8
3	1	0,2	2,5
4	1	0,2	8,8
5	1	0,005	2,5
6	1	0,005	8,8

For scenarium 5 og 6 er det antaget, at udløbskoncentrationen er lig grundvandskvalitetskriteriet på 5 µg/L, og at nedbrydningskinetikken for MTBE ikke ændrer sig væsentligt ved koncentrationer under 0,2 mg/L, svarende til den detektionsgrænse der er anvendt i kapitel 2 og 3.

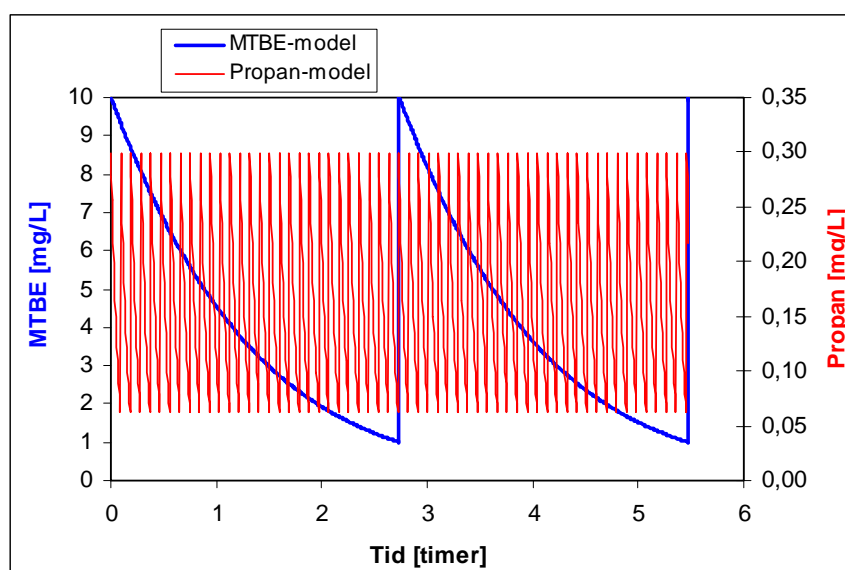
Nøgletal

For hvert scenarium er følgende nøgletal opsamlet til beskrivelse af reaktorfunktionen:

- Nødvendig hydraulisk opholdstid, incl. tømning og fyldning (T_h).
- Nødvendigt reaktorvolumen (V); heraf er 80% væskevolumen.
- Specifik massefjernelse af MTBE (M).
- Specifikt propanforbrug.
- Nødvendig specifik masseoverførsel af propan og ilt.

Eksempel

Figur 4.1 giver en grafisk repræsentation af modelberegningen for scenarium 2. Den tid, der kan aflæses imellem MTBE-tilsætningerne er den påkrævede biologiske opholdstid for anlægget. Dertil lægges tiden til fyldning, tømning og flotation, for at opnå den samlede opholdstid.



Figur 4.1: Opskaleringsberegning for scenarium 2.

Resultater

De samlede resultater af beregningerne fremgår af tabel 4.2.

Tabel 4.2: Resultater af opskaleringsberegninger for en hydraulisk belastning på 1 m³/time, ved en temperatur på 15°C og en biomassekoncentration på 1 g protein/L.

Scenarium	T _h	V	M	Propanforbrug	Masseoverførsel [g/m ³ reaktor/t]	
	[timer]	[m ³]	[g MTBE/m ³]	[g propan/g MTBE]	Propan	Ilt
1	1,2	1,4	9	5,1	32	129
2	2,9	3,5	9	5,1	5,4	26
3	0,8	1,0	0,8	38	42	146
4	2,0	2,4	0,8	38	7,8	28
5	2,3	2,8	0,995	97	18	63
6	6,0	7,2	0,995	97	2,7	9,7

Som det fremgår af tabel 4.2, kan der for scenarium 1-5 og en hydraulisk belastning på 1 m³/time forventes hydrauliske opholdstider på mindre end 3 timer og reaktortolumener på mindre end 3,5 m³. For scenarium 6 estimeres en større opholdstid (6 timer) og et større nødvendigt reaktortolumen (7,2 m³).

Specifikt propanforbrug

Da det er antaget, at MTBE- og propannedbrydningens temperaturfølsomhed følger MTBE's (samme Q₁₀-værdier), så påvirkes det specifikke propanforbrug (g propan/g MTBE) ikke af antagelsen om en ændret Q₁₀.

Større hydraulisk belastning

Da der er tale om en lineær skalering af det nødvendige reaktortolumen i forhold til den hydrauliske belastning, kan der, såfremt der ønskes en beregning for en hydraulisk belastning på f.eks. 5 m³/time, estimeres et nødvendigt volumen på fem gange det, der er angivet i tabel 4.2. Alle de øvrige størrelser er specifikke, hvorfor de ikke ændres ved større hydraulisk belastning.

4.2 Økonomiske beregninger

I det følgende er der udført en række overslagsberegninger over prisen for rensning af MTBE-forurenede grundvand. Beregningerne tager udgangspunkt i de anlægsmæssige forudsætninger og beregningsscenarier, der er præsenteret i afsnit 4.1.

Eksempler på prisoverslag

Det er ikke hensigten, at give en udtømmende og detaljeret økonomisk analyse af alle de faktorer, der kan tænkes at indgå i en on-site biofilterløsning, men udelukkende at give en overslagspris på rensning af MTBE-forurenede grundvand i et SBR-anlæg under givne forudsætninger.

4.2.1 Forudsætninger

Ikke standardløsninger

Da der ikke findes deciderede standardløsninger at tage udgangspunkt i, vil de beregnede priser naturligvis være behæftet med store usikkerheder, som er direkte forbundet med de forudsætninger, der er foretaget i forbindelse med beregningerne.

4.2.1.1 Anlægskomponenter

Forudsætninger, anlægskomponenter

Det forudsættes, at den valgte pumpeopløsning til oppumpning af grundvandet også har hydraulisk kapacitet til at pumpe vandet ind i opholdstanken samt, at filterløsningen kan opstilles hensigtsmæssigt i forhold til pumpebrønde og af-/udledningspunkter, således at tilkoblingen af filteret

kan ske til manifold og rør/slanger der ”alligevel” skulle være benyttet. De beregnede omkostninger kan således betragtes som meromkostninger forbundet med biofilter-behandling af vand, der ellers kunne være ud- eller afledt.

Anlægskomponenter

I henhold til figur 3.2 forudsættes det, at anlægsomkostningerne i forbindelse med biofilteret er tilknyttet følgende komponenter:

- Reaktor og opholdstank (samme størrelse).
- Pumpe til overførsel imellem opholdstank og bioreaktor.
- Omrøring (”piskeris” og drivende motor).
- Diffusorer eller lign. til overførsel af ilt og propan til reaktorvandet.
- Kompressor til flotation (atmosfærisk trykluft).
- Rørsystem, flanger, slanger, ventiler m.v.
- Afskærmning, indhegning eller lign.

Reaktorstørrelse

Umiddelbart vurderes anlægsstørrelser på to gange 10 m^3 (opholdstank og reaktor) at være et absolut maksimum for størrelsen på et realistisk on-site anlæg. Der er benyttet ”standard”-reaktorstørrelser på 5 og 10 m^3 . Tankene udføres i rustfri stål.

Eksplodingsfare

Det antages, at pumper og motorer er gnistfri og placeret fuldt ventileret, således, at der ikke er direkte eksplosionsfare forbundet med pumpernes og motorernes kontakt med benzinformuret vand og/eller propan og ilt. Risikoen for eksplosionsfare bør naturligvis overvejes nøje i forbindelse med konkret opsætning af et on-site anlæg.

Flotation

Det er antaget, at der til biomasseseparationen via flotation, kan benyttes samme diffusorsystem, som anvendes til tilsætningen af ilt og propan.

SRO-komponenter

Ud over ovennævnte komponenter er der i forbindelse med SBR-anlægget behov for et anlæg til styring, regulering og overvågning (SRO), bestående af følgende komponenter:

- Temperatur- og pH-måler.
- Ilt-elektrode til måling i væskefasen.
- Propan-måling i væskefasen.
- MTBE-måling i væskefasen.
- Kontrolenhed (PC) og SRO-software til løbende opsamling af data samt styring af div. ventiler, tilsætninger m.v.

