

KLOORIYHDISTEIDEN DEHALOGENAATIO ANAEROBISSESSA JOKISEDIMENTISSÄ - MALLIAINEENA PENTAKLOORIBENTSEENI

Martti Ylätupa

Tutkimuksen tarkoitus

- Tutkia pentaklooribentseenin (PeClBz) avulla klooriyhdisteen hajoamisprosessia
- Pyrkiä tunnistamaan Cl-yhdisteitä hajottavia mikrobiryhmiä
- Tutkia, onko eri paikkojen välillä eroavaisuuksia dehalogenaationopeudessa

Hypoteesit

- Klooriyhdisteet hajoavat eri nopeuksilla eri tutkimuspaikoissa
- Kuusankoski ollut pisimpään saastuneena
 - hajotustoiminta on siellä tehokkainta?

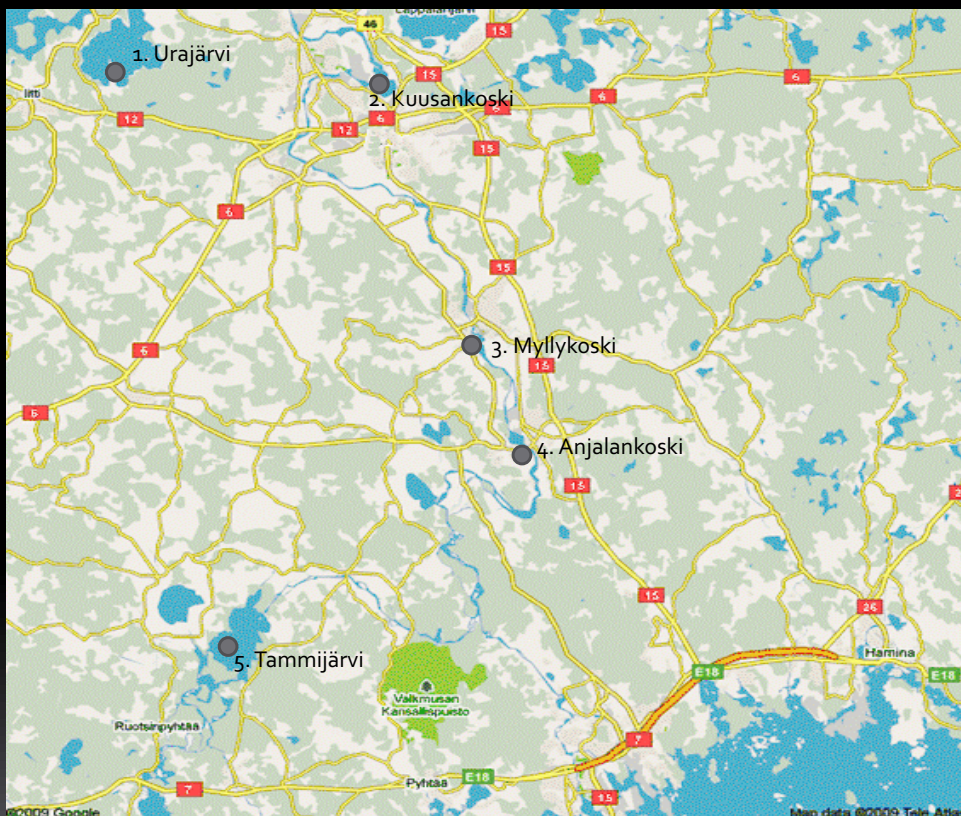
Taustaa

- Teollisuudesta klooriyhdisteitä Kymijokeen
 - Esim. puunsuoja-aine Ky-5
 - Kymijoki on yksi maailman pahiten dioksiineilla ja furaaneilla saastuneista joista
 - Dioksiinit ja furaanit hitaasti hajoavia
- ⇒ Tutkiminen on hidasta
- Nopeammin hajoavan malliaineen avulla dehalogenaation tutkiminen nopeampaa

