

Global forurening af den grønlandske indlandsis med miljøfremmede stoffer og tilstedeværelsen af levedygtige mikrobielle kim

Mikkel Bender, Gitte Felding og
Carsten Suhr Jacobsen



Global forurening af den grønlandske indlandsis med miljøfremmede stoffer og tilstedeværelsen af levedygtige mikrobielle kim

Mikkel Bender, Gitte Felding og
Carsten Suhr Jacobsen

Indholdsfortegnelse:

Sammendrag:	3
Projektets forløb:	4
Udtagning af prøver	8
Lokaliteter	9
Analyser af udvalgte stoffer:	10
Pesticider og metabolitter.....	10
PAH og PCB	10
Analysemetoder	10
Mikrobiologiske analyser:	12
Prøvetagningsprocedure:.....	12
Levedygtige kim:	12
Karakterisering af hyppigst forekommende bakterier:	12
Resultater af kemiske undersøgelser:	13
Udvalgte stoffer:	13
Forekomst.....	14
Resultater af mikrobiologiske undersøgelser:	16
Levedygtige bakteriekim:	16
Mikroskopiske undersøgelser af prøverne:	18
Indledende karakterisering:.....	18
Karakterisering på API-strimler:.....	19
Sekventering:	19
Konklusion:	22
Kemiske undersøgelser:	22
Mikrobiologiske undersøgelser:.....	22
Referencer:	23

Sammendrag:

Projektet "Global forurening af den grønlandske indlandsis med miljøfremmede stoffer og tilstedeværelsen af levedygtige mikrobielle kim" er et pilotprojekt, hvis formål var at undersøge den kemiske og mikrobielle forurening af de grønlandske indlandsis i relation til isens alder. Projektet er primært finansieret af DANCEA. I projektet blev der indsamlet isprøver fra fire forskellige lokaliteter på indlandsisen, repræsenterende is af forskellig alder. Prøverne blev indsamlet med anvendelse af aseptiske teknikker og analyseret for indholdet af pesticider, PAH-forbindelser (Polycykliske Aromatiske Hydrocarboner), PCB (PolyChlorerede Biphenyler) samt levedygtige mikrobielle kim.

Miljøfarlige stoffer og levedygtige mikrobielle kim er påvist i det arktiske område, men for Grønlands vedkommende savnes der en beskrivelse af, hvilke organismer og stoffer der udover PAH'erne er indlejret i indlandsisen. Grænseoverskridende forurening forventes at påvirke sammensætningen af de kemiske forureninger, mens forureningen med levedygtige mikrobielle kim både kan stamme direkte fra luftbårne spredte kim og/eller som mikrobiologisk liv i isen, herunder formodentlig især den overflade.

Isen fra gletscher 1AH0200 ved Narsarsuaq indeholdt ikke påviselige rester af de 72 pesticider, 15 PAH forbindelser samt 7 PCB forbindelser, der blev analyseret for. Isen her er mere end 1000 år gammel og indeholdt ikke detekterbar forurening.

I den unge sne, påvistes der på niveau med detektionsgrænsen 3 af de 7 PCB congenere, alle 15 PAH'er er påvist og for de fleste i koncentrationer langt over detektionsgrænserne. Derudover er pentachlorphenol påvist i en koncentration som langt overskrider, hvad der må være i drikkevand.

De mikrobiologiske undersøgelser viste, at der blev fundet dyrkbare bakterier i alle prøver. Antallet af dyrkbare bakterier var stærkt afhængig af det anvendte dyrkningsmedie, og den temperatur prøverne blev inkuberet ved. Generelt isolerede vi flere bakterier på næringsfattige medier og ved lave temperaturer.

Ved karakterisering af genopdyrkede isolater under anvendelse af dyrkningsbaserede teknikker har ingen isolater fra hverken den gamle eller den nye is vist nært slægtskab til kendte humane patogener. Ved molekylær karakterisering af genopdyrkede isolater blev der fra den gamle is ikke fundet bakteriestammer med slægtskab til kendte patogener mens der fra den unge sne fandtes flere bakterietyper med slægtskab til potentielt humant patogene bakterier.

Projektets forløb:

Projektet blev aftalt og bevilliget i august 2001. I september 2001 rejste to medarbejdere fra GEUS til Grønland (Gitte Felding (kemiker) og Ole Olesen (glaciolog)) for at udtage prøver. Isen blev herefter fragtet til GEUS der herefter undersøgte isen for indhold af kemiske stoffer og mikrobielle kim.

I maj 2002 forelå kemiske data samt de mikrobiologiske undersøgelser af kimtal og henstandsdata. Endelig afslutning af de mikrobiologiske undersøgelser afventede dog en karakterisering af isolerede organismer. Dette arbejde viste sig at være meget tidskrævende da de bakterielle isolater er vanskelige at dyrke, idet nogle isolater kun gror ved lave temperaturer og med en meget lav vækstrate. Dette betyder at hver enkelt nødvendigt dyrkningstrin medfører lange inkuberingstider. Yderligere er en molekylær karakterisering ved hjælp af ribosomale DNA sekvenser gennemført.

Baggrund:

Pesticider er en gruppe stoffer, der som bekendt anvendes verden over i forbindelse med optimering af udbyttet fra landbruget. Anvendelsen af pesticider tog for alvor sin begyndelse efter 2. Verdenskrig. Forbruget er alene i et udvidet Europa ca. 300.000 tons aktiv stof årligt.

Pesticider dækker over en gruppe stoffer med forskellige fysiske og kemiske egenskaber afhængig af til hvilket formål, de er fremstillet. Nedbør rensner atmosfæren for pesticider på såvel gasform som bundet til partikler, de afsættes derefter på jordoverfladen, gletschere, havene og vandløbene etc. De fordampede pesticider kan transporteres i atmosfæren, før de igen bliver afsat på overfladen. Hvor langt et stof transporteres afhænger af dets atmosfæriske levetid, som bestemmes af, hvor hurtigt det fjernes fra atmosfæren ved reaktion, tørdeposition og våddeposition. U.S. Geological Survey (U.S. Geological Survey, 1995) har opsummeret resultaterne fra 132 undersøgelser over pesticidindholdet i luft og regn i USA gennem ca. 30 år i en oversigtsartikel. Undersøgelserne viser at de fleste af de pesticider, der er blevet analyseret for, er fundet og at fundene repræsenterer mange forskellige kemiske grupper af pesticider; at der er påvist pesticider i atmosfæren i alle regioner i USA; at de højeste koncentrationer af pesticider forekommer i sprøjtesæsonen, og at der året igennem findes lave koncentrationer af visse langsomt nedbrydelige pesticider i atmosfæren. De hyppigst påviste pesticider er insekticiderne; DDT, HCH, heptachlor og dieldrin. Den årlige deposition af pesticider er generelt beregnet til at udgøre mindre end 1% af den mængde af pesticider, der anvendes i den pågældende region.

Der er antageligt produceret mere end 1,5 millioner tons PCB (PolyChlorerede Biphenyler) på verdensplan, produktion kulminerede omkring 1970. PCB'er er meget stabile stoffer. Atmosfæren er den vigtigste transportvej for PCB, stofferne findes globalt og deres påvirkninger er klart uønskede (eksempelvis påvirker de formeringsevnen). Ved 20°C forekommer PCB i gasfase, ved lavere temperatur vil der ske en kondensering og adsorption til partikler. Vandopløseligheden af PCB er meget lav, så et eventuelt indhold i indlandsisen vil formentlig skyldes indlejring af partikler med adsorberet stof.

I rapporten AMAP fra 1998 (AMAP Assessment Report: Artic Pollution Issues. Artic Monitoring and Assessment Program) er tilstedeværelsen af POP's (Persistente Organiske Pollutants) i det arktiske miljø beskrevet. Det er stoffer, som HCH'er, PCB'er, DDT'er, PAH'er, HCB og toxaphener.

