



BodemBreed
FORUM



Orvion
Let *nature* do the job



Peter Middeldorp, PhD
pmiddeldorp@orvion.nl
www.orvion.nl

Kunnen we PFAS afbraak aantonen?
Een studie met qPCR en NGS naar PFAS-afbraak

Opbouw presentatie

- Biologische afbraak van PFAS
- Verontreinigde site en monstername
- ORVIDetect (qPCR)
- ORVIDecode (NGS)
- Conclusies



Biologische afbraak van PFAS

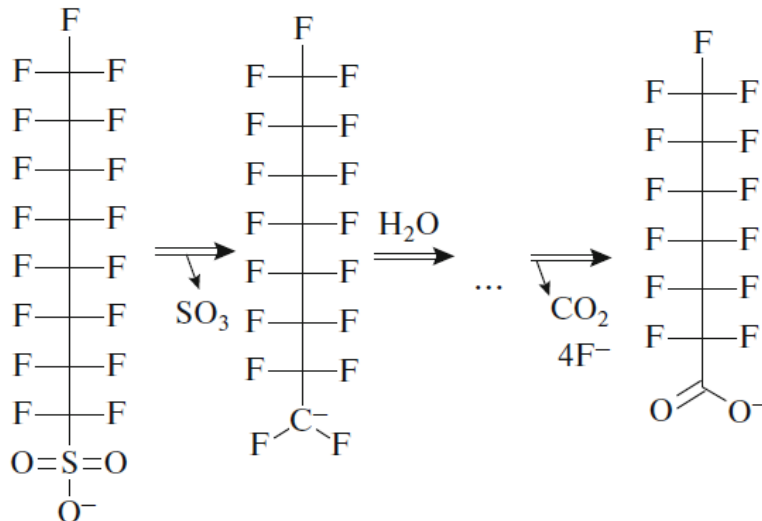
Aerobe afbraak

Pseudomonas aeruginosa HJ4 (Kwon et al. 2014)

Afbraak van PFOS (perfluorooctaansulfonzuur), verdwijning van PFOS, geen fluoride

Pseudomonas plecoglossicida 2.4-D (Chetverikov et al. 2017)

