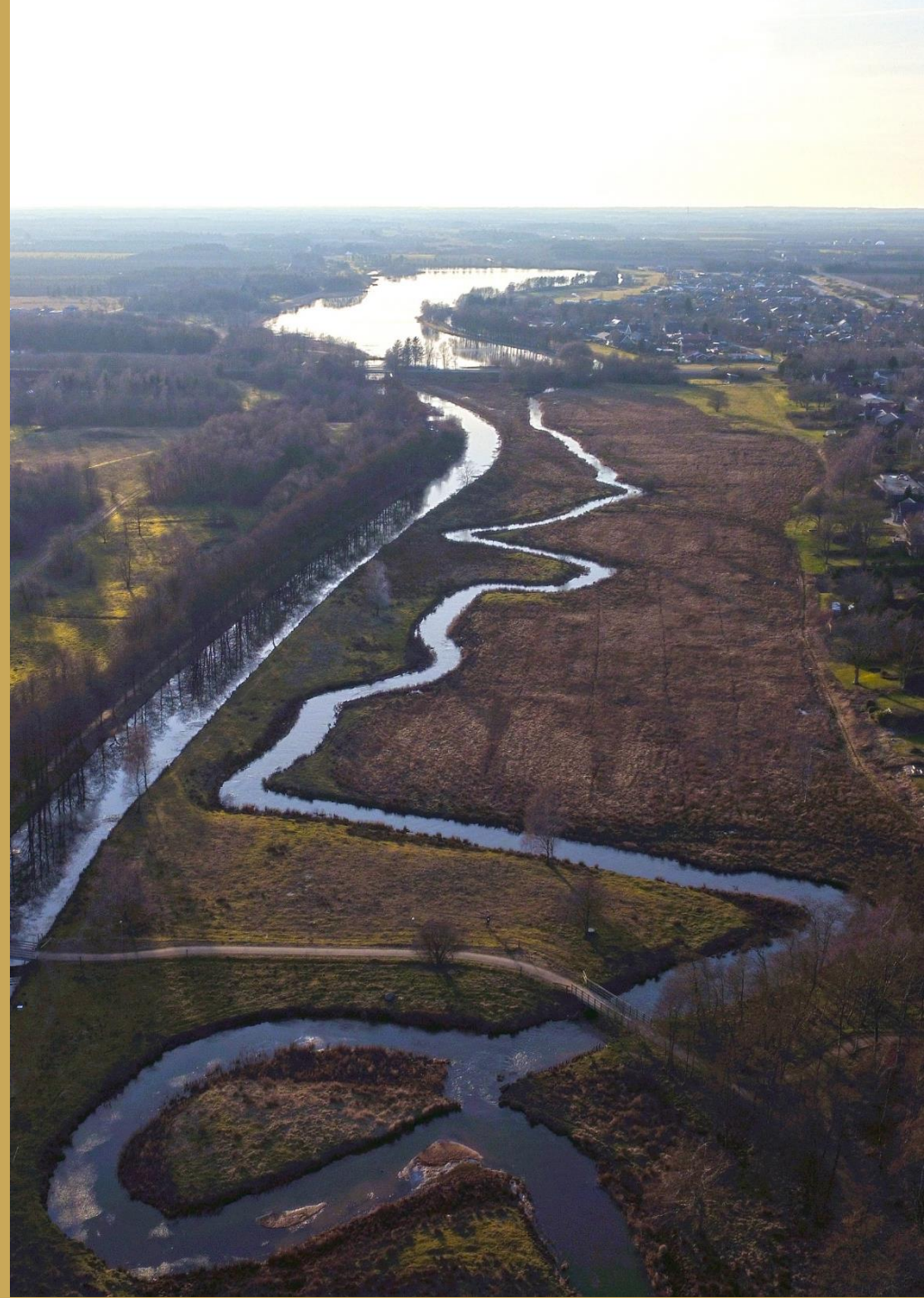


Fra velkendte stofgrupper til nye fokusstoffer – vidensoverførsel om vurdering af naturlig nedbrydning med udgangspunkt i Grindsted

Cecilie F. Ottosen, Grégory Lemaire, Poul L. Bjerg, Mikael Olsson, Steffen Kümmel, Hans H. Richnow, Britt B. Thrane, Lone Dissing, Jørn K. Pedersen og Mette M. Broholm

Baggrund og formål

- Vurdering af *in situ* naturlig nedbrydning er essentiel for risikovurdering
- Robust værktøjskasse for velkendte forureningsstoffer som chlorerede ethener
- Nye fokusstoffer som PFAS, farmaceutiske stoffer og pesticider dukker op
- Formålet: evaluere om og hvordan erfaringer fra de velkendte stoffer kan overføres til nye fokusstoffer
- Feltlokalitet: Grindsted - forureningsfanen fra fabriksgrunden, metoder afprøvet og udviklet
 - Sulfonamider vs. chlorerede ethener





