



Rødekro 2015. Vurdering af udviklingen i den naturlige nedbrydning i nedstrømsforureningsfane efter kildeoprensning

Broholm, Mette Martina; Badin, Alice; Jacobsen, Carsten S.; Hunkeler, Daniel

Publication date:
2015

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Broholm, M. M., Badin, A., Jacobsen, C. S., & Hunkeler, D. (2015). *Rødekro 2015. Vurdering af udviklingen i den naturlige nedbrydning i nedstrømsforureningsfane efter kildeoprensning*. DTU Miljø.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Rødekro 2015

Vurdering af udviklingen i den naturlige nedbrydning i nedstrøms forureningsfane efter kildeoprensning



Mette M. Broholm, Alice Badin, Carsten S. Jacobsen og Daniel Hunkeler

DTU Miljø, Juni 2015

Indholdsfortegnelse

Indholdsfortegnelse og Bilagsliste.....	1
Forord.....	2
1. Indledning	3
1.1 Formål	4
2. Undersøgelser	4
3. Resultater	5
3.1 Strømningsforhold.....	5
3.2 Redoxforhold.....	6
3.3 Chlorerede opløsningsmidler og nedbrydnings-produkter.....	10
3.4 Isotopfraktionering	14
3.5 Mikrobielle forhold	20
4. Udvikling nær kildeområde	28
5. Udvikling i redoxforhold i fanen	29
6. Udvikling i nedbrydning i fanen	29
7. Konklusioner og perspektivering	34
Referencer	36

Bilagsliste

- 1) SiREM rapport for kvantitativ bestemmelse af specifikke nedbrydere
- 2) SiREM rapport vedrørende ”Pyrotaq” sekventering resultater og fortolkning
- 3) Liste over prøvetagede boringer og analyser
- 4) Tidsserier for filtre nær kildeområdet
- 5) Tidsserier for filtre yderst i fanen
- 6) Liste over bakterier kendt for nedbrydning af chlorerede ethener
- 7) SiREM DGGE resultat for ekstra kontrolprøver

Forord

DTU Miljø, Neuchatel Universitet, GEUS og Region Syddanmark har i samarbejde udført en undersøgelse af forureningsfanen fra det tidligere centralrenseri på Fladhøjvej i Rødekro med henblik på en vurdering af udviklingen i nedbrydning af chlorerede ethener i fanen efter termisk oprensning i kildeområdet udført i 2006.

Et teknologi-projekt (Broholm et al. 2009) om anvendeligheden af stabile isotoper til vurdering af den naturlige nedbrydning af chlorerede ethener i forureningsfanen blev udført på lokaliteten i 2006-2007. I projektet blev det ved hjælp af stabile isotoper dokumenteret, at cDCE såvel som TCE og PCE nedbrydes ved reaktiv dechlorering, samt dokumenteret at VC nedbrydes i fanen (Hunkeler et al., 2011). Detektion af specifikke nedbrydere bestyrkede at nedbrydningen af cDCE formentlig var mikrobiel. Den ved bestemmelsen af stabile isotoper opnåede viden om nedbrydning var af afgørende betydning for risikovurderingen af forureningsfanen. Region Syddanmark har siden foretaget løbende monitoring af udviklingen i fanen.

Projektet har overordnet til formål at vurdere udviklingen i nedbrydningen af chlorerede ethener i forureningsfanen i grundvandsmagasinet nedstrøms det behandlede område på det tidligere centralrenseri i Rødekro efter den omfattende dampoprensning af PCE i kildeområdet foretaget for 7-8 år siden.

Projektgruppen har bestået af:

Mette M. Broholm, DTU Miljø

Alice Badin, University of Neuchatel (PhD studerende)

Daniel Hunkeler, University of Neuchatel

Carsten Suhr Jacobsen, GEUS

Niels Just, Region Syddanmark

Vi påskønner bistand fra Phil Dennis, SiREM, for hjælp med vurdering af mikrobielle data fra ”Pyrotag” Sekventering. Jordi Palau, University of Neuchatel, har bistået ved tolkning af isotopanalyserne; Jesper Gregersen og Bjarke Foss, Region Syddanmark, har udført feltprøvetagningen; Mikael Olsson, DTU Miljø, har udført gasanalyser; Pia B. Jakobsen, GEUS, har udført mikrobielle analyser; Torben Dolin, DTU Miljø, har bistået med udarbejdelse af figurer. Claus Westergaard, Orbicon, har bistået med fremskaffelse af eksisterende borings- og pejledata. Akkrediterede analyser for redox og chlorerede ethener er udført kommercielt af ALS og nogle mikrobielle analyser, herunder Pyrotag sequencing, er udført/formidlet kommercielt af SiREM.

I styregruppen for projektet deltog endvidere: Lone Dissing, Region Syddanmark

1. Indledning

Det tidligere centralrenseri i Rødekro har haft aktiviteter på lokaliteten på Fladhøjvej 1 i perioden 1964-2001. Aktiviteterne ledte til en kraftig forurening med perchlorethylen (PCE), herunder residual fase (DNAPL) PCE, til stor dybde på lokaliteten (kortlagt i 2002) samt til en massiv påvirkning af grundvandsmagasinet med PCE og nedbrydningsprodukter heraf (især cis-DCE) i betydelig afstand nedstrøms for kildeområdet (kortlagt i 2002-2007, Hedeselskabet 2006).

Der blev i 2006-2007 gennemført et teknologi-projekt med vurdering af anvendeligheden af stabile isotoper til vurdering af den naturlige nedbrydning i forureningsfanen (Broholm et al. 2009, Hunkeler et al., 2011). I projektet blev det ved hjælp af stabile isotoper dokumenteret, at cDCE såvel som TCE og PCE nedbrydes ved reduktiv dechlorering, samt dokumenteret at VC nedbrydes i fanen. Detektion af specifikke nedbrydere bestyrkede, at nedbrydningen af cDCE formentlig var mikrobiel. Den ved bestemmelsen af stabile isotoper opnåede viden om nedbrydning var af afgørende betydning for risikovurderingen af forureningsfanen.

Lokaliteten ligger indenfor et område med særlige drikkevandsinteresser og indenfor indvindingsoplandet for et lokalt vandværk. På den baggrund blev foretaget en omfattende termisk oprensning med damp i hotspot (ca. 1000 m²) af kildeområdet på grunden (ca. 10.000 m²) i 2006. Der blev fjernet 2 ton PCE, svarende til ~95% kildefjernelse, hvilket førte til en reduktion af fluxen af PCE fra den behandlede del af kildeområdet til fanen fra 108 til 3,7 kg/år (~96%, Larsen 2007). I 2008 var PCE flux faldet til 1,5 og i 2010 til 0,5 kg/år (Orbicon, 2011) i F-transektet nedstrøms den behandlede del af kildeområdet. Der er således ikke længere PCE DNAPL i den behandlede del af kildeområdet. Fra den østlige del af grunden, hvor der ikke er foretaget oprensning, kan der fortsat være en påvirkning nedstrøms, som ikke fanges i F-transektet, som Fluxberegningerne er baseret på. Det er tidligere estimeret, at flux fra denne del af grunden udgjorde ca. 1% af den samlede flux før oprensningen.

Der er ikke foretaget oprensningstiltag i fanen nedstrøms lokaliteten, idet der ikke vurderedes risiko for påvirkning af Rise Vandværk, om end fanen af cDCE (og muligvis VC) - på trods af naturlig nedbrydning i fanen - vurderedes endnu ikke at være stationær (Orbicon 2008).

Region Syddanmark har siden foretaget løbende monitoring af udviklingen i forureningskoncentrationer og sammensætning i udvalgte filtre. Oprensningen har, som omtalt ovenfor, naturligvis nedbragt koncentrationen og dermed fluxen af opløst PCE fra kildeområdet. Opvarmningen af sedimentet i kildeområdet ledte endvidere til en frigivelse af opløst organisk stof (Orbicon 2008), som kan have påvirket redoxforhold og nedbrydning af chlorerede ethener i fanen. Ved en estimeret gennemsnitlig partikelhastighed på 100 m/år (Broholm et al. 2009) kan her 7-8 år senere potentielt forventes effekter af oprensningen 7-800 m nedstrøms den behandlede del af kildeområdet. PCE og nedbrydningsprodukter, som retarderes ved sorption, kan dog kun forventes at være aftaget væsentligt i koncentration i kortere afstand som direkte følge af oprensningen.

1.1 Formål

Projektet har overordnet til formål at vurdere udviklingen i nedbrydningen af chlorerede ethener i forureningsfanen i grundvandet nedstrøms det behandlede område på det tidligere centralrenseri i Rødekro efter den omfattende dampoprensning af PCE i kildeområdet foretaget for 7-8 år siden. Det forventes, at den udvidede undersøgelse omfattende stabile isotoper og mikrobiologi kan give essentiel viden om udviklingen i den naturlige nedbrydning i fanen over perioden efter kildeoprensningen. Endvidere forventes kombination af stabile C og Cl isotoper og mikrobielle analyser at give bedre viden om nedbrydningsproces/-vej for de chlorerede ethener.

I nærværende notat er resultaterne af undersøgelserne udført i 2014 præsenteret og sammenholdt med resultaterne fra 2006-7. Desuden er hovedtrækkene i udviklingen i nedbrydningen af chlorerede ethener i fanen vurderet. Der er i modsætning til det tidligere teknologiprojekt ikke foretaget en beskrivelse af metoder og datatolkning for disse, men henvises til Broholm et al. (2009) og faglitteratur. Resultaterne indgår endvidere i et PhD-projekt ved Alice Badin (Neuchatel Universitet) og vil således blive sammenskrevet i en artikel som vil indgå i hendes PhD afhandling.

2. Undersøgelser

Undersøgelserne udført i 2014 har omfattet pejlinger samt forpumpning og vandprøvetagning under bestemmelse af feltparametre (pH, ledningsevne, ilt) ved Region Syddanmark. Prøvetagning og analyser har omfattet chlorerede opløsningsmidler og nedbrydningsprodukter (ALS), gasserne ethen, ethan og acetylen (DTU Miljø), redoxparametre (nitrat, opløst jern og NVOC, ALS, metan, DTU Miljø), stabile carbon- og chlorisotoper (Neuchatel Universitet), specifikke nedbrydere (Dhc, vcrA, bvcA, GEUS/SiREM) og deres aktivitet (RNA/DNA ved GEUS) samt mikrobiel sammensætning ("pyrotaq" sekventering, SiREM).

For målinger/analyser udført af Region Syddanmark og ALS er anvendt standardiserede/akkrediterede metoder. Disse er ikke nærmere beskrevet her. Gasserne er analyseret ved GC-FID headspace analyse. Stabile carbonisotoper og chlorisotoper for cDCE er bestemt som beskrevet i Broholm et al. (2009) og Hunkeler et al. (2011) og specifikke chlorisotoper for PCE og TCE er udført som beskrevet i Badin et al. (2014). Prøvetagnings- og analysemetoden for specifikke nedbrydere og deres aktivitet udført ved GEUS er beskrevet i Damgaard et al. (2013) hhv. Bælum et al. (2013). Metoder anvendt ved bestemmelse af specifikke nedbrydere samt mikrobiel sammensætning ved SiREM er beskrevet i rapporter fra SiREM (bilag 1-2).

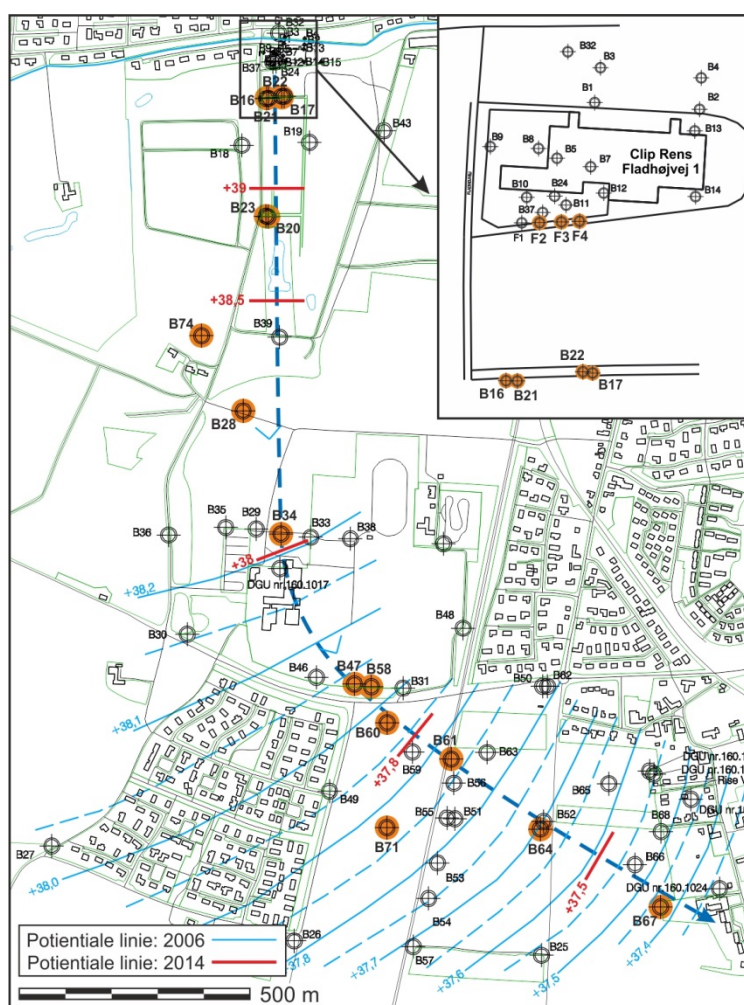
En oversigt over hvilke boringsfiltre, der er prøvetaget og analyseret for hvilke parametre, fremgår af bilag 3.

Databehandling for vurdering af nedbrydning, herunder bedømmelsen af isotopfraktionering, er udført som beskrevet i Broholm et al. (2009).

3. Resultater

3.1 Strømningsforhold

Potentialekortet fra 2007 er vist i figur 3.1. I 2014 er det alene de filtre, som er prøvetaget, der er pejlet. Disse ligger i et snævert bånd langs den i 2007 vurderede strømlinie (Broholm et al. 2009), hvorfor det ikke er muligt at optegne et nyt potentialekort. I stedet er beliggenheden af udvalgte potentiale linier baseret på 2014 data angivet langs strømlinien på 2007 potentialekortet i figur 3.1.

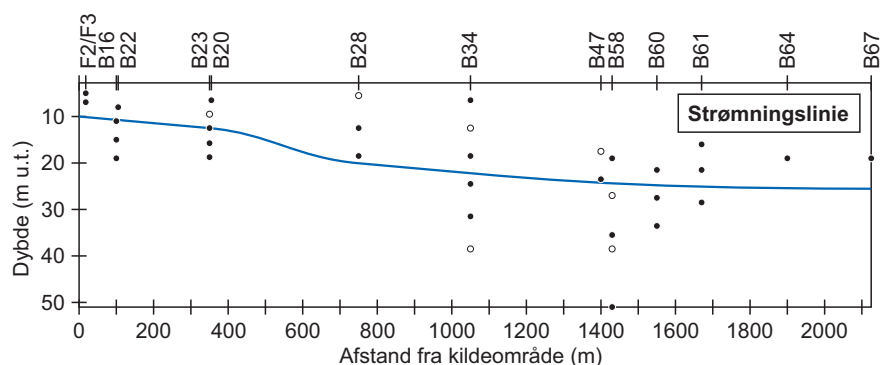


Figur 3.1. Potentialekort for 2007 med angivelse af potentialer langs strømlinien i 2014. Endvidere er boreringer prøvetaget i 2014 angivet.

Der er overordnet god overensstemmelse med potentialebilledet fra 2007 (undtaget B68, som er ignoreret). Derfor er sideværts variation formentlig beskeden i forhold til boringsafstanden. Vandspejlet træffes 10-20 cm højere, og gradienten er muligvis en anelse højere (størrelsesorden 0,1‰ større). Den gennemsnitlige flowhastighed er i 2007 vurderet at være ca. 100 m/år, hvilket således blev anvendt ved estimering af nedbrydningsrater i Broholm et al. (2009). Om end der er tale om et forholdsvis homogent sandmagasin, kan den hydrauliske ledningsevne og dermed flowhastigheden variere betydeligt

(potentielt størrelsesordener) i magasinet. Eksempelvis gav en beregning baseret på en flowlog i kildeområdet forud for den termiske oprensning en strømningshastighed øverst i magasinet på op mod 1000 m/år (oplyst af Niels Just).

Et længdeprofil langs strømlinien med angivelse af den vertikale placering af strømlinien, som vurderet i 2007 på basis af maksimalkoncentration for sum af chlorerede ethener (Broholm et al., 2009), er vist i figur 3.2.



Figur 3.2. Længdegående transekt i fanen med angivelse af estimeret flowlinie, baseret på maksimal koncentrationer fra 2006-2007, samt angivelse af filtre prøvetaget i 2014 (●).