Indholdet af stofferne er bestemt i dyr, sediment, hav og sø vand, luft, regnvand og sne, det er dog meget beskedent, hvad der er af undersøgelser, hvor sneens indhold af miljøfremmede stoffer er undersøgt. I den russiske del af Kara og Laptev havet er der i havisen og snedækket påvist HCH, DDE, DDD, DDT og PCB. Fra Canada og Rusland er der analyser af luftens og nedbørens (sneens) indhold af POP's og fra Norge (Kallenborn et al. 1991 og Enge et al. 1991), tilsvarende analyser fra Grønland, og Alaska savnes.

Den grønlandske indlandsis er analyseret for bly og kviksølv. Følgende ioner er også målt: chlorid, nitrat, sulfat, ammonium og hydrogen.

Organiske chlorholdige pesticider (HCH, DDE, DDT) er påvist i en Alpin gletscher, alderen af isen skønnes at være fra 1981-1988. (Villa et al., 2000).

I år 2000 (Masclat et al., 2000) er en undersøgelse af PAH'er (Polycykliske Aromatiske Hydrocarboner) i den grønlandske indlandsis publiceret, prøverne er udtaget i 5 meters dybde og repræsenterer perioden fra 1989 til 1993. Analyserne omfatter 14 forskellige PAH'er, deres oprindelse er blandt andet forbrænding af kul og olie, bilers udstødning, skovbrande etc. Koncentrationerne er opgivet som en sum af 12 PAH'er (undtaget er phenanthren og naphthalen) fra 0,1 til 10 µg/kg. Forureningen antages primært at komme fra Østeuropa, Rusland og Nordamerika.

I løbet af år 2000 er der i den internationale litteratur publiceret flere artikler, der viser at dyrkbare bakterier kan findes i gletschere, der kan sammenlignes med de grønlandske. I en enkelt artikel sammenlignes der summarisk resultater fra gletschere fra forskellige dele af verden (Christner et al., 2000). I en enkelt analyse af to prøver fra den grønlandske indlandsis, fandt man kun i det ene tilfælde bakterier der kunne isoleres og i dette tilfælde mindre end 1 pr. ml. Yderligere er DNA fra en række eukaryote organismer påvist i 2000 og 4000 år gamle iskerner fra den grønlandske indlandsis (Willerslev et al., 1999)

Der er i forbindelse med en mikrobiologisk analyse af en grønlandsk bræisblok fundet levedygtige mikrobiologiske kim i isen (Jacobsen, 2000). Det er imidlertid uklart om den undersøgte bræisbloks indhold af levedygtige mikrobielle kim er repræsentativ for indholdet af levedygtige mikrobielle kim i indlandsis, der kan findes ved udtagning af boreprøver. Denne usikkerhed skyldes først og fremmest den metode hvor den undersøgte is er fremskaffet. Den undersøgte isblok er fisket op at havet og der er derfor en potentiel risiko for at havvand kan have forurenet prøven.

Fra andre dele af verden er det derimod lykkedes at isolere bakterier indkapslet i is fra en række arktiske og antarktiske habitater (Christner et al., 2000; Skidmore et al., 2000; Gordon et al., 2000). Undersøgelser af levedygtige kim nedfrosset i flere hundrede år gammel is af glacial oprindelse fra Antarktis, Himalayabjergene og Andesbjergene har vist CFU-antal på helt op til 180 pr milliliter. Generelt gælder det, at disse kim hører til bakterietyper, der er istand til at danne sporeformer.

Bakteriel aktivitet ved temperaturer langt under frysepunktet er desuden påvist i sne fra sydpolen (Carpenter et al., 2000) og prøver fra den sibirske permafrost (Shi et al., 1997) samt fra is overliggende den Antarktiske subglaciale sø "Lake Vostok" tyder på eksistens af velfungerende og aktive mikrobielle økosystemer ved lave temperaturer (Priscu et al., 1999; Karl et al., 1999).

Undersøgelser af gletscheris fra arktisk Canada (Skidmore et al. 2000) har påvist en divers dyrkbar flora af coliforme bakterier om end denne dyrkbarhed blev kraftigt hæmmet ved dyrkning ved 37 grader. Forfatterne anfører dog at de observerede større pattedyr på gletscheren og at de fundne bakterier meget vel kan hidrøre fra disse dyr.

Andre undersøgelser af gletscheris fra arktisk Canada viser levedygtig tilstedeværelse af både aerobe, nitratreducerende, sulfatreducerende og metanogene bakterier. Antallet af levedygtige bakterier er afhængigt af isens indhold af organisk materiale og dyrkbarheden af organismerne er meget afhængig af dyrkningsmediets sammensætning samt dyrkningstemperatur (Skidmore et al., 2000).

Miljøfarlige stoffer er jævnfør ovennævnte påvist i det arktiske område, men for Grønlands vedkommende savnes der en beskrivelse af, hvilke stoffer der udover PAH'erne er indlejret i indlandsisen. Tilsvarende er der kun usikre rapporter om fund af levedygtige mikrobielle kim i indlandsis fra Grønland. Nærværende projekt vil være en første beskrivelse af hvilke mikroorganismer der findes i indlandsisen og hvilke miljøfremmede stoffer, der evt. er globalt spredt og indlejret i den grønlandske indlandsis.

Udtagning af prøver

Alderen på den grønlandske indlandsis varierer og kan derfor fortælle hvilke globale/lokale forureninger der har været gennem tiden, hvis forureningen da ikke bliver nedbrudt eller på anden vis forsvinder. I september 2001 blev der udtaget prøver fra 4 lokaliteter. Inden udtagningen blev de øverste cm af isen/sneen fjernet for at minimere evt. kontaminering. Prøverne blev opbevaret i Rilsan-poserTM, som er kendetegnet ved ikke at afgive nogen form for afsmitning til prøverne. Temperaturen på udtagningstidspunktet var omkring frysepunktet så prøverne blev opbevaret i flamingokasser indtil de kom i frysehus, hvor de lå til de blev sendt til Danmark. Forsendelsen foregik med skib eller fly, i begge tilfælde blev prøverne sendt som frostgoods. Prøverne er efter ankomsten blevet opbevaret ved ca. -20°C indtil analyserne er påbegyndt.

Isen/sneen blev udskåret/udtaget i frostrum. Med henblik på at sikre aseptisk prøvetagning foregik arbejdet i en laminær flow bæk og alle anvendte værktøjer var steriliseret umiddelbart inden arbejdets påbegyndelse. For at kunne detektere evt. kontamination blev sterile kontrolprøver ligeledes placeret i flowbænken under arbejdet

De udvendige flader af isblokken blev smeltet aseptisk i store bægerglas og sendt til kemiske analyser på det kommercielle laboratorium Eurofins (tidligere Miljøkemi). Resterende is/sne blev undersøgt for mikrobielle kim på GEUS.

Lokaliteter

Udtagningen af prøverne fra indlandsisen skulle foregå ved at flyve med helikopter ind på indlandsisen. Det var intentionen, at udtage prøverne med et bor således at vi fik prøver, som repræsenterede flere år. Desværre gjorde isens temperatur kombineret med borets beskaffenhed det nærmest umuligt at udtage prøverne som planlagt. Vejret var heller ikke det bedste, hvilket medførte at vi fra den første lokalitet ved Sdr. Strømfjord ikke kom op på indlandsisen. Den prøve som vi har analyseret derfra er udtaget ved med bil at køre de ca. 30 km ind til indlandsisen og der udtage en prøve. Prøven er ikke som de andre relativt uberørt, da den blev udtaget i nærheden af den "vej" der fører ind til VW's testbane og derfor antagelig vil være påvirket af den tunge trafik. Isens alder på det pågældende sted vurderes at være mere end 10000 år.