Grindsted: Forureningsfanen fra fabriksgrunden

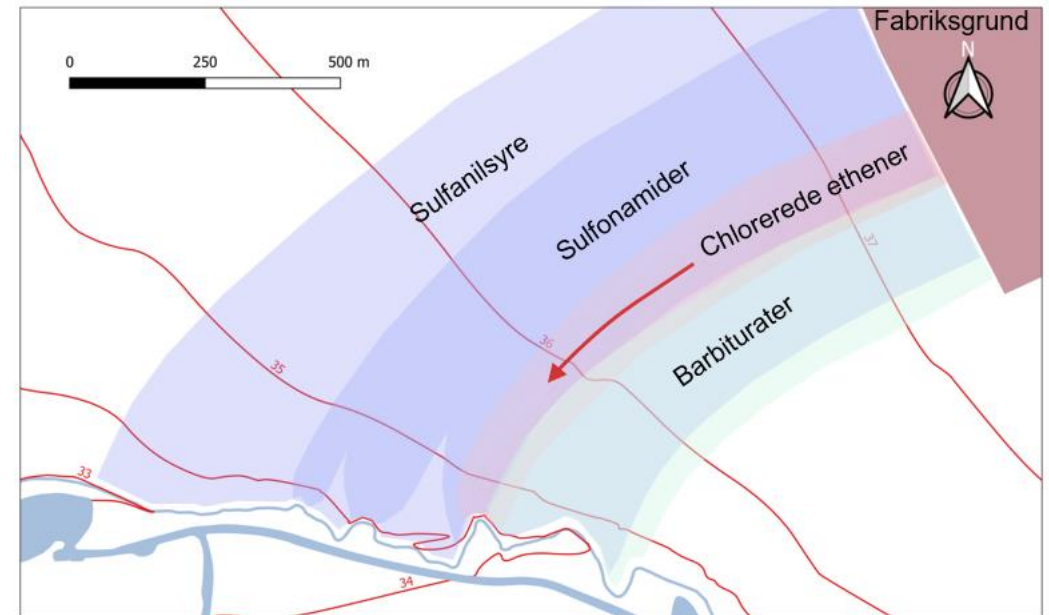
Tidligere farmaceutisk fabrik.

Storskala forureningsfane med kompleks sammensætning som strømmer ud i åen og derved udgør en risiko for overfladevandet.

Tidligere undersøgelser sulfonamider:

- Nedbrydningsforsøg, aerobe.
- Sandsynligvis et ånært potentiale for aerob nedbrydning.

Sker der noget i selve fanen? Kan det dokumenteres?





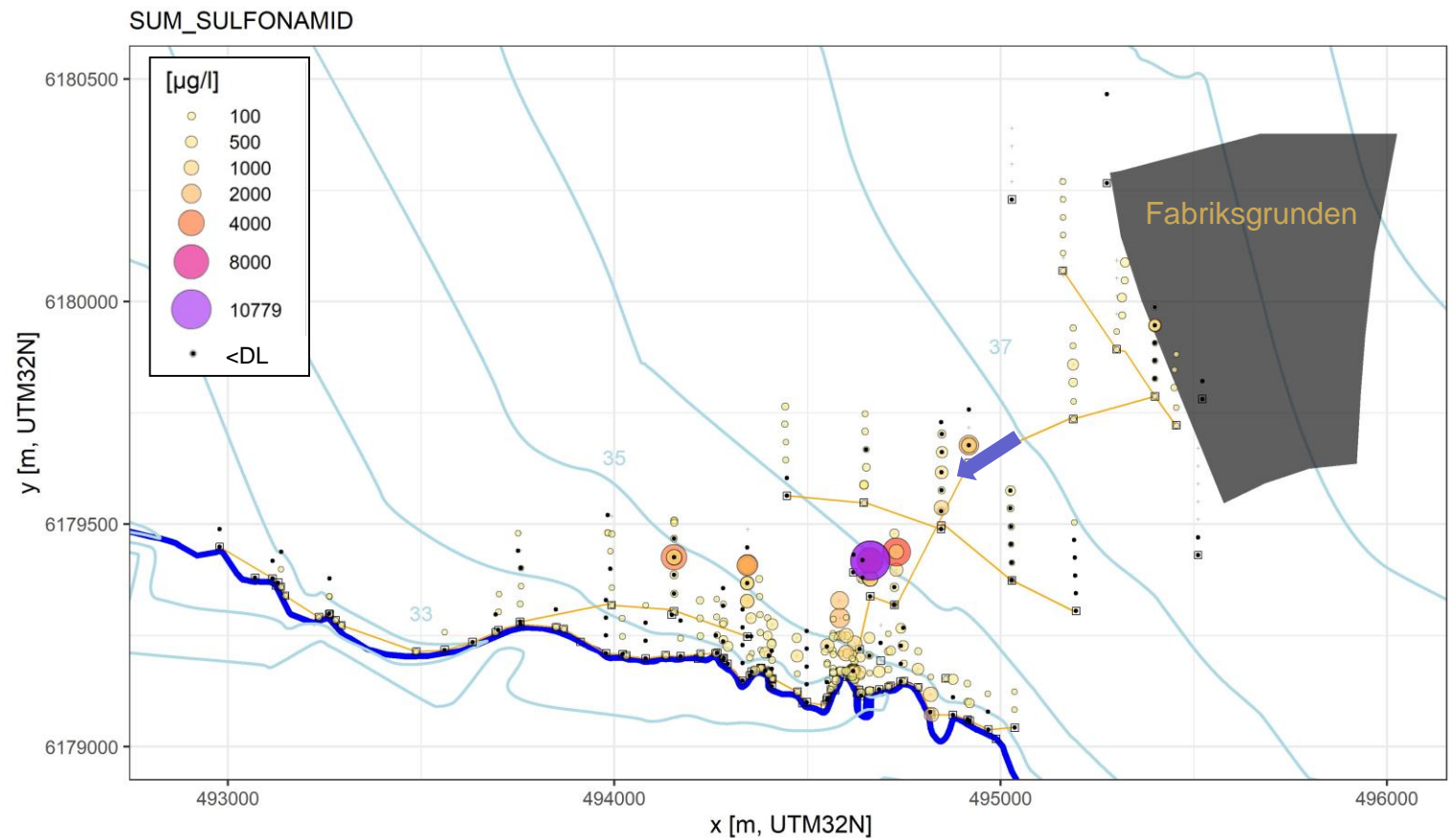
Grindsted: Forureningsfanen fra fabriksgrunden

13 påviste sulfonamider i fanen.

cis-DCE og VC markante i fanen.