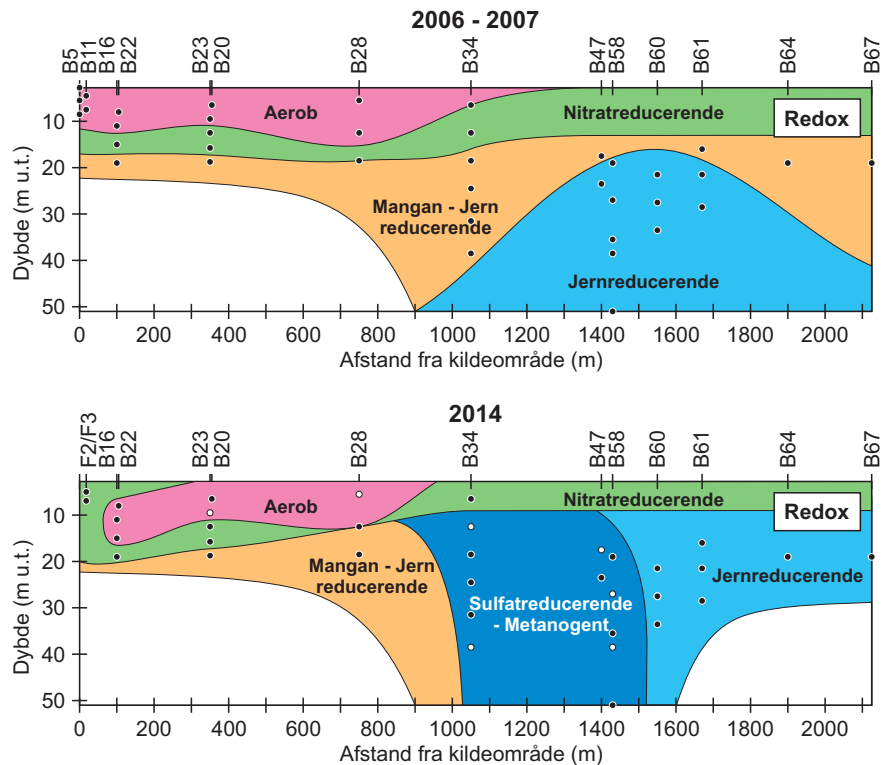
Undersøgelser og vurdering af udviklingen i nedbrydningen i fanen er fokuseret omkring dette længdeprofil og strømlinie.

3.2 Redoxforhold

Redoxforholdene, illustreret i figur 3.3, er tolket på basis af indholdet af redoxfølsomme parametre i forureningsfanen i det længdegående transekt, vist i figur 3.4a for 2006-7 og 3.4b for 2014.

Der er sket en tydelig forandring i redoxforholdene i fanen (Figur 3.3).

Indholdet af ilt i den injicerede damp ved den termiske oprensning i 2006 resulterede i pyritoxidation i behandlingsområdet, hvilket medførte forhøjede indhold af sulfat samt opløst mangan og jern i grundvandet. De forhøjede niveauer observeredes i F-transektet umiddelbart nedstrøms ved etableringen i 2007. Den termiske oprensning medførte endvidere nedbrydning af organisk stof i sedimenterne med frigivelse af opløst organisk stof (NVOC) til grundvandet. Hvor der før oprensningen i kildeområdet generelt var meget lave indhold af NVOC i grundvandet (<1-3 mg/l), steg indholdet i F-transektet umiddelbart nedstrøms lokaliteten til 15-18 mg/l og 90 m nedstrøms til 6,7-13 mg/L efter oprensningen (ca. 8 mdr.), hvorefter det har været aftagende til 5-8 mg/l i F-transektet og 4-6 mg/L 90 m nedstrøms i 2010 (Orbicon, 2011). I 2014 træffes fortsat NVOC på 4,2-6,1 mg/l i F-transektet og fortsat let forhøjet niveau >90 m nedstrøms (figur 3.4b nederst). Den tidlige udvikling er illustreret for F3-3 i bilag 4.

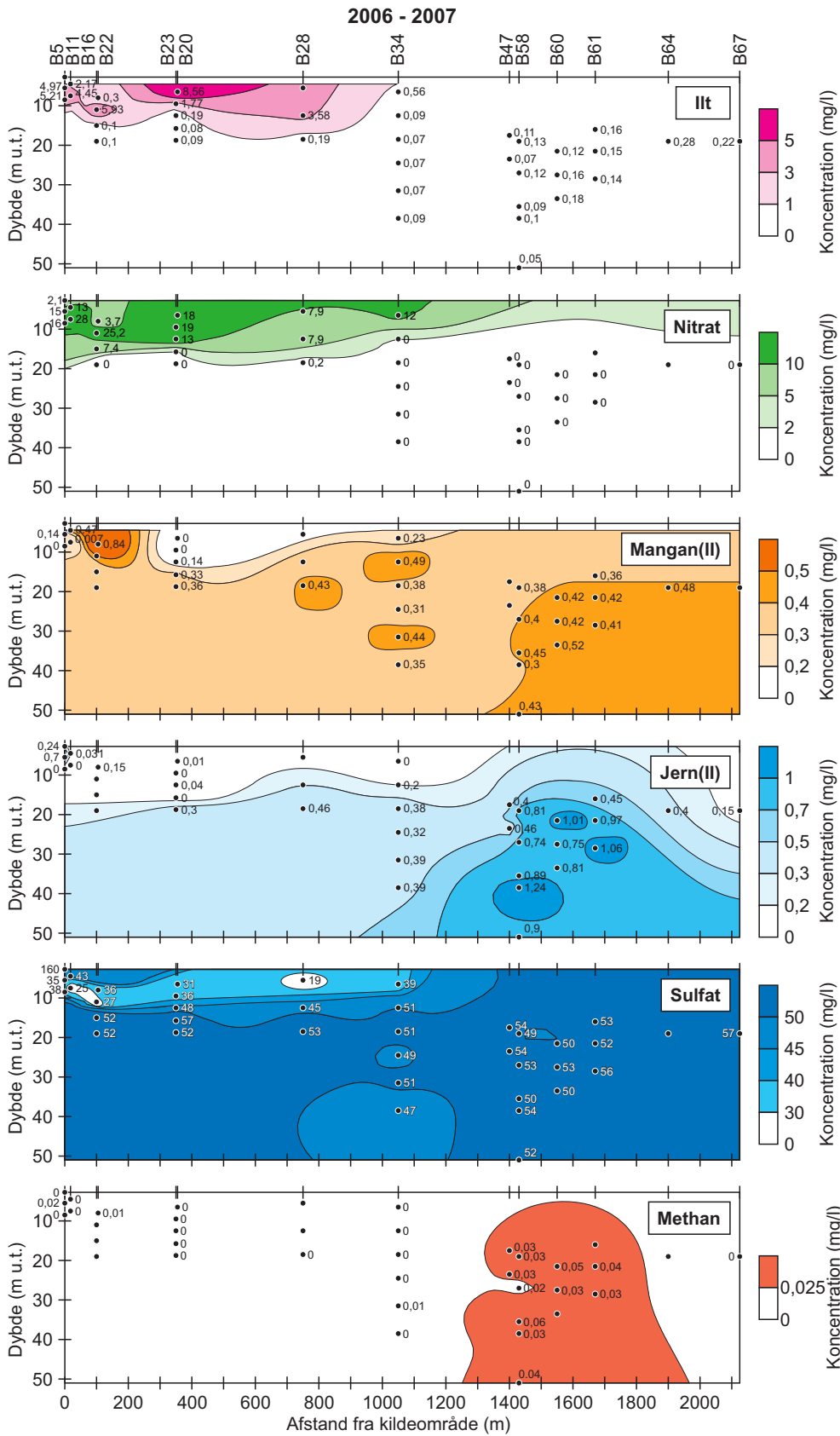


Figur 3.3. Tolkede redoxforhold i fanen 2006-2007 og 2014 baseret på målte redoxfølsomme parametre, se figur 3.4a for 2006-7 og 3.4b for 2014.

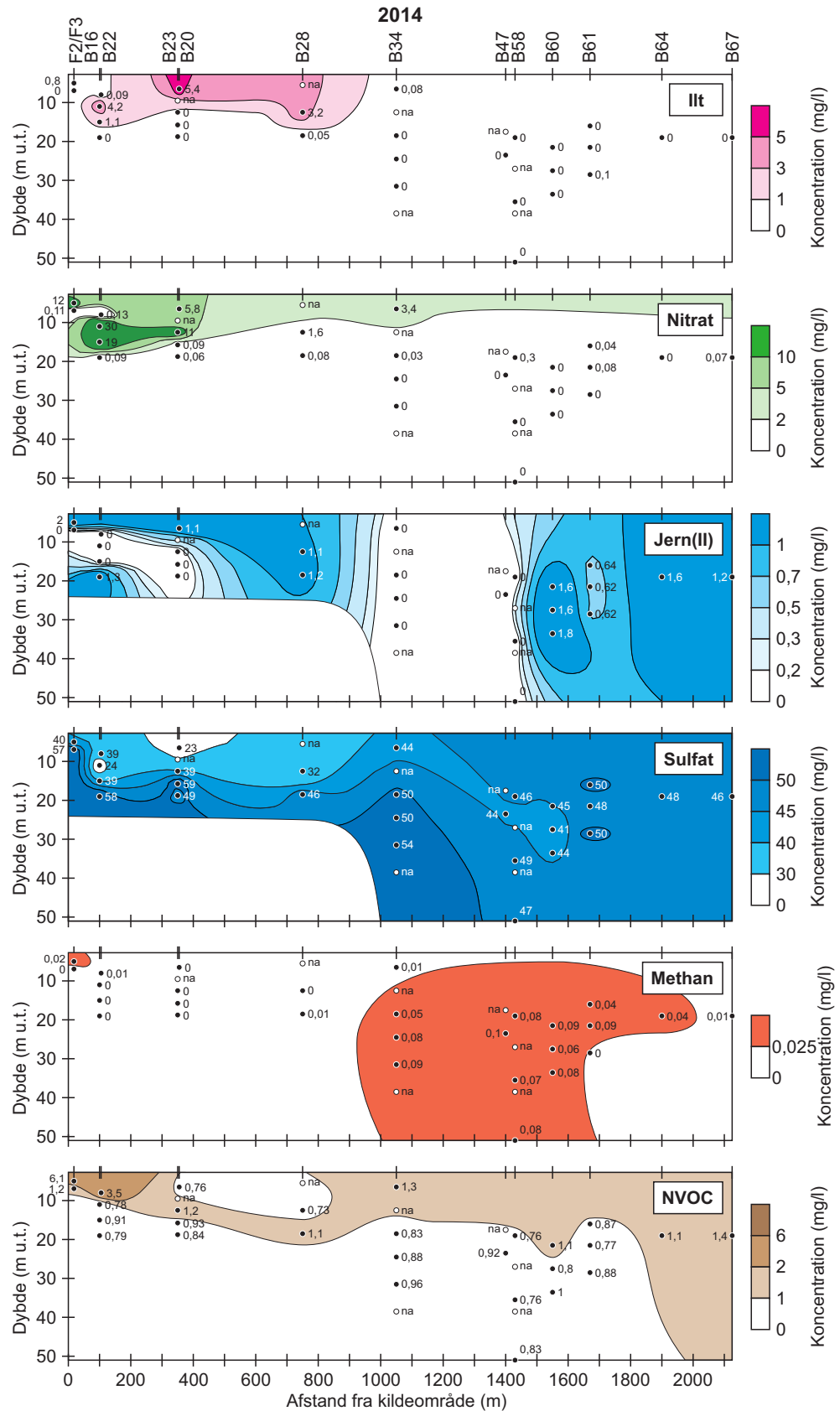
Som følge af nedbrydningen af det frigivne NVOC var redoxforholdene allerede i 2007 blevet mere reducerede (ilt og nitrat reduceret), mens indholdet af sulfat, opløst jern og mangan, som nævnt, var forøget på grund af pyritoxidation. Ilt oprindeligt observeret i øvre filtre i det langsgående profil fra kildeområdet til ca 750 m nedstrøms aftog generelt frem til 2010, hvor ilt ikke blev observeret i nogen øvre filtre. Udviklingen er illustreret i Bilag 4 for de øverste filtre i F3-3, B16 og B20. I 2014 er forholdene i F-transektet overvejende nitratreducerende, mens der lidt længere nedstrøms atter ses aerobe forhold, om end indhold af reduceret jern i enkelte filtre indikerer blandede redoxforhold. I en afstand af 750 m ses i 2014 øget indhold af opløst (reduceret) jern.

I større afstand (1050 og 1450 m), hvor fanen synker, forsvinder opløst jern, og sulfatkoncentrationerne er der aftaget. Dette kan enten skyldes, at der sker mindre pyritoxidation end tidligere, da tilstrømmende vand er mere reduceret, og/eller at der er sket en reduktion af sulfat resulterende i udfældning af jernsulfid. Detektion af methan i denne afstand i 2014 modsat tidligere indikerer mere reducerede forhold. Yderst i fanen (>1600 m) ses fortsat jernreducerende forhold og tendens til større udbredelse af methan.

Langs strømningen mellem 350 m og 750 m afstand skifter redoxpotential (Eh) i 2014 fra positiv til negativ værdi (kun i nederste filter i 750 m). Fra 1050 m afstand er $Eh < -80$ og dermed indenfor ønskelige forhold for biologisk reduktiv dechlorering.



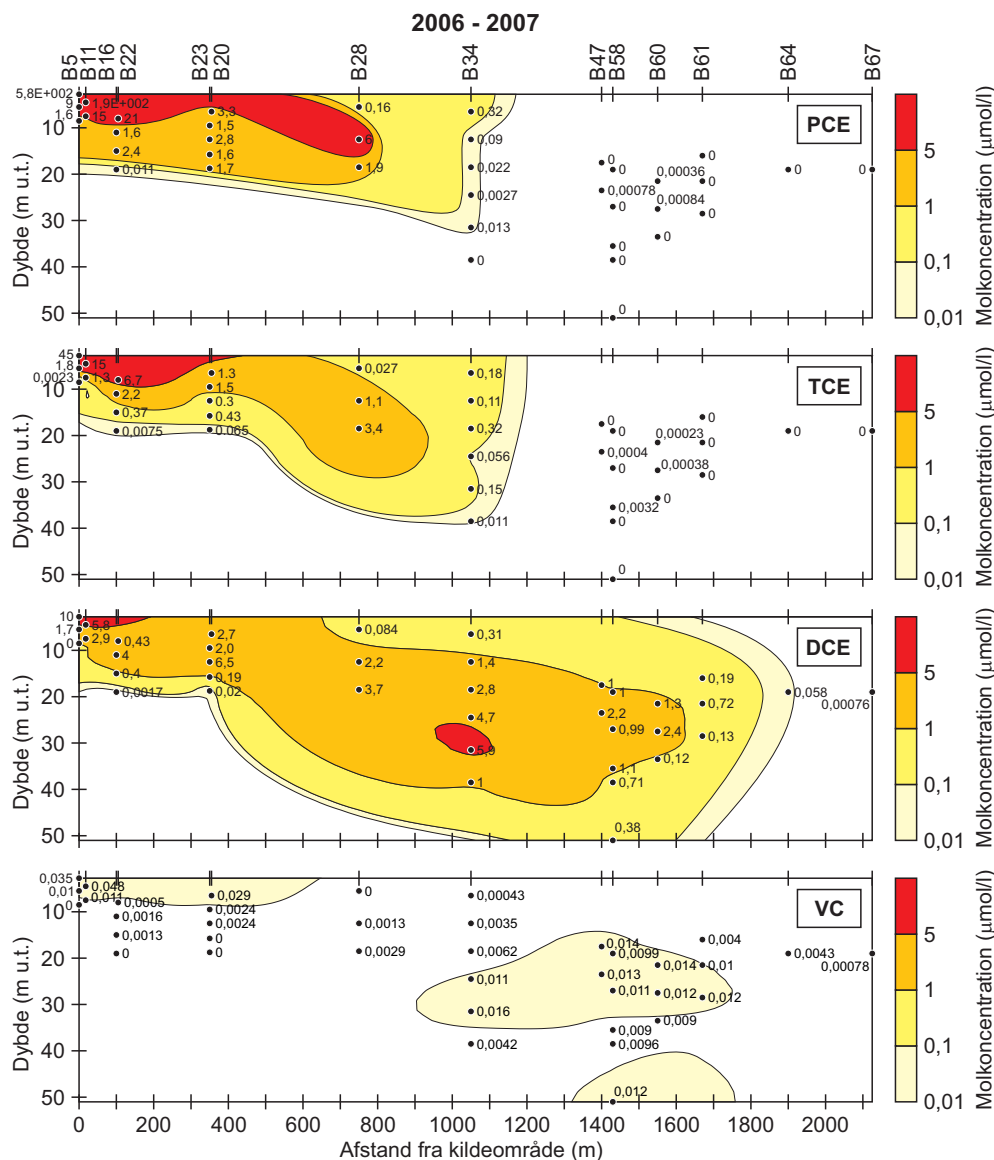
Figur 3.4a: Indhold af ilt, nitrat, opløst mangan og jern, sulfat samt methan i grundvand (mg/L) i langsgående transekt 2006-2007.



Figur 3.4b: Indhold af ilt, nitrat, opløst jern, sulfat og methan samt NVOC i grundvand (mg/L) i langsgående transekt 2014.

3.3 Chlorerede opløsningsmidler og nedbrydningsprodukter

Koncentrationerne af chlorerede ethener (PCE, TCE, DCE og VC) i længdeprofilet er illustreret i figur 3.5. Koncentrationerne er givet i molære koncentrationer for direkte sammenlignelighed af stofferne.