MIMS

På baggrund af en hurtig rundspørge har det ikke været muligt, at lokalisere en propan-elektrode. I beregningerne er det derfor forudsat, at propan-målingen finder sted på et Membrane Inlet Mass Spektrometer (MIMS), ligesom det vurderes, at den p.t. mest cost-effektive måling af MTBE, ved den påkrævede hyppighed, foretages med en MIMS.

Kontrolenhed

Det er forudsat, at den PC, der anvendes som kontrolenhed til SRO-softwaren ligeledes benyttes som dataopsamlingsenhed til MIMS'en.

Afskrivning

Det forudsættes, at anlægsomkostninger afskrives jævnt over den valgte driftsperiode.

Opsætning og indkøring

Det er forudsat, at opsætning og indkøring af anlægget udgør 10% af anlægsomkostningerne.

4.2.1.2 Driftsposter

Det forudsættes, at omkostningerne i forbindelse med driften af SBR-reaktoren er tilknyttet følgende:

- Forbrug af propan og ilt.
- Forbrug af næringssalte.
- Strøm til pumper, motorer, SRO-anlæg m.v.
- Drift og vedligeholdelse.

Propan og ilt

Forbrug af propan beregnes ud fra den specifikke massefjernelse af MTBE og det specifikke propanforbrug, jf. tabel 4.2, mens forbruget af ilt beregnes som anført i afsnit 4.1.1.

Næringssalte

Forbrug af næringssalte beregnes på baggrund af det biologisk propanforbrug, som 30 g N og 3 g P pr. 100 g propan, jf. bilag E.

Strøm

Det er forudsat, at strømforbruget forbundet med SRO-anlægget er 1 kW, med kontinuert drift (8.760 timer/år).

Strømforbruget ved omrøring er beregnet som $0,5 \text{ kW/m}^3$ reaktorvolumen, med en gennemsnitlig driftstid på 90% (7.885 timer/år), svarende til forholdet imellem tiden til fyldning, tømning og flotation (12 minutter) og den gennemsnitlige totale hydrauliske opholdstid for scenarium 1-5 i tabel 4.2 (= 1,85 timer).

Strømforbruget til pumpen imellem opholdstanken og reaktoren, og kompressoren til flotationsanlægget, antages at udgøre 4,5 kW over 5% af tiden (438 timer/år), svarende til, at hver del er i drift i halvdelen af tiden til fyldning, tømning og flotation).

Drift og vedligehold

Det er antaget, at drift og vedligeholdelse udgør 180 timer/år, svarende til ca. én dag pr. 14 driftsdage.

4.2.1.3 Prisfastsættelse

Følgende prisoverslag er indhentet på diverse anlægskomponenter.

Anlægsomkostninger

Tabel 4.3: Enhedspriser på anlægsposter (kr. eks moms).

Post	5 m ³	10 m ³
Tanke (2 stk.) incl. rør og ventiler	50.000	100.000
Pumpe	4.000	6.000
Omrøring	20.000	30.000
Diffusorsystem	7.500	15.000
Kompressor	2.000	2.000
Afskærmning	10.000	15.000
SRO-anlæg	90.000	90.000
MIMS	300.000	300.000
Opsætning og indkøring (~10 %)	48.000	56.000
Samlet (runde tal)	530.000	615.000

Som det fremgår af tabel 4.3 udgør de anlægssuafhængige omkostninger til SRO-anlæg og MIMS mellem 65 og 75 % af de samlede anlægsomkostninger; heraf udgør omkostningerne til løbende måling af MTBE $\frac{3}{4}$

af disse omkostninger (MIMS). På den baggrund vurderes det umiddelbart, at en omkostningseffektiv metode til løbende måling af MTBE formentlig vil være fremmende for en implementering af teknologien.

Driftsomkostninger

Der er antaget følgende enhedspriser på driftsposterne, jf. tabel 4.4.

Tabel 4.4: *Enhedspriser på driftsposter (kr. eks moms).*

Post	Pris
Propan (95 % ren)	20 kr./kg
Ilt (99,3 % ren)	3,75 kr./kg
Næringsalte	3 kr./kg N og P
Strøm	1 kr./kWh
Timepris	550 kr./time

Enhedspriser

Alle priser omregnes til enhedspriser (eks. moms), dvs. kr./m³ rensset vand.

4.2.2 Beregninger

I det følgende opridses rammerne for de scenarier, der ligger til grund for de økonomiske beregninger mht. hydraulisk belastning og driftsperiode.

Hydraulisk belastning

For hvert af de overordnede scenarier opstillet i tabel 4.1 er der opstillet tre mulige scenarier med hensyn til den hydrauliske belastning: 2, 5 og 10 m³/time, svarende til mellem 17.520 og 87.600 m³/år.

Driftsperioder

I forhold til driftsperioden opstilles to mulige scenarier i forbindelse med afværgepumpning:

- Et korterevarende permanent anlæg (5 år).
- Et længerevarende permanent anlæg (10 år).

Der er således opstillet i alt 36 beregningsmæssige scenarier. I bilag F er der givet et eksempel på beregning af enhedsprisen, mens de samlede resultater fremgår af tabel 4.5.

Tabel 4.5: Beregnede enhedspriser (kr./m³) for rensning af MTBE-forurenede grundvand i SBR-reaktor ved 15°C og en biomassekoncentration på 1 g protein/L (priser eks moms).

MTBE [mg/L]		Q ₁₀ [-]	Drift/afskrivning [år]	Hydraulisk belastning [m ³ /time]		
Indløb	Udløb			2	5	10
10	1	2,5	5	15,0 ^a	7,8 ^b	i.b.
			10	12,0 ^a	6,4 ^b	i.b.
10	1	8,8	5	17,1 ^b	i.b.	i.b.
			10	13,6 ^b	i.b.	i.b.
1	0,2	2,5	5	14,4 ^a	6,4 ^a	4,1 ^b
			10	11,4 ^a	5,2 ^a	3,4 ^b
1	0,2	8,8	5	14,4 ^a	7,2 ^b	i.b.
			10	11,4 ^a	5,8 ^b	i.b.
1	0,005	2,5	5	18,7 ^b	i.b.	i.b.
			10	15,2 ^b	i.b.	i.b.
1	0,005	8,8	5	i.b.	i.b.	i.b.
			10	i.b.	i.b.	i.b.

a = 5 m³ reaktor og opholdstank.

b = 10 m³ reaktor og opholdstank.

i.b. = ikke beregnet; påkrævet reaktorvolumen og opholdstank > 10 m³/stk.

Enhedspriser

Som det fremgår af tabel 4.5 er der beregnet enhedspriser på mellem 3,4 og 18,7 kr./m³ for de opstillede scenarier. Som det ligeledes fremgår af tabellen, er enhedspriserne lavest ved krav om lav rensningsgrad (1 mg/L til 0,2 mg/L = 80%), lange afskrivningsperioder og høj hydraulisk belastning. Alt andet lige vurderes teknologien således at egne sig bedst til massefjernelse, hvilket understreges af, at der er påkrævet store nødvendige reaktorvolumener (> to gange 10 m³) for scenarierne med rensning ned til niveauer, svarende til grundvandskvalitetskriteriet for MTBE (1 mg/L til 0,005 mg/L = 99,5% rensningsgrad).

Af tabel 4.5 ses de beregnede enhedspriser for en hydraulisk belastning på 2 m³/time at variere imellem 11,4 og 18,7 kr./m³. De høje enhedspriser skyldes primært store anlægs- og tilsynsomkostninger, der afskrives over en forholdsvis lav vandmængde. Sammenlignes med typiske afledningsafgifter på mellem 12 og 18 kr./m³ vurderes det ikke umiddelbart, at der

teknisk-økonomisk potentiale i at anvende teknologien ved hydrauliske belastninger på omkring 2 m³/time.

