

Bakterier i miljøets tjeneste

Bakterier har i mange tilfælde et dårligt ry – men for en dels vedkommende er faktisk ufortjent, idet der er mange bakterier, som vi udnytter positivt. Seneste skud på stammen er en bakterie, der kan være med til at rense grundvandet

Af Anna Glarbo Tvedegaard Pedersen, Biologisk Institut og Birgitte Lilholt Sørensen, Institut for Kemi-, Bio- og Miljøteknologi, Syddansk Universitet

De fleste af os forbinder bakterier med noget negativt. Vi hører om bakterier på sygehuse, om sygdomsfremkaldende bakterier på restauranter og i supermarkeder, og om colibakterier i vores drikkevand. Men bakterier findes i mange uskadelige former omkring os - og er nødvendige for at naturen kan gå sin gang.

I adskillige tilfælde har vi endvidere formået at udnytte bakterier til vores egen fordel. I den yoghurt vi spiser om morgenen, findes der bakterier, og i renseanlæggene udnytter man bakterier til at rense vores spildevand. Et af de seneste skud på stammen er en metode som kaldes "stimuleret *in situ* reduktiv deklorering", hvor bakterier anvendes til at rense vores grundvand for klorerede opløsningsmidler.

Hvor kommer vandet fra?

I Danmark baserer vi vores drikkevandsforsyning stort set udelukkende på grundvand (ca. 99 %). Grundvand findes dybt nede i jorden og dannes ved, at regnvand siver ned igennem jorden fra jordoverfladen. En del af regnvandet strømmer videre til vandløb eller fordamper. Den såkaldte infiltrationsproces (nedsivning) forløber forholdsvis langsomt, og vandet i grundvandsmagasinerne kan derfor let være hundredvis af år gammelt. Hvis vi forurener grundvandet, vil forureningen derfor også kunne spores i meget lang tid.

Som udgangspunkt gennemgår det kommende drikkevand en simpel behandling, således at det kan leve op til den fastsatte drikkevandskvalitet. Her iltes vandet og ledes igennem et sandfilter, hvorefter det ledes ud til vores morgenkaffe.

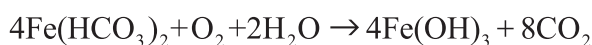
Iltningen af vandet tjener flere forskellige formål. Et af disse er at fjerne jern- af manganforbindelser fra grundvandet, da disse kan forårsage uklart vand samt tilstopning af ledningsnet samt armaturer, hvis de fælder ud. Under iltningen undergår jern- og manganforbindelserne en oxidation, hvorved de omdannes til jernhydroxid (figur 1) og »brunsten« (MnO₂). Disse fælder ud og vil derfor blive filtreret fra, når vandet efter iltningen passerer igennem sandfilteret.

ANNONCE

Søges: Specialist i nedbrydning af klorerede opløsningsmidler

Vi tilbyder: Projektansættelse over en længere periode
Arbejde 24 timer i døgnet, ingen fritid
Af onning i form af kost og logi
Samarbejde med ligesindede, højt specialiserede kolleger

Jernoxidation:



Manganoxidation:



Udover jern- og manganforbindelser bliver også ammonium fjernet for at undgå risiko for produktion af nitrit (toksisk) samt bakterievækst i rør, vandhaner og andet armatur. Dette sker ligeledes ved en oxidationsproces, hvorved ammonium omdannes til først nitrit og derefter nitrat. Selve oxidationsprocessen foretages af bakterier, der sidder i sandfilteret, men da processen forbruger ilt er den afhængig af den forudgående iltning af vandet.



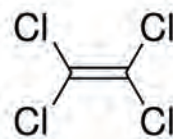
Figur 1. Okker

Ammoniumoxidation:



Selve iltningen udføres i praksis oftest som en »beluftning«, hvor vandet eksempelvis ledes ned af en »iltningstrappe«. Udover at tilføre ilt til vandet hjælper denne proces yderligere med at fjerne eventuelle opløste gasser såsom metan (CH₄), svovlbrinte (H₂S) og aggressivt (korroderende i forhold til jern og beton) kuldioxid (CO₂) [1].

Såfremt der konstateres et indhold af forurenende stoffer i vandet over et vist niveau (kvalitetskriteriet), kan det blive nødvendigt at udvide behandlingen til også specifikt at fjerne disse stoffer - dog vil man ofte vælge at tage disse borerer ud af brug. Med det for øje at grundvandet kun fornyes meget langsomt, vil man dog formentlig på et tidspunkt blive tvunget til at inddrage yderligere vandbehandling [2].