Dehalogenaatio

- Usein anaerobinen biohajoaminen alkaa pelkistävällä dehalogenaatioreaktiolla (Holliger & Schumacher, 1994).
- Klooripitoiset kongeneerit toimivat hyvinä substraatteina anaerobisessa hajotuksessa (Abraham ym. 2002).
- Esim. *Dehalococcoides sp.* kanta CBDB₁ kykenee käyttämään pentaklooribentseeniä elektronin vastaanottajana energia-aineenvaihduntansa prosessissa, jossa vety toimii elektronidonorina (Jayachandran ym. 2003).

Näytteenottoapaikat



Menetelmät

- Sedimenttiä 5 eri paikasta, kahdelta eri syvyydeltä (0-15 ja 15-35 cm)
 - Näytteenotto huhti- ja toukokuussa 2009
 - SYKE mukana sedimenttinäytteenotossa



Menetelmät

- Kuivaa sedimenttijauhetta 1 g 50 ml mikrokosmukseen
 - Päälle 50 μ l PeClBz (2,5 μ g/ml)
 - Annettiin haihtua yön yli
- märkää sedimenttiä (25 %), jokivettä (75 %)
 - 50 ml seosta kuhunkin mikrokosmukseen
 - N₂ avulla O₂ pois mikrokosmoksista
- Elektronidonori-liuosta 500 μ l/mikrokosmos
 - Na-asettaatti, Na-propionaatti, Na-DL-laktaatti ja Na-butyraatti



Menetelmät

- Resazuriinia mikrokosmoksiin redox-indikaattoriksi
- 3 rinnakkaista mikrokosmosta
- Lisäksi 3 tapettua näytettä, joihin lisätty PeCIBz
- Myös 3 blankkinäytettä, joihin ei lisätty PeCIBz:aa

Menetelmät

- Näytteenotto (1 ml) 0, 5, 9, 14 ja 20, 27 ja 37 vkoa mikrokosmosten perustamisesta
- Mikrobiologiset näytteet 0 ja 20 vko kohdalla
- Näytteenotto typpivirran alla
- Kemiallinen analyysi GC-MS:llä
- Jos hajotusta tapahtuu=> rikastusviljelmät



Näytteiden käsittely

- Kemialliseen analyysiin käytettävien näytteiden sulatus
- PCB-30 sis. standardiksi
- Uutto asetoni-tolueeni –uuttoliuoksella
- Ultraäänihaude 30 min
- Ravistelu väh. 16 h 300 rpm
- Sentrifugointi ja liuotinfaasin siirto Kimax-putkeen
- Lisätään uusi uuttoliuos, UÄ-haude 30 min
- 2-3 h ravistelu ja liuotinfaasin siirto
- Haihdutus ja Florisil-puhdistus
- haihdutus ja siirtäminen ajopulloihin
- Analysointi GC-MS Shimadzu QP2010 Ultra

Muuta

- Lämpötila vaikuttaa hajotukseen
⇒ Kymijoen sedimentin lämpötilan seuranta kahden lämpömittarin avulla
- Tulosten avulla voidaan saada lisätietoa *in situ* -bioremediaation mahdollisuuksista

Kiitos !



<http://static.panoramio.com/photos/original/1264775.jpg>

Viitteet

- W-R. Abraham, B. Nogales, P. N. Golyshin, D. H. Pieper & K. N. Timmis, 2002: Polychlorinated biphenyl degrading microbial communities in soils and sediments – *Current Opinion in Microbiology*, 5:246–253
- C. Holliger & W. Schumacher 1994: Reductive dehalogenation as a respiratory process – *Antonie van Leeuwenhoek* 66: 239-246
- G. Jayachandran, H. Görisch & L. Adrian 2003: Dehalorespiration with hexachlorobenzene and pentachlorobenzene by *Dehalococcoides* sp. strain CBDB1 – *Archives of Microbiology* 180: 411–416