Besparelse på SBR og aktiv kul i forening

Sammenlignes de beregnede enhedspriser med tilsvarende priser, beregnet for rensning af MTBE-forurenede grundvand vha. aktiv-kul i (Miljøstyrelsen, 2003), ses det f.eks., at der i (Miljøstyrelsen, 2003) er angivet en rensningspris på 8,2 kr./m³ for rensning af MTBE forurenede grundvand fra en indløbskoncentration på 1 mg/L, til 0,005 mg/L i udløbet, ved en hydraulisk belastning på 10 m³/time og en afskrivningsperiode på 10 år. Tilsvarende er prisen for rensning fra 0,2 til 0,005 mg/L angivet til 4,4 kr./m³.

For et SBR-anlæg er prisen for rensning fra 1 til 0,2 mg/L beregnet ned til 3,4 kr./m³ (ved lav temperaturfølsomhed) for samme hydrauliske belastning og afskrivningsperiode.

Hvis der således benyttes et SBR-anlæg til rensning fra 1 til 0,2 mg/L og et aktiv-kul filter til at rense fra 0,2 til 0,005 mg/L, vil der muligvis kunne opnås en samlet besparelse på 0,6 kr./m³ frem for at benytte aktiv-kul rensning alene. Denne besparelse vil med det opstillede scenarium svare til en beregningsmæssig besparelse på ca. 53.000 kr./år.

Usikre beregninger

Det skal dog understreges, at der ligger en lang række forudsætninger til grund for begge prisberegninger, og i forhold til SBR-beregningen, primært den aktuelle grundvandstemperatur og kulturens temperaturfølsomhed under de aktuelle betingelser. Validiteten af hver enkelt forudsætning må nødvendigvis kontrolleres i det aktuelle tilfælde. Beregningen understreger dog, at der kan være et potentiale for anvendelse af teknologien.

4.3 Sammenfatning og vurdering

Opskalering

Ved hjælp af en udarbejdet numerisk model, er der udført seks opskaleringsberegninger for en SBR-reaktor indeholdende den propanoxiderende blandingskultur, for forskellige antagelser vedr. indløbskoncentration, udløbskrav og temperaturfølsomhed for de biologiske processer. Der er således udført beregninger med en indløbskoncentration på 10 og 1 mg MTBE/L, og udløbskrav på hhv. 1, 0,2 og 0,005 mg MTBE/L. Temperaturfølsomheden er undersøgt via Q₁₀, der er sat til værdier på hhv. 2,5 og 8,8; svarende til det interval, der er bestemt for den mikrobielle kultur i batch-forsøgene.

36 økonomiske scenarier

På baggrund af de seks opskaleringsberegninger og en række økonomiske forudsætninger, er der opstillet i alt 36 beregningsmæssige scenarier mht. bestemmelse af enhedsprisen (kr./m³ rensede vand) for on-site rensning af MTBE-forurenede grundvand. I disse scenarier er den hydrauliske belastning sat til hhv. 2, 5 og 10 m³/time, ligesom afskrivningsperioden er sat til 5 og 10 år. Det er forudsat, at den maksimale anlægstørrelse er opstilling af to gange 10 m³ reaktorer (opholdstank og biologiske reaktor).

Enhedspriser

For de 36 opstillede scenarier er der beregnet enhedspriser på mellem 3,4 og 18,7 kr./m³, mens halvdelen af scenarierne giver reaktorstørrelser på mere end 10 m³. Det er konstateret, at kombinationen af høje indløbskoncentrationer (og udløbskoncentrationer), lange afskrivningsperioder og høj hydraulisk belastning giver de mest favorable enhedspriser, hvorfor

det er vurderet, at teknologien, anvendt i en SBR-reaktor, har størst potentiale som massefjernelsesenhed.

Teknologien har potentiale

Det vurderes at være sandsynliggjort, at teknologien kan have teknisk og økonomisk potentiale; evt. i kombination med et aktiv-kul filter til efterpolering. Det vurderes ligeledes, at teknologien kunne opnå et større potentiale end umiddelbart sandsynliggjort, hvis der kan findes omkostningseffektive metoder til hyppig automatisk måling af MTBE-koncentrationen i væskefasen.

5 Referencer

- Arvin et al. (2003)* E. Arvin, R. Boe-Hansen og P. Loll (2003). On-site rensning af MTBE-forurenede grundvand. 113-128, ATV vintermøde om jord- og grundvandsforurening, 4.-5. marts 2003.
- Cowan og Park (1996)* Cowan, R. M. og K. Park (1996). Biodegradation of the gasoline oxygenates MTBE, ETBE, TAME, TBA, and TAA by aerobic mixed cultures. *Hazardous and Industrial Waste*, 523-530.
- Deeb et al. (2000)* Deeb, R. A., H.-Y. Hu, J. R. Hanson, K. M. Scow og L. Alvarez-Cohen (2000). Aerobic MTBE biodegradation: an examination of past studies, current challenges and future research directions. *Biodegradation*, 11, 171-186.
- Deeb et al. (2001)* Deeb, R. A., H.-Y. Hu, J. R. Hanson, K. M. Scow og L. Alvarez-Cohen (2001). Substrate interactions in BTEX and MTBE mixtures by an MTBE-degrading isolate. *Environmental Science and Technology*, 35(2), 312-317.
- EPA (1995)* EPA, Office of Research and Development, Bioventing Principles and Practice, Vol I: Bioventing Principles. EPA/540/R-95/534a, 1995.
- Fortin et al. (2001)* Fortin, N. Y, M. Morales, Y. Nakagawa, D. D. Focht og M. A. Deshusses (2001). Methyl tert-butyl ether (MTBE) degradation by a microbial consortium. *Environmental Microbiology*, 3(6), 407-416.
- Garnier et al. (1999)* Garnier, P. M., R. Auria, C. Augur og S. Revah (1999). Cometabolic biodegradation of methyl t-butyl ether by *Pseudomonas aeruginosa* grown on pentane. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 498-503.
- Heick og Sørensen (1999)* Heick, O. og S. B. Sørensen (1999). Mikrobiel nedbrydning af MTBE – Propanoxiderende bakterier. Afgangprojekt ved civilingeniøruddannelsen i miljøteknik, Institut for vand, jord og miljøteknik, Aalborg Universitet.
- Helweg (1998)* Helweg, A. (red.) (1988). Kemiske stoffer i landjordsmiljøer. Teknisk Forlag A/S.
- Hyman og O'Reilly (1999)* Hyman, M, og K. O'Reilly (1999). Physiological and enzymatic features of MTBE-degrading bacteria, 7 - 12. I "In Situ Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon and Other Organic Compounds", 5(3), Proceedings of the fifth international in situ and on-site bioremediation symposium, Battelle Press. (Editors) B. C. Alleman og A. Leeson.
- Hyman et al. (1998)* Hyman, M, P. Kwon, K. Williamson og K. O'Reilly (1998). Cometabolism of MTBE by alkane-utilizing microorganisms, 321 – 326. I "Natural Attenuation: Chlorinated and Recalcitrant Compounds", (C1-3), Proceedings of the first international conference on remediation of chlorinated and recalcitrant compounds, Battelle Press. (Editors) G. B. Wickramanayake og R. E. Hinchee.