Omfattende undersøgelse, bl.a.:

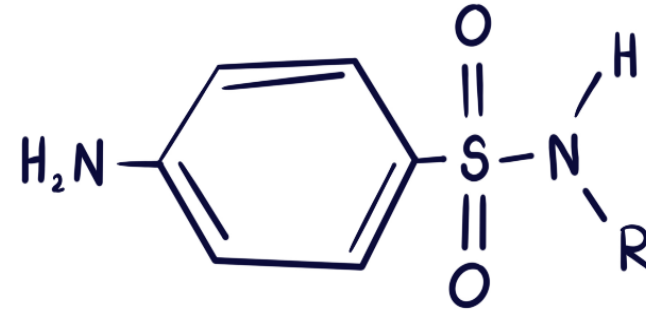
- Specifikke nedbrydningsprodukter
- Gen sekventering
- Stof specifik isotopanalyse



Nye fokusstoffer – farmaceutiske stoffer

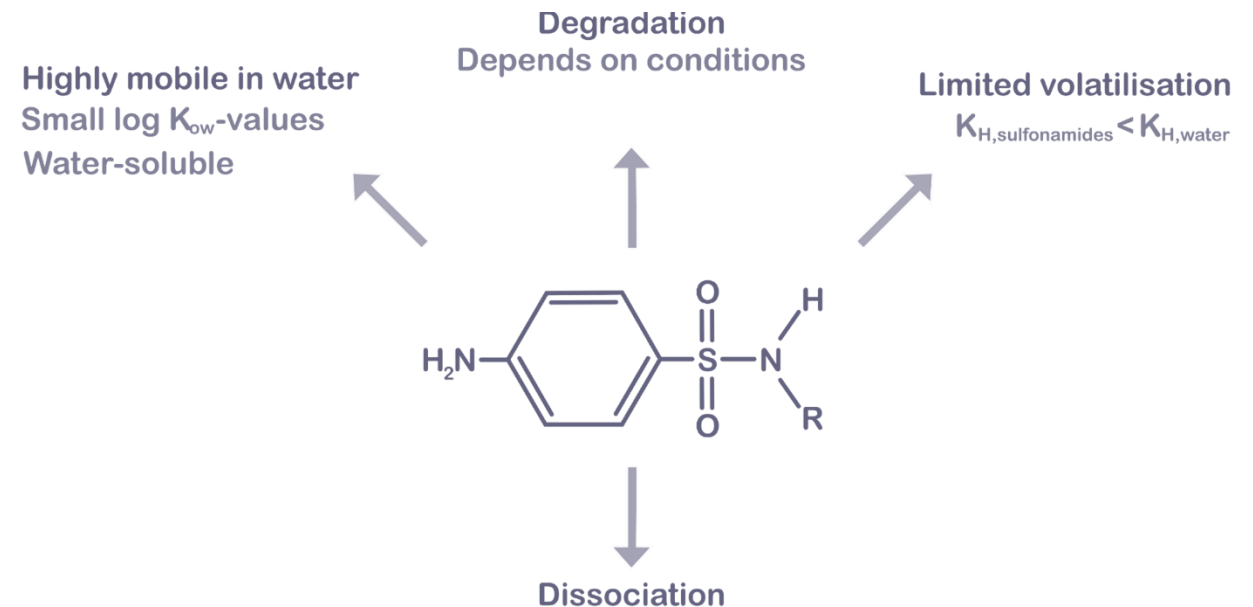
Sulfonamider

- Ældste antibiotika anvendt i menneske- og dyremedicin.
- Udbredt i vandmiljøet og udgør en potentiel risiko.
- Naturlig nedbrydning i grundvandssystemer?
- Har vi værktøjerne til at vurdere det?
- *In situ* afværgeløsnings muligheder?



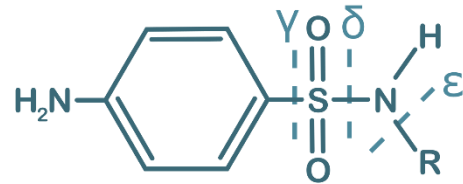
Skæbne

- Biologisk nedbrydning > abiotiske nedbrydning.
- Nedbrydnings veje/produkter sammenlignelige
- Nedbrydning pH-afhængig.
- Bionedbrydning både aerobt (mest undersøgte) og anaerobt.