Omzetting PFOS naar PFHpA (perfluorheptaanzuur), fluoride komt deels vrij

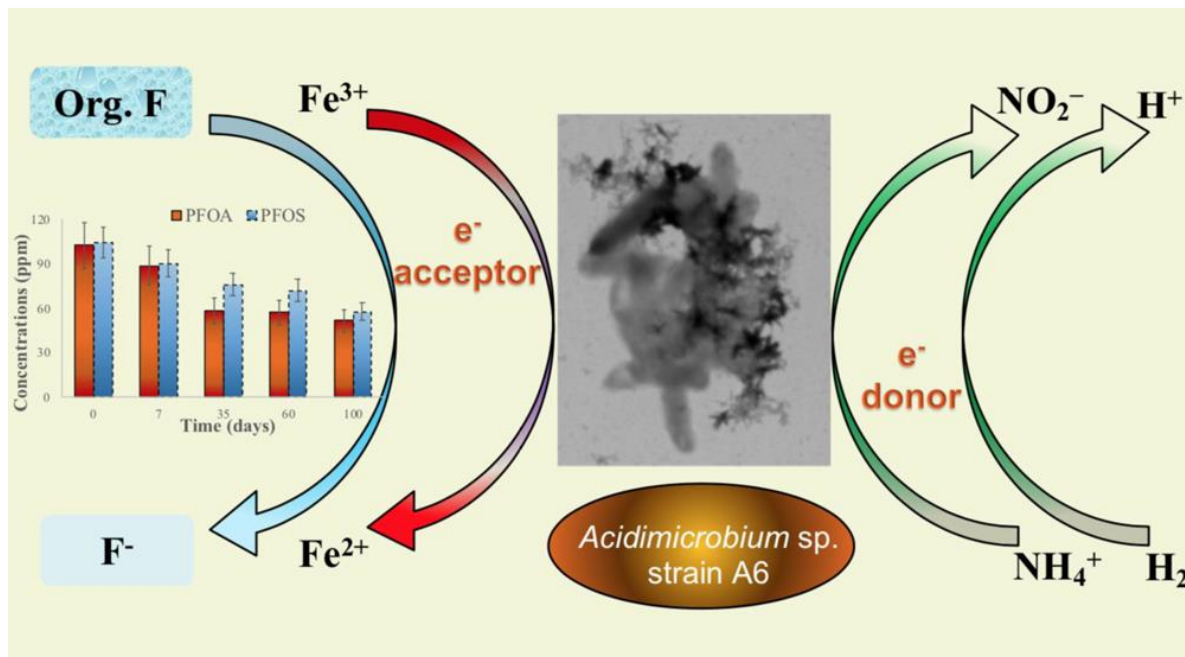


Biologische afbraak van PFAS

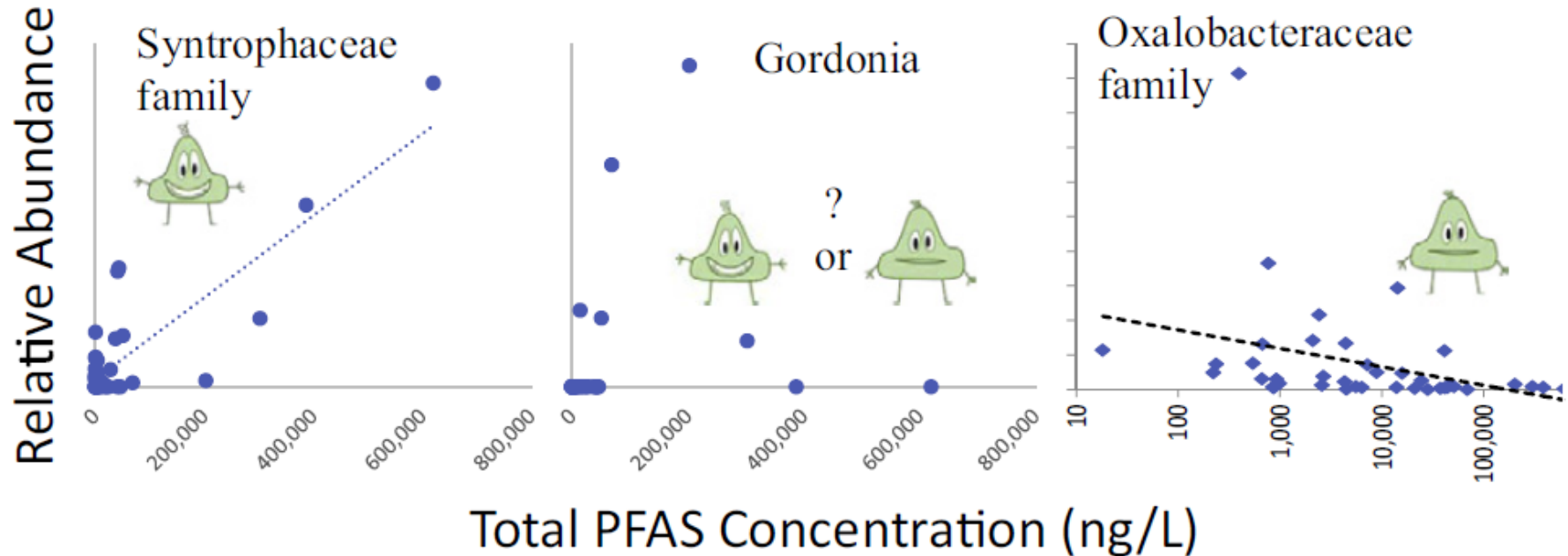
Anaerobe afbraak

Acidimicrobium sp. A6 (Huang and Jaffé 2019)

Afbraak van PFOS en PFOA (perfluorooctaanzuur), 60% afbraak in 100 dagen, tussenproducten wijzen op reductieve defluorering



Correlatie PFAS concentraties - syntrofe bacteriën



(O'Carroll *et al.* 2020. *Sci. Total Environ* 712: 135994)

Verontreinigde site

Locatie:	Vertrouwelijk	
Bron:	Voormalige brandweeroefenbak e.o.	
Grondsoort:	Voornamelijk zandig, weinig organische stof	
Redoxcondities:	IJzerreducerend tot sulfaatreducerend	
Concentraties:	Bronzone grond	PFOS: max. 1280 µg/kg d.s.
	Bron en pluim grondwater	PFOS: max. 260 µg/l
		PFOA: max. 5,6 µg/l
Overige stoffen:	VOCl, BTEX, minerale olie	



