



Útfelling í heitum pottum í Bláskógabyggð

**Vigdís Harðardóttir,
Viggó Þór Marteinsson**

Greinargerð VH-VþM-2002-08



Útfelling í heitum pottum í Bláskógabyggð

Að beiðni Hitaveitu Laugarvatns, Wilhelms Steindórssonar var Efnarannsókanrstofu Orkustofunnar falið að greina ljósleitt og hlaupkennt efni, sem myndast í 2-3 heitum pottum í Bláskógabyggð, sem Hitaveita Laugarvatns þjónar. Eftir að vatni hefur verið dælt í heita pottinn myndast hlaupið yfir nöttina og sé vatnð látið renna úr pottinum liggur hvít til gráleit slikja í botninum. Sýni voru tvö, annað í flösku með vatninu úr heitapottinum en hitt af hlaupinu sjálfu og kom það nokkrum dögum seinna.

Aðstæðum við sumarbústaðalandið háttar þannig. Vatnið sem sumarbústaðar-eigendurnir kaupa af hitaveitunni kemur úr sjálfrennandi sjóðandi hver í opna þró og þaðan í dælustöð, sem dælir því um dreifikerfi veitunnar. Lögnin er úr stáli, $2\frac{1}{2}$ " um þriggja ára gömul, nema smá bútur úr plasti (pex) u.p.b. 200-300 m. Vatnið fer m.a. í 6 sumarbústaði í eigu ESSO og er um 70°C heitt er þangað kemur (Wilhelm S. Steindórsson, munnlegar upplýsingar).

Sýni var síð frá vatninu í gegnum pappír $0,45 \mu\text{m}$ gropu og skoðað blautt og þurrkað. Í smásjá. Mjög illa gekk að sía vatnið og benti það til fjölliðunar einhverra efna. Smásjárskoðun á sýninu á síupappírnum sýndi trefjar af allskonar efnum; rauðt, blátt og svart. hár, jurtaleifar, örfín sandkorn í gulbrúnum seigkenndum massa. Lyktin var fúl eins og af óhreinu vatni í fiskabúri.

Seinna sýnið var keyrt í **XRD-tæki**. Sýnið var malað í morteli og sett á kvarsplötu. Mælt var frá lág-horni $2\Theta=2^{\circ}$ upp í $2\Theta = 56^{\circ}$, en á því bili er að finna flest alla toppa útfellinga. XRD-tækið er frá Philips PW-1710, svo og diffractometerinn og notast við Cu- lampa, Kα-geislun, við 20 mA og 40 kV. Mæliskrá sem notuð var heitir MIN-E.

Niðurstaðan var sú að ekki var um neina kristöllun að ræða og því ekki um eiginlega kristallaða útfellingu úr vatninu sjálfu (sjá fylgirit). Seinna sýnið var svo jafnframt leyst upp til að athuga kísilmagn ef um væri að ræða fjölliðun á kíslí úr vatninu. Sýnið var fyrst þurrkað við 100°C yfir nött og af því viktað 0,1 g og sett í platínudeiglu með 10 pillum af NaOH og brætt við $600\text{-}700^{\circ}\text{C}$ í 15 mín. Í bræðinginn var sett eimað vatn + 25 ml af 2,5 N H_2SO_4 (brennisteinssýru) og leyst upp í 1000 ml. Kísill var þá greindur $\text{SiO}_2 = 6,98\%$, sem þýðir að ekki getur verið um fjölliðun kísils að ræða. Ekki var hægt að greina fleiri efni vegna lítils magns efnisins.

Hluti af seinna sýninu var örverugreindur hjá PROKARIA. Niðurstöður þeirra rannsókna er að finna hér fyrir neðan.

Örverugreiningar á útfellingu í heitum pottum í Bláskógabyggð

Aðferðir og niðurstöður

Smásjárskoðun. Sýnið var skoðað í ljóssmásjá við 1500x stækkun. Sýnið innihélt mikið magn af örverum sem voru bæði staflaga og kúlulaga.

Ræktun. Sýni var tekið til ræktunar á næringarríkt agaræti og ræktað við 60°C. Hitakærar bakteríur uxu á skálinni. Mjög líklega óx bara ein ættkvísl hitakærra baktería sem er skyld *Thermus* bakteríum.