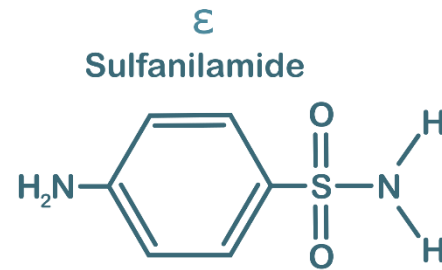
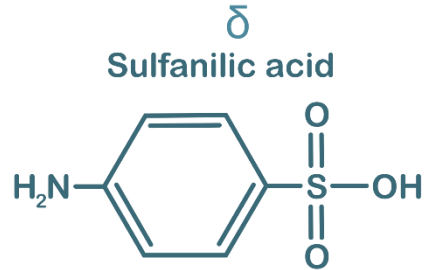
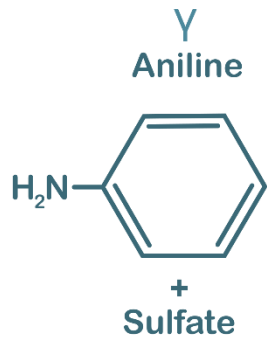


Nye fokusstoffer – farmaceutiske stoffer

Transformation products from bond cleavage of sulfonamide group



Non-specific transformation products:



Related specific transformation products:

NH₂R

NH₂R

R

Brydning af sulfonamid binding fjerner antibakteriel effekt.

Nedbrydningsprodukter der indeholder R substituent kan bruges til at indikere dette.

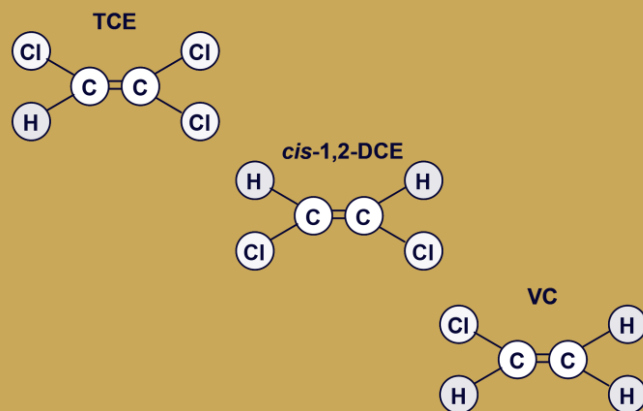
Specifikke nedbrydningsprodukter

Princip

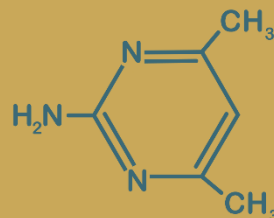
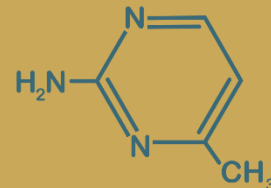
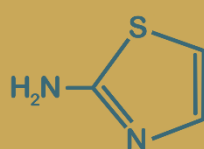
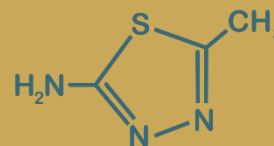
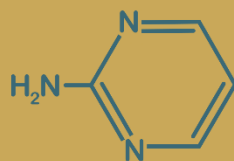
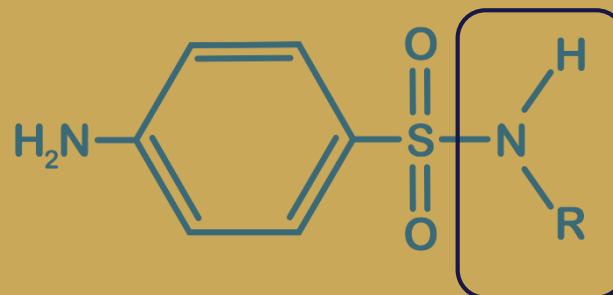
Nedbrydningsindikation hvis:

1. Et unikt biokemisk forhold til moderstoffet
2. Ingen andre kilder til stoffet
3. Relativt biologisk og kemisk stabilt

Anvendelse for chlorerede ethener:



Hvad vi gjorde



2-aminothiazol ($\leq 2,1 \mu\text{g/L}$)

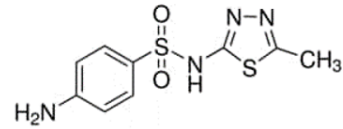
2-amino-4,6-dimethylpyrimidin ($\leq 3,1 \mu\text{g/L}$)

2-amino-5methyl-1,3,4-thiazole ($\leq 160 \mu\text{g/L}$)

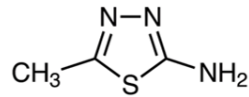
2-Aminopyrimidin og 2-amino-4-methylpyrimidin var under detektionsgrænsen