Bemonstering grond



verzadigde zone

pH < 6,5

ijzerverkleuring

15 grondmonsters

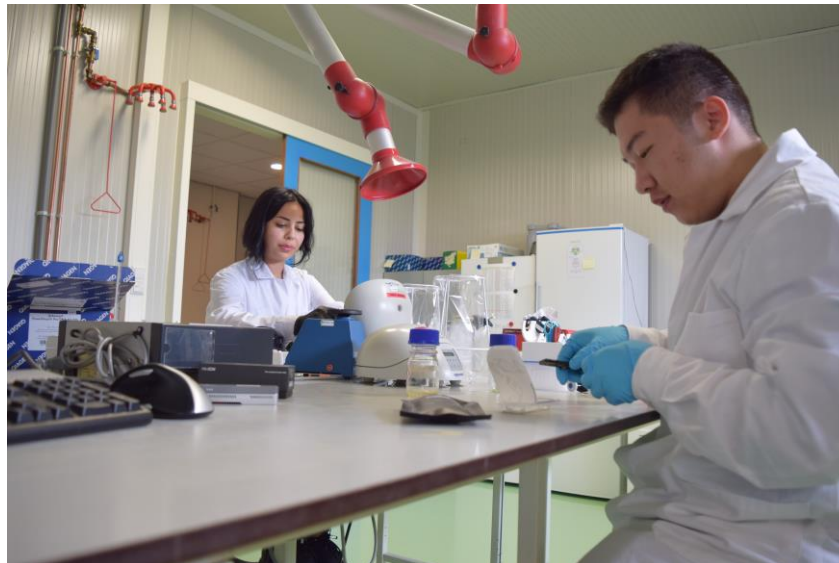
24 grondwatermonsters



ORVIdetect (qPCR)

Targets grond en grondwater:

- Totaal bacteriën
- Acidimicrobium A6 (soortspecifiek)
- Acidimicrobiaceae (niet soortspecifiek);
- Acidimicrobium A6 - rdhA (dehalogenase, defluorerend enzym).



Resultaten qPCR grond

Bacteriën - enzymen (DNA-kopieën/g droge stof)					
Boring nr.	diepte (m-mv)	totaal bacteriën	Acidimicrobium A6	Acidimicrobiaceae	Acidimicrobium A6 - rdhA
2306	4,3-4,8	4.7E+07	<4E+03	<4E+03	<4E+03
2304	3,9-4,0	8.9E+07	<2E+03	<2E+03	<2E+03
2307	4,5-5,0	4.3E+07	<3E+03	<3E+03	<3E+03
2309	4,6-4,9	1.2E+08	<1E+03	<1E+03	<1E+03
2323	5,7-6,0	9.3E+07	<3E+03	3.0E+03	<3E+03
2321	5,6-5,9	8.8E+08	<3E+04	3.2E+04 ¹	<3E+04
2340	6,0-6,3	2.2E+07	<2E+03	1.8E+03	<2E+03
2310	4,5-5,0	9.0E+07	<2E+03	2.5E+03	<2E+03
2316	4,7-5,0	6.8E+07	<2E+03	<2E+03	<2E+03
2317	3,6-3,8	2.2E+08	<2E+03	1.7E+03	<2E+03
2325	3,6-3,8	1.6E+08	<3E+03	2.7E+03 ²	<3E+03
2341	5,5-6,0	1.6E+07	<2E+03	1.9E+03	<2E+03
2331	3,7-4,3	8.4E+06	<2E+03	1.8E+03 ²	<2E+03
2332	3,8-4,3	3.8E+06	<2E+03	1.8E+03	<2E+03
2345	4,0-4,5	8.5E+06	<2E+03	1.7E+03	<2E+03

¹ Kwantificatie was niet accuraat en moet eerder kwalitatief worden beoordeeld.

² Deze monsters zijn verder onderzocht met sequencing. Het resultaat was dat het om tot nu toe onbeschreven *Acidimicrobium* soorten gaat.