Med udgangspunkt i Narsarsuaq fik vi udtaget 3 prøver, 2 meget unge og 1 som formentlig er mere end 1000 år gammel, sidstnævnte er udtaget ca. 200 meter over havniveau på gletscheren Qaleralitt Sermia. De 2 øvrige prøver blev udtaget i nærheden i ca. 1200 meters højde begge repræsenterende årene 2000 og 2001. De ældre prøver tjener for pesticidernes og PCB'ernes vedkommende som baggrundsprøver

Prøve 3 fra station 72 ved Narsarsuaq blev kun analyseret for indhold af kemiske stoffer.

Tabel over sammenhørende værdier for prøvenummer, udtagningsdato, lokalitet, koordinater, alder, højde over havet og eventuelle bemærkninger.

Prøve nr. Udtaget dato	Lokalitet	Ca. alder i år	Koordinater	Ca. højde over havet i meter	Bemærkning er
1 2-9-2001	Sdr. Strømfjord	>10000	67° 8' N; 60° 7' W	400	Kan være forurenet
2 9-9-2001	Narsarsuaq	1	61° 18,92' N; 46° 35,15' W	1250	Station 72
3 9-9-2001	Narsarsuaq	>1000	61° 00,00' N; 46° 40,83' W	200	Qaleralitt Sermia
4 9-9-2001	Narsarsuaq	1	61° 16,44' N; 46° 47,25' W	1200	Firnen

Analyser af udvalgte stoffer:

I forbindelse med den kemiske analyse af isen er følgende stoffer udvalgt:

Pesticider og metabolitter

Der analyseres for følgende ældre pesticider: Aldrin, bromophos, bromophos-ethyl, carbofenothion, chlordan, chlofenvinphos, op'-DDD, pp'-DDD, op'-DDE, pp'-DDE, op'-DDT, op'-DDT, diazinon, dieldrin, dimethoat, endosulfan I, endosulfan II, endrin, fenitrothion, fonofos, alfa-HCH, beta-HCH, gamma-HC (lindan), delta-HCH, heptachlor, heptachlorepoxyd, hexachlorbenzen, malathion, mirex, parathion, parathion-methyl, pentachlorphenol og tetrachlorvinfos. Samt for de pesticider og nedbrydningsprodukter der typisk indgår i forbindelse med analysering af det grundvand der i Danmark anvendes til drikkevand: Alachlor, atrazin, bentazon, bromoxynil, carbofuran, 4-chlor-2-methylphenol, 4-CPP, cyanazin, 2,4-D, 2,6-DCPP, DE-atrazin, DE-terbutylazin, DIP-atrazin, dicamba, dichlobenil, 2,6-dichlorbenzamid (BAM), 2,4-dichlorphenol, dichlorprop (2,4-DP), dinoseb, DNOC, ethofumesat, fenpropimorph, fluazifop-(p)-butyl, hexazinon, ioxynil, isoproturon, lenacil, MCPA, mechlorprop, metabenzthiazuron, metazachlor, metribuzin, pendimethalin, pirimicarb, propazin, propiconazol, propyzamid, simazin og terbutylazin. Detektionsgrænsen for de fleste pesticider er 0,002 µg/l.

PAH

For PAH'ernes vedkommende medtages de 15, som EPA har på deres liste: Naphthalen, acenaphthylen, acenaphthen, fluoren, phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren, benz(a)anthracen, chrysen/triphenylen, benzofluoranthener (b+j+k), benzo(a)pyren, indeno(1,2,3-cd)pyren, dibenz(ah)anthracen og benzo(ghi)perylen. Med undtagelse af naphthalen (0,02 µg/l) er detektionsgrænsen 0,002 µg/l.

PCB

For PCB'ernes vedkommende analyseres for 7 congenere: PCB # 28, PCB # 52, PCB # 101, PCB # 118, PCB # 138, PCB # 153 og PCB # 180. Detektionsgrænsen er 0,002 µg/l.

Analysemetoder

De kemiske analyser er udført af Eurofins (tidligere Miljøkemi), som er akkrediteret til at analysere de fleste af stofferne. For at minimere kontamineringen har prøverne inden analyse for pesticider, PCB og PAH henstået et par timer således at det yderste lag er

tøet og hældt fra og dermed ikke medtaget i analysen. Der er ikke foretaget nogen form for filtrering, da eventuelle stoffer som måtte være sorberet til partikler i isen ønskes medtaget. For pesticidernes vedkommende foretages en sur og en basisk ekstraktion med dichlormethan, som efterfølgende opkoncentreres og analyseres ved gaskromatografi med massespektrometrisk detektor ved selektiv ion monitoring (GC/MS-SIM). Analyseusikkerheden RSD er 15%, ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse dog op til 50%. Til PAH og PCB analyserne anvendes en sur ekstraktion med dichlormethan efterfulgt af opkoncentrering og analysering ved gaskromatografi med massespektrometrisk detektor ved selektiv ion monitoring (GC/MS-SIM). Analyseusikkerheden RSD er 15% for PCB og 12% for PAH, ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse dog op til 50%.

Mikrobiologiske analyser:

Prøvetagningsprocedure:

Frosne prøver blev udskåret/udtaget i frostrum. Arbejdet foregik i en laminær flow bænk og alle anvendte værktøjer var steriliseret umiddelbart inden arbejdets påbegyndelse. For at kunne detektere evt. kontamination blev sterile kontrolprøver ligeledes placeret i flowbænken under arbejdet.

Levedygtige kim:

Udtagne prøver blev smeltet i sterile glasbeholdere og en delmængde blev opkoncentreret ved hjælp af sterile 0,2µm filtre. Herefter blev den opkoncentrerede prøve pladet ud på 4 forskellige medier (1/10 TSA, vandagar, coliform petrifilm samt VA petrifilm) og dyrket ved 4 forskellige temperaturer (30°C, 20°C, 5°C, -1°C). Der anvendtes såvel næringsfattige såvel som traditionelle agar-medier i et forsøg på at dække de levedygtige kims specielle krav bedst muligt. Ligeledes er de forskellige udpladningstemperaturer begrundet i potentiel diversitet i temperaturoptimum og temperatur-tolerencer hos de tilstedeværende mikroorganismer. Dannelsen af kolonier på pladerne blev herefter fulgt over en 2 måneders periode. Opkoncentrerede prøver blev yderligere analyseret ved mikroskopi.

Karakterisering af hyppigst forekommende bakterier:

Alle isolater blev nedfrosset ved -80°C og opbevares ved denne temperatur på GEUS. Udvalgte isolater (udvalgt på baggrund af deres evne til genopdyrkning på 1/TSA ved 5°C eller 20°C) er karakteriseret ved konventionelle metoder (kolonimorfologi, -farve, hastighed af kolonifremvækst ved forskellige inkubationstemperaturer, assimilations- og enzym-profil på API 20 NE). Yderligere blev alle genopdyrkede isolater karakteriseret molekylært ved sekventering af ribosomale-rDNA-sekvenser.

Resultater af kemiske undersøgelser:

Udvalgte stoffer:

I appendiks 1 kan de detaljerede data for de kemiske analyser ses. Vi fandt ingen spor af pesticider, PCB eller PAH forbindelser i prøve nr. 3 som stammer fra gletscher 1AHO200 og repræsenterer den gamle is.