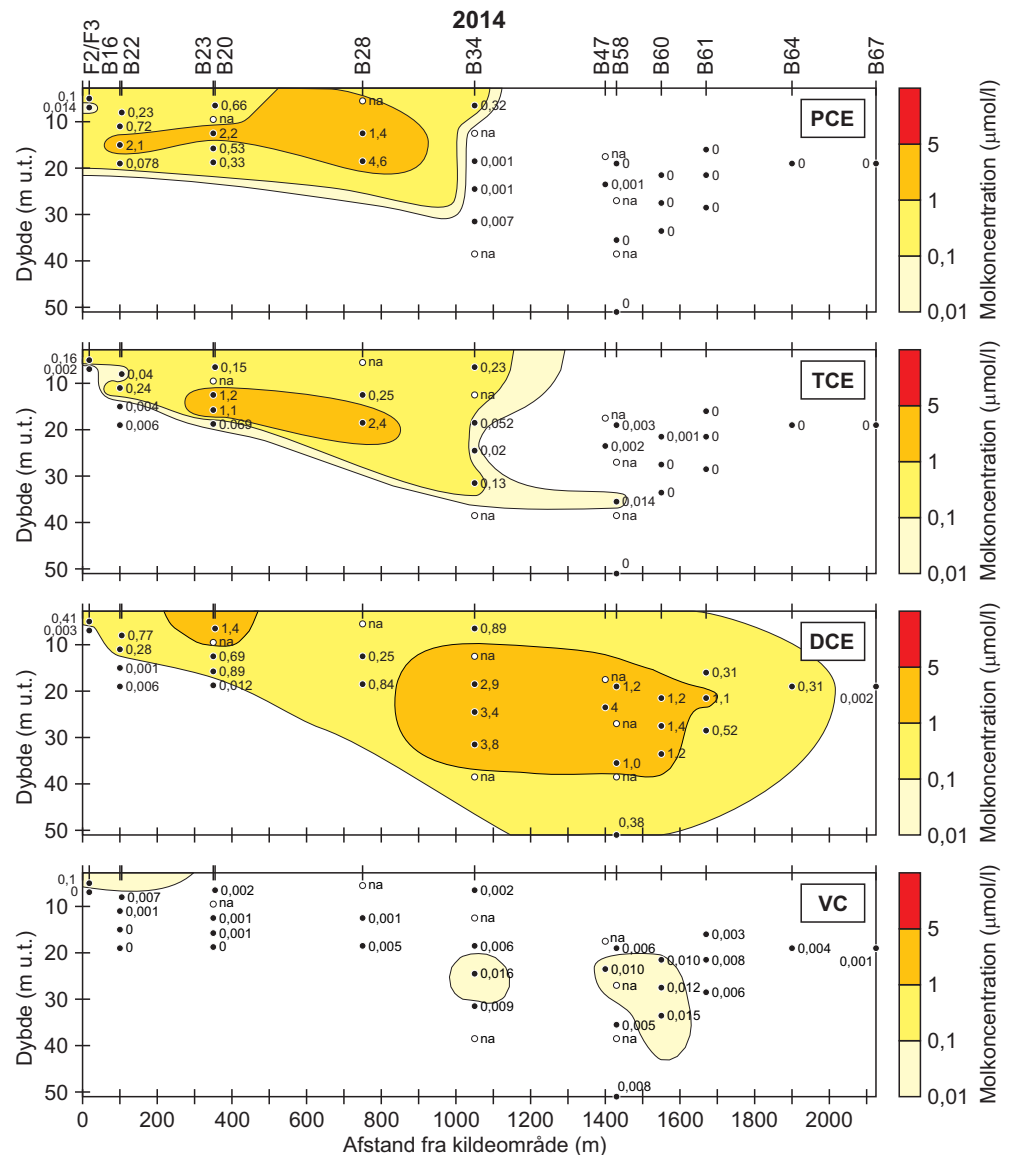


Figur 3.5a: Koncentrationer af chlorerede ethener i langsgående transekt i forureningsfanen 2006-2007.

Der er ikke detekteret ethen (<0,43 µg/l), ethan (<0,47 µg/l) eller acetylen (<0,38 µg/l) (anaerobe biotiske og abiotisk nedbrydningsprodukter af VC ved reduktiv nedbrydning).

Koncentrationerne af alle de chlorerede ethener er gennemgående aftaget i 2014 sammenholdt med 2006-7. Nærmest kildeområdet og øverst i magasinet 90 m nedstrøms er PCE koncentrationerne aftaget 3 størrelsesordener, 350 m nedstrøms er PCE aftaget mindre end 1 størrelsesorden og 750 m nedstrøms er

koncentrationsniveauet nogenlunde uændret. Fronten af PCE fanen ligger fortsat omkring 1100 m nedstrøms. Hvor de højeste koncentrationer tidligere optrådte umiddelbart nedstrøms kildeområdet, findes de i 2014 omkring 750 m nedstrøms. De maksimale koncentrationer i 2014 (750 m nedstrøms) er 2 størrelsesordener lavere end tidligere maksimumkoncentrationer (i kildeområde og umiddelbart nedstrøms dette) og er aftagende. Det samme billede gør sig gældende for TCE.

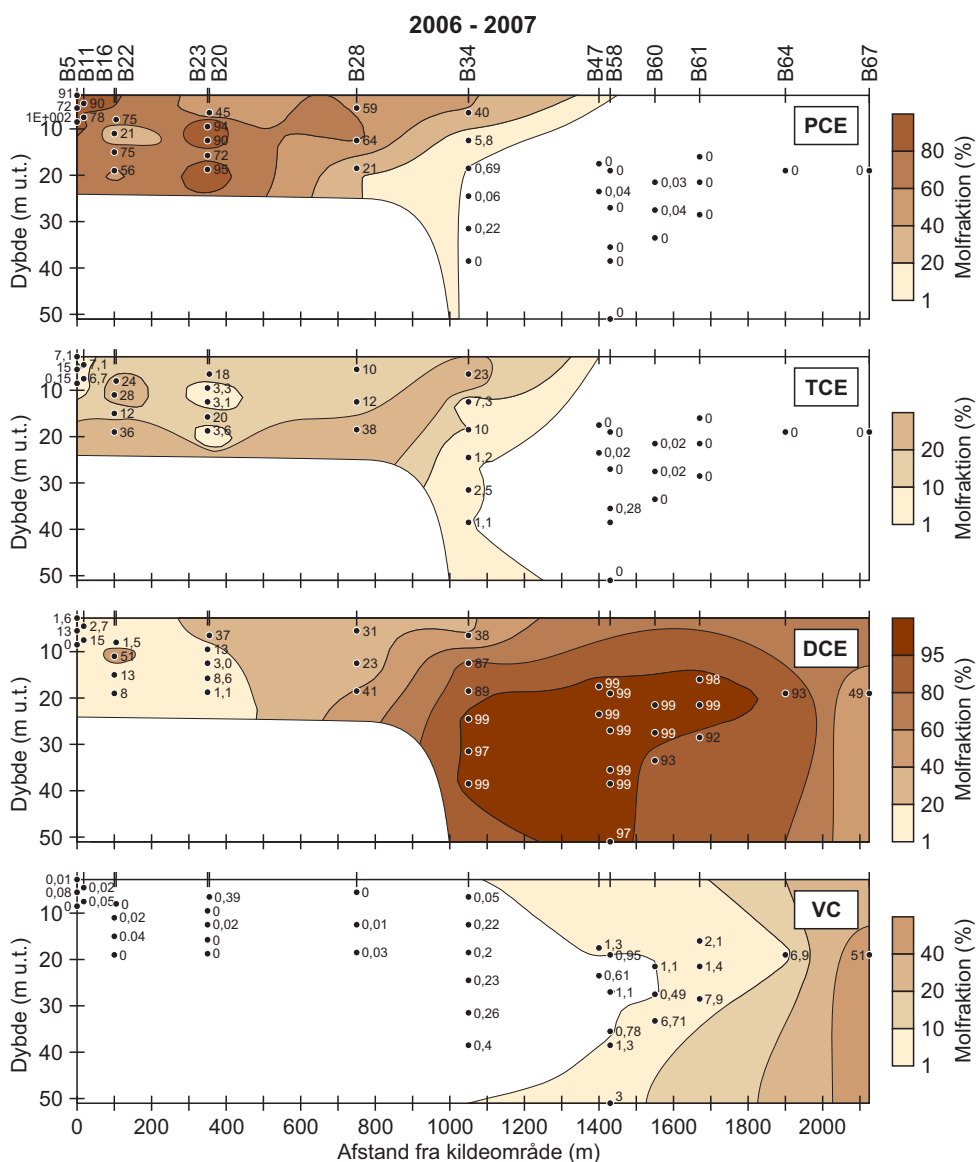


Figur 3.5b: Koncentrationer af chlorerede ethener i langsgående transekt i forureningsfanen 2014.

DCE er også gennemgående lavere i koncentration i 2014 end i 2006-7 ud til mindst 1100 m. Nær kildeområdet er der dog betydeligt mindre forskel i DCE end i PCE koncentrationer. I større afstand (1450-2100 m) observeres derimod en lille stigning i DCE koncentrationerne, hvilket er i overensstemmelse med at DCE fanen endnu ikke er stationær men voksende. VC koncentrationerne er fortsat meget lave. Nærmest kildeområdet ses en lille stigning i VC, mens der i den øvrige fane ses et meget beskedent fald i koncentration.

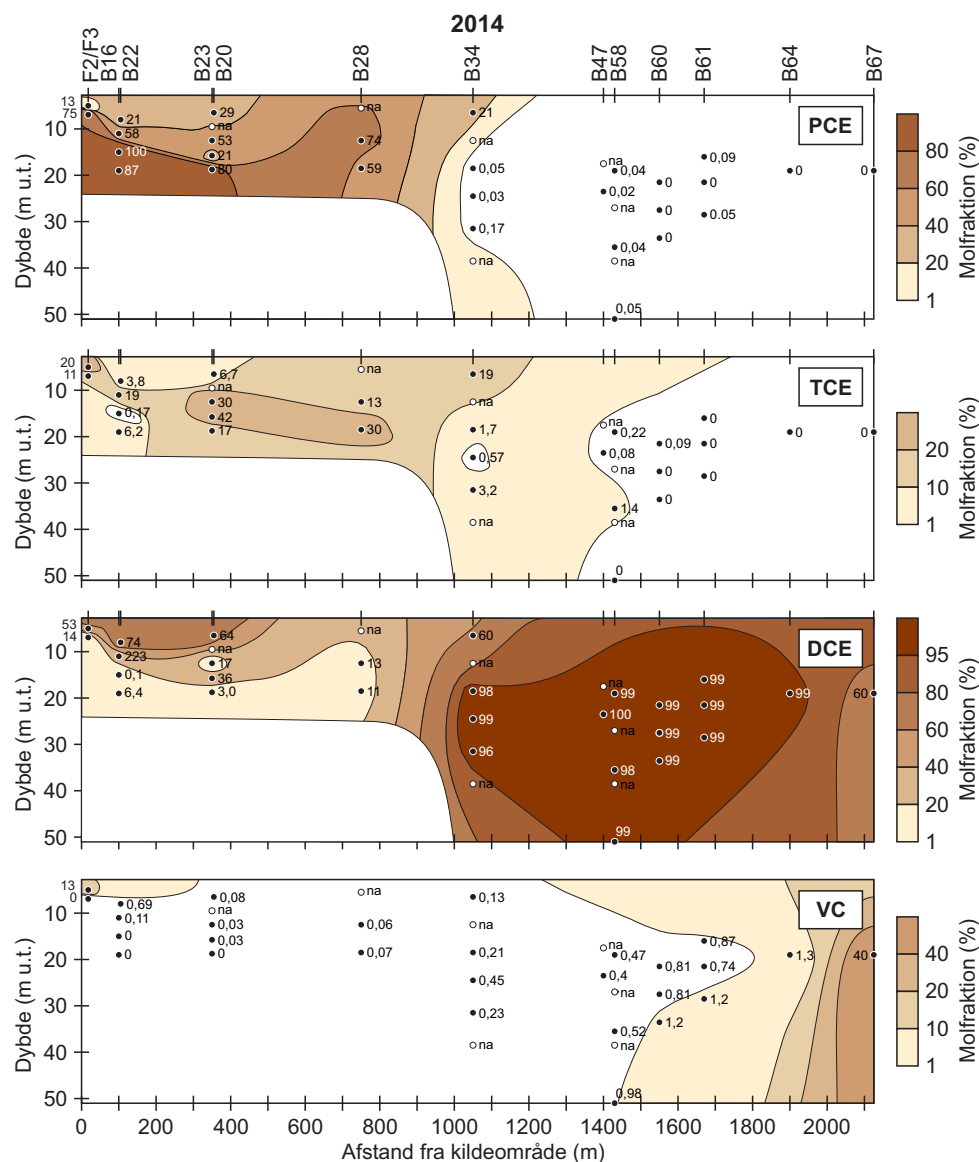
Fordelingen mellem PCE og nedbrydningsprodukterne i 2006-2007 og 2014 er illustreret som molfraktioner i figur 3.6a hhv. 3.6b og som dechloreringsgrad i figur 3.7.

Af disse figurer ses det mere tydeligt, at andelen af PCE er aftaget fra kildeområdet og mere end 350 m nedstrøms, mens andelen af TCE er aftaget ud til 90 m nedstrøms og steget 350 m nedstrøms og lidt længere ude. Andelen af DCE er steget ud til mere end 350 m og modsvarer faldet i PCE andel. I denne zone sker således i 2014 betydelig nedbrydning af PCE til DCE, hvilket ikke var tilfældet i 2006-7. Nærmest kildeområdet (i F transekt) ses også en beskedent dannelse af VC, som dog ikke er udbredt nedstrøms.



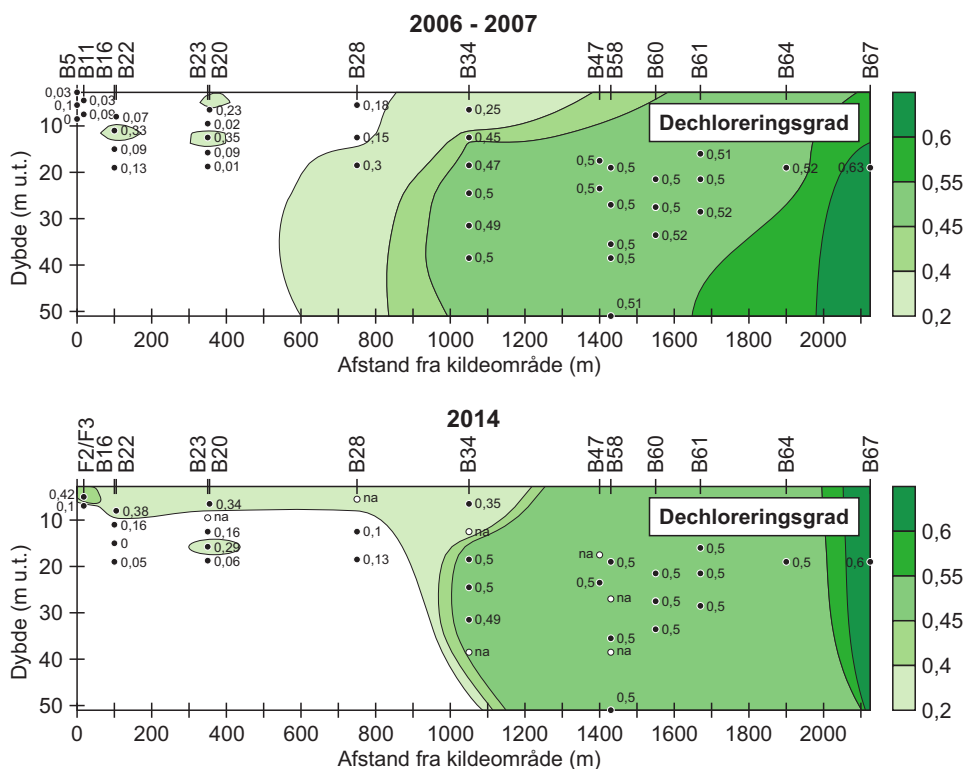
Figur 3.6a: Molfraktioner af PCE, TCE, DCE og VC i fanen 2006-2007.

Mellem 750 og 1100 m falder andelen af PCE og TCE ret brat, hvor fanen dykker, og andelen af DCE stiger tilsvarende og bliver helt dominerende. Yderst i fanen aftager andelen af DCE og andelen af VC stiger men ikke så meget som i 2006-7. At det ikke er så markant som i 2006-7 skyldes at DCEs udbredelse øges uden tilsvarende forøgelse i VC. Der er således ingen tegn på ophobning af VC. Dette kan skyldes mindre omsætning af DCE til VC eller større omsætning af VC i 2014 end i 2006-7.



Figur 3.6b: Molfraktioner af PCE, TCE, DCE og VC i fanen 2014.

Dechloreringsgrad udtrykker den andel af de oprindelige chloresubstituerter på moderstoffet, som i en given prøve er fjernet ved den sekventielle dechlorering (nedbrydning). F.eks. er dechloreringsgraden ved komplet omsætning af PCE til DCE 0,5 idet 2 af 4 chloresubstituerter er fjernet. Dechloreringsgraden, figur 3.7, er en anden måde at afspejle molsammensætningen på. Det bidrager ikke med øget viden/forståelse, men gør det lettere at sammenholde udviklingen fra år til år eller med andre data (f.eks. redoxforhold), da flere grafer (en for hvert stof) samles i en.



Figur 3.7. Dechloreringsgrad (for PCE som moderstof) i fanen.

Dechloreringsgraden afspejler således også den øgede nedbrydning af PCE og TCE til DCE øverst i magasinet i området 0-350 m (måske endda 0-1050 m), og et lidt større område, hvor DCE er helt dominerende (dechloreringsgrad omkring 0,5) 1100-1900 m. Den lidt højere dechloreringsgrad (>0,5) alleryderst i fanen kan være et transportfænomen, idet DCE sorberes mere end VC, og behøver således ikke være udtryk for nedbrydning til VC alleryderst i fanen.

3.4 Isotopfraktionering

Der er udført carbon-isotopanalyser for PCE, TCE, cDCE og VC og chlor isotop analyser for PCE og TCE. Analyse for chlorisotoper for cDCE kan ikke gennemføres på Neuchatel Universitet, hvorfor der er truffet aftale med Waterloo Universitet, Canada, som udførte analyserne i 2006-7, om at udføre disse. VC koncentrationerne er desværre for lave for chlorisotop analyse.