Resultaten qPCR grondwater

Totaal bacteriën:	$10^2 - 10^6$ kopieën/ml
Acidimicrobium A6:	< 1 kopie/ml
Acidimicrobiaceae	0 - 1 kopie/ml
rdhA (dehalogenase)	< 1 kopie/ml

Wel detectie van dechlorerende bacteriën en enzymen (buiten scope van dit verhaal)

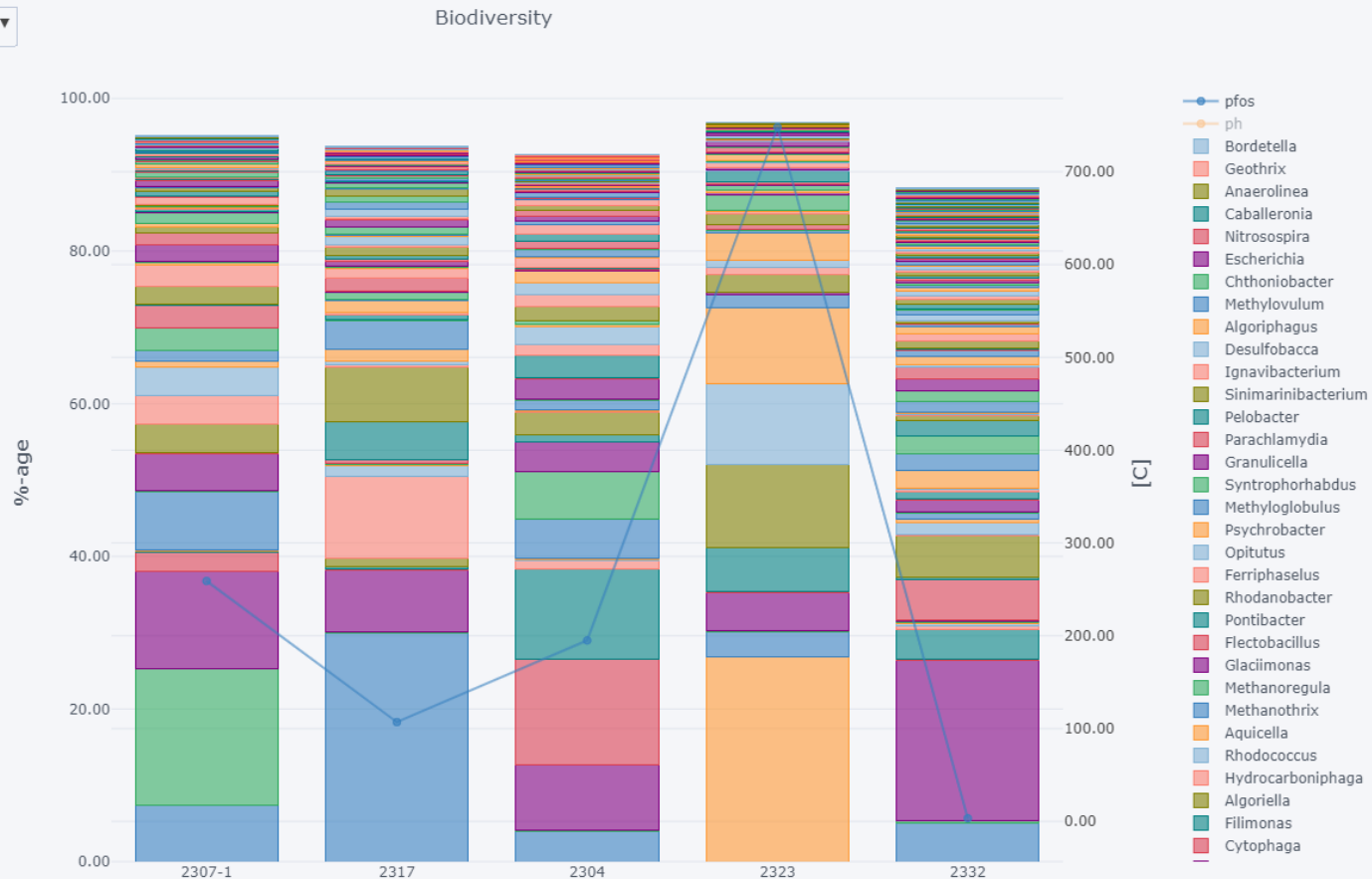


ORVldecode (NGS)