Ved nærlæsning af appendiks kan det derimod ses at prøve nummer 4 taget i firnområdet ved Narsarsuaq, bestående af sne pålejret i 2000 og 2001 indeholder en række kemiske forureninger. Prøve nummer 1 som er udtaget tæt på "vejen" som går ind til VW's testbane indeholder ikke overraskende nogle lave koncentrationer af PAH'er som blandt andet kan stamme fra bilers udstødning. Prøven indeholder også pentachlorphenol, men i en koncentration lig med detektionsgrænsen, derudover er der opgivet et lavt indhold af dimethoat.

I prøve nr. 4 er indholdet af pentachlorphenol meget højt og derfor sikkert. BAM og simazin indholdet er derimod så lavt at det ikke kan tillægges nogen større betydning. Koncentrationerne af de 3 PCB'er er lig eller tæt på detektionsgrænsen og derfor også ret usikre. Alle 15 PAH'er er påvist og i koncentrationer som for de fleste er langt over detektionsgrænsen.

Tablet over prøvernes indhold af miljøfremmede stoffer.

Prøve nr./ Højde over havet i meter	Lokalitet/ Ca. alder i år	Pesticider Koncentra- tion i µg/l	PCB Koncentra- tion i µg/l	PAH Koncentration i µg/l
1/ 400	Sdr. Strømfjord/ >10000	Dimethoat (0,014) pentachlor- phenol (0,002)	*	Naphthalen(0,025) fluoren(0,002) fluoranthen (0,002) chrysen/triphenylen (0,003) benzofluoranthener (0,003)
2/ 1250	Narsarsuaq/ 1	*	*	*
3/ 200	Narsarsuaq/ >1000	*	*	*
4/ 1200	Narsarsuaq/ 1	Pentachlor- phenol (6,1) BAM (0,009) simazin (0,003)	PCB # 52 (0,002) PCB # 101 (0,003) PCB # 138 (0,002)	Naphthalen (0,025) acenaphthylen (0,014) acenaphthen (0,028) fluoren (0,033) phenanthren (0,41) anthracen (0,033) fluoranthen (0,65) pyren (0,35) benz(a)anthracen (0,11) chrysen/triphenylen (0,30) benzofluoranthener (0,51) benzo(a)pyren (0,17) indeno(1,2,3-cd)pyren (0,16) dibenz(ah)anthracen (0,041) benzo(ghi)perylen (0,17)

* Der er ikke fundet spor af de undersøgte stoffer.

Forekomst

Fordelingen af chlorholdige organiske forureninger mellem luft, sne, havvand og de marine pattedyrs fødekæde er beskrevet i AMAP (1998). Generelt er PCB'erne at finde i fødekæden, der er dog nogle få procent i sne et tilsvarende mønster ses for DDT. For HCH'erne og HCB findes den overvejende del i det abiotiske miljø.

Hexachlorbenzen (HCB) opstår som biprodukt ved syntesen af en lang række chlorerede forbindelser blandt andet pesticider. HCB har selv fundet anvendelse som fungicid i 1960'erne.

Pentachlorphenol har været udbredt anvendt som træimpregneringsmiddel, det er nu forbudt i Danmark og en del andre lande eller kun tilladt med restriktioner, herhjemme har det (jf. Miljøstyrelsen) været brugt i 25 år første gang i 1956, forbruget har i alt været ca. 41000 kg.

Da pesticider generelt er påvist i atmosfæren og i regnvand er det oplagt at de mere persistente vil kunne indlejres i sneen, der er derfor analyseret for en lang række pesticider.

PCB'ernes anvendelse er bred og går tilbage til 1929, de er nu forbudt eller kun tilladt anvendt i specielle tilfælde i de fleste lande. Der er 209 chlorerede biphenyl congenere med forskellig chlor substitution på biphenylringen. Roland Kallenborn fra Norge har stået for nogle analyser af PCB og HCH i "fog water" opsamlet i store mængder på Bjørnøya (74°N, 19°E), de påviser nogle af de medium chlorerede PCB congenere i et koncentrationsniveau fra 0,5 ng/l til 2 ng/l (Kallenborn et al., 1991). Den detektionsgrænse vi har på vores analyser for PCB er 2 ng/l. HCH påvises ikke i koncentrationer væsentligt over 0,5 ng/l. Tilsvarende analyser for sne udtaget samme sted er beskrevet af Ellen Katrin Enge (Enge et al., 1991), der fandt et maksimalt indhold af PCB (summen af 17 congenere) på ca. 7 ng/l. Den maksimale mængde af HCH er 0,078 ng/l.

PAH'ernes oprindelse kan både være antropogen og naturlig. I følge Masplet et. al (2000) er der følgende sammenhæng mellem de enkelte PAH'er og deres kilder.

Combustion	PAH tracer
Coal	Fluoranthene
Fuel oil	Phenanthrene
Automobile exhaust	Benzo (ghi)perylene, indenopyrene, coronene
Biomass burning	Pyrene, chrysene, coronene
Boreal forest fires	Retene

Af ovennævnte stoffer er coronene og reten ikke med i vores analyseprogram. I følge Masplet er fluoranthene og pyren de PAH'er som er mest almindelige i byer. De finder

også at de er de hyppigst forekommende i sneen. Den gennemsnitlige værdi på årsbasis er opgivet til 1800 pg/g (~1,8 µg/kg).

Resultater af mikrobiologiske undersøgelser:

Levedygtige bakteriekim:

Ved de mikrobiologiske udpladninger blev der foretaget udsåning /udpladning på i alt 80 agarplader og 60 petrifilm. Udpladning blev foretaget på fire forskellige medier;

1) Vandagar

Vandagar er rent steriliseret vand tilsat agar. Dette medie er ekstremt næringsfattigt og bruges normalt til at isolere næringsstoffølsomme bakterier fra oligotrofe miljøer .

2) 1/10 TSA

1/10 TSA er et generelt medie og vores erfaring er at netop dette medie er det bedste til at isolere bakterier fra miljøprøver.

3) Aerobic count plate Petrifilm (3M)

Aerobic count plate Petrifilm (AC) er endnu et generelt medie. Dette medie er designet til kommercielle undersøgelser af kimal i fødevarerindustrien.

4) Coliform Petrifilm (3M)

Coliform petrifilm er et medie der er designet til at tælle coliforme (og dermed potentielt pathogene) bakterier.

For at afdække evt. tilstedeværende bakteriers temperatur krav blev samtlige prøver inkuberet ved 4 forskellige temperaturer; 30°C, 10°C, 5°C og -1°C. Kimtallene fra prøverne ved brug af de forskellige medier og temperaturer er vist i nedenstående tabeller.

Inkuberingen startedes i November, 2001. I løbet af de første 14 dage var der kun vokset 6 bakteriekolonier frem ialt, dette svarer til under 0,5 kim pr ml., som kan sammenlignes med kravet til antallet af bakteriekim i ledningsvand i DK hvor der skal være mindre end 200 kim pr ml.

Vi stoppede dog ikke inkuberingen af pladerne, men registrerede fremvækst af bakterier flere gange i løbet af december og januar. Resultaterne efter mere end to måneders inkubation kan ses i nedenstående figur.

Ved 30°C kom der totalt set færrest kolonier, mens der kom flest ved 10 og 5 grader. Dette stemmer godt overens med den forventede generelle temperatur tolerance og vækstoptimum hos bakterier isoleret fra kolde områder. Kun i enkelte tilfælde, og fra prøver af nyere dato samt prøven fra Sdr. Strømfjord der potentielt er kontamineret, kom der kolonier på petrifilmen, der tæller coliforme bakterier. Dette er en indikation af minimal risiko for tilstedeværelse af potentielt patogene bakterier.