Carbon-isotopfraktionering for PCE, TCE, cDCE og VC er illustreret i figur 3.8a for 2006-7 og figur 3.8b for 2014. Der er observeret lineær sammenhæng mellem chlor- og carbon-isotopdata, illustreret i Figur 3.9. Konturering for chlorisotopdata vil således svare til de konturerede carbon isotop data, hvorfor chlorisotopdata for PCE og TCE for 2014 ikke er illustreret på længdeprofil. Tilsvarende er chlorisotop data for cDCE for 2006-7 heller ikke illustreret på længdesnit, se lineær sammenhæng i Figur 3.9.

Baseret på observerede $\delta^{13}\text{C}$ niveau for PCE i kildeområdet og direkte nedstrøms dette i 2006-7 og laveste niveau observeret i 2014 vurderes den initiale stabile carbon isotop sammensætning $\delta^{13}\text{C}_0$ for PCE at være -27 til -25. Højere $\delta^{13}\text{C}$ for PCE er dokumentation for nedbrydning. $\delta^{13}\text{C}$ stiger med stigende andel af stoffet, som er nedbrudt. Da kulstof bevares i nedbrydningsprodukterne (TCE, DCE, VC, ethen/ethan) ved sekventiel dechlorering, er $\delta^{13}\text{C}$ højere end (-27 til) -25 for disse ligeledes dokumentation for nedbrydning deraf. Lavere $\delta^{13}\text{C}$ er udtryk for (initiel) dannelse af nedbrydningsproduktet. For $\delta^{13}\text{C}$ kan opstilles en isotopbalance (Broholm et al. 2009) for PCE og nedbrydningsprodukter til hjælp for vurdering af, om der er redegjort for alle nedbrydningsprodukter.

På basis af de målte data vurderes $\delta^{37}\text{Cl}_0$ for PCE at være ca. -1, og $\delta^{37}\text{Cl}$ værdier større end -1 at dokumentere nedbrydning af PCE. Ved sekventiel dechlorering fjernes et Cl for hvert trin (Hunkeler et al. 2009), hvorfor det ikke kan antages, at der sker videre nedbrydning af nedbrydningsprodukterne, alene på grundlag af at $\delta^{37}\text{Cl}$ for disse er større end -1. Tilsvarende er det ikke muligt at opstille en isotopbalance for $\delta^{37}\text{Cl}$, medmindre $\delta^{37}\text{Cl}$ for produceret chlorid (på ionform) kan bestemmes og ikke er influeret af chlorid fra andre kilder (Hunkeler et al. 2009).

Både carbon- og chlor-isotopdata for PCE og TCE fra 2014 (Figur 3.8b og 3.9) dokumenterer nedbrydning øverst i magasinet umiddelbart nedstrøms det termisk behandlede område, hvor der ikke observeredes nedbrydning i 2006-7 (Figur 3.8a). Dette er i overensstemmelse med forhøjet NVOC og et mere reduceret redoxmiljø forårsaget af den termiske behandling med damp. I 2006-7 skete nedbrydning af PCE og TCE først reelt, hvor fanen i 750 a 1050 m afstand fra kildeområdet dykker dybere ned i magasinet. I dag ses, foruden nedbrydningen i F-transektet umiddelbart nedstrøms behandlingsområdet, tydelig nedbrydning af både PCE og TCE i 350 m afstand og af PCE i 750 m afstand (med dannelse af TCE), og bortset fra øverste filter i 1050 m afstand detekteres hverken PCE eller TCE i denne afstand.

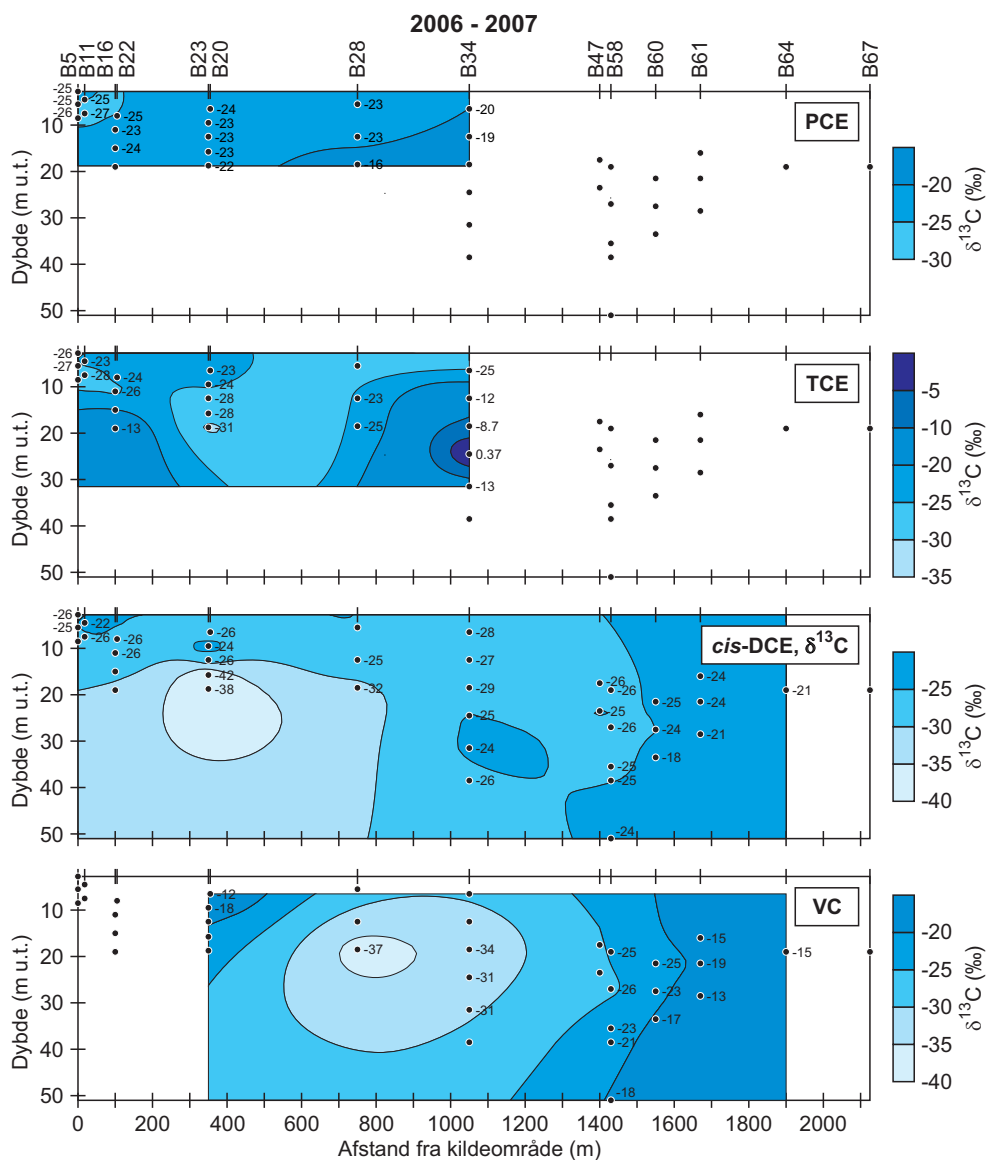


Figure 3.8a: Fraktionering for stabile carbonisotoper for PCE, TCE, cDCE og VC og stabile chlorisotoper for cDCE i langsgående transekt i fanen i 2006-7.

I 2006-7 viste isotopfraktionering for cDCE først tydelig dokumentation for nedbrydning nederst i magasinet fra 1450 m og mere generelt fra 1650 m nedstrøms afstand (Figur 3.8a). I 1050 m afstand viste VC isotopfraktionering dog dannelse af VC. I 2014 observeres tydelig nedbrydning af DCE fra umiddelbart nedstrøms lokaliteten og i toppen af magasinet mindst ud til 350 m afstand. I de dybere filtre i 350 m og i 750 m samt det øverste filter i 1050 m afstand viser isotopfraktioneringen tydelig dannelse af cDCE. Men i de øvrige filtre i 1050 m afstand dokumenterer isotopfraktioneringen nedbrydning af cDCE med en tydelig berigelse i ^{13}C centralt i magasinet (i denne afstand) i 2014. Denne tydelige nedbrydning af cDCE observeres således fra 400 m tidligere i magasinet (400 m opstrøms) i 2014 end 2006-7. Længere nedstrøms er berigelsen lidt mere beskeden i 2014 end den var i 2006-7.

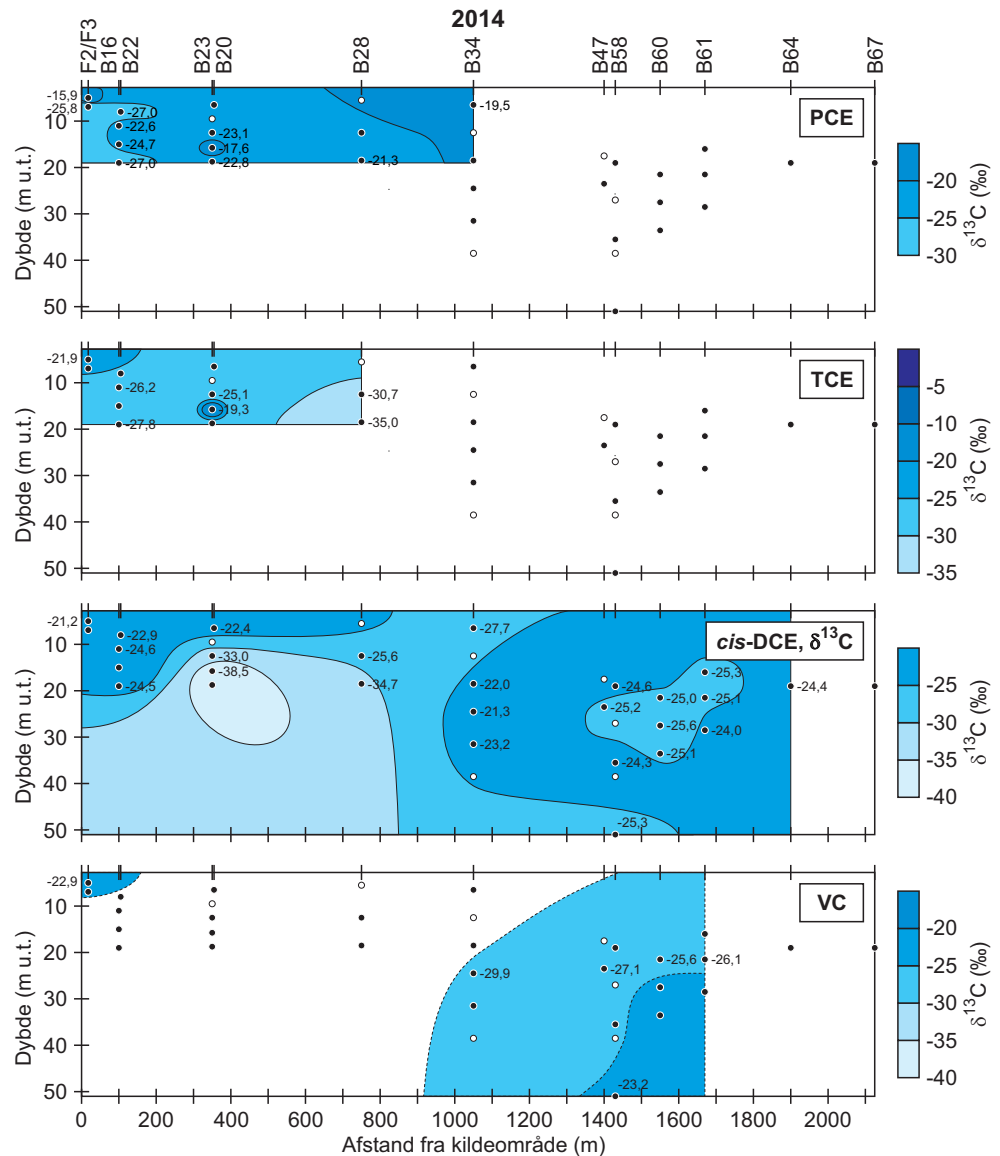


Figure 3.8b: Fraktionering for stabile carbonisotoper for PCE, TCE, cDCE og VC (og stabile chlorisotoper for PCE og TCE?) i langsgående transekt i fanen i 2014. Antal af filtre hvor det har været muligt at bestemme isotopfraktioneringen for PCE, TCE og VC er sparsomt, kontureringen er derfor kun tentativ, specielt for VC.

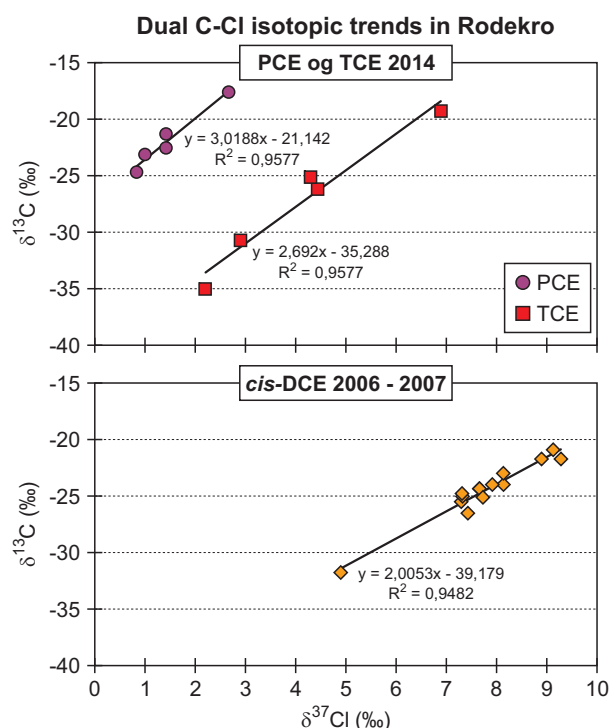
I 2006-7 viste VC carbon isotopfraktionering dannelse af VC nederst i 750 m afstand fra kildeområde samt i flere punkter 1050 m nedstrøms. Tydelig berigelse i ^{13}C svarende til VC nedbrydning blev observeret nederst i 1400-1500 m afstand og generelt i yderligere afstand i 2006-7. Berigelsen i VC ^{13}C var i 2006-7 højere end i cDCE ^{13}C , hvilket blev tolket som indikation på hurtigere nedbrydning af VC end af cDCE. Som følge af de mere beskedne fund af VC og lavere koncentrations niveau af VC i 2014 er isotop datagrundlaget meget beskedent for VC. Der ses dokumentation øverst i F-transektet for VC nedbrydning. Centralt i fanen i 1050 m nedstrøms afstand ses dannelse af VC, men sammenholdt med nedbrydningen af cDCE synes dannelsen af VC beskedent. Længere nedstrøms er $\delta^{13}\text{C}$ for VC såvel som cDCE på niveau med $\delta^{13}\text{C}_0$, om end VC fortsat kun udgør en særdeles beskedent molandel. I de fleste

filtre udgør VC kun omkring 1 mol%. Bortset fra nederste filter i 1450 m (B58-2) kan isotopfraktioneringen af VC i 2014 ikke dokumentere nedbrydning af VC nedstrøms i fanen, men udelukker ikke nedbrydning. En anden mulig forklaring kan være, at cDCE nedbrydes uden betydelig dannelse af VC. Dette diskuteres nærmere i senere rapport afsnit.

Den tidlige udvikling i koncentrationer og isotopfraktionering i perioden 2006-2014 er illustreret for udvalgte filtre nær det behandlede område hhv. yderst i fanen i bilag 4 og 5. Tiden (i dage) refererer til tidspunktet for afværgeren (efteråret 2006).

F-transektet er først etableret i 2007 efter den termiske oprensning, men er beliggende nær den tidligere B11. I det øverste filter i B11 blev i 2006 målt 210 $\mu\text{mol/L}$ chlorerede ethener, hvoraf PCE udgjorde 190 $\mu\text{mol/L}$ (90 mol%). Ved etableringen af F-transektet var koncentrationsniveauet aftaget til under 5 $\mu\text{mol/L}$ og varierer derefter mellem knap 1 og 6 $\mu\text{mol/L}$. cDCE udgjorde i 2007 ca. 70 mol% i F3-3 og varierer derefter mellem 60 og 80 mol%. Fra 1-2 år efter afværgeren frem mod 3-4 år efter afværgeren stiger VC til op mod 15 mol%, hvorefter det aftager lidt og holder sig omkring 10 mol%. Isotopfraktionering viser nedbrydning af PCE, TCE og cDCE i alle målte år: 2007, 2010 og 2014. Den største ^{13}C berigelse ses for 2010 for PCE og TCE, mens den er størst for cDCE i 2014. For VC viser isotopfraktionering dannelse i 2010 og nedbrydning i 2014. I B16 ca. 90 m nedstrøms er koncentrationsniveauet halveret ved prøvetagningen i 2007 og indenfor ca. 2 år fra afværgeren aftager det til 10 – 15%, sideløbende stiger andelen af cDCE fra <10 mol% til omkring 80 mol% mens indhold af VC er forsvindende. Der ses ikke nævneværdig udvikling i isotopfraktioneringen for PCE og TCE over tid i dette filter, men for cDCE ses tiltagende berigelse i ^{13}C . I B20 ca. 350 m nedstrøms ses efter 3-4 år en begyndende tendens til stigende andel af cDCE. Isotopfraktionering viser i 2010 og 2014 endvidere cDCE nedbrydning ved B16 og B20, mens den molære stofsammensætning ikke viser dannelse af VC. Dette kan måske indikere nedbrydning af cDCE (og/eller VC) ved oxidation. Nedbrydningsveje diskuteres nærmere i senere rapport afsnit.