- Hyman et al. (2000)* Hyman, M., C. Taylor, and K. O'Reilly (2000). Cometabolic degradation of MTBE by iso-alkane-utilizing bacteria from gasoline impacted Soils, 149-155. I "Bioremediation and Phytoremediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds", (C2-4), Proceedings of the second international conference on remediation of chlorinated and recalcitrant compounds, Battelle Press, (Editors) G.B. Wickramanayake, A.R. Gavaskar, B.C. Alleman, and V.S. Magar.
- Hyman et al. (2001)* Hyman, M., C. Smith, and K. O'Reilly (2001). Cometabolism of MTBE by an aromatic hydrocarbon oxidizing bacterium, 145-152. I "Bioremediation of MTBE, Alcohols, and Ethers", 6(1), Proceedings of the sixth international in situ and on-site bioremediation symposium, Battelle Press, (Editors) V.S. Magar, J.T. Gibbs, K. O'Reilly, M.R. Hyman, and A. Leeson.
- Johansen et al. (2001)* Johansen, R., S. G. Kristjánsdóttir og L. K. Pedersen (2001). Cometabolisk nedbrydning af MTBE, propan- og isobutanoxiderende bakterier. Civilingeniør afgangprojekt, Aalborg Universitet.
- Koenigsberg et al. (1999)* Koenigsberg, S, C. Sandefur, W. Mahaffey, M. Deshusses og N. Fortin (1999). Peroxygen mediated bioremediation of MTBE. I "In Situ Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon and Other Organic Compounds", 5(3), Proceedings of the fifth international in situ and on-site bioremediation symposium, Battelle Press, (Editors) B.C. Alleman and A. Leeson.
- Keller et al. (2000a)* Keller, A. A., O. C. Sandall, R. G. Rinker, M. M. Mitani, B. Bierwagen, og M. J. Snodgrass (2000a). An evaluation of physicochemical treatment technologies for water contaminated with MTBE. Groundwater Monitoring and Remediation, fall , 114-126.
- Keller et al. (2000b)* Keller, A. A., S. Sirivithiyapakorn, og M. L. Kram (2000b). Remediation of Water and Soil Contaminated with MTBE, 73 - 80. I "Case Studies in the Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds", (C2-7), Proceedings of the second international conference on remediation of chlorinated and recalcitrant compounds, Battelle Press. (Editors) G. B. Wickramanayake, A. R. Gavaskar, J. T. Gibbs og J. L. Means.
- Loll (2002)* Loll, P. (2002). Mikrobiel nedbrydning af MTBE i danske grundvands-sedimenter. Fremlæggelse ved ATV-møde om biologiske afværgeteknikker i jord og grundvand, 6. november, 2002.
- Loll et al. (2003)* Loll, P., K. Henriksen, L. Bjergbæk, S. Mogensen og C. Larsen. (2003) MTBE-nedbrydning i danske grundvandssedimenter. Vand & Jord, 10. årgang, nr. 1, 13-16.
- Miljøstyrelsen (1999)* Miljøstyrelsen (1999). E. Arvin og K. Broholm. Miljøprojekt nr. 483. Afværgeteknikker for MTBE-forurennet grundvand.
- Miljøstyrelsen (2001)* Miljøstyrelsen (2001). P. Loll, C. Larsen, K. Henriksen, R. Johansen, L. K. Pedersen og S. Kristjánsdóttir. MTBE-nedbrydning i grundvand vha. alkanoxiderende mikroorganismer. Miljøprojekt nr. 613, 2001.

- Miljøstyrelsen (2003)* Miljøstyrelsen (2003). P. Loll, C. Larsen, P. Møldrup og K. Henriksen. Filtrasorb 400, aktiv-kul til on-site rensning af MTBE-forurenede grundvand – detailundersøgelse. Miljøprojekt nr. 746, 2003.
- Miljøstyrelsen (2004)* Miljøstyrelsen (2004). E. Arvin, H.-J. Albrechtsen, R. Boe-Hansen, R. Krag, E. Lindberg, H. Mosbæk, L. K. Nielsen, I. M. Rivas og A. G. Tully. Rensning af MTBE forurenede grundvand i bioreaktor med MTBE som primært substrat. Miljøprojekt nr. 880, 2004.
- Mormile et al. (1994)* Mormile, M. R, S. Liu og J. M. Suflita (1994). Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates. Extrapolation of information to multiple sites and redox conditions. *Environmental Science and Technology*, 28(9), 1727-1732.
- Pitre og Steffan (1997)* Pitre, M. P. og R. Steffan (1997). Biotreatment of MTBE-contaminated groundwater in membrane bioreactor. AIChE 1997 Spring National Meeting, Envirogen, Inc.
- Salanitro et al. (1994)* Salanitro, J. P., L. A. Diaz, M. P. Williams og H. L. Wisniewski (1994). Isolation of a bacterial culture that degrades methyl t-butyl ether. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(7), 2593-2596.
- Steffan et al. (1997)* Steffan, R.J., K. McClay, S. Vainberg, C. W. Condee, and D. Zhang (1997). Biodegradation of the gasoline oxygenates methyl tert-butyl ether, ethyl tert-butyl ether, and tert-amyl methyl ether by propane-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63(11), 4216-4222.
- Steffan et al. (2000)* Steffan, R.J., S. Vainberg, C. Condee, K. McClay, and P. Hatzinger (2000). Biotreatment of MTBE with a new bacterial isolate, 165-173. I "Bioremediation and Phytoremediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds", (C2-4), Proceedings of the second international conference on remediation of chlorinated and recalcitrant compounds, Battelle Press. (Editors) G.B. Wickramanayake, A.R. Gavaskar, B.C. Alleman og V.S. Magar.
- Yeh og Novak (1994)* Yeh, C. K. og J. T. Novak. Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates in soils. *Water Environment Research*, 66(5), 744-752.

Bilag A: Laboratorieprocedurer

Standardprocedure

I det følgende er laboratorieprocedurerne som er benyttet ved de enkelte forsøg skitseret. Hvis ikke andet er bemærket, er forsøgene udført under følgende standardbetingelser:

Der er der anvendt 120 mL serumflasker, indeholdende 20 mL vækstmedie med biomasse. Efter grundig homogenisering er biomassekoncentrationen målt som optisk densitet ved 550 nm (OD_{550}) og omregnet til koncentration af celleprotein via en standardkurve. Serumflaskerne er herefter lukket med teflonbelagte gummipropper og tilsat propan og MTBE. Flaskerne er placeret på rystebord ved 150 rpm og er placeret ved 23°C.

A.1: Fremelskning, selektion og opformering

Ændret berigelsesprocedure

Det er fundet forholdsvist let at fremelske alkanoxiderende berigelseskulturer med MTBE-nedbrydende egenskaber, hvorfor der til forsøgene udført efter afrapportering i Miljøstyrelsen (2001) er benyttet en hurtigere og mindre omstændelig berigelsesprocedure end den der er beskrevet i Miljøstyrelsen (2001). Nedenstående procedure er benyttet til fremelskning og selektion.

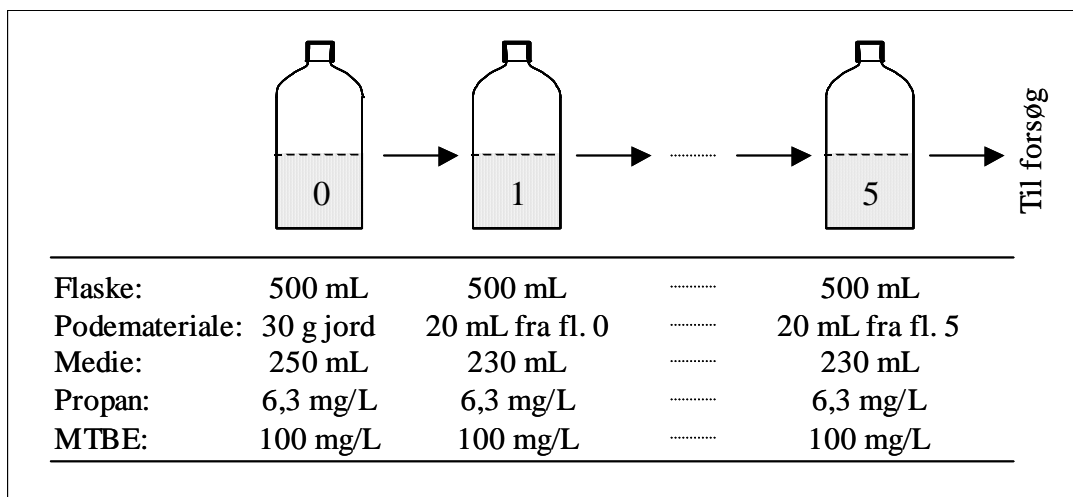
Berigelse af blomsterjord

Som podemateriale er der benyttet sphagnumholdig jord fra et indendørs blomsterbed på Aalborg Universitet. Der er afvejet ca. 30 g jord, som er overført til en 500 mL serumflaske og tilsat 250 mL vækstmedie (pH \approx 7), indeholdende bl.a. mikro- og makronæringsstoffer. Flasken er lukket med en gastæt neopren-prop og metallåg, hvorefter der er tilsat ca. 25,5 mg MTBE og 25,5 mL gasformig propan, svarende til koncentrationer i væskefasen på hhv. 100 mg MTBE/L og 6,3 mg propan/L. Flasken er placeret ved 23°C og omrystet ved 120-150 rpm.