Fremvoksede mikrobielle kim/ml;

Prøve 1	(Sdr. Strømfjord)	Antal fremvoksede mirobialle kim pr. ml				
Vækstmedie	Inkubationstemperatur	05-dec	14-dec	10-jan	30-jan	i alt
AC-petrfilm	-1	0	0	3	7	10
C-petrfilm	-1	0	0	0	0	0
Vandagar	-1	0	0	0	0	0
1/10 TSA	-1	0	0	5	5	10
AC-petrfilm	5	0	2	11	0	13
C-petrfilm	5	0	0	0	0	0
Vandagar	5	0	1	0	0	1
1/10 TSA	5	1	7	19	222	249
AC-petrfilm	10	5	12	11	0	28
C-petrfilm	10	0	2	0	0	2 (skimmel)
Vandagar	10	0	0	0	0	0
1/10 TSA	10	0	0	13	3	16
AC-petrfilm	30	12	1	0	0	13
C-petrfilm	30	2	0	0	0	2
Vandagar	30	0	0	0	0	0
1/10 TSA	30	0	29	0	0	29

Prøve 3	(Qaleralitt Sermia)	Antal fremvoksede mirobialle kim pr. ml				
Vækstmedie	Inkubationstemperatur	05-dec	14-dec	10-jan	30-jan	i alt
AC-petrfilm	-1	0	1	5	12	18
C-petrfilm	-1	0	0	0	0	0
Vandagar	-1	0	0	2	1	3
1/10 TSA	-1	0	0	13	35	48
AC-petrfilm	5	0	2	138	0	140
C-petrfilm	5	0	0	0	0	0
Vandagar	5	0	1	2	1	4
1/10 TSA	5	5	64	12	39	120
AC-petrfilm	10	129	184	0	0	313
C-petrfilm	10	0	0	0	0	0
Vandagar	10	0	0	0	3	3
1/10 TSA	10	25	22	14	103	164
AC-petrfilm	30	10	1	0	0	11
C-petrfilm	30	0	0	0	0	0
Vandagar	30	0	0	0	0	0
1/10 TSA	30	10	0	0	0	10

Prøve 4	(Firn)	Antal fremvoksede microbialle kim pr. ml				i alt	
		Vækstmedie	Inkubationstemperatur	05-dec	14-dec		10-jan
AC-petrifilm	-1		0	33	28	220	281
C-petrifilm	-1		0	0	0	0	0
Vandagar	-1		0	8	3	6	17
1/10 TSA	-1		0	88	46	84	218
AC-petrifilm	5		19	39	120	0	178
C-petrifilm	5		0	0	0	0	0
Vandagar	5		5	10	3	7	25
1/10 TSA	5		7	137	0	160	304
AC-petrifilm	10		40	41	22	0	103
C-petrifilm	10		0	2	0	0	2
Vandagar	10		0	2	6	9	17
1/10 TSA	10		64	263	584	169	1080
AC-petrifilm	30		10	1	0	0	11
C-petrifilm	30		1	0	0	0	1
Vandagar	30		0	0	0	0	0
1/10 TSA	30		0	161	0	0	161

Mikroskopiske undersøgelser af prøverne:

Det var ikke muligt ved mikroskopi at finde en eneste bakterie celle, hvilket kan omregnes til, at der er færre end 1000 celler pr ml. Metoden er ikke følsom, men viser omvendt sammenholdt med kimtallene fra dyrkningerne, at der ikke ligger et stort antal "ikke-dyrkbare" bakterieceller i isen.

Indledende karakterisering:

De isolerede kolonier blev nedfrosset i 50% glycerol og gemt ved -80°C . Ved denne metode kan bakterier holdes i dvale og gemmes over lange perioder. Nedfrosne bakteriestammer opbevares ved denne temperatur på GEUS. Samtlige isolater blev herefter vækket på 1/10 TSA plader inkuberet ved 5°C og 20°C . Ikke alle isolater kunne vokse op igen og det var kun muligt at re-dyrke 42 af isolaterne fra prøverne i alt. Dette kan skyldes at mediet og/eller temperatur forholdene ikke er de samme som de oprindelige isoleringsforhold. Endvidere kan det tænkes at flere bakterier ikke har kunnet overleve nedfrysningen i glycerol. Disse genopdyrkede isolater er karakteriseret ved konventionelle metoder (kolonimorfologi, -farve, hastighed af kolonifremvækst ved forskellige inkubationstemperaturer, assimilations- og enzym-profil på API 20 NE). Yderligere blev udvalgte isolater karakteriseret ved sekventering af 16S-rDNA-sekvens. Resultaterne fremgår af appendiks

Flere af stammerne var ikke i stand til at vokse ved høje temperaturer (20°C) eller voksede hurtigere ved 5°C end ved 20°C. Endvidere sås en tydelig sammenhæng mellem isoleringstemperatur og evne til at gro ved lav temperatur. Flere af stammerne var pigmenterede og dannede farvestrålende gullige kolonier.

Karakterisering på API-strimler:

For at undersøge evt. tilstedeværelse af kendte humant patogene stammer blandt de genopdyrkede isolater undersøgte disse ved hjælp af API 20 NE enzymprofil og assimilationsstrimler. API 20 NE er specialdesignede til at identificere en lang række bakterier herunder kendte patogene stammer. Desværre kunne isolaterne ikke identificeres på ved denne metode. Dette skyldes begrænset vækst, formegentlig som følge af den høje inkubationstemperatur (30°C) som denne test kræver. Dog er det derfor særdeles usandsynligt at nogle af de isolerede bakterier er human patogene.

Sekventering:

En anden mulighed for at identificere isolaterne er ved at sekventere deres 16S ribosomale DNA sekvenser. Disse sekvenser giver et genetisk fingeraftryk af bakteriestammen og er en særdeles sikker og velafprøvet identifikationsmetode. Resultaterne kan ses i nedenstående tabel. Undersøgelserne er foretaget i samarbejde med NOVOzymes.

Bakterie-isolater:

Geus nr	Hom	oprindelse	Description	Comment
27	100.0	Sdr. strømfjord	Sphingomonas sp. BF14	1-500 sekvens
34	98.9	Sdr. strømfjord	Methylobacterium mesophilicum	1-500 sekvens
35	99.0	Sdr. strømfjord	Methylobacterium mesophilicum	1-500 sekvens
56	100.0	Sdr. strømfjord	Sphingomonas sp. BF14	1-500 sekvens
58	99.5	Sdr. strømfjord	Arthrobacter sp.	1-500 sekvens
60	99.2	Sdr. strømfjord	Arthrobacter sp.	1-500 sekvens
61	98.5	Sdr. strømfjord	Sphingomonas sp. M3C203B-B	1-500 sekvens
67	99.3	Sdr. strømfjord	Rhodococcus sp.	1-500 sekvens
68	99.1	Sdr. strømfjord	Rhodococcus fascians	1-500 sekvens
80	99.2	Sdr. strømfjord	Arthrobacter sp.	1-500 sekvens
110	98.3	Sdr. strømfjord	Rhodococcus fascians	1-500 sekvens
113		Sdr. strømfjord	Rhodococcus fascians	1-500 sekvens
191	99.4	Sdr. strømfjord	Arthrobacter sp.	1-500 sekvens
192	98.0	Sdr. strømfjord	Cryobacterium aff. Psychrophilum A1/C-aer/OI	1-500 sekvens
192	99.0	Sdr. strømfjord	Bacterium CS117	Hel-sekventering
59	99.1	Sdr. strømfjord	Sphingomonas sp. BF14	1-500 sekvens
1	94.9	Is	Collimonas fungivorans	1-500 sekvens
29	100.0	Is	Sphingomonas sp. BF14	1-500 sekvens
30	97.3	Is	Amycolatopsis balhimycetica	1-500 sekvens
30	98.8	Is	Amycolatopsis mediterranei strain DSM 46095	Hel-sekventering
31	97.4	Is	R.fascians	1-500 sekvens
71	95.1	Is	unidentified beta proteobacterium strain: G13045	1-500 sekvens
71	96.1	Is	Collimonas fungivorans	Hel-sekventering
88	98.9	Is	Rhodococcus fascians	1-500 sekvens
174	98.6	Is	uncultured eubacterium WD223	1-500 sekvens
202	95.1	Is	Collimonas fungivorans	1-500 sekvens
70	99.3	Firnen	Rape rhizosphere bacterium tsb034	1-500 sekvens
81	99.3	Firnen	Rape rhizosphere bacterium tsb034	1-500 sekvens
82	99.4	Firnen	Micrococcus luteus	1-500 sekvens
83	100	Firnen	Micrococcus luteus strain HAMB12408	1-500 sekvens
84	100	Firnen	Micrococcus luteus strain HAMB12408	1-500 sekvens
86	99.8	Firnen	Micrococcus luteus strain HAMB12408	1-500 sekvens
168	95.6	Firnen	Collimonas fungivorans	1-500 sekvens
169	95.6	Firnen	Collimonas fungivorans	1-500 sekvens
169	95.7	Firnen	Herbaspirillum lusitanum	Hel-sekventering
179	99.3	Firnen	Micrococcus luteus strain HAMB12408	1-500 sekvens