I B60-2, B61-2 og B64-1 yderst i fanen består forureningen alt overvejende af cDCE. I B60-2 og B61-2 ses ingen væsentlig forandring i koncentrationsniveau eller sammensætning efter afværgeren. Samstemmende hermed, viser isotop data for cDCE et $\delta^{13}\text{C}$ niveau omkring $\delta^{13}\text{C}_0$, svarende til at alt PCE er omsat til cDCE, som ikke videre nedbrydes ved disse filtre. VC optræder i forsvindende koncentration. I 2006 dokumenterede isotopdata klart nedbrydning af VC i B61-2, derefter er det ikke tydeligt. I B64-1 ses stigende koncentrationsniveau af cDCE, hvilket dokumenterer at forureningsfanen af cDCE fortsat udbredes i nedstrøms retning. Andelen af VC er lav og er aftaget mens cDCE koncentrationen er tiltaget. Dette er som ventet ved fronten af en fane med stoffer med forskellig retardation. Isotop data viste dokumentation for nedbrydning af cDCE i 2006 og 2010 og for nedbrydning af VC i 2006 men ikke senere. Dette tyder på at nedbrydningen i fronten af fanen er aftaget.



Figur 3.9. Sammenhæng mellem carbon- og chlor-isotopfraktionering for PCE og TCE (2014 data) samt cDCE (2006-7 data eksklusiv 2 ”outliers”).

Chlor-isotopfraktionering understøtter nedbrydningen af PCE og TCE. Der observeres lineær sammenhæng mellem chlor- og carbon-isotopfraktionering med en hældning på ca. 3 for PCE (Figur 3.9). Dette stemmer rimeligt overens med observationer under mikrobiel nedbrydning ved reduktiv dechlorering for nogle specifikke nedbrydere. I laboratorie nedbrydningsforsøg for en specifik nedbryder for PCE reduktiv dechlorering til TCE (*Sulfurospirillum PceA_{TCE}*) af Badin et al. (2014) var hældning 2,7 og for en specifik nedbryder for PCE reduktiv dechlorering til DCE (*Desulfitobacterium* af Wiegert et al. (2013) var hældning 2,5. Endvidere er der for en feltlokalitet, hvor nedbrydning af PCE til VC er observeret, fundet en hældning på 3,5 i en undersøgelse af Badin et al. (2014). I modsætning hertil er for en anden specifik nedbryder for PCE reduktiv dechlorering til DCE (*Sulfospirillum*, *PceA_{DCE}*) og en anden feltlokalitet observeret en betydeligt lavere hældning på 0,7 (Badin et al. 2014). Hvilket er udtryk for, at bakterierne anvender forskellige nedbrydningsmekanismer (eller forskellige kombinationer deraf). Badin et al. (2014) foreslår f.eks. 3 nedbrydningsmekanismer for PCE, heraf to med fjernelse af et Cl i første step (stor hældning), og et via indledende angreb på dobbeltbindingen (mindre hældning). Det ene med Cl fjernelse i første step sker via trichlorovinyl radikal dannelse, mens de 2 andre sker ved et indledende CoL (cobalamin's cobalt centre) nukleofilt angreb på et kulstofatom i PCE. For TCE (her mellemprodukt) observeres lineær sammenhæng med hældning på ca. 2,7. For reduktiv dechlorering af TCE som moderstof er i litteraturen refereret hældninger på 3,4-3,8 og 4,8 ved biotisk nedbrydning (Cretnik et al. 2013, Kuder et al. 2013) og 5,2 ved abiotisk nedbrydning (med ZVI, Audi-Miro et al. 2013)

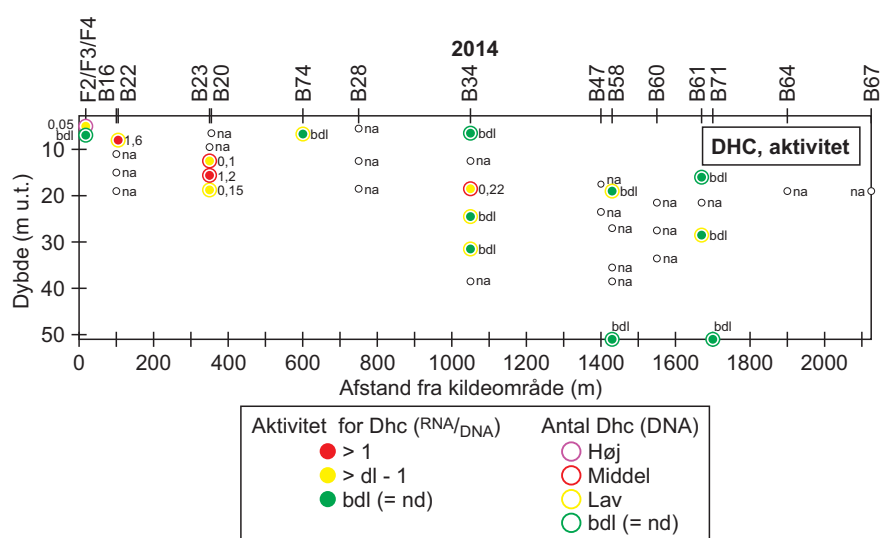
Der er (endnu) ikke foretaget analyser for cDCE chlor-isotopfraktionering i 2014. I 2015 blev konstateret lineær sammenhæng mellem chlor- og

carbonisotopfraktionering for cDCE med en hældning på ca. 2 (Figur 3.9). Det var en af de absolut første gange analyser for chlor-isotopfraktionering blev udført, og der var således ikke mange data at sammenligne målingerne med. Resultatet blev tolket som dokumentation for nedbrydning ved reduktiv dechlorering, idet berigelsen i ^{37}Cl forventedes at være forsvindende i forhold til ^{13}C ved nedbrydning ved oxidation (meget stor hældning ved $\delta^{13}\text{C}$ plottet mod $\delta^{37}\text{Cl}$). Sammenholdes hældningen nu med publicerede værdier for biotisk anaerob reduktiv dechlorering for cDCE (11,6, Abe et al. 2009) og abiotisk dichloroelimination og hydrogenolyse af cDCE (3,1, Audi-Miró et al. 2013) ved reaktion med nul valent jern (ZVI) kan resultatet tyde på abiotisk nedbrydning. For aerob oxidation af cDCE observerede Abe et al. (2009) en hældning på $\sim 32,3$. Det er kendt at både pyrit og FeS kan resultere i abiotisk reduction af chlorerede ethener (fx Damgaard et al. 2013). Ved abiotisk reduktion er dichloroelimination typisk dominerende for cDCE resulterende i nedbrydning overvejende til acetylene og med yderst beskedne produktion af VC. Dannelse af frisk FeS ved sulfat reduktion, som er indikeret af redoxparametre i 2014 i modsætning til 2006-7, i B34 (1050 m) og B47/B58 (1450 m), peger på at en øget abiotisk nedbrydning af cDCE kan være medvirkende årsag til den observerede større omsætning af cDCE i 1050 m (B34) i 2014 (Figur 6.2a-b og Figur 3.8a-b) uden væsentlig dannelse af VC.

3.5 Mikrobielle forhold

Specifikke nedbrydere.

Antallet af Dehalococcoides (Dhc), som er de specifikke nedbrydere for DCE nedbrydning, bestemt i udvalgte prøver er illustreret på figur 3.10.



Figur 3.10: Dhc, specifikke nedbrydere, og RNA/DNA, som er et udtryk for aktiviteten af de specifikke nedbrydere i udvalgte grundvandsprøver fra det langsgående transekt.

Der blev ikke detekteret *vcrA* eller *bvcA*, som er de specifikke gener for VC nedbrydere. RNA/DNA, som er et mål for aktiviteten af de specifikke

nedbrydere (Dhc), er ligeledes illustreret i figur 3.10. Dataene fremgår endvidere af tabel 3.1. Det bør bemærkes, at der er faktor 100 forskel på Dhc bestemt af SiREM hhv GEUS. Dette kan nok tilskrives anvendelse af forskellige metoder – hhv. metode til bestemmelse af DNA og RNA for bestemmelse af aktivitet og metode for bestemmelse af DNA alene. Der er også tidligere set betydelig forskel på metoder ved udførelse på samme laboratorie. En anden mulighed er tab af DNA under transport med for ringe nedkøling. Derfor er ved illustrationen anvendt relative mål. I nogle tilfælde er Dhc kun detekteret ved den ene af de 2 kvantitative metoder eller ved ”Pyrotaq” sekventering (se senere delafsnit). I disse tilfælde er Dhc antal angivet på figuren som ”lav”, mens nd (ikke detekteret) kun er angivet på figur 3.10, hvis Dhc ikke er detekteret ved nogen af metoderne. Normalt bestemmes aktiviteten ved mRNA for *vcrA* og *bvcA* fremfor RNA for Dhc, men her er *vcrA* og *bvcA* ikke detekteret, hvorfor RNA for Dhc er anvendt. Data er således ikke direkte sammenlignelige med tidligere publicerede aktivitetsdata (f.eks. Bælum et al. 2013 og Damgaard et al. 2013).

Tabel 3.1. Specifikke nedbrydere i udvalgte prøver fra forureningsfanen.

Boring- filter	GEUS				SiREM		
	Dhc, DNA	Dhc, RNA	Aktivitet	<i>vcrA</i> , <i>bvcA</i>	Dhc, DNA		Dhc, ”Pyrotaq”
F2-2	nd	Nd		nd	ia		ia
F4-3	$1,73 \cdot 10^6$	$8,82 \cdot 10^4$	0,05	nd	ia		ia
#4	nd	Nd		nd	ia		ia
B16-1	$1,59 \cdot 10^5$	$2,48 \cdot 10^5$	1,56	nd	ia		ia
B17-1	$2,26 \cdot 10^5$	Nd		nd	ia		ia
B23-1	$1,31 \cdot 10^5$	$1,96 \cdot 10^4$	0,15	nd	ia		ia
B23-2	$1,09 \cdot 10^5$	$1,32 \cdot 10^5$	1,21	nd	$2,00 \cdot 10^3$		$5,21 \cdot 10^4$
B23-3	$3,39 \cdot 10^5$	$3,40 \cdot 10^4$	0,10	nd	$1,00 \cdot 10^3$	<	nd
B34-2	nd	Nd		nd	$2,00 \cdot 10^3$	<	$7,05 \cdot 10^4$
B34-3	nd	Nd		nd	$3,00 \cdot 10^3$		$9,28 \cdot 10^4$
B34-4	$1,03 \cdot 10^5$	$2,24 \cdot 10^4$	0,22	nd	$1,00 \cdot 10^3$	<	nd
B34-6	nd	Nd		nd	nd		nd
B58-2	nd	Nd		nd	nd		nd
B58-6	nd	Nd		nd	nd		$1,06 \cdot 10^5$
B61-1	nd	Nd		nd	nd		$4,40 \cdot 10^4$
B61-3	nd	Nd		nd	nd		nd
B71-3	nd	Nd		nd	nd		ia
B74-3	nd	Nd		nd	$1,00 \cdot 10^3$	<	$8,30 \cdot 10^4$
Kontrol	ia	ia		ia	ia		nd

Dhc: Dehalococcoides, specifikke nedbrydere (PCE, TCE, DCE, (VC)); *vcrA* og *bvcA*: specifikke gener for VC nedbrydende Dhc; DNA: total antal Dhc celler (levende og døde intakte celler); RNA: Ribosomal Dhc (udtryk for aktive Dhc); Aktivitet: RNA/DNA; nd: non detect = ikke detekteret, for GEUS <1E+04, for SiREM < omkring 1E+03 se rapport; ia: ikke analyseret; <: estimeret værdi mellem detektions- og kvantifikationsgrænsen; kontrol: destilleret vand. ”Pyrotaq”: se Tabel 3.2.

De højeste aktiviteter observeres øverst i 90 m afstand (B16-1) og centralt i 350 m afstand (B23-2). Men aktivitet om end lavere observeres også i andre filtre i 350 m afstand (B23-1 og B23-3) og et enkelt centralt filter i 1050 m afstand

(B34-4). I 90 m og 1050 m afstand stemmer det overens med dokumentation for DCE nedbrydning ved isotopfraktionering. Derimod indikerer isotopfraktionering i 350 m (B23-2 og B23-3) dannelse af DCE, og VC er meget lav. Her (i 350 m afstand) respirerer Dhc muligvis fortrinsvis på TCE, omend det ikke udelukker, at der både kan dannes og nedbrydes DCE. Umiddelbart nedstrøms kildeområdet (17 m) er i et filter (F4-3) observeret et meget højt antal Dhc men en lav aktivitet, hvilket tyder på, at der har været en periode med vækst og højere aktivitet, som nu er aftagende. Dette kan hænge sammen med variation i fx donor (NVOC) og redoxforhold efter den termiske oprensning (som observeret i F3-3, bilag 4).

I 600 m (B74-1), 1050 m (B34-2 og B34-3), 1450 m (B58-6) og 1650 m (B61-1) er ved en eller flere af metoderne detekteret Dhc (men ikke aktivitet). Det indikerer, at der sker eller tidligere har forekommet nedbrydning af chlorerede ethener. Da PCE og TCE (bortset fra i førstnævnte) ikke er detekteret, tages dette som indikation på biotisk cDCE nedbrydning.

I 2006-7 blev Dhc alene detekteret (ved en af 2 anvendte primere) i B60-1 og B60-3 (ikke analyseret i 2014), mens Dhc ikke blev detekteret i 10 prøver fra B23, B58 og B61. Specielt i B23 er der tale om en bemærkelsesværdig udvikling, da der i dag ses betydelig aktivitet af Dhc.

Antallet af Dhc i magasinet er generelt lavt sammenholdt med antallet i prøver fra lokaliteter, hvor stimulering af nedbrydning ved reduktiv dechlorering er foretaget (f.eks. Scheutz et al. 2008).

Bakteriesammensætning, ”Pyrotaq” sekventering.

Ved ”Pyrotaq” sekventering måles sammensætningen af bakterier i prøverne. Tilsvarende metode ”pyrosequencing” er tidligere anvendt af Kotik et al. (2013) i 3 forureningsfaner med chlorerede ethener. Ved sammenholdning med totalbakterietal opnås et semikvantitativt mål for indholdet af bakterier, om end der er debat omkring det rimelige i denne fremgangsmåde. Det fremmer dog muligheden for sammenligning mellem prøverne udtaget ud gennem fanen. Der blev identificeret 5496 OTU (operational taxonomic unit) repræsenterende sekvenser, som udtrykker 97% 16S rRNA gen sammenlignelighed, i forskellige sammensætning og relativ andel i de 12 prøver udvalgt til analyse ved automatisk sammenligning med et bibliotek. Hver OTU er relateret til ”kingdom” (k, i dette tilfælde alle bakterier), ”phylum” (p), ”class” (c), ”order” (o), ”family” (f), ”genus” (g) og ”species” (s). For en del er kun k og p givet og kun for få er s givet. Ved anvendelse af resultaterne er primært taget udgangspunkt i g, fx genus *Dehalococcoides* (Dhc). Prøveforberedelser og overordnet tolkning af resultaterne er foretaget af SiREM i samarbejde med Toronto Universitet og rapporteret i bilag 2. Der henvises til dette bilag for beskrivelse af metoder.

Der var overraskende mange bakterier i kontrolprøven (demineraliseret vand fra plastdunk fra ALS), også bakterier, som ikke forventes i aerobt vand (fx den strikt anaerobe *methanosarcina*). Der frygtedes derfor, at der var sket en intern kontaminering, om end ingen potentiel kilde blev identificeret. Da det ikke

kunne udelukkes, at det demineraliserede vand havde indeholdt bakterierne og at utilstrækkelig køling under transport kunne have øget bakterietallet, blev der udført supplerende forsendelse af kontrolprøver fra samme dunk vand, nyt vand fra ALS, samt DNA frit vand fra GEUS, som efterfølgende blev inkuberet ved hhv stuetemperatur og ved -80°C inden analyse på SiREM. Resultaterne viste ingen respons (bånd) for DNA frit vand, filter kontrol eller metode kontrol. Derimod gav både originale laboratorie vand (fra dunk med ”demineraliseret vand” fra ALS anvendt som blank/kontrol ved prøvetagningen i juni 2014) eller frisk laboratorie vand fra ALS et bånd omkring 200 basepar svarende til en positiv kontrol (KB1) og en ekstraktionskontrol. Der observeredes højere respons fra originale end fra friske laboratorievand (vækst i dunk). Der var en svag tendens til højere respons ved inkubering ved stuetemperatur end ved -80°C, og således potentiel vækst under transport ved forhøjet temperatur.