Selektion

Efter en uge er 20 mL repræsentativ væskeblanding, efter grundig omrystning, udtaget og overført til en ny 500 mL flaske med 230 mL frisk vækstmedie. Denne flaske er tilsat MTBE og propan, hvorefter den er inkuberet under samme forhold som beskrevet ovenfor. For at sikre tilstrækkelig selektion af de propanoxiderende bakterier er kulturen overført i alt fem gange.

Berigelses- og selektionsproceduren er skitseret i figur A.1.



Figur A.1: Skematisk fremstilling af den anvendte berigelses- og selektionsprocedure.

Opformering

Efter selektion af den ønskede mikrobielle kultur er der foretaget en opformering med henblik på udførelsen af de planlagte batchforsøg samt podning af to laboratorieskala bioreaktorer. Opformeringen er foretaget i 2 stk. 20 L glasbeholdere tilsat 10 L næringsmedie, indeholdende bl.a. mikro- og makronæringsstoffer (pH \approx 7). Flaskerne er lukket med gastæt gummiprop og placeret på magnetomrører (ca. 150 rpm) ved 23°C, hvorefter der er tilsat MTBE og propan, svarende til koncentrationer i væskefasen på hhv. 10 mg MTBE/L og 6,3 mg propan/L.

Med henblik på tilførsel af ilt er flaskerne åbnet og udluftet ca. 2-3 gange om ugen i tre timer ved konstant omrøring. Ved samme lejlighed er der tilført MTBE og propan, svarende til koncentrationer i væskefasen på hhv. 10 mg MTBE/L og 6,3 mg propan/L. Ufortyndet næringsmedie er tilsat med ca. 14 dages mellemrum.

A.2: Mikroorganismernes vækst

Forsøgsprocedure

Til disse forsøg er der anvendt 1 L flasker, indeholdende en tynd biomassesuspension i 250 mL vækstmedie. Flaskerne er lukket med teflonbelagte gummipropper og tilsat 375 mL propan, svarende til en væskefasekoncentration på ca. 31 mg propan/L (dvs. primærsubstrat i overskud). Hver flaske er ligeledes tilsat 40 mL ren ilt, svarende til at der, inklusiv atmosfærebidraget, var omkring 10 mg O₂/L i hver flaske.

Inkubation

Flaskerne er omrystet ved 150 rpm og placeret ved hhv. 23 og 30°C. Efterfølgende er væksten fulgt over en periode på op til 4 døgn ved, efter grundig omrystning, at udtage en repræsentativ prøvemængde til bestemmelse af optisk densitet ved 550 nm (OD₅₅₀) gennem en gastæt ventil. Prøverne er ført tilbage til flaskerne efter endt måling. OD₅₅₀ er omregnet til koncentration af celleprotein via en standardkurve.

A.3: Nedbrydning af propan

Inkubation

Forsøgene er udført efter standardproceduren ved koncentrationer af celleprotein på mellem ca. 12 og 21 mg/L. Der er tilsat 5 forskellige propan-koncentrationer fra ca. 0,05 til 3 mg/L. MTBE er tilsat til en startkoncentration på ca. 10 mg/L. Tabel A.1 giver en summarisk beskrivelse af forsøgsopsætningen.

Tabel A.1: Forsøgsopsætning ved bestemmelse af propankinetik.

	Biomasse [mg prot./L]	MTBE [mg/L]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	20,6	10,0	0,048
Flaske 2	20,6	9,6	0,29
Flaske 3	20,6	9,8	0,62
Flaske 4	18,8	8,8	1,1
Flaske 5	11,8	9,4	3,1

Propan- og MTBE-koncentrationen er analyseret i head-space over op til 60 timer. Nedbrydningsraterne er bestemt som initialrater.

A.4: Nedbrydning af MTBE

To forsøgsrækker

Der er udført to forsøgsrækker til afklaring af forholdene omkring MTBE-nedbrydningshastigheden:

- 1) Propan-koncentrationens betydning (varierende propan-koncentration og konstant MTBE-koncentration).
- 2) MTBE-koncentrationens betydning (varierende MTBE-koncentration og konstant propan-koncentration).

Inkubation – propans betydning

Til den første række forsøg er der anvendt de samme flasker som ved forsøget til bestemmelse af nedbrydningskinetikken for propan, jf. bilag A.3, hvorfor inkubationsbetingelserne er identiske med de ovenfor beskrevne betingelser. Blot er der i databehandlingen fokuseret på data for MTBE.

Inkubation – MTBEs betydning

Den anden række forsøg er ligeledes udført efter standardproceduren ved koncentrationer af celleprotein på mellem ca. 12 og 22 mg protein/L. Der er anvendt 5 forskellige MTBE-koncentrationer fra ca. 5 til 220 mg/L. Primærsubstrat er tilsat til en startkoncentration på ca. 0,06 mg/L. Tabel A.2 giver en summarisk beskrivelse af forsøgsopsætningen.

Tabel A.2: Forsøgsopsætning ved bestemmelse af MTBE-kinetik.

	Biomasse [mg prot./L]	MTBE [mg/L]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	11,6	4,4	~0,06
Flaske 2	11,6	9,4	~0,06
Flaske 3	21,5	42	~0,06
Flaske 4	21,5	130	~0,06
Flaske 5	21,5	220	~0,06

MTBE-koncentrationen er monitoreret ved head-space analyse over en periode på op til 110 timer. Nedbrydningsraterne er bestemt som initialrater over de første ca. 5 timer.

A.5: Temperatur-følsomhed

Inkubation

Forsøgene er udført efter standardproceduren ved koncentrationer af celleprotein på ca. 22 mg protein/L. Der er udført forsøg ved hhv. 10°C og 23°C, med en dobbeltbestemmelse ved hver temperatur. MTBE er tilsat til en startkoncentration på ca. 10 mg/L og propan er tilsat til en startkoncentration på ca. 0,19 mg/L. Tabel A.3 giver en summarisk beskrivelse af forsøgsopsætningen.

Tabel A.3: Forsøgsopsætning ved bestemmelse af temperatur-følsomhed.

	Biomasse [mg prot./L]	Temp. [°C]	MTBE [mg/L]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	21,8	10	9,1	~0,19
Flaske 2	21,8	10	9,4	~0,19
Flaske 3	21,8	23	10,4	~0,19
Flaske 4	21,8	23	10,4	~0,19

Flaskerne inkuberet ved 10°C er opbevaret i køleskab sammen med flasker til bestemmelse af en standarddrække under omrystning ved 150 rpm. Fra udtagning til analyse på GC, der er placeret ved stuetemperatur (23°C) er flaskerne opbevaret i en spand med fugtigt sand, der ligeledes har stået på køl. MTBE-koncentrationen er monitoreret ved head-space analyse over en periode på op til 310 timer.

A.6: Ilt-følsomhed

Inkubation

Til disse forsøg er der anvendt 250 mL flasker, indeholdende 50 mL vækstmedie med biomasse. Forsøgene er udført ved koncentrationer af celleprotein på ca. 50-70 mg protein/L og iltkoncentrationer på mellem 0 og 8,2 mg/L. MTBE er tilsat til en startkoncentration på ca. 10 mg/L og substrat er tilsat til en startkoncentration på ca. 0,05 mg/L. Tabel A.4 giver en summarisk beskrivelse af forsøgsopsætningen.

Tabel A.4: Forsøgsopsætning ved bestemmelse af ilt-følsomhed.

	Biomasse [mg prot./L]	Ilt [mg/L]	MTBE [mg/L]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	66,9	0	10,1	~0,05
Flaske 2	66,9	0,42	10,1	~0,05
Flaske 3	52,7	2,1	9,2	~0,05
Flaske 4	52,7	4,2	9,4	~0,05
Flaske 5	66,9	8,2	10,5	~0,05

MTBE-koncentrationen er monitoreret ved head-space analyse over en periode på op til 37 timer.

A.7: BTEX-følsomhed

Inkubation

Til disse forsøg er der anvendt 250 mL flasker, indeholdende 50 mL vækstmedie med biomasse. Forsøgene er udført ved en koncentration af

celleprotein på ca. 15 mg protein/L og benzen-koncentrationer fra 0 til ca. 43 mg/L. MTBE er tilsat til en startkoncentration på ca. 8,5 mg/L og substrat er tilsat til en startkoncentration på ca. 0,12 mg/L. Tabel A.5 giver en summarisk beskrivelse af forsøgsopsætningen.