Specifikke nedbrydningsprodukter

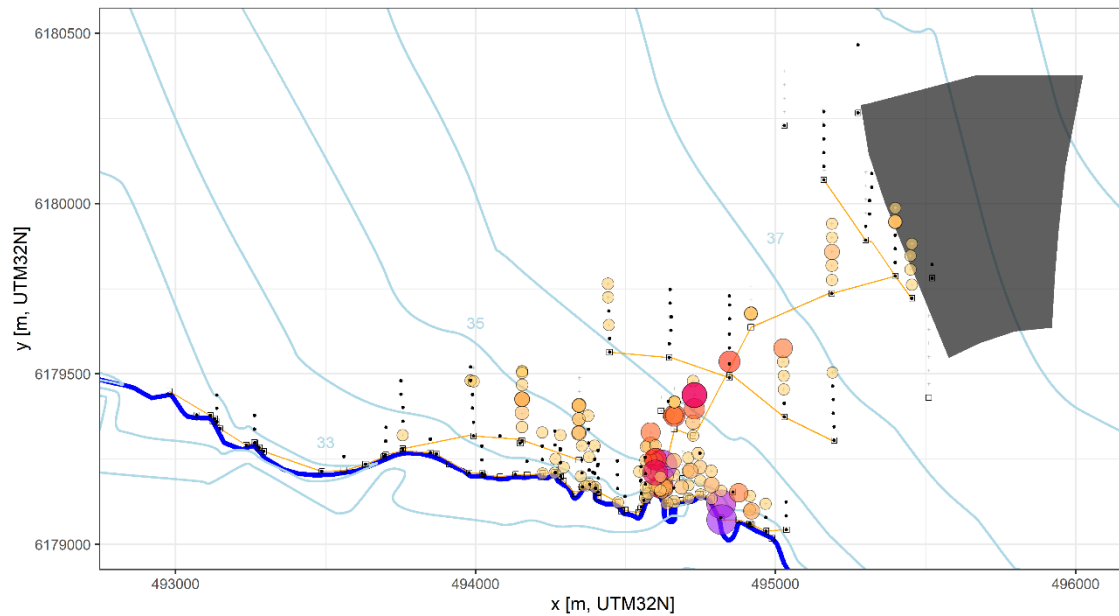
Sulfamethizole



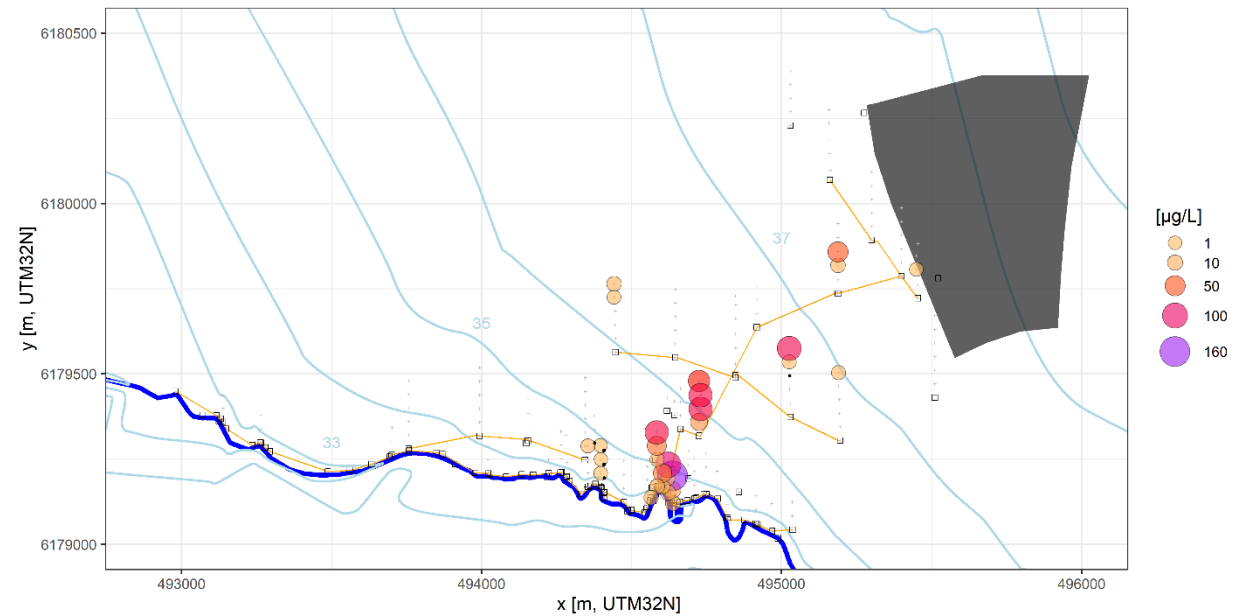
2-amino-5methyl-1,3,4-thiazole



Sulfamethi(a)zol



2-amino-5methyl-1,3,4-thiazole



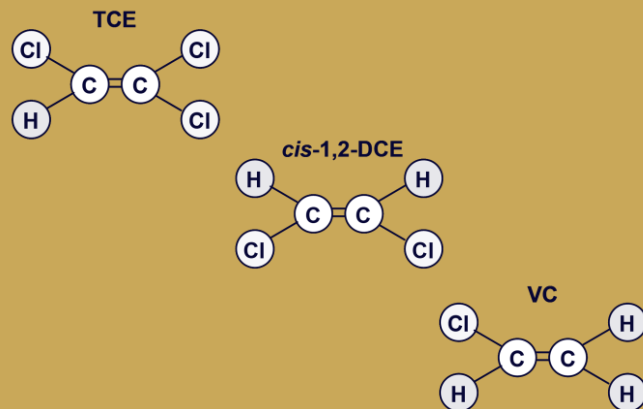
Specifikke nedbrydningsprodukter

Princip

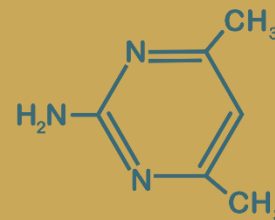
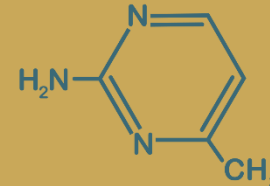
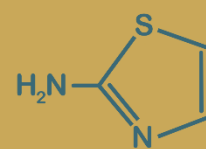
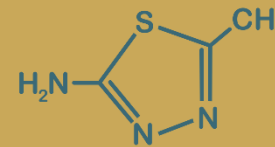
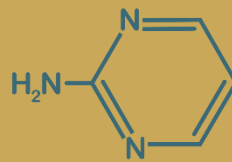
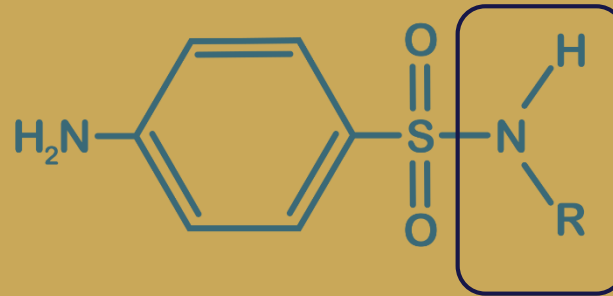
Nedbrydningsindikation hvis:

1. Et unikt biokemisk forhold til moderstoffet
2. Ingen andre kilder til stoffet
3. Relativt biologisk og kemisk stabilt

Anvendelse for chlorerede ethener:



Hvad vi gjorde



State-of-the-art

Fordele

- Direkte bevis for nedbrydning.
- Indikation af nedbrydningsvej.
- Mere specifik risikovurdering.

Udfordringer

- Primært aerob viden.
- Uspecifikke metabolitter.
- Kan måske ikke detekteres eller analyseres.

Fremtidigt behov

- Identificering af relevante sulfonamid metabolitter i faner.

Mikrobielle analyser

Princip



- Er kendte bakterier tilstede og aktive?
- Er kendte funktionelle gener tilstede og aktive?
- Hvem er ellers tilstede?

Anvendelse for chlorerede ethener:

Dehalococcoides med *vcrA/bvcA* gener



Hvad vi gjorde

- Gensekventering (mikrobielle population).
- Prøvetog DNA 17 steder i fanen for at kortlægge biodiversiteten (slægtsniveau)



- Bakterier potentielt relateret til sulfonamid bionedbrydning tilstedeværende i fanen, fx:
 - *Pseudomonas* ($\leq 13\%$)
 - *Bradyrhizobium* ($\leq 4\%$)
 - *Brevundimonas* ($\leq 1\%$)
- Gensekvenser (>250bps) matcher funktionelle gener *sadA*, *sadB* and *sadC* relateret til sulfonamid nedbrydning.
- Indikerer et bionedbrydnings-potentiale i fanen.

Mikrobielle analyser

Princip



- Er kendte bakterier tilstede og aktive?
- Er kendte funktionelle gener tilstede og aktive?
- Hvem er ellers tilstede?

Anvendelse for chlorerede ethener:

Dehalococcoides med *vcrA/bvcA* gener



Hvad vi gjorde

- Gensekventering (mikrobielle population).
- Prøvetog DNA 17 steder i fanen for at kortlægge biodiversiteten (slægtsniveau)



State-of-the-art

Fordele

- Indikerer nedbrydningspotentiale.

Udfordringer

- Kan kun kigge efter kendte bakterier/gener.

Fremtidigt behov

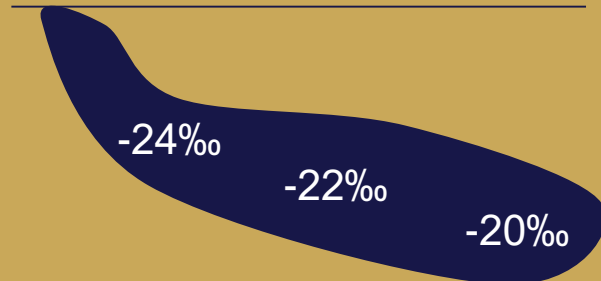
- Undersøgelser af nedbrydning under naturlige forhold.
- Bakterier specifikke eller alsidige?

Stof-specifik isotop analyse (CSIA)

Princip

- Bindinger til lette isotoper er typisk svagere end til tunge isotoper.
- Graden af nedbrydning og isotopfraktionering er relateret.
- CSIA anvendes til at bevise nedbrydning af historiske stoffer.

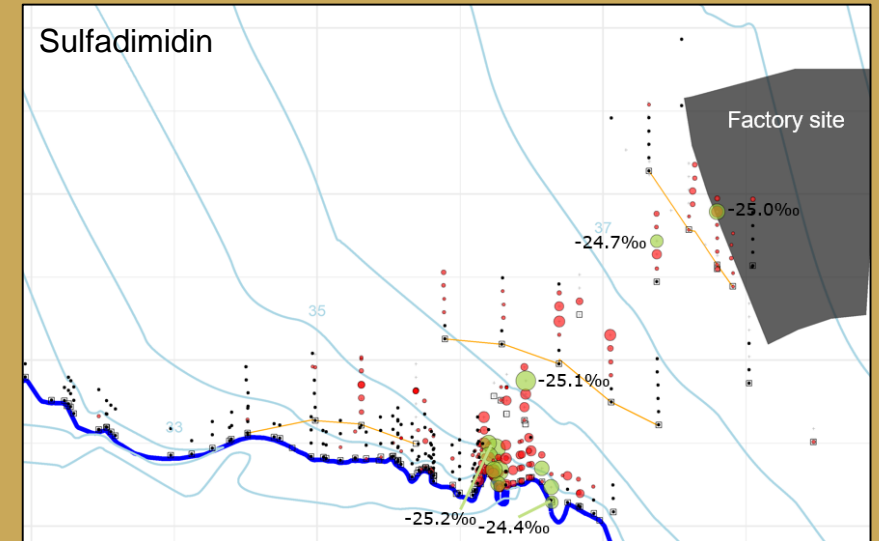
Anvendelse for chlorerede ethener:



Hvad vi gjorde

- >molekyler, >polaritet, <flygtige og <konc. sammenlignet med historiske stoffer.
- Udviklet indledende metode til opkoncentrering og fjernelse af støj i prøver.
- Testet og udviklet kulstof isotop analyse for 3 betydelige sulfonamider.