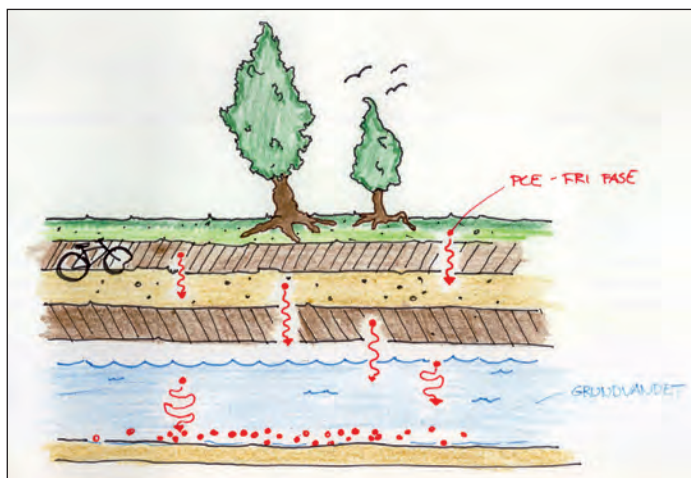


Figur 2. Tetraklorethen (PCE) [6]

Rengøringsmidler i naturen

Af de klorerede opløsningsmidler er det især tetraklorethen/perklorethen (PCE) (figur 2) og triklorethen (TCE), der udgør et problem. De gjorde deres indtog på det danske marked i efterkrigstiden og forbruget toppede i 1970'erne med ca. 12.000 tons/år. I dag er dette aftaget til ca. 10 % [7]. Begge stoffer har i høj grad fundet anvendelse indenfor tekstilrensning samt som metalaffedtningsmidler og forurening vil derfor typisk konstateres i forbindelse med renserier og forskellige metalforarbejdningsværksteder.

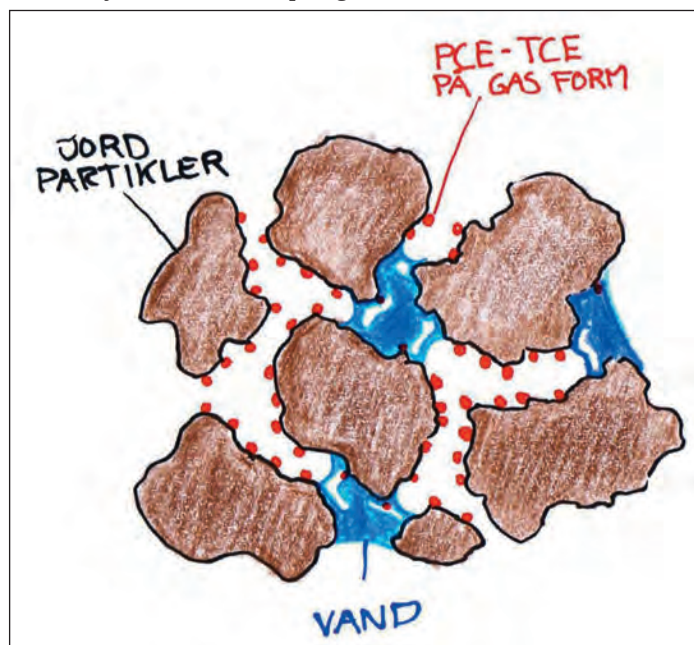
Årsagen til at tilstedeværelsen af disse stoffer i vores grundvand vækker bekymring er, at de begge mistænkes for at være kræftfremkaldende. Som en metode til kvalitetssikring af vores drikkevand har man derfor fastsat et krav til det maksimale



Figur 3. Principskitse af jordmatricen, tegnet af Martin Bondesen.

indhold i grundvand, der skal bruges til drikkevand, på 1 µg/L [3]. Det svarer til, at et spild på 1 liter PCE skal fortyndes i $1,62 \cdot 10^9$ l vand. Ved koncentrationer herunder vil vandet stadig kunne leve op til de almene kvalitetskrav for drikkevand efter en normalbehandling.

Generelt kan stofferne findes i 4 forskellige former [4]. En skitse af jordmatricen ses på figur 4:



Figur 4. Skitse af jordpartikler, tegnet af Martin Bondesen.