Tabel A.5: Forsøgsopsætning ved bestemmelse af benzen-følsomhed.

	Biomasse [mg prot./L]	Benzen [mg/L]	MTBE [mg/L]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	14,7	0	8,4	0,12
Flaske 2	14,7	1,1	8,4	0,12
Flaske 3	14,7	5,3	8,6	0,12
Flaske 4	14,7	43	8,2	0,14

Flaskerne er omrystet ved 150 rpm og placeret ved 23°C. Benzen-, propan- og MTBE-koncentrationen er monitoreret ved head-space analyse over en periode på op til 75 timer. Nedbrydningsraterne er bestemt som initialrater efter en eventuel lag-periode.

A.8: Substrattilførsel

Inkubation

Forsøgene er udført efter standardproceduren ved koncentrationer af celleprotein på ca. 18 mg protein/L. Der er udført forsøg med gentagne substrattilsætninger, samt efter 0, 1 og 2 dages sulteperiode (uden substrat). MTBE er tilsat til en startkoncentration på ca. 8-9 mg/L og propan er tilsat til en startkoncentration på mellem 0,05 og 0,08 mg/L. Tabel A.6 giver en summarisk beskrivelse af de eksakte forsøgsopsætningen.

Tabel A.6: Forsøgsopsætning ved undersøgelse af substrattilførsel.

	Biomasse [mg prot./L]	Sulteperiode [dage]	MTBE [mg/L]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	17,1	0	9,0	0,05-0,08
Flaske 2	17,1	0	9,0	0,05-0,08
Flaske 3	17,9	0	8,7	0,07
Flaske 4	17,9	1	8,3	0,06
Flaske 5	17,9	2	8,2	0,06

MTBE- og propankoncentrationen er monitoreret ved head-space analyse over en periode på op til 94 timer. Nedbrydningsraterne er bestemt som initialrater.

Inkubation

A.9: Nedbrydningsprodukter

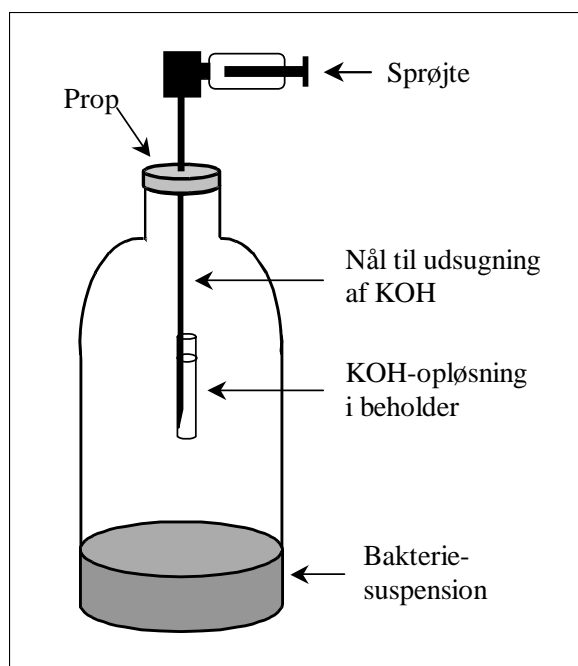
Til disse forsøg er der anvendt 1.000 mL flasker, indeholdende 200 mL vækstmedie med biomasse. Forsøgene er udført ved en koncentration af celleprotein på ca. 64 mg/L. MTBE er tilsat til en startkoncentration på ca. 50 mg/L og substrat er tilsat til en startkoncentration på ca. 0,5 mg/L. Tabel A.7 giver en summarisk beskrivelse af forsøgsopsætningen.

Tabel A.7: Forsøgsopsætning ved bestemmelse af nedbrydningsprodukter.

	Biomasse [mg prot./L]	MTBE [mg/L]	¹⁴ C-MTBE [cpm]	Substrat [mg/L]
Flaske 1	64	~50	0	~0,49
Flaske 2	64	~50	0	~0,49
Flaske 3	64	~50	500.000	~0,49
Flaske 4	64	~50	500.000	~0,49
Flaske 5	64	~50	500.000	~0,49
Flaske 6	0	~50	500.000	~0,49

Flaske 1 og 2 er benyttet til at måle MTBE- og TBA-koncentrationen i head-space. Flaske 3, 4 og 5 er benyttet til at måle ¹⁴CO₂-udviklingen via opsamling i en KOH-fælde (se nedenfor). Flaske 4 er opsplittet efter 307 timer for at bestemme fordelingen af ¹⁴C imellem den opløste fase (MTBE og nedbrydningsprodukter) og den partikulære fase (biomasse), mens flaske 6 er benyttet som kontrol, til at måle det abiotiske tab af ¹⁴C-MTBE fra flasken. Forsøget er udført over en periode på 21 døgn.

Figur A.2 viser en skematisk fremstilling af forsøgsopsætningen for de flasker, der er tilsat ¹⁴C-mærket MTBE. Beholderen med KOH-opløsning benyttes til at opsamle den udviklede CO₂.



Figur A.2: Skematisk fremstilling af forsøgsopsætning for ¹⁴C-forsøget.

Bilag B: Næringsmedie

Størstedelen af forsøgene er udført med mikroorganismene suspenderet i et vækstmedie, indeholdende en række mikro- og makronæringsstoffer samt en pH-buffer til justering af pH til ca. 7. Sammensætning af 1 L vækstmedie fremgår af tabel B.1.

Tabel B.1: Sammensætning af 1 L vækstmedie.

	Mængde [mL]
Demineraliseret vand	940
Basismedie	10
Tracermedie	0,1
Fosfatbuffer	50
Jernopløsning	0,1

Sammensætningen af basis- og tracermediet samt fosfatbufferen og jernopløsningen fremgår af de følgende tabeller.

Tabel B.2: Sammensætning af basismedie.

Stof	Strukturformel	Mængde [g/L]
Natriumsulfat	Na_2SO_4	12
Magnesiumsulfat	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5
Calciumklorid	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,8
Ammoniumsulfat	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132,4

Tabel B.3: Sammensætning af tracermedie.

Stof	Strukturformel	Mængde [g/L]
Zinkklorid	ZnCl_2	0,068
Manganklorid	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,099
Natriumiodid	NaI	0,0745
Coboltklorid	CoCl_2	0,0325
Nikkelklorid	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,06
Kobbersulfat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,25
Kaliumbromid	KBr	0,03
Natriumwolframat	$\text{NaWO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,0825

Tabel B.4: Sammensætning af fosfatbuffer.

Stof	Strukturformel	Mængde [g/L]
Natriumfosfat	Na_2HPO_4	86
Kaliumdihydrogenfosfat	KH_2PO_4	53

Tabel B.5: Sammensætning af jernopløsning.

Stof	Strukturformel	Mængde [g/L]
Jernsulfat	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,39

Bilag C: Kemisk vandanalyse



Dansk Miljørådgivning A/S
Vestergade 65
Ulsted
9370 Hals
Att: Per Loll

Journal nr.:
V201-01926-01
Side 1 af 2
20.08.2001 HN
Direkte telefon til laboratoriet: 79 24 20 25

A/S AnalyCen
CVR nr. 17 14 86 72
Vesterballevej 4 . DK-7000 Fredericia
Tlf. (+45) 75 94 50 30, fax (+45) 75 94 50 37
www.analycen.dk

Undersøgelse af råvand

Udtaget sted:	Sagsnr.: 2000-289
Udtaget adresse:	Teknologiprojekt-sorption
Prøvetager:	Rekvirent,
Årsag:	Projekt
Formål:	Råvandskontrol
Omfang:	05-Boring
Prøve udtaget:	27.07.2001
Prøve modtaget:	27.07.2001 19:15
Analyse påbegyndt:	30.07.2001
Analyse afsluttet:	09.08.2001