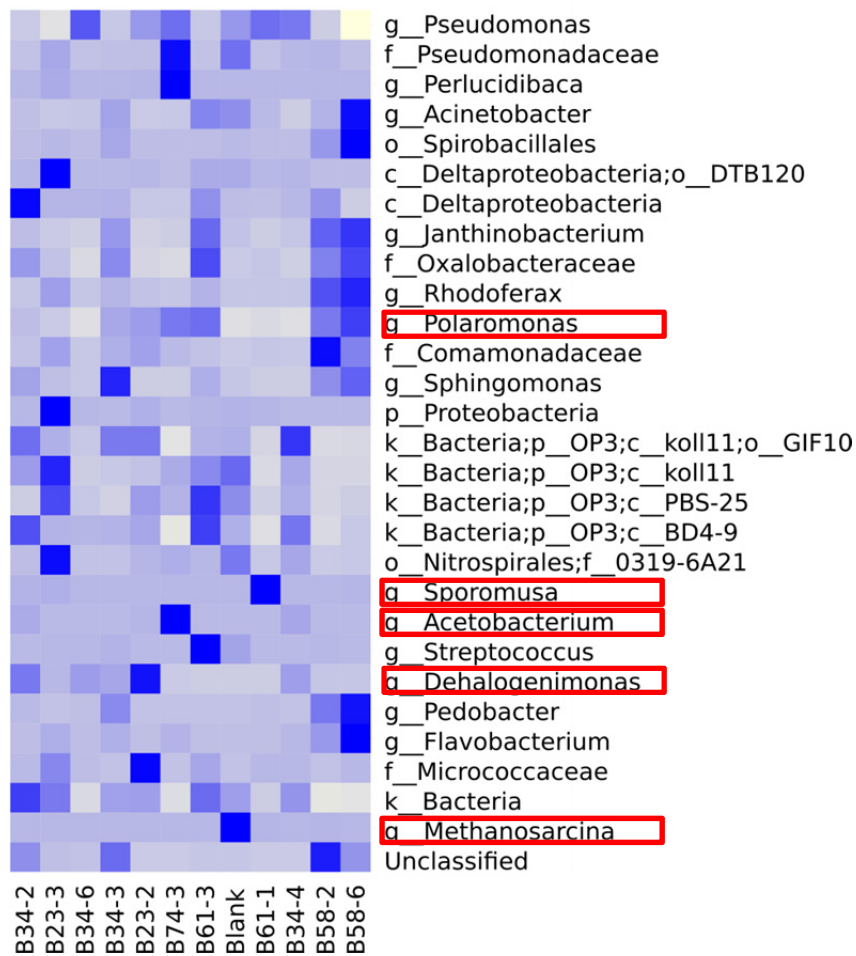
For en sikkerheds skyld er prøverne holdt op mod kontrolprøven selvom indholdet i kontrolprøven formentlig stammer fra laboratorievandet – fra vækst i revers osmose anlæg på laboratoriet (hos ALS). I alle prøver dominerer *Pseudomonas*, hvilket er overraskende i de overvejende anaerobe prøver. Prøverne er udtaget på filtre, som er placeret i køletasker med køleelementer under forsendelsen, men alligevel havde nået 15°C ved modtagelsen i Canada. Det anses for sandsynligt, at vækst af evt. små mængder *Pseudomonas* fra prøver, slanger/filtre, mv. på filtrene under de under transporten aerobe forhold kan have resulteret i de relativt høje antal ved analysen. Vækst af anaerobe bakterier under transporten anses derimod ikke for sandsynligt. Det er muligt, at *Pseudomonas* kan kobles til pyritoxidation, som er en betydende mikrobiel proces i magasinet, der resulterer i fjernelse af ilt og nitrat og frigivelse af opløst/reduceret jern og sulfat over dybden, og således kan optræde naturligt i prøverne.

Det overvejes at udtage enkelte nye prøver for ny analyse ved optimeret håndtering i forbindelse med næste monitoringsrunde.

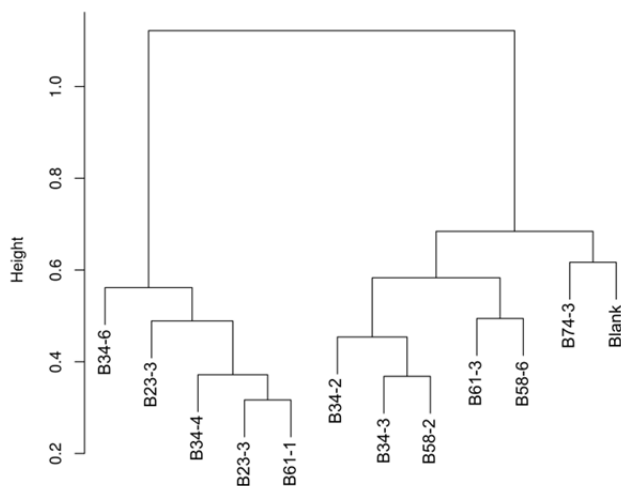
Sammensætningen af de dominerende bakterier er illustreret i figur 3.11 samt i figurer i bilag 2, og den indbyrdes sammenlignelighed af prøverne tolket af SiREM på basis af samtlige OTU er illustreret i figur 3.12.

Blandt de dominerende bakterier i prøverne er:

- En type aerobe bakterier *Polaromonas*, som er kendt for nedbrydning af cDCE og VC ved oxidation,
- En type dehalogenerende bakterier *Dehalogenimonas*, som er nært beslægtet med Dhc og er kendt for komplet dechlorering af bl.a. tDCE,
- Tre typer bakterier *Sporomusa*, *Acetobacterium* og *Methanosarcina*, som er kendt for reduktiv dechlorering af PCE og/eller TCE



Figur 3.11. De 29 mest dominerende bakterier i de udvalgte prøver. Hvid: ikke detekteret i prøven. Blå: Tiltagende styrke i farve ved stigende andel af bakterien i prøven. Rød outline indikerer bakterietyper, som er kendt for nedbrydning af chlorerede ethener, Se nedenfor samt bilag 6 for nærmere forklaring og oversigt over kendte nedbrydere. Blank: Prøve af laboratorievand fra dunk fra ALS.



Figur 3.12. Illustration af graden af sammenlignelighed af prøverne mht. bakteriesammensætning. Størst sammenlignelighed er observeret mellem de prøver, som er vist tættest på hinanden. F.eks. er B34-3 sammenlignelig med B58-2 og nær sammenlignelig med B34-2 mens disse ligger meget langt fra B34-4. Det er B23-2 (ikke-3) som er nærmest B61-1.

En liste over bakterier ansvarlige for nedbrydning af chlorerede ethener baseret på gennemgang af litteratur er udarbejdet og vedlagt som bilag 6, hvor referencer ligeledes er angivet. På basis af denne er foretaget en søgning i den efter k, p, c, o, f, g og s sorterede OTU liste efter de specifikke nedbryderes genus. Der er søgt efter følgende genus: A) Reduktiv dechlorerende bakterier: *Dehalococcoides*, *Dehalogenimonas*, *Dehalobacter*, *Geobacter*, *Chlostridium*, *Acetobacterium*, *Desulfovibrio*, *Sporomusa*, *Methanosarcina*, *Sulfospirillum*, *Methanobulus*, *Anaeromyxobacter*, *Desulfonome*, *Dehalobium*, *Dehalospirillum*, *Desulforomonas*, og B) Oxiderende bakterier: *Polaromonas*, *Mycobacterium*, *Nocardioedes*, *Methylosinus*, *Burkholderia*, *Proteobacteria*. Hvert genus optræder med flere OTU. Summen af de semikvantitative opgørelser for OTUs relateret til hvert genus (inklusive ovenstående) er angivet i tabel 3.2a-c (sidst i dette kapitel). Summen for den samlede gruppe af OTUs under phylum dehalococcoidetes, som bl.a. omfatter Dhc og *Dehalogenimonas* (Dhg), er tillige angivet i tabel 3.2a. Det blev desuden søgt at gennemskue, om der var forskel på, hvilke OTUs tilhørende samme genus som var udtrykt i forskellige prøver, med henblik på at se, om det kunne relateres til sammenligneligheden illustreret i figur 3.12.

Tabel 3.2a. Specifikke nedbrydere bestemt ved "Pyrotaq" sekventering i udvalgte prøver fra forureningsfanen. Resultater fra "Pyrotaq" sekventering, semikvantitativ bestemmelse, formentlig overestimeret antal.

Potentiel nedbrydning	Komplet reductiv dechlorering		
Genus	<i>Dehalococcoides</i>	<i>Dehalogenimonas</i>	p_ <i>Dehalococcoidetes</i> * (m.Dhc&Dhg)
B23-2	5,21·10 ⁴	1,66·10 ⁶	3,04·10 ⁶
B23-3	nd	1,63·10 ⁵	3,72·10 ⁶
B34-2	7,05·10 ⁴	8,28·10 ⁵	4,72·10 ⁶
B34-3	9,28·10 ⁴	3,31·10 ⁵	1,78·10 ⁶
B34-4	nd	3,74·10 ⁵	2,50·10 ⁶
B34-6	nd	4,61·10 ⁵	9,99·10 ⁵
B58-2	nd	8,34·10 ⁴	5,17·10 ⁵
B58-6	1,06·10 ⁵	6,60·10 ⁴	9,78·10 ⁵
B61-1	4,40·10 ⁴	5,50·10 ³	1,76·10 ⁵
B61-3	nd	5,90·10 ³	4,66·10 ⁵
B74-3	8,30·10 ⁴	2,77·10 ⁴	1,80·10 ⁵
kontrol	nd	nd	1,24·10 ⁶

Forkortelser se Tabel 3.1. *: Ikke genus men phylum, gruppen som indeholder *Dehalococcoides* (Dhc) og de nært beslægtede *Dehalogenimonas* (Dhg) genus.

Dhg, som er nært beslægtede med Dhc, træffes udbredt i magasinet og er detekteret i alle filtre prøvetaget for "pyrotaq" sekventering. De højeste Dhg indhold er observeret i filtrene B23-2 (350 m) og B34-2 (1050 m), hvor aktivitet

af Dhc også er observeret, og hvor isotopfraktionering og sammensætning af chlorerede ethener indikerer, at der fortrinsvis sker nedbrydning af PCE og TCE til DCE (B23) hhv. nedbrydning af DCE (B34). Også i B23-3, B34-3, B34-4, B34-6, B58-2 og B58-6 er betydelige indhold, mens indhold er relativt lave i B61-1 og B61-3 samt B74-3. Der er rimelig overensstemmelse med, hvor Dhc er truffet ved ”pyrotaq” sekventering og ved specifikke metoder, men ikke fuldstændig. For eksempel er Dhc ved specifik metode betydeligt højere i B34-4 end B34-2. Der er høje indhold af hele phylum gruppen Dehalococcoidetes i samtlige prøver, men også i kontrollen. Derimod træffes hverken Dhc eller Dhg i kontrollen.

Ses på gruppen af dechlorerende bakterier, som kun er kendt for reduktiv dechlorering af PCE og/eller TCE til DCE og ikke for den videre nedbrydning af DCE til VC og ethen, træffes de samlet set i nogenlunde de samme filtre som Dhg, men de ses især at træffes i højt niveau i B61-1 og B34-3 (Tabel 3.2b). Sammensætningen i prøverne varierer dog meget, og særligt mange forskellige træffes i B61-1 og B34-3.

Tabel 3.2b. Specifikke nedbrydere bestemt ved ”Pyrotaq” sekventering i udvalgte prøver fra forureningsfanen. Resultater fra ”Pyrotaq” sekventering, semikvantitativ bestemmelse, formentlig overestimeret antal.

Potentiel nedbrydning	Reduktiv dechlorering af PCE og/eller TCE						
	Følgende genus, som er kendte dechlorerende bakterier, er ikke detekteret: <i>Sulfurospirillum</i> , <i>Methanobulus</i> , <i>Anaeromyxobacter</i> , <i>Desulfonomine</i> , <i>Dehalobium</i> , <i>Dehalospirillum</i> , <i>Desulforomonas</i>						
Genus	<i>Dehalobacter</i>	<i>Geobacter</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Acetobacterium</i>	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Sporomusa</i>	<i>Methanosarcina</i>
B23-2	1,30·10 ⁵	nd	nd	5,21·10 ⁴	nd	nd	nd
B23-3	nd	nd	nd	nd	nd	9,18·10 ⁴	nd
B34-2	2,64·10 ⁵	9,70·10 ⁵	4,58·10 ⁵	1,76·10 ⁵	7,05·10 ⁴	8,81·10 ⁴	nd
B34-3	3,18·10 ⁵	2,66·10 ⁵	6,65·10 ⁴	nd	nd	nd	nd
B34-4	nd	1,50·10 ⁴	nd	1,95·10 ⁵	nd	nd	nd
B34-6	nd	5,77·10 ⁴	nd	nd	nd	nd	nd
B58-2	nd	3,33·10 ⁴	nd	nd	nd	nd	3,33·10 ⁴
B58-6	nd	9,24·10 ⁴	5,28·10 ⁴	nd	2,64·10 ⁴	2,64·10 ⁴	nd
B61-1	6,05·10 ⁴	1,26·10 ⁵	1,65·10 ⁴	5,50·10 ³	5,50·10 ³	7,32·10 ⁵	5,50·10 ³
B61-3	nd	1,77·10 ⁴	nd	nd	nd	nd	nd
B74-3	1,94·10 ⁵	8,29·10 ⁴	1,24·10 ⁴	1,81·10 ⁶	2,76·10 ⁴	nd	nd
Kontrol	5,52·10 ⁴	nd	nd	nd	nd	nd	3,36·10 ⁶

Tabel 3.2c. Specifikke nedbrydere bestemt ved ”Pyrotaq” sekventering i udvalgte prøver fra forureningsfanen. Resultater fra ”Pyrotaq” sekventering, semikvantitativ bestemmelse, formentlig overestimeret antal.

Polaromonas og de andre identificerede bakterietyper kendt for aerob oxidation af cDCE og/eller VC er især truffet i B23-2, B23-3, B34-3, B58-2, B58-6 og

B61-3 og er domineret af *Polyaromonas* (Tabel 3.2c). Flest forskellige træffes i B23-3, hvor forholdene er nitratreducerende grænsende til aerobe. Ved B23-2 og B34-6 er forholdene også nitratreducerende, men alle andre prøver stammer fra dele af magasinet, hvor forholdene er mere reducerede (jern-sulfatreducerende). Det er overraskende at træffe bakterier kendt for aerob oxidation af DCE og/eller VC under så reducerede forhold, og det er os ubekendt om de kan oxidere stofferne under jern- eller sulfatreducerende forhold. Det skal dog påpeges at der er stor usikkerhed ved at koble 16SrRNA gener direkte sammen med respiratoriske gener. Selvom et givet 16SrRNA ofte er bundet til bestemte funktionelle gener, er det ikke altid rigtigt. Kotik et al (2013) observerede også både bakterier kendt for reduktiv dechlorering og bakterier kendt for oxidation i prøver fra forureningsfaner med anoxiske forhold.

Potentiel nedbrydning	Oxidation af VC og/eller cDCE Følgende genus, som er kendt for aerob oxidation af chlorerede ethener, er ikke detekteret: <i>Burkholderia</i> , <i>Proteobacter</i>			
Genus	<i>Polaromonas</i>	<i>Mycobacterium</i>	<i>Nocardioiodes</i>	<i>Methylosinus</i>
B23-2	$7,42 \cdot 10^5$	$2,60 \cdot 10^4$	$2,61 \cdot 10^4$	nd
B23-3	$2,04 \cdot 10^5$	$1,33 \cdot 10^5$	$4,38 \cdot 10^5$	$2,04 \cdot 10^4$
B34-2	$3,88 \cdot 10^5$	$2,52 \cdot 10^4$	$3,52 \cdot 10^4$	nd
B34-3	$5,70 \cdot 10^5$	nd	nd	nd
B34-4	nd	nd	nd	nd
B34-6	nd	nd	$3,85 \cdot 10^4$	nd
B58-2	$1,12 \cdot 10^6$	nd	$1,76 \cdot 10^4$	nd
B58-6	$1,66 \cdot 10^6$	nd	nd	nd
B61-1	$1,65 \cdot 10^4$	nd	nd	nd
B61-3	$4,60 \cdot 10^5$	nd	$5,90 \cdot 10^4$	nd
B74-3	$1,11 \cdot 10^6$	$2,77 \cdot 10^4$	nd	nd
Kontrol	nd	nd	nd	$5,52 \cdot 10^4$

Det er ikke generelt de samme OTU, som observeres for et givet genus for prøverne. F.eks. er der 4 prøver som indeholder genus *Sporomusa*. I B34.2 og B58.6 optræder de samme OTU, mens det i B61.1 er nogle helt andre OTU, og i B23.3 optræder kun 1 OTU – den som er dominerende i B61.1. Det stemmer overens med sammenligneligheden illustreret i figur 3.12, hvor B61.1 og B23.3 er nær hinanden men fjernt fra B34.2 og B58.6, som ligger indbyrdes nærmere. Det er muligt at andre tilsvarende sammenhænge kan findes, men det er meget svært umiddelbart at overskue. Der er ikke en entydig sammenhæng mellem Dhc tilstedeværelse og overordnet bakteriesammensætning for prøverne. B23 og B34 prøver ligger f.eks. ikke generelt nær hinanden i figur 3.12, der ses for nogen endog meget stor afstand.

Endelig er det også forsøgt at identificere bakterier kendt for specifikke redoxprocesser med henblik på sammenligning med redoxforholdene. Det synes umiddelbart mere sandsynligt, at den overordnede sammenlignelighed af bakteriesammensætningen i prøverne skulle være relateret til redoxforhold. Det er imidlertid meget vanskeligt at overskue. Der er generelt mange bakterier, som kan relateres til pyritoxidation, jernreduktion eller sulfatreduktion, i alle prøverne. Kotik et al. (2013) fandt ligeledes, at bakterier kendt for nedbrydning af chlorerede ethener kun udgjorde en beskedent andel af bakterierne i prøver fra forureningsfaner med chlorerede ethener. De observerede også sameksistens af reducerende og oxiderende nedbydere af chlorerede ethener.