- Sulfanilamid $\sim 1000x$
- Sulfadimidin $\sim 10.000x$
- GC-IRMS muligt.
- Opnået resultater for sulfadimidin i fanen.



Stof-specifik isotop analyse (CSIA)

Princip

- Bindinger til lette isotoper er typisk svagere end til tunge isotoper.
- Graden af nedbrydning og isotopfraktionering er relateret.
- CSIA anvendes til at bevise nedbrydning af historiske stoffer.

Anvendelse for chlorerede ethener:



Hvad vi gjorde

- >molekyler, >polaritet, <flygtige og <konc. sammenlignet med historiske stoffer.
- Udviklet indledende metode til opkoncentrering og fjernelse af støj i prøver.
- Testet og udviklet kulstof isotop analyse for 3 betydelige sulfonamider.

State-of-the-art

Fordele

- Potentielt dokumentere nedbrydning.

Udfordringer

- Lave feltkoncentrationer er muligvis en begrænsning for anvendelsen af metoden.

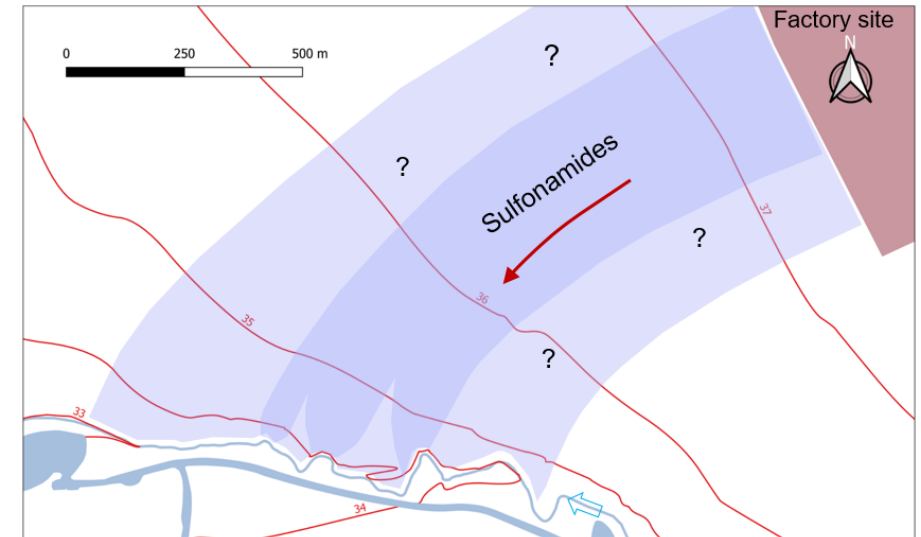
Fremtidigt behov

- Udvikle og teste analytiske procedure for yderligere sulfonamider i felt og lab skala.
- Potentiale for multi-isotop analyse.

Konklusion: nedbrydning af sulfonamider i Grindsted

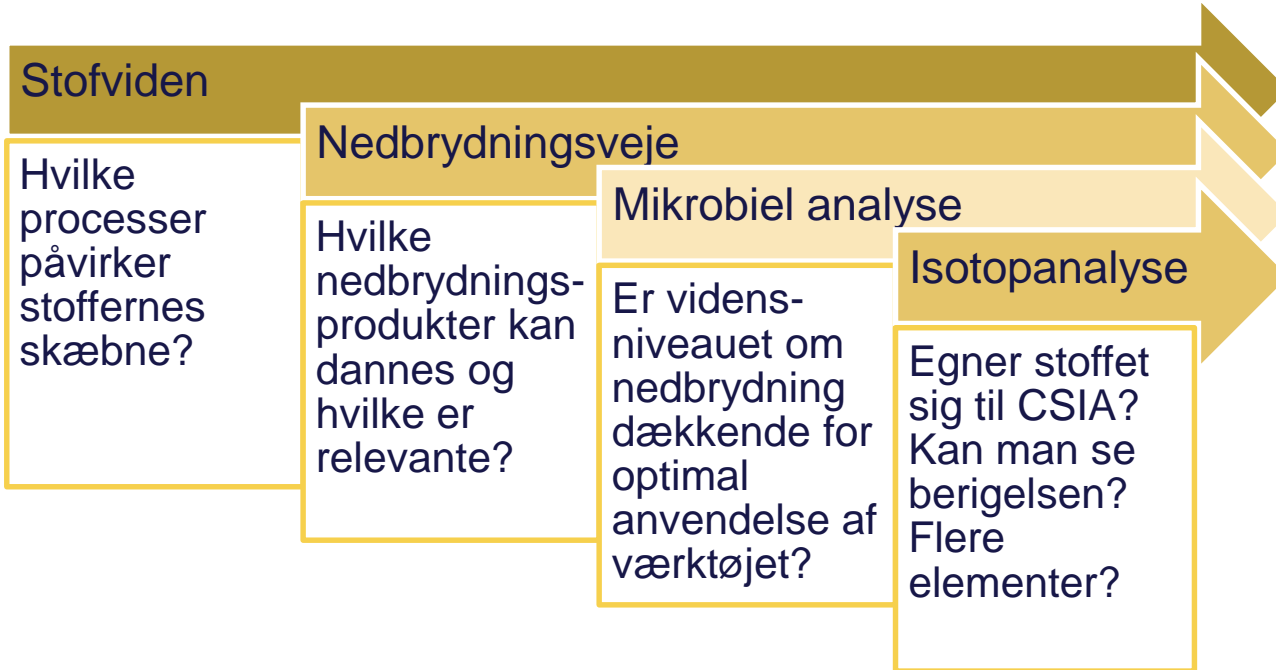
- Tre specifikke nedbrydningsprodukter tilstede.
- Yderligere uspecifikke nedbrydningsprodukter tilstede i høje koncentrationer (sulfanilsyre).
- Relevante bakterier og gener tilstede.
 - Ukendt potentiale for bionedbrydning (anaerobt).