Undersøgelser	Resultat	Enhed	Metode	CV%	DL
pH	7,4	-	DS 287	1	
Konduktivitet	59,9	mS/m	DS/EN 27888	2	1,0
Permanganattal	<2	mg/l	DS 275	7	2
Inddampningsrest, fil	4400	mg/l	DS 204	4	10
Calcium, filtreret	90	mg/l	KD.25	2	0,06
Magnesium, filtreret	6,6	mg/l	KD.25	2	0,1
Hårdhed	14,1	°dH	DS 250	4	0,005
Natrium, filtreret	15	mg/l	KD.25	2	0,2
Kalium, filtreret	1,5	mg/l	KD.25	3	0,12
Ammoniak+Ammonium	0,014	mg/l	DS 224	5	0,005
Jern	0,013	mg/l	DS 219	3	0,010
Mangan	<0,005	mg/l	KM 9	5	0,005
Hydrogencarbonat, fil	260	mg/l	DS 253	1	1
Chlorid, filtreret	20	mg/l	DS/EN ISO 10304-1	2	0,5
Sulfat, filtreret	13	mg/l	DS/EN ISO 10304-1	2	0,5
Nitrat, filtreret	21	mg/l	DS/EN ISO 10304-1	2	0,5
Nitrit, filt.	0,009	mg/l	DS 222	4	0,001
Phosphor, total-P	0,006	mg/l	DS 292	3	0,005
Fluorid, filtreret	0,07	mg/l	DS/EN ISO 10304-1	9	0,03
Opløst ilt	-	mg/l	DS 2206	8	0,2
Aggressiv kuldioxid	-	mg/l	DS 236	2	2
Nikkel, filt.	4,6	µg/l	DS 2211	10	1,0
Carbon,org,NVOC	1,4	mg/l	SS/EN1484	4	0,1
#Ionbalance, Boring	2,5	%			

Analyserne, opløst ilt og Aggressiv kuldioxid kan ikke udføres, da det kræver specielle flasker.

Undersøgelser mærket # er ikke omfattet af akkrediteringen.
Analyserapporten vedrører kun det prøvede emne.
Analyserapporten må ikke gøres undtagen i sin helhed.

C:\nw\75945037

Bilag D: Numerisk model

Michaelis-Menten

Der er udarbejdet en finit differens numerisk model til at beskrive og analysere de opnåede reaktor-resultater, samt til at foretage opskaleringsberegninger med. Modellen bygger på Michaelis-Menten kinetikken for hhv. MTBE- og propannedbrydningen, ligning D.1:

$$V = V_{\max} \frac{C_l}{K_m + C_l} \quad (\text{D.1})$$

hvor V er den aktuelle omsætningshastighed [mg/g protein/time], V_{\max} er den maksimale omsætningshastighed [mg/g protein/time], C_l er stofkoncentrationen i væskefasen [mg/L] og K_m er halvmætningskonstanten [mg/L], dvs. den koncentration, hvor der opnås $0,5 \cdot V_{\max}$.

V_{\max} og K_m for propan og MTBE er bestemt via batchforsøg i afsnit 2.2.3 og 2.2.4, og fremgår af tabel D.1. Værdierne i tabel D.1 er anvendt i de numeriske beregninger med mindre andet er angivet.

Tabel D.1: Michaelis-Menten konstanter bestemt i batch med ilt og næringssalte i overskud ved 23°C.

Stof	K_m [mg/L]	V_{\max} [mg/g protein/time]	Betingelser
Propan	0,40	386	v/ 10 mg MTBE/L
MTBE	40	267	v/ 0,06 mg propan/L

Biomassekoncentration

Ved modellering af reaktorforsøgene er biomassekoncentrationen [g protein/L] målt med jævne mellemrum via OD₅₅₀. Målte værdier er antaget konstante frem til næste måling foreligger. Ved opskaleringsberegningerne antages en konstant biomassekoncentration, f.eks. 1 g protein/L, der benyttes i beregningerne. Den aktuelle nedbrydningsrate findes via ligning D.2:

$$R = V \cdot X \quad (\text{D.2})$$

hvor R er den aktuelle fjernelsesrate [mg/time] og X er biomassekoncentrationen [g protein/L], bestemt via OD₅₅₀.

Gas-væske ligevægt

I modellen antages ligevægt imellem gas- og væskefasen via Henry's lov, ligning D.3:

$$C_g = K_H \cdot C_l \quad (\text{D.3})$$

hvor C_g er gasfasekoncentrationen [mg/L] og K_H er den dimensionsløse Henry's konstant (0,02 for MTBE; 28,4 for propan og 31,0 for ilt; alle ved 23°C).

Ved måling af væskefasekoncentrationen (via gasprøve analyseret på GC-FID og standardkurve) bestemmes massen af stoffet i hhv. væske- og gasfasen via ligning D.4 og D.5:

$$M_l = C_l \cdot V_l \quad (\text{D.4})$$

$$M_g = K_H \cdot C_l \cdot V_g \quad (\text{D.5})$$

hvor M_l og M_g er massen af stoffet i hhv. væske- og gasfasen [mg] og V_l og V_g er volumen af hhv. væske- og gasfasen [L].

Tilsætning af MTBE, propan eller ilt

Ved tilsætning af en given mængde MTBE, propan eller ilt (M_{tilsat}) til reaktoren vil massen fordele sig med følgende koncentration i væskefasen:

$$C_l = \frac{M_{tilsat}}{V_l + K_H \cdot V_g} \quad (\text{D.5})$$

og gasfasekoncentrationen bestemmes via ligning D.3.

I reaktoranalysen er ligning D.5 benyttet ved begyndelsen af hver ny nedbrydningscyklus, hvor der er tilsat MTBE, propan og ilt. I opskaleringsberegningerne er der antaget ny fyldning med MTBE-forurenset vand, svarende til den specificerede indløbskoncentration, når udløbskravet er nået for den forrige cyklus; her er ligning D.4 og D.5 benyttet til at beregne massen af MTBE i reaktoren, mens propantilsætningen er beregnet efter ligning D.5 til opnåelse af den specificerede initialkoncentration af propan. Der tilsættes beregningsmæssigt mere propan (igen til den specificerede initialkoncentration) når propankoncentrationen når en forud fastsat nedre koncentration i reaktoren; f.eks. 0,5 eller 0,1 gange initialkoncentrationen.

Temperatur

Temperaturens betydning for nedbrydningsraterne er i opskaleringsberegningerne modelleret via Q_{10} -relationen, hvor de aktuelle antagelser vedr. Q_{10} -værdien fremgår:

$$V_{T2} = V_{T1} \cdot Q_{10}^{\frac{T2-T1}{10}} \quad (\text{D.6})$$

hvor $T1$ er temperaturen, hvorved en mikrobiel rate er målt [$^{\circ}\text{C}$], $T2$ er den temperatur, som raten ønskes korrigeret til [$^{\circ}\text{C}$], V_{T1} er raten målt ved $T1$ [mg/g protein/time] eller [d^{-1}], V_{T2} er raten svarende til $T2$ [mg/g protein/time] eller [d^{-1}] og Q_{10} angiver hvor mange gange raten mindskes, hvis temperaturen sænkes med 10°C .

Ilt

Iltkoncentrationens betydning for nedbrydningsraterne (både propan og MTBE) modelleres via ligning D.7:

$$V = V_{O_2\text{-mætning}} \cdot \frac{C_{O_2}}{0,28 + C_{O_2}} \quad (\text{D.7})$$

hvor V er nedbrydningsraten for propan og MTBE ved en given iltkoncentration [mg/g protein/time], $V_{O_2\text{-mætning}}$ er nedbrydningsraten ved ubegrænset adgang til ilt, bestemt i batchforsøgene [mg/g protein/time] og C_{O_2} er den aktuelle iltkoncentration [mg O_2/L].

Iltforbrug

Iltforbruget beregnes som en støkiometrisk faktor multipliceret med den fjernede masse af MTBE og propan. For MTBE er der benyttet en faktor 2,7 g O₂/g MTBE, svarende til det støkiometriske iltforbrug ved fuld-stændig mineralisering, mens der for propan er benyttet værdier i intervallet 1,8 til 3,6, svarende til udbyttekonstanter på hhv. 0,5 og 0 mol/mol. Ved en effektiv udbyttekonstant på 0,06 mol/mol, som er observeret i SBR2 ved initialkoncentration af propan på 0,32 mg/L, vil det specifikke iltforbrug forbundet med nedbrydningen af propan være på ca. 3,4 g O₂/g propan.