Svampe-isolater:

Geus nr	Hom	Oprindelse	Description	Comment
141	98.9	Sdr. strømfjord	Exobasidium rhododendri	18S

Gær-isolater:

Geus nr	Hom	Oprindelse	Description	Comment
2	96.2	Sdr. strømfjord	Cryptococcus skinneri strain CBS 5029	ITS sekvens
57	100	Sdr. strømfjord	Cryptococcus victoriae strain CBS 8884	ITS sekvens
69	98.9	Sdr. strømfjord	Antarctic yeast CBS 8923	ITS sekvens
162	99.5	Sdr. strømfjord	Cryptococcus victoriae strain CBS 8884	ITS sekvens
22	99.7	Is	Cryptococcus diffluens strain CBS 926	ITS sekvens
88	99.8	Is	Cryptococcus victoriae strain CBS 8884	ITS sekvens
194	99.5	Is	Udeniomyces pannonicus	ITS sekvens
87	97.9	Firnen	Cryptococcus laurentii	ITS sekvens
163	100	Firnen	Rhodotorula laryngis strain Y 17504	ITS sekvens
167	98.9	Firnen	Cryptococcus victoriae CBS 8908	ITS sekvens

Der isoleredes flest bakterielle organismer, men også en del gær og en enkelt svamp. Slægterne *Micrococcus* og *Methylobacterium* indeholder arter der kan være opportunistiske humane patogener. Slægten *Micrococcus* indeholder dog også kuldeadaptive arter isoleret fra Antarktis (Liu et al., 2000). Fundet af disse stammer giver dog ikke anledning til bekymring dels grundet den begrænsede vækst på API-strimlerne og dels på grund af de ekstremt lave tætheder disse organismer er fundet i.

Konklusion:

Kemiske undersøgelser:

Der er ikke påvist nogen miljøfremmede stoffer af betydning i prøven fra gletscher 1AH0200 som repræsenterer en meget gamle is.

I en af de yngre prøver er der derimod påvist PAH'er i forholdsvis høje koncentrationer, tilsvarende fund er gjort før af Masclet et al., (2000). Det mest overraskende er påvisning af høje koncentrationer af pentachlorphenol samt at stoffer som HCH'erne ikke forekommer, da de er hyppigt påvist både i luft og regn. Resultaterne fra Norge indikerer at stof grupperne HCH og PCB er tilstede men i så lave koncentrationer, at det kræver at der tages et meget stort volumen i arbejde, hvis de skal påvises.

Mikrobiologiske undersøgelser:

Mikrobiologiske undersøgelser viste et lavt antal mikrobielle kim i isen. Disse kim udviser en betydelig grad af kulde tilpasning og det er bemærkelsesværdigt at flest bakterier isoleres ved lave temperaturer, og at de fleste af disse bakterier ikke kan dyrkes ved høje temperaturer. Det er derfor en umiddelbar konklusion, at hovedparten af de levedygtige bakterielle kim vi finder i isen har været aktive her, og ikke består af lufbårne kim. Vi har i prøverne fundet en række bakterielle isolater, som ikke er identiske med almindeligt kendte bakterielle isolater. Det har ikke været muligt indenfor projektets rammer at gå videre med en egentlig beskrivelse af disse nye interessante isolater.

Referencer:

AMAP (1998) Assessment Report: Artic Pollution Issues. Artic Monitoring and Assessment Program. ISBN 82-7655-061-4

Carpenter E.J., S. Lin, D.G.Capone, (2000). Bacterial activity in South Pole snow. Appl Environ Microbiol. **66**:4514-7.

Christner C.B., E. Mosley-Thomsen, L.G. Thomsen, V. Zagorodnov, K. Sandman, J.N. Reeve, (1999). Recovery and identification of viable bacteria immured in glacial ice. ICARUS **144**, 479-485.

Enge E.K., G. Christensen, R. Kallenborn, D. Herzke & T. Skotvold, (2001) Persistent organic pollutants in snow and melt water from Bjørnøya (Bear Island). Organohalogen compounds, P217, 52: 467-470.

Gordon, D.A., J. Priscu, S. Giovannoni, (2000). Origin and phylogeny of microbes living in permanant antartic lake ice. Microbial Ecology **39**, 197-202.

Jacobsen, C.S. (2000). GEUS rapport 2000/86.

Kallenborn R., G. Christensen, E.K. Enge, D. Herzke, M. Schlabach & T. Skotvold (2001) Persistent organic pollutants in ambient air and fog at Bjørnøya (Bear Island). Organohalogen compounds 52: 413-416

Karl D.M., D.F. Bird, K. Bjorkman, T. Houlihan, R. Shackelford, L. Tupas, (1999). Microorganisms in the accreted ice of Lake Vostok, Antarctica. Science **286**:2144-7

Liu H, Y. Xu, Y. Ma, P. Zhou (2000). Characterization of *Micrococcus antarcticus* sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica. Int J Syst Evol Microbiol 50: 715-9

Masclet, P., Hoyau, V., Jaffrezo, J.L. Cachier, H. (2000). Atmospheric Environment, **34**, 3195-3207.

Priscu J.C., E.E. Adams, W.B. Lyons, M.A. Voytek, D.W. Mogk, R.L. Brown, C.P. McKay, C.D. Takacs, K.A. Welch, C.F. Wolf, J.D. Kirshtein, R. Avci, (1999). Geomicrobiology of subglacial ice above Lake Vostok, Antarctica. Science **286**:2141-4.

Shi T, R.H. Reeves, D.A. Gilichinsky, E.I. Friedmann, (1997). Characterization of viable bacteria from Siberian permafrost by 16S rDNA sequencing. *Microb Ecol* **33**:169-79.

Skidmore, M. L., J.M. Foght, M.J. Sharp, (2000). Microbial life beneath a high arctic glacier. *Appl. Environ. Microb.* **66**, 3214-3220.

U.S. Geological Survey (1995) Fact Sheet FS-152-95

Villa, S., Maggi, V., Bolzacchini, E., Rindone, B., Vighi, M., Belloli, R. (2000). Prepr. Ext. Abstr. ACS Natl. Meet., Am. Chem. Soc., Div. Environ. Chem., **40** (1), 397-399.

Willerslev E., A.J. Hansen, B. Christensen, J.P. Steffensen, P. Arctander, (1999). Diversity of Holocene life forms in fossil glacier ice. *Proc Natl Acad Sci USA.* **96**:8017-21.