1. Fri fase: Betegner den ufortyndede PCE/TCE (figur 5). Den bevæger sig ned igennem jorden, indtil den når grundvandet, hvor den vil fortsætte til bunden af grundvandsmagasinet. Dette sker, idet både PCE og TCE er tungere end vand (henholdsvis 1,62 g/ml og 1,46 g/ml). De hører således til gruppen af DNAPL's (Dense Non-Aqueous Phase Liquids).
2. Sorberet til jordpartikler: Som følge af deres apolære egenskaber vil en del af stoffet kunne sorberes til det organiske stof, der findes i jorden.
3. Gasform: De klorerede stoffer er alle flygtige stoffer (fordelingskoefficient luft-vand: PCE 0,72; TCE 0,39), og vil derfor kunne findes på gasform nær jordoverfladen, hvor jorden består af jordpartikler, vand og luft.
4. Opløst form: Findes primært under grundvandsspejlet. PCE og TCE har en opløselighed på henholdsvis 240 mg/L og 1400 mg/L, og specielt PCE vil derfor kun opløses langsomt.

Som følge af den langsomme afgivelse af stof fra fri fase til vandfase i grundvandet vil en forurening med DNAPL kunne bidrage til en langvarig forurening af grundvandet. I forbindelse med en oprensning er det derfor essentielt at få kortlagt eventuel fri fase.

Bakterier der lever af rengøringsmidler

En af de nyere metoder til at få bugt med forureninger med klorerede opløsningsmidler er *in situ* (dvs. det foregår på lokaliteten) reduktiv deklorering. Igennem de sidste 20 år har man fået betydelig viden om metoden, og den er nu hyppigt anvendt flere steder i verden såvel som på visse lokaliteter i Danmark.

Som navnet antyder (reduktiv deklorering), drejer det sig om en reduktion og en fjernelse af klor. Processen finder sted som en redox-reaktion. Denne type proces er karakteriseret ved, at der sker en overførsel af elektroner fra et stof til et andet - fra elektron donor til elektron acceptor. Det stof, der modtager elektronerne, reduceres, mens donoren oxideres.

Ved reduktiv deklorering reduceres de klorerede stoffer, idet kloratomerne ét efter ét erstattes med hydrogenatomer. Således omdannes PCE via TCE først til DCE (diklorethen), derefter til VC (vinyl klorid) og til sidst til ethen. Diklorethen findes som 3 forskellige isomerer, hvoraf 1,2-cis-diklorethen er den hyppigst forekommende i forbindelse med den reduktive deklorering.



Det skal bemærkes, at vinylklorid er konstateret stærkt kræftfremkaldende. Det er derfor vigtigt, at der sker en fuldstændig nedbrydning, idet slutproduktet ellers risikerer at være endnu mere giftigt end udgangspunktet.

Den reduktive deklorering katalyseres af enzymer, der produceres af en speciel gruppe af bakterier, ofte kaldt dehalospirerende eller deklorospirerende bakterier. Disse bakterier udmærker sig ved at de opnår energi igennem den reduktive deklorering - på samme måde som vi opnår energi, når den ilt, vi indånder, reagerer med forskellige kulstofforbindelser og producerer CO_2 og vand. I vores tilfælde er iltens elektroacceptor - i bakterierne tilfælde er det de klorerede forbindelser. Elektron donoren udgøres som oftest af hydrogen (H_2), der produceres ved gæring af organisk stof.

Det er imidlertid kun en udvalgt skare af bakterier, der kan overleve på denne lidt specielle diæt. En håndfuld forskellige bakterier er indtil videre identificeret, som kan leve af at nedbryde PCE eller TCE til DCE - altså de første to trin i nedbrydningsprocessen. Bakterier tilhørende slægten *Dehalococcoides* har indtil videre vist sig at være de eneste der er i stand til at nedbryde VC til ethen. Tilstedeværelsen af *Dehalococcoides* er imidlertid ikke ensbetydende med, at den fuldkomne nedbrydning vil finde sted, idet ikke alle *Dehalococcoides*-stammerne besidder det enzym, der katalyserer reduktionen af VC [5].

To strategier

Ved anvendelse af reduktiv deklorering til oprensning af en forurening arbejder man med to forskellige strategier. Den første fokuserer på at opformere en naturlig forekommende kultur af deklorerende bakterier ved tilsætning af kulstoffodonor (biostimulering). Kulturen findes i jorden sammen med forureningen.