Massebalance

Modellen opsamler løbende oplysninger om tilsatte og fjernede/nedbrudte stofmængder og beregner en række nøgletal for reaktordriften:

- Samlet vandmængde, der er rensat.
- Samlet masse af MTBE, propan og ilt, der er nedbudt/forbrugt.
- Gasvolumen (liter ilt og propan), der er forbrugt/skal overføres.
- Tiden for en nedbrydningscyklus for MTBE og propan.
- Det specifikke propan og iltforbrug (g/g MTBE fjernet).

Bilag E: Beregning af nødvendig tilsætning af næringsalte

I forhold til opsætning og drift af et aktuelt biofilter, kan der som nævnt i afsnit 2.1.3 regnes med et nødvendigt forhold imellem biomassekulstof, kvælstof og fosfor (C:N:P) på 100:10:1. En beregning efter dette princip tager dog udgangspunkt i at der er tale om betydelig netto-tilvækst af biomasse, hvilket ikke vil være udgangspunktet for driften af en bioreaktor til fjernelse af MTBE, jf. afsnit 3.4.

Netto vs. brutto vækst

Den netto-tilvækst af biomasse der vil kunne observeres for en given reaktor vil således være udtryk for en (større) brutto vækst, samt et brutto henfald af biomasse, der kommer til udtryk som en (lille) netto tilvækst af biomasse.

Udbyttekonstant

Som bud på bruttovæksten tages der i det følgende udgangspunkt i den tilsatte mængde kulstof der, i form af propan, omsættes i reaktoren. Det antages, konservativt, at brutto-tilvæksten af biomasse f.eks. er 0,5 g biomasse/g propan, mens nettovæksten i SBR2 (ved 0,32 mg propan/L) var 0,15 g biomasse/g propan. Med en antaget molekylestruktur på $C_5H_7O_2N$, vil 53% af biomassen, på vægtbasis, være kulstof.

Organisk kulstof

På denne baggrund kan det beregnes, hvor meget biomasse-kulstof der dannes for hvert gram propan, der tilsættes reaktoren:

$$0,5 \frac{\text{g biomasse}}{\text{g propan}} \cdot 0,53 \frac{\text{g biomasse} - C}{\text{g biomasse}} = 0,27 \frac{\text{g biomasse} - C}{\text{g propan}} \quad (\text{E.1})$$

Ifølge ligning E.1 dannes der således 0,27 g biomasse-kulstof for hvert g propan, der tilsættes reaktoren; eller 27 g biomasse-kulstof for hver 100 g propan, der effektivt overføres til reaktorvandet.

Kvælstof og fosfor

Med et anbefalet C:N:P-forhold på 100:10:1, skal der således, konservativt antages tilsættes ca. 3 g kvælstof og 0,3 g fosfor i biologisk tilgængelig form, for hver 100 g propan, der tilsættes reaktoren.

Bilag F: Eksempel på beregning af enhedspris

1 mg MTBE/L i indløb,
0,2 mg MTBE/L i udløb
og $Q_{10} = 2,5$

I det følgende er givet et eksempel på beregning af enhedsprisen for on-site rensning af MTBE-forurenede grundvand i et SBR-anlæg. Der tages udgangspunkt i scenarium 3 fra tabel 4.1, altså en indløbskoncentration på 1 mg MTBE/L og et udløbskrav på 0,2 mg/L, samt en lav temperaturfølsomhed for den mikrobielle temperatur ($Q_{10} = 2,5$).

Driftstid 10 år;
flow $5 \text{ m}^3/\text{h}$

Eksemplet er beregnet for et indløbsflow på $5 \text{ m}^3/\text{time}$, samt en drifts- og afskrivningsperiode på 10 år. Med disse driftsparametre vil der blive behandlet i alt 438.000 m^3 vand over anlæggets levetid.

Beregnete nøgletal

Som det fremgår af tabel 4.2 er der beregnet følgende nøgletal for scenarium 3, ved en hydraulisk belastning på $1 \text{ m}^3/\text{time}$.

- Reaktorvolumen (heraf 80% væskevolumen), $V = 1,0 \text{ m}^3$.
- Specifik massefjernelse af MTBE, $M = 0,8 \text{ g MTBE/m}^3$.
- Specifikt propanforbrug = $38 \text{ g propan/g MTBE}$.

F.1: Anlægsomkostninger

Ved en hydraulisk belastning på $5 \text{ m}^3/\text{time}$, vil det nødvendige anlægsvolumen blive 5 m^3 , da det nødvendige volumen er lineært skalérbart med det volumen, der er beregnet for en hydraulisk belastning på $1 \text{ m}^3/\text{time}$, jf. de ovenfor anførte nøgletal; altså $5 \cdot 1 \text{ m}^3 = 5 \text{ m}^3$.

Anlægsomkostningerne for et SBR-anlæg med en 5 m^3 opholdstank og en 5 m^3 reaktor, incl. opsætning og indkøring, er anslået til 530.000 kr. (eks. moms).

Hvis det antages, at anlægsomkostningerne afskrives lineært over den behandlede vandmængde på 438.000 m^3 , vil anlægsomkostningerne udgøre $1,21 \text{ kr./m}^3$ vand, der renses.

F.2: Driftsomkostninger

Propan

Ved multiplikation af den specifikke massefjernelse af MTBE og det specifikke propanforbrug, kan det beregnes, at der skal benyttes $30,4 \text{ g propan/m}^3$ vand, der renses. Ved en propan-pris på 20 kr./kg , jf. tabel 4.4, opnås en pris på $0,61 \text{ kr./m}^3$ vand, der renses.

Ilt

På baggrund af iltforbrug forbundet med (delvis) mineralisering af MTBE og propan på hhv. $2,7$ og $3,4 \text{ g ilt/g}$ substrat, jf. afsnit 4.1, kan der beregnes et specifikt iltforbrug på $0,8 \cdot 2,7 + 30,4 \cdot 3,4 = 105,5 \text{ g ilt/m}^3$ vand, der renses. Ved en ilt-pris på $3,75 \text{ kr./kg}$, jf. tabel 4.4, opnås en pris på $0,40 \text{ kr./m}^3$ vand, der renses.

Næringssalte

På baggrund af et propanforbrug på $30,4 \text{ g propan/m}^3$ vand, der renses, skal der, jf. beregningen af næringssaltbehovet i bilag E, bruges sammenlagt $0,1 \text{ gram N og P pr. m}^3$ vand, der renses. Ved en pris på næringssalte

på ca. 130 kr. over anlæggets levetid (forsvindende lidt), som der ses bort fra.

Sammenlagt bliver prisen på propan og ilt således ca. 1 kr./m³ vand, der renses.

Strøm

Strømforsbruget til SRO-anlægget er vurderet til 1 kW, svarende til 8.760 kWh/år. Strømforsbruget til pumpe og kompressor er estimeret til 4,5 kW, med en driftstid på 438 timer/år, svarende til et strømforsbrug på 1.971 kWh/år. Strømforsbruget til omrøring er estimeret til 0,5 kW/m³ reaktorvolumen, svarende til 2,5 kW for en 5 m³ reaktor. Den estimerede driftstid er 7.885 timer/år, svarende et strømforsbrug til omrøring på 19.712 kr./år.

Det samlede årlige strømforsbrug bliver således på 30.443 kWh/år. Ved en antaget strømpris på 1 kr./kWh (eks moms) og en årligt behandlet vandmængde på 438.000 m³/10 år = 43.800 m³/år, opnås strømomkostninger på 0,70 kr./m³ vand, der renses.

Tilsyn

Tilsyn ved driften er skønnet til 180 timer/år, svarende til 7 timer pr. 14 dage. Med en antaget timepris på 550 kr./time, bliver de omkostningerne forbundet med tilsyn 99.000 kr./år. Ved en årligt behandlet vandmængde på 43.800 m³/år, opnås tilsynsomkostninger på 2,26 kr./m³ vand, der renses.

F.3: Samlet opgørelse

Nedenfor er der opstillet en samlet opgørelse over den beregnede enhedspris (alle priser eks. moms).

Anlæg:	1,21 kr./m ³
Propan og ilt:	1,01 kr./m ³
Strøm:	0,70 kr./m ³
Tilsyn:	2,26 kr./m ³
Sum:	5,18 kr./m ³