De nedbrydes!

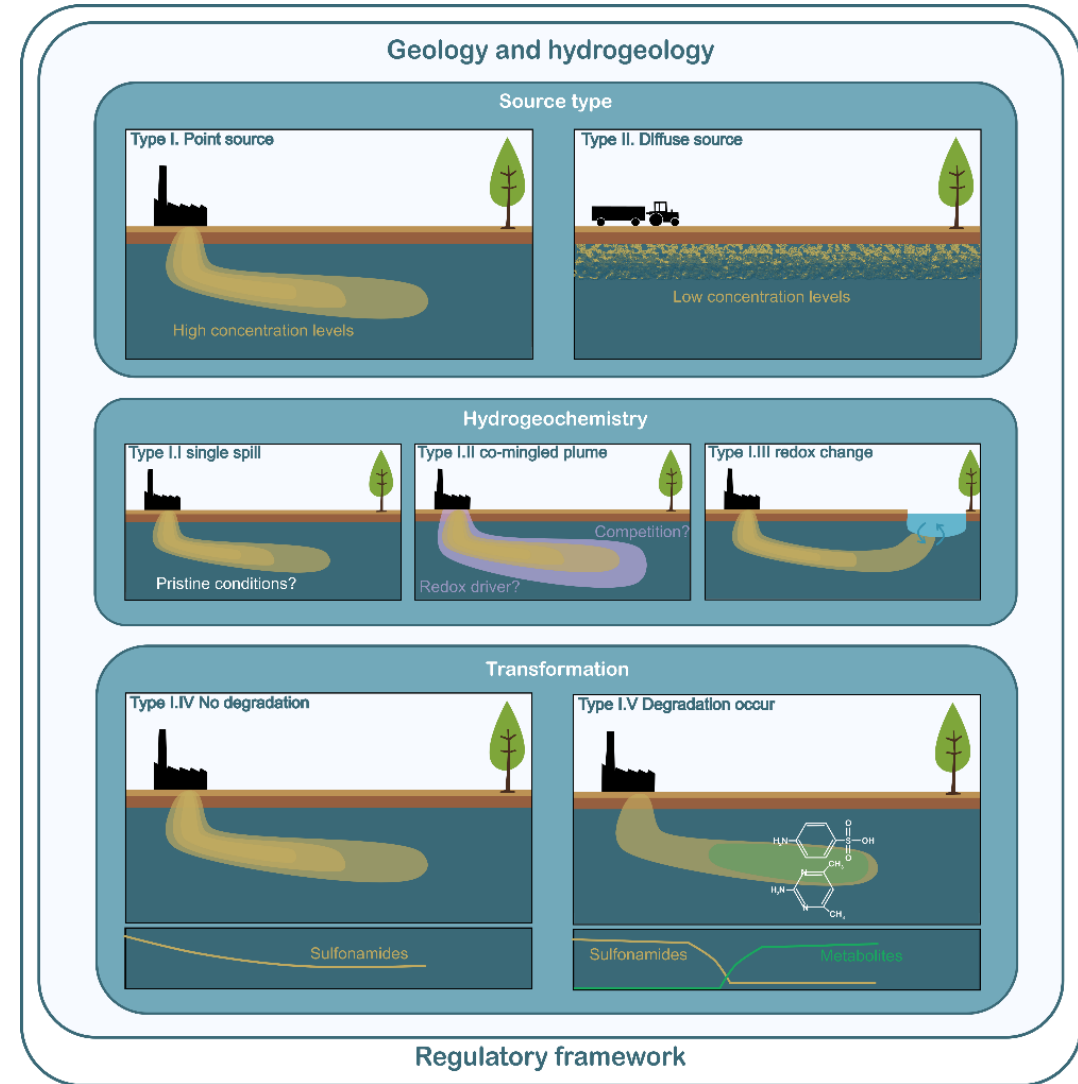


- Er stimulering af nedbrydning mulig? Laboratorieforsøg/pilotskala
 - Ånært: Undersøgelser indikerer et aerobt potentiale
 - Fanen: Undersøgelser indikerer et anaerobt potentiale
- Dilemma: aerob stimulering - Vil en indsats forværre problemet for chlorerede ?

Perspektivering



Integreres og samles i en konceptuel model. Geologi og hydrogeologi (naturlige forhold) essentiel for skæbnen.



Ottosen et al., 2024 (i tryk)