Den anden strategi omhandler tilsætning af en ekstern bakteriekultur som blandt andet indeholder *Dehalococcoides* (bioaugmentation). Principielt er der ikke nogen forskel i oprensningen, da det er de samme bakterier, der opformeres. Bioaugmentation (tilsætningen af bakterier) kan mange gange

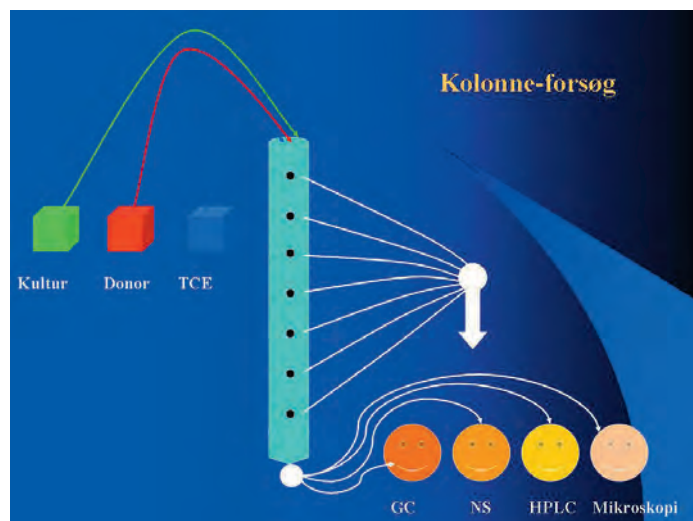
være en fordel for at få en hurtigere og dermed også billigere oprensning.

Ved biostimulering skal der først opformeres en bakteriekultur, og da dette kan tage år, vil det betyde en længere oprensningstid. Endvidere er det ikke sikkert, at de rette bakterier vil være til stede. Ofte anvendes en kombination af de to strategier, hvor bakterierne sendes af sted med en »madpakke« i rygsækken. Herved skabes de rette forhold for bakterierne, samtidig med at man starter med en høj koncentration af *Dehalococcoides*.

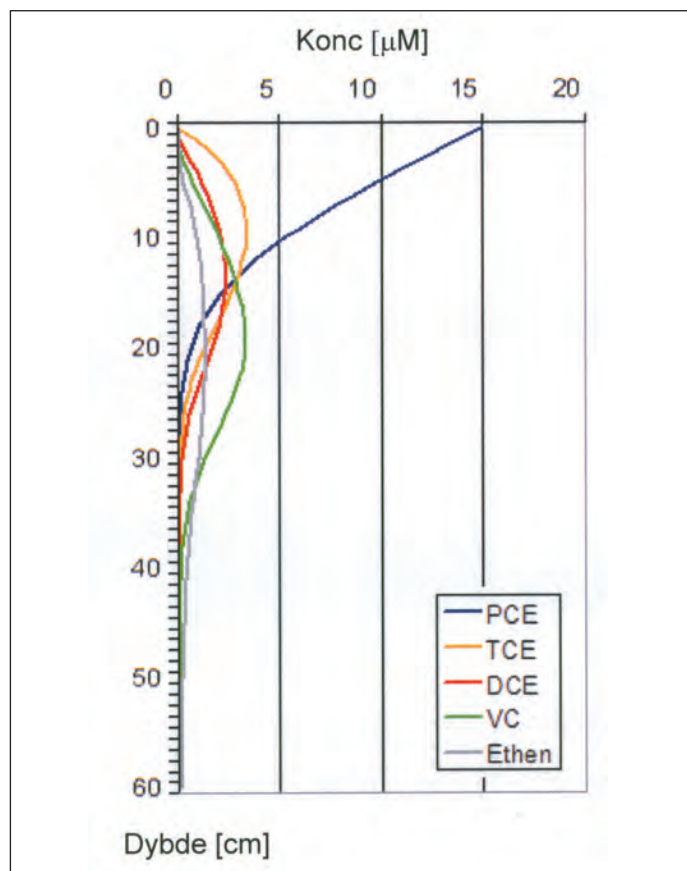
Der skal tages forskellige hensyn ved anvendelse af reduktiv deklorering i »virkeligheden«. For det første fordi *Dehalococcoides* er meget følsomme overfor ilt, for det andet fordi det er vigtigt, at indholdet af andre oxiderede forbindelser (NO_3^- og SO_4^{2-}) begrænses i grundvandet. Årsagen hertil er, at der findes bakterier, der »trækker vejret« ved hjælp af disse forbindelser på samme måde som *Dehalococcoides* »trækker vejret« med de klørede forbindelser. Bakterierne konkurrerer således om de samme elektroner. Energiudbyttet ved anvendelse af disse konkurrerende stoffer er ofte højere end for de klørede stoffer. Bakterier, der lever af disse forbindelser, vil derfor kunne udkonkurrere de deklorerende bakterier – en slags »survival of the fittest« i bakteriernes verden. Dette problem løses typisk ved at tilsætte et overskud af organisk stof, således at O_2 , NO_3^- og til dels SO_4^{2-} omsættes uden den store konkurrence i jordmatricen