Appendiks:

Analyserapport

Depositions projekt

Analyse af is og sne

Rekvirent: **GEUS**
Gitte Felding
Danmarks og Grønlands Geologiske Undersøgelse
Thoravej 8
2400 København NV

Dato: 7. maj 2002

Udført af: MILJØ-KEMI, Dansk Miljø Center A/S
Holsbjergvej 42, DK-2620 Albertslund

Nis Hansen
udviklingschef

Yvonne
sektionsleder

Simonsen

Appendiks-fortsat

Prøvemateriale

Prøverne var mærket:

- Prøve 1
- Prøve 2
- Prøve 3
- Prøve 4

Prøverne er modtaget i rilsanposer og er opbevaret i fryser (-20°C) indtil analyserne er påbegyndt.

Prøverne er efter aftale analyseret efter følgende program:

- Pesticider
- PAH
- PCB

For enkeltstoffer se resultattabellerne side 4-9.

Analyserne er udført i perioden 08.03.2002 - 03.05.2002.

Appendiks-fortsat

Analysemetoder:

For at minimere kontaminering har prøverne efter udtagelsen af fryser henstået et par timer, og det yderste lag er tøet, hældt fra og ikke medtaget i analysen.

Derefter er prøven delt og en delprøve taget i analyse. Analyserne er udført på den homogeniserede delprøve (totalprøve).

Pesticider (sur) i vand (MK-2270)

Princip: Vandprøven pH justeres og ekstraheres 3 gange med dichlormethan. Det samlede ekstrakt inddampes. Ekstraktet methyleres og analyseres ved gaskromatografi med massespektrometrisk detektor (GC/MS-SIM). Pentachlorphenol medtages efter denne metode.

Analyseusikkerhed: RSD 15%, ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse dog op til 50%.

Pesticider (basisk) i vand (MK-2271)

Princip: Vandprøven pH justeres og ekstraheres 3 gange med dichlormethan. Det samlede ekstrakt inddampes og analyseres ved gaskromatografi med massespektrometrisk detektor (GC/MS-SIM).

Analyseusikkerhed: RSD 15%, ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse dog op til 50%.

PAH og PCB i vand (MK-2260)

Princip: Prøven gøres sur til pH 2 og ekstraheres med dichlormethan. Efter inddampning analyseres ekstraktet ved gaskromatografi med massespektrometrisk detektor ved selektiv ion monitoring (GC/MS-SIM).

Analyseusikkerhed: RSD 12% for PAH og 15% for PCB, ved værdier mindre end 10 gange metodens detektionsgrænse dog op til 50%.

Appendiks-fortsat

Is- og sneprøver

Enhed: µg/liter	Prøve 1	Prøve 2	Det.grænse
Pesticider:			
aldrin	-	-	0,002
bromophos	-	-	0,002
bromophos-ethyl	-	-	0,002
carbofenothion	-	-	0,002
chlordan	-	-	0,002
chlorfenvinphos	-	-	0,002
op'-DDD	-	-	0,002
pp'-DDD	-	-	0,002
op'-DDE	-	-	0,002
pp'-DDE	-	-	0,002
op'-DDT	-	-	0,002
op'-DDT	-	-	0,002
diazinon	-	-	0,005
dieldrin	-	-	0,002
dimethoat	0,014	-	0,01
endosulfan I	-	-	0,005
endosulfan II	-	-	0,005
endrin	-	-	0,005
fenitrothion	-	-	0,002
fonofos	-	-	0,002
alfa-HCH	-	-	0,002
beta-HCH	-	-	0,002
gamma-HC (lindan)	-	-	0,002
delta-HCH	-	-	0,002
heptachlor	-	-	0,002
heptachloreoxid	-	-	0,002
hexachlorbenzen	-	-	0,002
malathion	-	-	0,002
mirex	-	-	0,002
parathion	-	-	0,005
parathion-methyl	-	-	0,002
pentachlorphenol	0,002	-	0,002
tetrachlorinfos	-	-	0,002

-: Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Appendiks - fortsat

Is- og sneprøver

Enhed: µg/liter	Prøve 1	Prøve 2	Det.grænse
Pesticider (fortsat):			
alachlor	-	-	0,002
atrazin	-	-	0,002
bentazon	-	-	0,002
bromoxynil	-	-	0,002
carbofuran	-	-	0,02
4-chlor-2-methylphenol	-	-	0,003
4-CPP	-	-	0,002
cyanazin	-	-	0,002
2,4-D	-	-	0,002
2,6-DCPP	-	-	0,002
DE-atrazin	-	-	0,002
DE-terbutylazin	-	-	0,002
DIP-atrazin	-	-	0,01
dicamba	-	-	0,02
dichlobenil	-	-	0,02
2,6-dichlorbenzamid (BAM)	-	-	0,002
2,4-dichlorphenol	-	-	0,02
dichlorprop (2,4-DP)	-	-	0,002
dinoseb	-	-	0,002
DNOC	-	-	0,01
ethofumesat	-	-	0,002
Fenpropimorph	-	-	0,002
Fluazifop-(p)-butyl	-	-	0,002
hexazinon	-	-	0,005
Ioxynil	-	-	0,002
Isoproturon	-	-	0,002
Lenacil	-	-	0,005
MCPA	-	-	0,002
mechlorprop	-	-	0,002
metabenzthiazuron	-	-	0,002
metazachlor	-	-	0,002
metribuzin	-	-	0,005

:- Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Appendiks - fortsat

Is- og sneprøver

Enhed: µg/liter	Prøve 1	Prøve 2	Det.grænse
Pesticider (fortsat):			
pendimethalin	-	-	0,005
pirimicarb	-	-	0,002
propazin	-	-	0,002
propiconazol	-	-	0,005
propyzamid	-	-	0,002
simazin	-	-	0,002
Terbutylazin	-	-	0,005
PAH:			
naphthalen	0,025	-	0,02
acenaphthylen	-	-	0,002
acenaphthen	-	-	0,002
fluoren	0,002	-	0,002
phenanthren	-	-	0,005
anthracen	-	-	0,002
Fluoranthen	0,002	-	0,002
pyren	-	-	0,002
benz(a)antracen	-	-	0,002
chrysen/triphenylen	0,003	-	0,002
benzofluoranthener (b+j+k)	0,003	-	0,002
benzo(a)pyren	-	-	0,002
indeno(1,2,3-cd)pyren	-	-	0,002
dibenz(ah)anthracen	-	-	0,002
benzo(ghi)perylen	-	-	0,002
PCB:			
PCB # 28	-	-	0,002
PCB # 52	-	-	0,002
PCB # 101	-	-	0,002
PCB # 118	-	-	0,002
PCB # 138	-	-	0,002
PCB # 153	-	-	0,002
PCB # 180	-	-	0,002

-: Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Appendiks-fortsat

Is- og sneprøver

Enhed: µg/liter	Prøve 3	Prøve 4	Det.grænse
Pesticider:			
aldrin	-	-	0,002
bromophos	-	-	0,002
bromophos-ethyl	-	-	0,002
carbofenothion	-	-	0,002
chlordan	-	-	0,002
chlorfenvinphos	-	-	0,002
op'-DDD	-	-	0,002
pp'-DDD	-	-	0,002
op'-DDE	-	-	0,002
pp'-DDE	-	-	0,002
op'-DDT	-	-	0,002
op'-DDT	-	-	0,002
diazinon	-	-	0,005
dieldrin	-	-	0,002
dimethoat	-	-	0,01
endosulfan I	-	-	0,005
endosulfan II	-	-	0,005
endrin	-	-	0,005
fenitrothion	-	-	0,002
fonofos	-	-	0,002
alfa-HCH	-	-	0,002
beta-HCH	-	-	0,002
gamma-HC (lindan)	-	-	0,002
delta-HCH	-	-	0,002
heptachlor	-	-	0,002
heptachloreoxid	-	-	0,002
hexachlorbenzen	-	-	0,002
malathion	-	-	0,002
mirex	-	-	0,002
parathion	-	-	0,005
parathion-methyl	-	-	0,002
pentachlorphenol	-	6,1	0,002
tetrachlorvinfos	-	-	0,002