4. Udvikling nær kildeområde

Umiddelbart efter oprensningen i kildeområdet skete et betydeligt fald i PCE koncentrationen (omtrent 3 størrelsesordener) og et nogenlunde tilsvarende fald (i andel) af TCE, når tidligere boring nær skel B11 sammenlignes med flux-transektet (F1-4, etableret efter oprensningen). DCE koncentrationerne var væsentligt lavere og faldt også, men mindre i andel (mindre end 1 størrelsesorden). Dette indledende fald i koncentrationer er formentlig direkte relateret til massejernelsen ved den termiske oprensning. I de øvre filtre blev DCE dominerende. Der observeredes fortsat aftagende koncentrationer frem til 2008, hvorefter DCE og VC steg til maksimalt niveau i 2009 (se tidsserie for F3-3 i bilag 4). Dette illustrerer at nedbrydning siden omkring 2008 har bidraget til reduktionen af PCE og TCE i grundvandet. Derefter skete der et mindre tilbageslag af TCE og PCE til maksimalt niveau i 2012 (omkring samme niveau som 7-8 mdr. efter oprensningen), hvorefter det atter er aftaget for alle de chlorerede ethener. En del af variationen i total koncentrationerne i transektet efter 2007 (i F3 indenfor faktor 7) kan meget vel skyldes fluktuationer i vandspejlsniveau, strømningsretning og -hastighed.

Forholdet mellem stofferne og den fortsatte tilstedeværelse af VC viser at nedbrydning stadig spiller en rolle umiddelbart nedstrøms det oprensede kildeområde. Dette bestyrkes af isotopfraktionering og tilstedeværelse af aktive specifikke nedbydere. Tilstedeværelse af forhøjet NVOC og et reduceret redoxmiljø (ingen ilt men opløst jern) viser fortsat rimeligt gunstige forhold for nedbrydning i de øvre filtre i F-transektet.

Nogenlunde det samme gør sig i 2014 gældende i den øvre del af magasinet ud til mellem 350 og 750 m afstand fra kildeområdet med mest markante andel af DCE omkring 90 m fra kildeområdet. Men i lidt dybere filtre er i 350 m og 750 m afstand set et forøget indhold af PCE omkring 2010 hhv. omkring 2010-2013. Dette kan muligvis skyldes øget opløsning af PCE i kildeområde ved initiale opvarmning for termisk behandling eller ændrede strømningsforhold i/fra kildeområdet under oprensningen (langsommere flow – længere kontaktid, ændret strømningsretning ved kilde med ændret kontakt). Den direkte effekt af oprensningen i kildeområdet på koncentrations-niveauet synes i 2014 at være slået igennem til en afstand af >750 m nedstrøms. Den øgede nedbrydning i og umiddelbart nedstrøms det oprensede område direkte afledt af NVOC frigivelse synes i 2014 at være slået igennem til minimum 350 m afstand.

5. Udvikling i redoxforhold i fanen

Foruden påvirkningen af redoxforholdene i den øvre zone nær (og ud til 750 m nedstrøms) kildeområdet ses en betydelig forandring i redoxforholdene i området fra mellem 750 og 1100 m og ud til omkring 1500 m nedstrøms, som svarer til området, hvor fanen dykker dybere ned i magasinet (figur 3.4 og 6.1). I denne afstand (data fra 1100 og 1450 m), forsvinder opløst jern og sulfatkoncentrationerne er aftaget i forhold til niveauet i 2006-7. Dette kan enten skyldes, at der sker mindre pyritoxidation end tidligere, da tilstrømmende vand er mere reduceret, og/eller at der er sket en reduktion af sulfat resulterende i udfældning af jernsulfid. Detektion af methan i denne afstand i 2014 modsat tidligere indikerer mere reducerede forhold. Yderst i fanen (>1600 m) ses fortsat jernreducerende forhold og tendens til større udbredelse af methan.

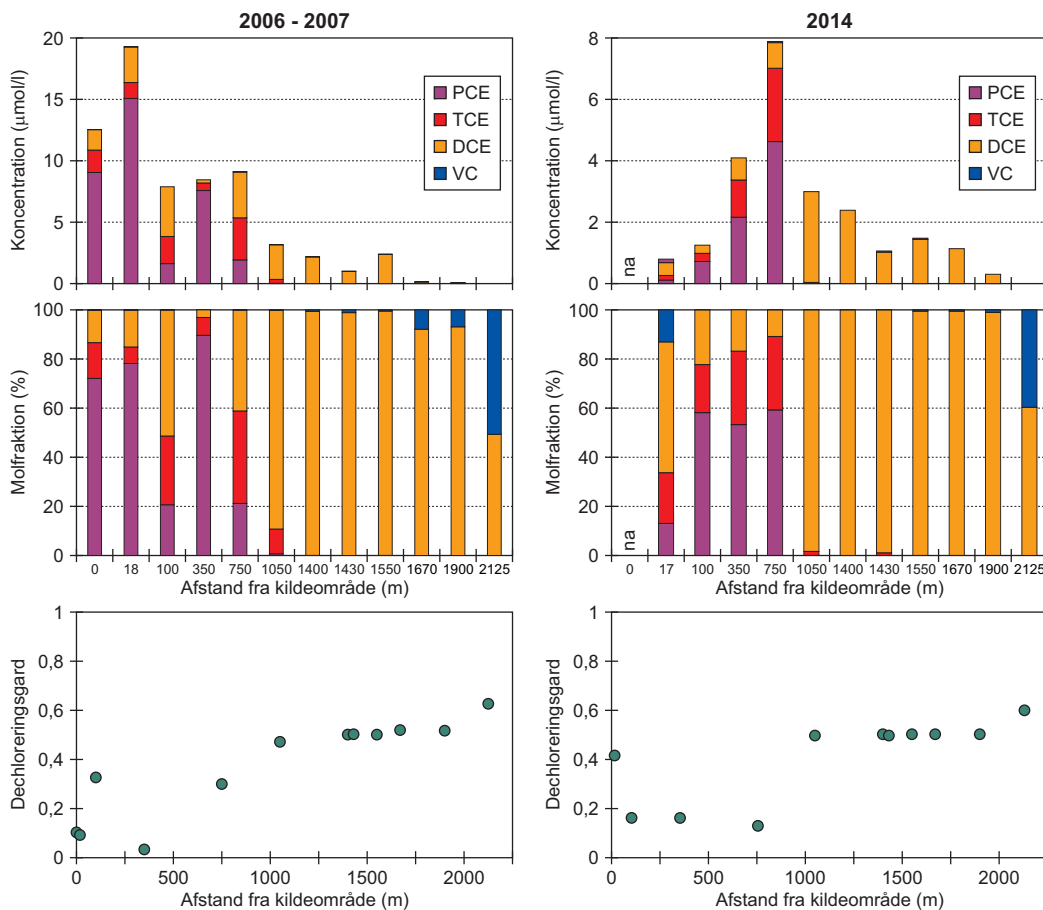
Der er tilsyneladende sket påvirkning af redoxmiljøet i >1450 m afstand fra kildeområdet. Dette bestyrkes af at den største udbredelse af klart forhøjet NVOC (~750 m) observeredes i 2010, og at der ikke blev detekteret ilt i fanen i 2010. Dette tyder på, at flowet langs strømlinien er af størrelsesorden en faktor 2(-3) højere langs strømlinien end den tidligere estimerede gennemsnitlige strømningshastighed i magasinet. Den potentielle variation i hydraulisk ledningsevne i grundvandsmagasinet taget i betragtning er dette et sandsynligt scenarie. Såfremt dette er tilfældet, betyder det, at nedbrydnings-hastighederne for de chlorerede ethener tidligere kan være underestimeret (maksimalt) tilsvarende. Hvilket dog formodes at kunne ligge indenfor naturlig tidslig variation.

6. Udvikling i nedbrydning i fanen

Koncentrationer og sammensætning af chlorerede ethener samt dechloreringsgrad (PCE moderstof) for filtrene langs strømlinien (figur 3.2) for 2006-7 og 2014 er sammenstillet i figur 6.1.

Figuren illustrerer tydeligt de lavere koncentrationer umiddelbart nedstrøms og ud til mellem 350 og 750 m fra kildeområdet og den i dette område ved den termiske oprensning initierede nedbrydning. Ligeledes ses den fortsatte nedstrøms udbredelse af cDCE.

Hvor koncentrationsniveauet i og umiddelbart nedstrøms kildeområdet før oprensningen af kildeområdet i 2006 var det absolut højeste i fanen, er det efter oprensningen aftaget 2-3 størrelsesordener (øverste filtre). Størstedelen skete umiddelbart efter oprensningen som en direkte følge heraf. I 2014 træffes det højeste koncentrationsniveau omkring 750 m nedstrøms kildeområdet. Her har koncentrationsniveauet været stigende frem til 2012-13 men aftager tilsyneladende nu, mens NVOC var højest og mest udbredt i 2010 (lav retardation sammenholdt med chlorerede ethener).



Figur 6.1. Sammenligning af udvikling i stofkoncentration og –sammensætning samt dechloreringsgrad langs den forventede strømlinie ud gennem fanen for 2006-7 og 2014. Bemærk at 0 og 18 m for 2006(-7) er repræsenteret ved de nederste filtre i B5 og B11. Koncentrationerne i de øverste filtre var 2 hhv. 1 størrelsesorden højere. Idet disse borer blev fjernet ved oprensningen er F3-3 (øverste filter) medtaget i 2014 (17 m).

Sammensætningen af chlorerede ethener, carbon- og chlor-isotopfraktionering og redoxforhold er sammenholdt for filtrene langs strømningslinien (figur 3.2) for 2006-7 i figur 6.2a og 2014 i figur 6.2b.

Den termiske oprensning ledte til frigivelse af opløst organisk stof (NVOC), hvilket ledte til ændring af redoxforholdene og stimuleret nedbrydning af chlorerede ethener umiddelbart nedstrøms kildeområdet. Nedbrydningen har bidraget til at nedbringe forureningen. Forureningen umiddelbart nedstrøms kildeområdet bestod oprindeligt overvejende af PCE og TCE, og tegn på videre nedbrydning var sparsomme (Figur 6.2a). I 2014 viser tilstedeværelse af cDCE og VC, carbon isotopfraktionering for PCE, TCE og cDCE samt mikrobiel aktivitet for Dhc nedbrydning af cDCE såvel som TCE og PCE umiddelbart nedstrøms, i 90 m afstand og øverst i magasinet i 350 m afstand samt nedbrydning af VC umiddelbart nedstrøms (17 m), Figur 6.2b.

Chlor-isotopfraktionering understøtter nedbrydningen af PCE og TCE. Der observeres lineær sammenhæng mellem chlor- og carbon-isotopfraktioner med en hældning på ca. 3 for PCE og ca. 2,7 for TCE (Figur 3.9). Dette stemmer

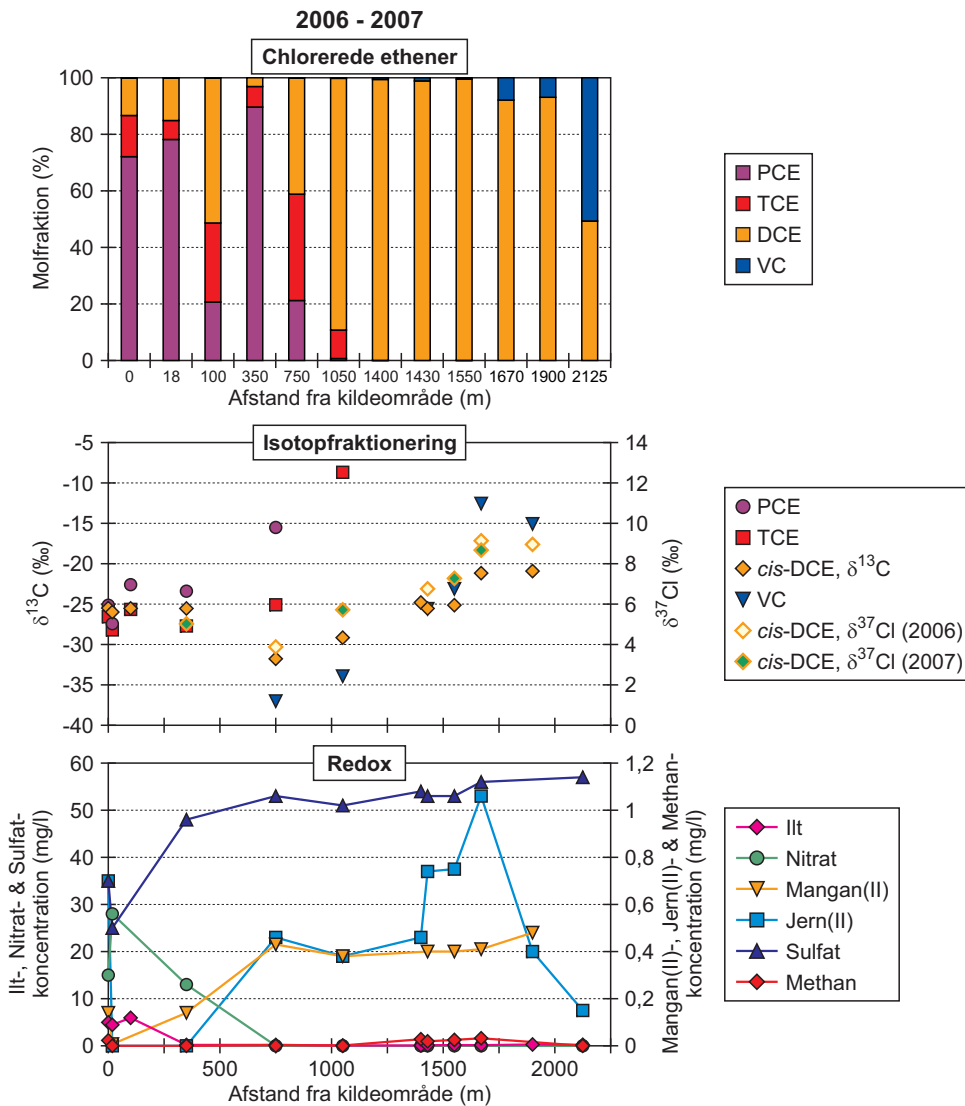
rimeligt overens med observationer under anaerob mikrobiel nedbrydning ved reduktiv dechlorering.

Dybere i magasinet i 350 m og i 750 m afstand viser isotopdata i 2014 dannelse af cDCE (dvs nedbrydning af PCE og TCE til DCE), Figur 3.8b. Høj mikrobiel aktivitet af Dhc (350 m afstand, Tabel 3.1) kan indikere videre nedbrydning af DCE, om end VC koncentrationen er meget lav, og hverken ethen (nd) eller specifikke nedbrydere med genet for VC nedbrydning ved reduktiv dechlorering er detekteret. Her i 350 m afstand er den største bredde i mikrobiel sammensætning konstateret ved "Pyrotaq" sekventering. Den omfatter både anaerobe dechlorerende bakterier, herunder Dehalogenimonas kendt for komplet dechlorering, og aerobe DCE og VC oxiderende bakterier, bl.a. Polyaromonas (Tabel 3.2a-c). Dette tyder på, at flere mikrobielle sideløbende nedbrydningsmekanismer og -processer finder sted. Redoxforholdene skifter ret dramatisk med dybden i denne afstand, med skift fra nitratreduktion og pyritoxidation til jern- og sulfatreduktion med formodet jernsulfid udfældning (formentlig overlappende indenfor de enkelte filterstrækninger) og varieret NVOC indhold, hvilket også stemmer godt med meget bred sammensætning af bakterier.

Detektion af specifikke nedbrydere (Dhc) og aktivitet (i enkelt filter) i 1050 m bestyrker vurderingen af, at DCE nedbrydes, og manglende detektion af Dhc med gener for VC reduktion stemmer med manglende VC nedbrydning. Betydelig DCE nedbrydning uden hverken ophobning af VC eller videre nedbrydning af VC hænger imidlertid dårligt sammen med nedbrydning ved biologisk reduktiv dechlorering.

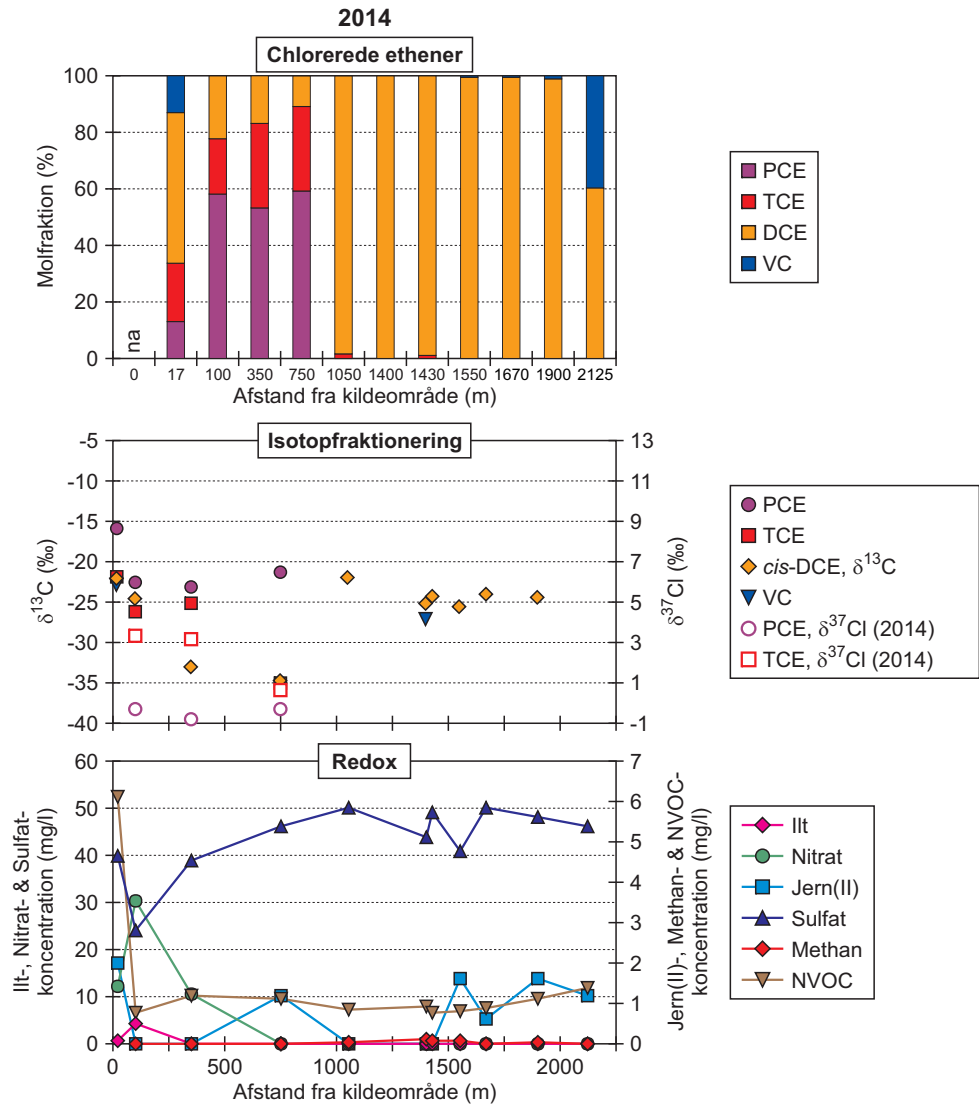
"Pyrotaq" sekventering afslører også her en meget kompleks sammensætning af bakterier med både dechlorerende og oxiderende bakterier, som tyder på blandede nedbrydningsmekanismer og -processer. Redoxforholdene er vurderet at være jern- til sulfatreducerende med formodet udfældning af jernsulfid (FeS). Der er truffet bakterier kendt for aerob oxidation af DCE og/eller VC, om end overraskende under så reducerede forhold. Det er os ubekendt, om de kan oxidere stofferne under jern- eller sulfatreducerende forhold.