Hvad forsker man i?

Der er meget forskning inden for området - forskning der typisk tager udgangspunkt i de praktiske problemstillinger i forbin-



Figur 6. Kolonneforsøg principskitse. Kolonnen består af et lukket rør fyldt med sand. Igennem kolonnen pumpes en blanding af grundvand, kulstof, PCE/TCE og evt. bakterier. Ved at udtage prøver undervejs kan man observere, hvordan nedbrydningen skrider frem (se figur 7).



Figur 7. Principforløb af koncentrationsprofiler i kolonnen. På x-aksen ses afstanden igennem kolonnen. På y-aksen ses koncentrationen af de klørede opløsningsmidler.

delse med anvendelsen af *in situ* reduktiv deklorering uden for laboratoriet. Disse problemstillinger søges ofte undersøgt under kontrollerede forhold i laboratoriet gennem etablering af »mini-grundvandsmagasiner«. Disse laves i lukkede flasker med jord, grundvand og bakterier eller i de såkaldte kolonneforsøg (se figur 6 og 7).

Et vigtigt kriterium for at processen kan forløbe, er som sagt at de rigtige bakterier er til stede – ellers kan man tilsætte lige så meget kulstof, man vil, uden at der sker noget som helst. En del forskning har derfor været rettet imod anvendelse af DNA teknologi for at identificere de bakterier, der kan udføre nedbrydningen – og i særdeleshed nedbrydningen fra VC til ethen.

Som nævnt tidligere benytter man sig oftest at såkaldt bioaugmentation, dvs. tilsætning af en ekstern bakteriekultur. I forbindelse med tilsætningen af en ekstern bakteriekultur er der en del spørgsmål, der kun i svag grad er belyst. Generelt findes en meget stor del af bakterierne i grundvandsmagasinerne siddende på jordpartiklerne (>90 %). Når bakterierne

CLAUS DAMM a/s

Laboratorieudstyr

- salg / køb
- nyt / brugt
- eje eller leje

Se mulighederne!

www.clausdamm.dk

Tel.: 49163388

Elmo Rietschle

A Gardner Denver Product

Vakuumpumper

Lavtryksskumpressorer

Sidekanalblæsere

www.gd-elmoietschle.com

e-mail: info@dk.gardnerdenver.com

+45 59 44 40 50

Repræsentativ

Formaling og Signering

SKANLAB

Retsch

Vind en Mercedes sportsvogn med RETSCH, læs mere på www.retsch.com/grandprix

www.skanlab.com

rets@skanlab.com

tilsættes er det derfor interessant, hvorvidt bakterierne spredes i området – eller om de sætter sig på de jordpartikler, hvor de er tilsat.

Spørgsmål, der kan stilles i den forbindelse, er således, hvordan selve spredningen kan beskrives og hvilke faktorer, som har indflydelse på dette. Rent praktisk vil dette være interessant i forhold til, hvor hurtigt bakterierne spredes i et behandlingsområde - men også hvordan de spredes i områder, hvad der ikke er forurening. Et andet aspekt er, hvordan tilsætningen af en ekstern bakteriekultur påvirker de naturligt forekommende bakterier. Vil de blive fortrængt af de nye bakterier, og i hvilket omfang gendannes det oprindelige miljø, når forureningen er væk.

Et andet fokus i forbindelse med tilsætning af en ekstern bakteriekultur er bakteriernes skæbne, når de ender i et område, hvor der ikke er forurening - eksempelvis ved drikkevandsindvindinger. Kan de overleve eller vil de med tiden dø hen? Disse spørgsmål vil typisk kunne besvares med baggrund i kolonneforsøg, hvor man undersøger udbredelsen af bakterier over tid.