-: Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Appendiks - fortsat

Is- og sneprøver

Enhed: µg/liter	Prøve 3	Prøve 4	Det.grænse
Pesticider (fortsat):			
alachlor	-	-	0,002
atrazin	-	-	0,002
bentazon	-	-	0,002
bromoxynil	-	-	0,002
carbofuran	-	-	0,02
4-chlor-2-methylphenol	-	-	0,003
4-CPP	-	-	0,002
cyanazin	-	-	0,002
2,4-D	-	-	0,002
2,6-DCPP	-	-	0,002
DE-atrazin	-	-	0,002
DE-terbutylazin	-	-	0,002
DIP-atrazin	-	-	0,01
dicamba	-	-	0,02
dichlobenil	-	-	0,02
2,6-dichlorbenzamid (BAM)	-	0,009	0,002
2,4-dichlorphenol	-	-	0,02
dichlorprop (2,4-DP)	-	-	0,002
dinoseb	-	-	0,002
DNOC	-	-	0,01
ethofumesat	-	-	0,002
Fenpropimorph	-	-	0,002
Fluazifop-(p)-butyl	-	-	0,002
hexazinon	-	-	0,005
Ioxynil	-	-	0,002
Isoproturon	-	-	0,002
Lenacil	-	-	0,005
MCPA	-	-	0,002
mechlorprop	-	-	0,002
metabenzthiazuron	-	-	0,002
metazachlor	-	-	0,002
metribuzin	-	< 0,05 *	0,005

-: Mindre end den anførte detektionsgrænse.

*: Forhøjet detektionsgrænse på grund af interferens.

Appendiks-fortsat

Is- og sneprøver

Enhed: µg/liter	Prøve 3	Prøve 4	Det.grænse
Pesticider (fortsat):			
pendimethalin	-	-	0,005
pirimicarb	-	-	0,002
propazin	-	-	0,002
propiconazol	-	-	0,005
propyzamid	-	-	0,002
simazin	-	0,003	0,002
Terbutylazin	-	-	0,005
PAH:			
naphthalen	-	0,025	0,02
acenaphthylen	-	0,014	0,002
acenaphthen	-	0,028	0,002
fluoren	-	0,033	0,002
phenanthren	-	0,41	0,005
anthracen	-	0,033	0,002
Fluoranthen	-	0,65	0,002
pyren	-	0,35	0,002
benz(a)antracen	-	0,11	0,002
chrysen/triphenylen	-	0,30	0,002
benzofluoranthener (b+j+k)	-	0,51	0,002
benzo(a)pyren	-	0,17	0,002
indeno(1,2,3-cd)pyren	-	0,16	0,002
dibenz(ah)anthracen	-	0,041	0,002
benzo(ghi)perylen	-	0,17	0,002
PCB:			
PCB # 28	-	-	0,002
PCB # 52	-	0,002	0,002
PCB # 101	-	0,003	0,002
PCB # 118	-	-	0,002
PCB # 138	-	0,002	0,002
PCB # 153	-	-	0,002
PCB # 180	-	-	0,002

:- Mindre end den anførte detektionsgrænse.

Appendiks – fortsat

Isolerede mikroorganismer; Vækst af isolater og indledende karakterisering.

GEUS nr.	Oprindelige isoleringsforhold			Vækket ved 20°C på 1/10 TSA			Vækket ved 5° på 1/10 TSA		
	Hvorfra	Temp. i C	Fra medie	Vækst 7dg.	Farve	Kommentar	Vækst 7dg.	Farve	kommentar
70	F	30	TSA	store		transparent	små		transparent
81	F	30	TSA	store		transparent	små		transparent
82	F	30	TSA	store	Gule				
83	F	30	TSA	store	Gule				
84	F	30	TSA	store	Gule				
86	F	30	TSA	store	Gule				
87	F	10	C-petrifilm	store	hvide		små	Hvide	
163	F	-1	TSA	store	lyserøde		store	Lyserøde	
167	F	-1	AC-petrifilm	store	hvide		store	Hvide	
168	F	-1	AC-petrifilm				små	transparent	
169	F	-1	AC-petrifilm	små	hvide	transparent	små	Hvide	transparent
179	F	10	VA-TSA		højgul				
1	IS	5	TSA				meget små		
22	IS	10	TSA				mellem	Hvide	
29	IS	30	AC-petrifilm	små	hvide				
30	IS	30	AC-petrifilm	små	gule				
31	IS	30	TSA	store	gule				
71	IS	5	AC-petrifilm				små	Hvide	
88	IS	30	AC-petrifilm	små	hvide				
174	IS	10	VA-TSA						
194	IS	-1	VA - TSA				små		hvide
202	IS	-1	AC-petrifilm						
2	S.S.	5	TSA	små	hvide		små	Hvide	
27	S.S.	10	TSA	store	højgule		store	Højgule	
34	S.S.	30	AC-petrifilm	bittesmå	røde	hårde			
35	S.S.	30	AC-petrifilm	bittesmå	røde	hårde			
56	S.S.	10	AC-petrifilm	store	solgul		små	Solgul	
57	S.S.	10	AC-petrifilm	store	lyserøde		store	Lyserøde	
58	S.S.	10	AC-petrifilm	store	hvide		små	Hvide	
59	S.S.	10	AC-petrifilm	store	orange		små	Gulorange	
60	S.S.	10	AC-petrifilm		hvide	transparent	små	Hvide	transparent
61	S.S.	10	AC-petrifilm	store	orange		små	Orange	
67	S.S.	5	TSA	store	orange		små	Orange	
68	S.S.	5	TSA	store	orange		små	Orange	
69	S.S.	5	AC-petrifilm	store	lyserøde		store	Lyserøde	
80	S.S.	5	AC-petrifilm		hvide	transparent		Hvide	transparent
110	S.S.	10	AC-petrifilm	små	hvide				
113	S.S.	10	TSA	stor	gul				
141	S.S.	5	AC-petrifilm				små	Hvide	
162	S.S.	-1	AC-petrifilm	store	lyserøde		store	Lyserøde	
191	S.S.	-1	AC-petrifilm	små	hvide		små	Hvide	
192	S.S.	-1	AC-petrifilm				gule	Små	

Appendiks – fortsat

Isolerede mikroorganismer; Vækst af isolater på API 20 NE strimler:

GEUS nr.	Hvorfr a	Temp. i C	Enzyr										Væks									
			NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PN	GLU	ARA	MN	MA	NA	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC
70	F	30	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	
81	F	30	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	
82	F	30	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
83	F	30	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	
84	F	30	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	
86	F	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
87	F	10	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	
163	F	-1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
167	F	-1	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
168	F	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
169	F	-1	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
179	F	10	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
1	IS	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
22	IS	10	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	
29	IS	30	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
30	IS	30	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
31	IS	30	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
71	IS	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
88	IS	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
174	IS	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
194	IS	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
202	IS	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2	S.S.	5	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
27	S.S.	10	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
34	S.S.	30	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	
35	S.S.	30	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	
56	S.S.	10	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
57	S.S.	10	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	
58	S.S.	10	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
59	S.S.	10	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
60	S.S.	10	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
61	S.S.	10	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	
67	S.S.	5	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	
68	S.S.	5	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	
69	S.S.	5	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	
80	S.S.	5	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
110	S.S.	10	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
113	S.S.	10	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	
141	S.S.	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
162	S.S.	-1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	
191	S.S.	-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
192	S.S.	-1	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	