I 1050 m afstand fra kildeområde viste sammensætning af chlorerede ethener og isotopfraktionering i 2006-7 samstemmende, at PCE og TCE var omtrent komplet omsat til DCE, som ophobedes (Figur 6.2a). VC isotopfraktionering og detektion af VC afslørede begyndende omsætning til VC. I 2014 er PCE og TCE i de fleste filtre blevet for lave til bestemmelse af isotopfraktionering, og for cDCE viser carbon-isotopfraktionering tydelig nedbrydning (Figur 6.2b). Der er således sket en betydelig positiv ændring af nedbrydningen af de chlorerede ethener. Dette er i fin overensstemmelse med et mere reduceret miljø afspejlet i redoxfølsomme parametre. Der er kun sket en beskedent forøgelse i de i forvejen meget lave VC koncentrationer i 1050 m (Figur 3.6a-b), og dermed en ubetydelig ændring i dechloreringsgrad (Figur 3.7). Baseret på VC isotopfraktionering dokumenteredes det i 2006-7, at det skyldtes videre nedbrydning af VC. I 2014 viser carbon-isotopfraktionering derimod blot initial dannelse af VC i det ene filter, hvor VC koncentrationen var tilstrækkelig for bestemmelse deraf.



Figur 6.2a: Sammenligning af udvikling i stofsammensætning med isotopfraktionering og redoxforhold langs den forventede strømlinie ud gennem fanen for 2006-7.

Der er (endnu) ikke foretaget analyser for cDCE chlor-isotopfraktionering i 2014. I 2006-7 blev konstateret lineær sammenhæng mellem chlor- og carbon-isotopfraktionering for cDCE med en hældning på ca. 2 (Figur 3.9). Sammenholdes hældningen med publicerede værdier for cDCE for biotisk aerob nedbrydning, biotisk anaerob reductiv dechlorering og abiotisk nedbrydning, kan resultatet tyde på abiotisk nedbrydning. Det er kendt at både pyrit og FeS kan resultere i abiotisk reduction af chlorerede ethener (fx Damgaard et al. 2013). Ved abiotisk reduction er dichloroelimination typisk dominerende for cDCE resulterende i nedbrydning overvejende til acetylene, ethen og ethan og med yderst beskedne production af VC. Oxidation af acetylen, ethen og ethan er mulig under jern- til sulfatreducerende forhold. Dannelse af frisk FeS ved sulfat reduction, som er indikeret af redoxparametre i 2014 i modsætning til 2006-7, i B34 (1050 m) og B47/B58 (1450 m), peger på, at en øget abiotisk nedbrydning af cDCE kan være medvirkende årsag til den observerede større omsætning af cDCE i 1050 m (B34) i 2014 (Figur 6.2a-b og Figur 3.8a-b).



Figur 6.2b: Sammenligning af udvikling i stofsammensætning med isotopfraktionering og redoxforhold langs den forventede strømlinie ud gennem fanen for 2014.

Længere ude i fanen (1400-2100 m) viser dataene i både 2006-7 og 2014 dominans af DCE (Figur 6.2a-b). Samlet set er koncentrationen af cDCE i fanen aftaget. Udbredelsen af cDCE er imidlertid steget, hvorimod hverken koncentration eller andel af VC er steget. I 2006-7 viste isotopfraktionering nedbrydning af både cDCE og VC yderst i fanen. I 2014 er andelen af cDCE, som (baseret på data for carbon-isotopfraktionering) er nedbrudt, længere ude i fanen imidlertid mindre end i 1050 m (Figur 6.2b). Tidsserier for chlorerede ethener og carbon-isotopfraktionering for B60-2, B61-2 og B64-1 (alle på strømlinien yderst i fanen) viser aftagende berigelse i ^{13}C for cDCE og specielt for VC i perioden 2007-2010-2014 (Bilag 15 og Figur 6.2a-b). Dette indikerer, at der er sket et skift i perioden fra langsom cDCE nedbrydning og relativt hurtigere VC nedbrydning til mere beskeden nedbrydning af cDCE med beskeden dannelse og ringe nedbrydning af VC. Med større cDCE nedbrydning i 1050 m og mindre nedbrydning længere nedstrøms, altså varierende nedbrydning i magasinet, er det ikke muligt at bestemme nedbrydningshastighed på basis af isotop-dataene. I 2007 blev detekteret Dhc i 2 prøver udtaget yderst i fanen

(B60), mens det alene er ved ”Pyrotaq” sekventering at Dhc er detekteret (B58 og B61) yderst i fanen i 2014. ”Pyrotaq” sekventering afslører imidlertid også en bred sammensætning af bakterier her yderst i fanen med både anaerobe dechlorerende bakterier og specielt i de øvre filtre også oxiderende bakterier. Da cDCE er helt dominerende, må bakterier, som er halorespirerende, forventes fortrinsvis at ånde på/nedbryde cDCE, om end transport af bakterier med grundvandsstrømmen fra opstrøms områder måske kan forekomme. Dette indikerer således, at biotisk reduktiv dechlorering af cDCE forekommer også i den yderste del af fanen.

Den samlede belastning i den ydre del af fanen (>1000 m) og andelen af VC i denne er aftagende. På sigt kan det afhængigt af udviklingen i redoxforhold føre til at fanen stagnerer.

7. Konklusioner og perspektivering

Forureningsfanen:

Koncentrationsniveauet i og umiddelbart nedstrøms kildeområdet er blevet væsentligt lavere som direkte effekt af oprensning i kildeområdet.

Frigivelse af NVOC ved den termiske oprensning i kildeområdet har ført til stimulering af PCE, TCE og cDCE nedbrydning ved reduktiv dechlorering fra kildeområdet til mellem 350 m og 750 m nedstrøms samt af VC umiddelbart nedstrøms det behandlede område.

Nedbrydningen sker potentielt ved flere forskellige sideløbende nedbrydningsprocesser. Specielt i 350 m ses en meget stor variation i redoxforhold over dybden, og der er observeret en meget bred sammensætning af bakterier med realt høje indhold af Dhc og andre anaerobe dechlorerende bakterier samt af aerobe oxiderende bakterier.

Der er endvidere sket en yderligere reduktion af miljøet centralt i fanen (>750/1050-1450 m nedstrøms behandlingsområdet), som muligvis er en afledt effekt af den termiske oprensning og frigivelsen af organisk stof. Dette har medvirket til en væsentlig øget nedbrydning af specielt cDCE, som specielt kommer til udtryk i 1050 m (B34), i fanen.

Den øgede nedbrydning af DCE centralt i fanen sker tilsyneladende uden forøgelse af VC i fanen. Inddragelse af ny viden omkring dobbelt-isotop udvikling ved forskellige nedbrydningsprocesser ved tolkning af cDCE isotopdata fra 2006-7 indikerer, at abiotisk nedbrydning kan være af væsentlig betydning i fanen. Udvikling af jern-sulfat reducerende forhold med udfældning af frisk FeS kan have resulteret i øget abiotisk nedbrydning, hvilket kan være en forklaring på øget DCE nedbrydning uden øget dannelse af VC.

Fanen udbreder sig fortsat langsomt i nedstrøms retning, og yderst i fanen er cDCE såvel som VC nedbrydning tilsyneladende aftaget (en mindre andel er

nedbrudt i 2014 end i 2006-7). En relativt bred sammensætning af bakterier med flere anaerobt dechlorerende bakterier og jernreducerende forhold samt potentiel abiotisk nedbrydning med beskeden VC dannelse virker dog lovende for fortsat massefjernelse i fanen.

Den samlede forureningsmasse i fanen er aftagende. Det er ikke muligt at forudsige, om de mere reducerende forhold centralt i fanen vil brede sig nedstrøms, stagnere eller ligefrem vende tilbage til mindre reducerede. Men frigivelsen af NVOC fra det behandlede område forventes fortsat at aftage. Ilt og nitrat infiltrerer med nedbør til magasinet og kan føre til, at pyritoxidation igen bliver en dominerende redoxproces. Begge forhold har mindre reducerede redoxforhold til følge. Det er derfor meget vanskeligt at forudsige, om naturlig nedbrydning med tiden kan føre til komplet fjernelse af forureningen.

Risikoen ved fanen er aftaget betydeligt med de aftagende koncentrationer og den aftagende VC dannelse. Risikoen forventes ikke at øges, idet koncentrationsniveauet ikke stiger, og der ikke er nogen indikationer på væsentlig produktion eller ophobning af VC.

Erfarigen fra udviklingen efter den termiske oprensning viser, at det er muligt at stimulere såvel abiotisk som biotisk nedbrydning i fanen. Ved aggressiv stimulering af biotisk nedbrydning, vil der være en risiko for at øge andelen af VC i fanen. En mere forsigtig stimulering (lavere donortilførsel, ingen bioaugmentering) af fortrinsvis abiotisk og i mindre grad biotisk nedbrydning med ringe dannelse af VC er formentlig mulig – om end mere tidskrævende. Stimulering af biotisk dannelse af reducerede jernminerale ved donor tilførsel for stimulering af abiotisk nedbrydning af chlorerede ethener er primært kendt for TCE som ISCR eller BiRD. Viden om dette for cDCE er yderst beskeden og treatability forsøg i laboratoriet og evt. pilotforsøg i felten må anbefales for dimensionering.

Metoderne:

Anvendelsen af nyere stabile isotopmetoder og mikrobielle metoder har givet indsigt i kompleksiteten af nedbrydningsprocesser i forureningsfanen og givet essentiel information for vurdering af nedbrydningen og risikovurdering for forureningsfanen.

Anvendelsen af dobbelt-isotopfraktionering, som kombinationen af stabile carbon- og chlorisotoper, i forskningen har bidraget med dataset og viden, som gør disse langt mere anvendelige i vurdering af betydende nedbrydningsprocesser i forureningsfaner.

Muligheden for bestemmelse af aktivitet af specifikke nedbrydere er også et væsentligt nyt værktøj i vurdering af nedbrydning. En større følsomhed af metoden og bedre viden om sammenlignelighed af bestemmelser af specifikke nedbrydere ved forskellige metoder er ønskelig. Udvikling af metode til kvantificering og bestemmelse af aktivitet af Dhg og Dhg med vinylchlorid reduktasegen er ønskelig.

Amplicon sekventering (anvendt type ”Pyrotaq”) er et helt nyt værktøj i relation til grundvandsforurening, og viden omkring tolkningen af det ekstremt komplekse datasæt er omtrent ikke eksisterende. Der er fortsat et betydeligt behov for bedre forskningsmæssig forståelse og udvikling af tolkningsredskaber. I dag er det en hjælp til at identificere mulige nedbrydningsprocesser og nedbrydere, som kan være ansvarlige for nedbrydningen i grundvandsmagasiner. På sigt forventes det at kunne blive et mere generelt anvendeligt værktøj for forståelse af nedbrydning i forureningsfaner.

Referencer

- Abe, Y., Aravena, R., Zopfi, J., Shouakar-Stash, O., Cox, E., Roberts, J.D., and Hunkeler, D., 2009. Carbon and Chlorine Isotope Fractionation during Aerobic Oxidation and Reductive Dechlorination of Vinyl Chloride and cis-1,2-Dichloroethene. *Environ. Sci. Technol.*, 43 (1), 101-107. DOI: 10.1021/es801759k.
- Audí-Miró, C., Cretnik, S., Otero, N., Palau, J., Shouakar-Stash, O., Soler, A., Elsner, M., 2013. Cl and C isotope analysis to assess the effectiveness of chlorinated ethene degradation by zero-valent iron: Evidence from dual element and product isotope values. *Applied Geochemistry*, 32, 175–183.
- Badin, A., Buttet, G., Maillard, J., Holliger, C., and Hunkeler, D., 2014. Multiple Dual C–Cl Isotope Patterns Associated with Reductive Dechlorination of Tetrachloroethene. *Environ. Sci. Technol.* dx.doi.org/10.1021/es500822d.
- Broholm, M.M., Hunkeler, D., Abe, Y., Jeannotat, S., Aravena, R., Westergaard, C., Jacobsen, C.S. og Bjerg, P.L., 2009. Vurdering af naturlig nedbrydning af PCE i grundvandsmagasinet ved isotopfraktionering. Miljøstyrelsen. Miljøprojekt Nr. 1262 2009, pp83.
- Cretnik, S., Thoreson, K.A., Bernsteain, A., Ebert, K., Buchner, D., Laskov, C., Haderlein, S., Shoukar-Stash, O., Kliegman, S., McNeill, K., Elsner, M., 2013. Reductive dechlorination of TCE by chemical model systems in comparison to dehalogenating bacteria: Insights from dual element isotope analysis ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$). *Environ. Sci. Technol.*
- Damgaard, I., Bjerg, .L., Bælum, J., Scheutz, C., Hunkeler, D., Jacobsen, C.S., Tuxen, N., and Broholm, M.M., 2013. Integrated characterisation of chlorinated ethenes and ethanes degradation in clay till. *Journal of Contaminant Hydrology*, 146: 37-50.
- Bælum, J., Chambon, J.C., Scheutz, C., Binning, P.J., Laier, T., Bjerg, P.L., Jacobsen, C.S., 2013. A conceptual model linking functional gene expression and reductive dechlorination rates of chlorinated ethenes in clay rich groundwater sediment. *Water Research* 47, 2467-2478.
- Hedeselskabet, 2006. Tidligere Renseri, Clip Rens, Fladhøjvej 1, Rødekro. Fanekortlægning og Risikovurdering. Sønderjyllands Amt. November 2006.
- Hunkeler, D., Van Breukelen, B.M., Elsner, M., 2009. Modeling Chlorine Isotope Trends during Sequential Transformation of Chlorinated Ethenes. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 6750–6756.
- Hunkeler, D. Abe, Y., Jeannotat, S., Westergaard, C., Jacobsen, C.S., Aravena, R., and Bjerg, P.L., 2011. Assessing chlorinated ethene degradation in a

- large scale contaminant plume by dual carbon-chlorine isotope analysis and quantitative PCR, *J. Contam. Hydrol.*, 119, 69-79.
- Kotik, M., Davidova, A., Voriskova, J., Baldrian, P., 2013. Bacterial communities in tetrachloroethene-polluted groundwaters: A case study. *Science of the Total Environment*, 454-455, p 517-527.
- Kuder, T., vanBreukelen, B.M., Vanderford, M., Philp, P., 2013. 3D-CSIA: Carbon, chlorine, and hydrogen isotope fractionation in transformation of TCE to ethene by a Dehalococcoides culture. *Environ. Sci. Technol.*
- Larsen, T., 2007. Oprensning af kildeområde med damp – udfordringer i den mættede zone. Det tidlige centralrenseri i Rødekro. ATV Vintermøde om jord- og grundvandsforurening. Marts 2007.
- Orbicon, 2008. Tidligere renseri, Clip Rens, Fladhøjvej 1, Rødekro. Fanekortlægning og Risikovurdering. Region Syddanmark. August 2008.
- Orbicon, 2011. Tidligere renseri, Clip Rens, Fladhøjvej 1, Rødekro. Monitoring. Region Syddanmark. Juni 2011.
- Scheutz, C., Durant, N., Dennis, P., Hansen, M.H., Jørgensen, T.H., Jakobsen, R., Cox, E., Bjerg, P.L., 2008. Concurrent Ethene Generation and Growth of Dehalococcoides Containing Vinyl Chloride Reductive Dehalogenase Genes During an Enhanced Reductive Dechlorination Field Demonstration. *Environ. Sci. Technol.* 42, 9302–9309.
- Wiegert, C., Mandalakis, M., Knowles, T, Polymenakou, P, Aeppli, C., Machackova, J., Holmstrand, H., Evershed, R.P., Pancost, R., Gustafsson, O., 2013. Carbon and chlorine isotope fractionation during microbial degradation of tetra- and trichloroethene. *Env. Sci. Technol.*, 47(12): 6449-56.