Andre spørgsmål retter sig imod de forskellige kulstofkilder, der tilsættes. Kravene til disse er først og fremmest, at de ikke må udgøre en ny trussel for grundvandet. Af den grund vælger man ofte at bruge produkter – eventuelt affaldsprodukter – fra fødevarerindustrien, idet disse i sagens natur skulle være ufarlige for mennesker. Derudover skal de rent praktisk kunne tilsættes et grundvandsmagasin samt kunne stimulere den reduktive deklorering. I den forbindelse har typen af kulstof stor betydning. Nogle typer kulstof nedbrydes let og får derfor hurtigt sparket nedbrydningen i gang – til gengæld holder de ikke specielt længe, og man må derfor bruge tid og penge på at tilsætte dem igen og igen. Andre nedbrydes langsomt - til gengæld kan man nøjes med ganske få tilsætninger.

En udfordring er altid at få fordelt »madpakkerne«, så bakterierne kan få glæde af dem. Hvilken metode, man vælger, afhænger typisk af geologien. I tilfælde af sand eller grus vil man ofte vælge et stof, der let kan opløses og nedbrydes. Fordelingen sker så typisk ved at etablere et lukket system, hvor grundvand pumpes op i én ende, kulstof tilsættes og det pumpes ned igen. Når denne metode er velegnet til sand og grus, er det fordi, vandet har let ved at strømme i disse jordtyper. I modsætning hertil strømmer vandet meget langsomt i ler, der til forskel fra sand består af meget små partikler. Hvis man forestiller sig jorden som et system af en masse små rør, vil rørene i sandet være noget større end i leret. I tilfælde med ler er det svært at fordele kulstoffet ved at pumpe. Her vil man typisk vælge at tilsætte et stof, der nedbrydes langsomt, idet det vil tage lang tid før det har fordelt sig [4].

Den sorte boks

En del af problemerne når man arbejder med jord og grundvand stammer fra, at man reelt ikke kan se, hvad der sker – man arbejder mere eller mindre i blinde. Typisk har man lavet nogle borer over et vist område, og så må man efter bedste evne forsøge at tolke forholdene baseret på målinger i disse borer.

Men reelt ved man ikke, hvordan forholdene er blot ganske tæt på boringen. En sammenligning kan være en sort boks fyldt med ting og sager, hvor man har mulighed for at stikke en arm ind hist og her. Man kan regne ud, hvad der er lige omkring hullerne, men man ved dybest set ikke, hvordan det ser ud inden i boksen. For at kompensere for dette benytter man sig af adskillige forskellige fagdiscipliner såsom geologi, hydrogeologi, kemi og fysik. Når man så skal i gang med »oprydningen«, må man først vurdere, hvilken metode, der er mest hensigtsmæssig – reduktiv deklorering er kun en af mange.



Figur 8. Prøveboringsudstyr. Billede udlånt af COWI A/S.

Hvis så endelig valget falder på reduktiv deklorering, bevæger man sig over i biologien og mikrobiologien for at forklare de forskellige processer – og dermed også hvordan de kan optimeres. Derudover er der de mere praktiske ting (eksempelvis valg af udstyr og design, etablering af borer) samt økonomi og lovgivning. I praksis vil arbejde med teknologi af denne type derfor betyde, at man blander mange forskellige fagdiscipliner for at få det endelige produkt.

Referencer:

- [1] Karlby H. & Sørensen I.(2002); "Vandforsyning", Ingeniøren Bøger
- [2] Miljøstyrelsen nr. 60189 (1997); "Vejledning om boreringskontrol på vandværker"
- [3] JAGG - regneark til risikovurdering af jord, afdampning, gas og grundvand, 1. marts 2006, www.mst.dk
- [4] Miljøstyrelsen (2005); "Stimuleret *in situ* reduktiv deklorering. Vidensopsamling og screening af lokaliteter", Miljøprojekt nr. 983
- [5] Aulenta F., Majone M. & Tandoi V. (2006); "Review: Enhanced anaerobic bioremediation of chlorinated solvents: Environmental factors influencing microbial activity and their relevance under field conditions", Journal of Chemical Technology and Biotechnology
- [6] www.wikipedia.org : Wikimedia Commons
- [7] AVJ Teknik og administration nr. 5, 2001: "Håndbog om undersøgelser af chlorerede stoffer i jord og grundvand"