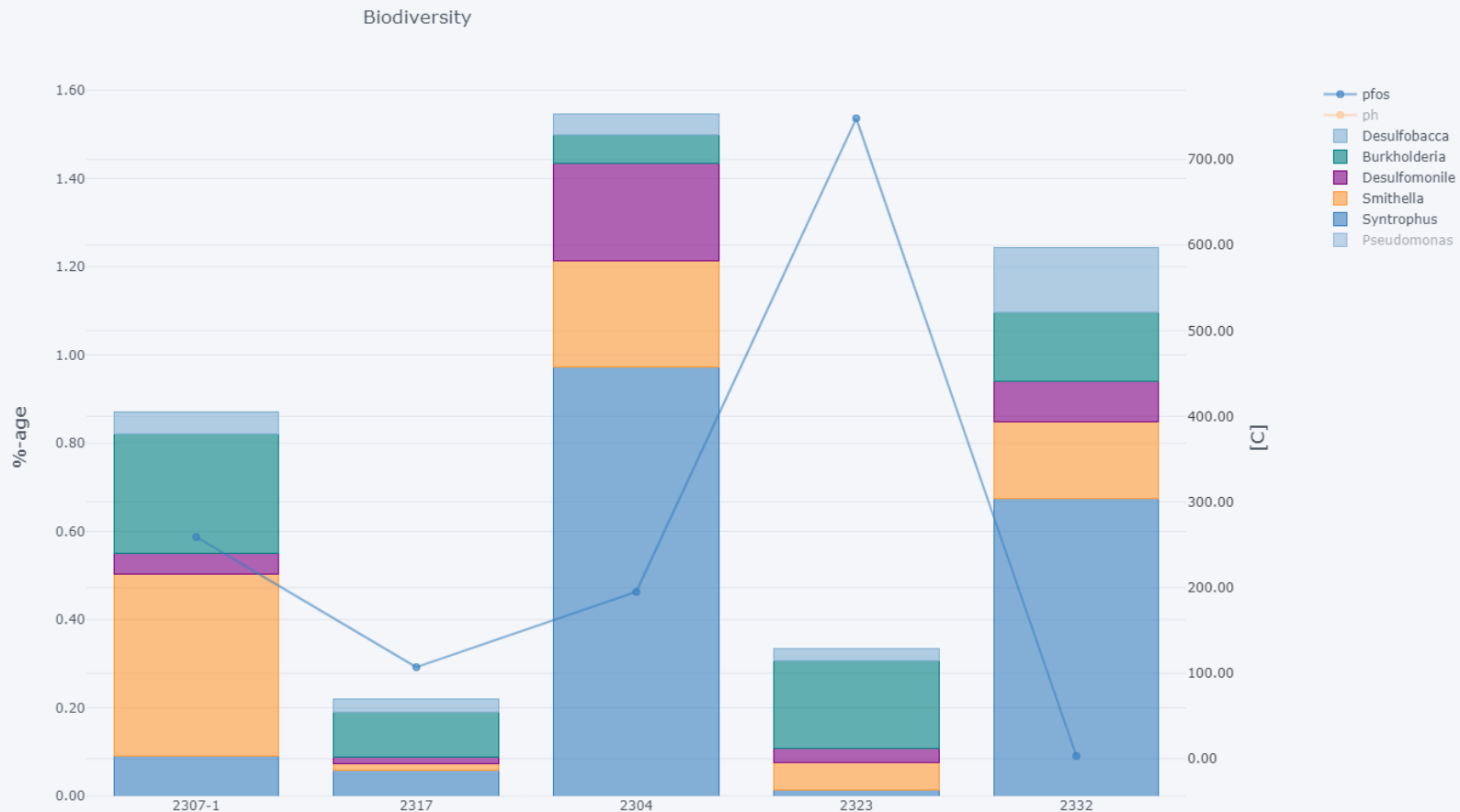
- Sequencing alle DNA in monster
- Minder gevoelig
- Zoeken naar correlatie met PFAS-concentraties
- Toepassen specifieke filters
- 5 grondmonsters
- 24 grondwatermonsters



Resultaten NGS grond (ruwe data)

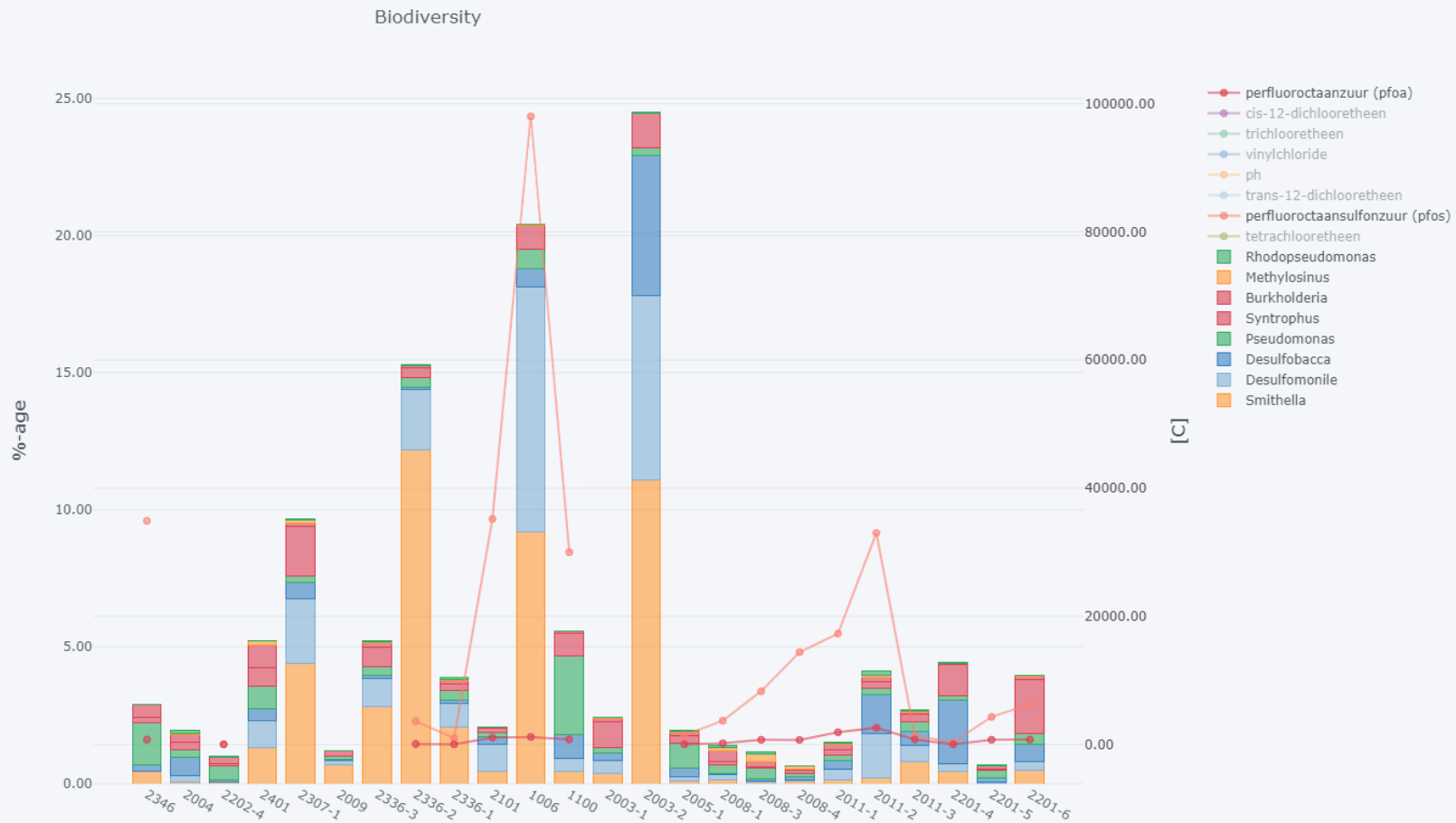


Resultaten NGS grond (met filter)

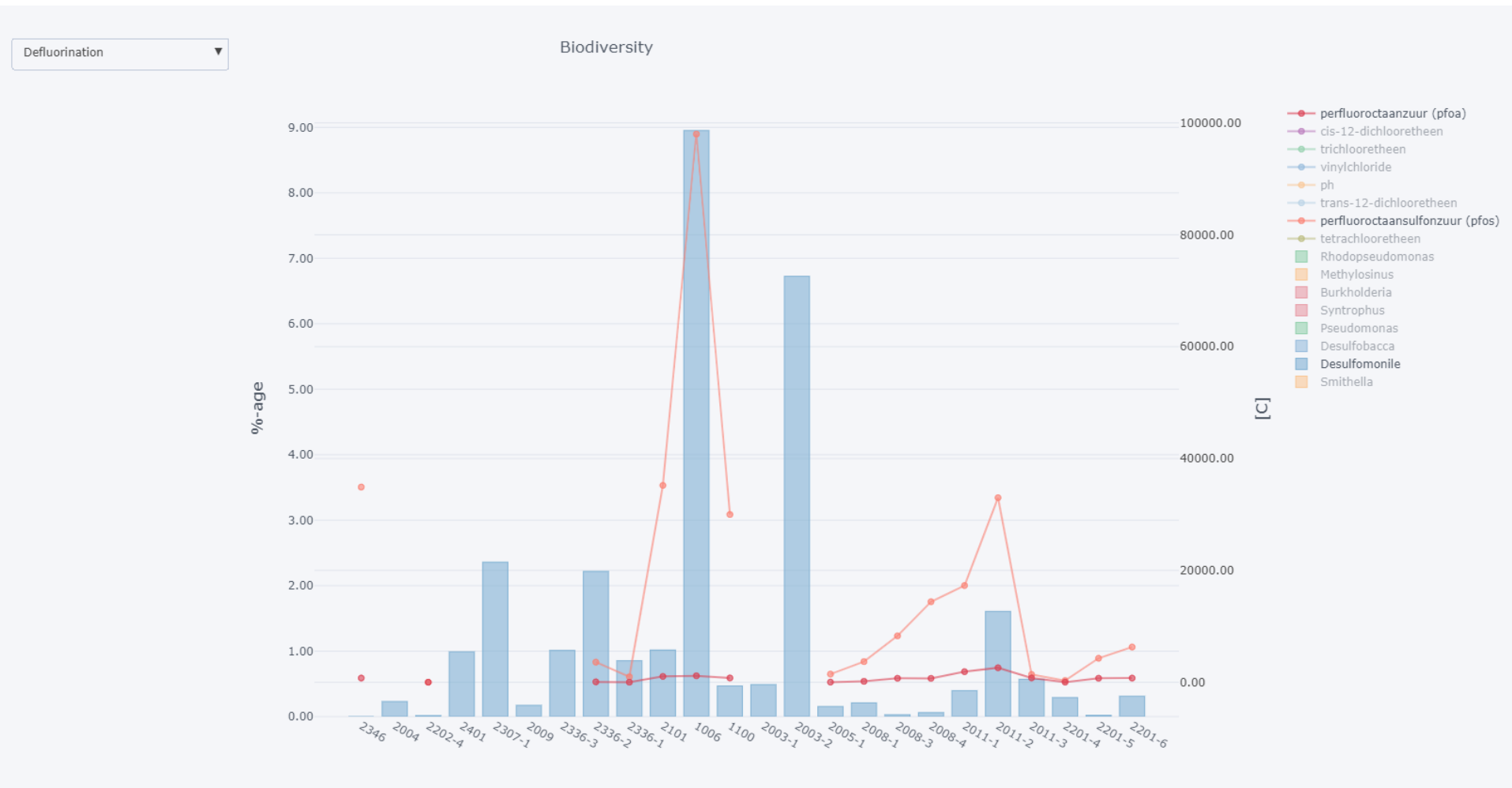


Resultaten NGS grondwater (met filter)

Defluorination ▼



Resultaten NGS grondwater (met *Desulfomonile* filter)



Conclusies en vervolg

qPCR

- Geen direct bewijs afbraak PFAS
- Indirect bewijs door aanwezigheid andere Acidimicrobiaceae

NGS

- Mogelijk correlatie PFAS en *Desulfomonile* bacteriën

Vervolg

- Aanvullende concentratiegegevens verzamelen
- Monsters (grond en grondwater) PFAS-vrije zones analyseren
- Statistische correlatie-analyse
- qPCR bestaande en nieuwe monsters met *Desulfomonile* target





Orvion

*Let **nature** do the job*

Bedankt voor uw aandacht!