Erfðafjölbreytileiki örveranna. Sameindaerfðafræðileg greining var gerð á því örverusamfélagi sem sást í smásjánni. DNA var einangrað beint úr örverunum án ræktunar og einkennisgen (16S rRNA) voru mögnuð upp með PCR tækni. Með PCR tækni var hægt að magna upp raunbakteríugen en ekki reyndist unnt að magna upp fornbakteríugen. Einkennisgenin voru klónuð og genin síðan raðgreind (300 til 600 basar) úr 36 klónum. Raðirnar voru síðan skoðaðar í forriti (Sequencer) og bornar saman við öll þekkt sambærileg gen sem hafa verið raðgreind. Niðurstöður frá erfðafræðilegu greiningunni koma fram í töflu. Taflan sýnir skyldleikann í prósentum, þ.e. til hvaða flokks, ættkvíslar eða tegundar örverurnar í sýninu tilheyra. Einnig sýnir taflan þekkt vaxtarhitastig viðkomandi örvera ef það er þekkt

β-Proteobacter	<i>Deftia acidovorans</i>	2	98	30
Bakteríu flokkur	Ættkvísl eða tegund	Fjöldi klóna	Skyldleiki %	Þekktur vaxtarhitu
γ-Proteobacter	Óræktað	15	95	?
γ-Proteobacter	<i>Actinobacter junii</i>	2	100	30
γ-Proteobacter	<i>Enterobacter agglomerans</i>	4	100	
β-Proteobacter	<i>Pseudomonas huttiensis</i>	2	100	30
γ-Proteobacter	Óræktað	1		?
β-Proteobacter	<i>Achromobacter piechaudii</i>	1	99	37
β-Proteobacter	Óræktað -Acidovoras	1	99	?
γ-Proteobacter	Óræktað	1	92	?
β-Proteobacter	<i>Pseudomonas huttiensis</i>		95	30
α-Proteobacter	<i>Xanthobacter flavus</i>	1	98	
Firmicutes	<i>Clostridium</i> sp.	1	96	?
β-Proteobacter	<i>Comamonas</i> sp	1	97	?
γ-Proteobacter	<i>Actinobacter junii</i>	1	98	
β-Proteobacter	Óræktað	1	99	50
Deinococcus/ <i>Thermus</i>	<i>Thermus. ruber</i>	1	95	65
Óþekktur	Óræktað	1	96	?

Tulkun niðurstaðna

Með því að framkvæma sameindaerfðafræðilega greiningu á einkennisgeni örveranna í sýninu var hægt að auðkenna þær örverur sem þar sáust og eru í miklum fjölda. Með þessari aðferð er hægt að fá trúverðuga mynd af örverufjölbreytileikanum, þar sem almennt er viðurkennt að einungis er hægt að rækta minna en 1% af heildar fjölda

örvera úr örveruvistkerfi. Hefðbundnar ræktunaraðferðir sýna þær örverur sem geta vaxið við ákveðnar aðstæður á rannsóknarstofu en það er talið að í 99% tilvika sé ekki hægt að rækta þær örverur sem sjást með smásjá. Hinsvegar má fá upplýsingar eins og vaxtarhitastig með ræktunum.

Útfellingin í heitu pottunum inniheldur mjög fjölbreytt samfélag örvera sem hafa náð að mynda þetta örveruþekju. Með því að raðgreina 36 klóna höfum við náð stórum hluta af þeim örverum sem eru í þekjunni en til þess að fá nánast allar örverur sem eru í samféluginu, yrði að raðgreina einkennisgen í mun fleiri klónum. Gera verður ráð fyrir að þær örverur sem greindust í útfellingunni hafi verið í umtalsverðu magni í henni. Fjöldi klóna sem er gefinn í töflunni gefur vísbindingu um hvaða örverur eru algengastar í útfellingunni.

Með skoðun á raðgreindum genum úr sýninu sést að örverurnar sem fundust í útfellingunni er samfélag örvera sem lifir við hitastig frá 30 til 70°C. Þær lifa bæði við loftháðar og loftfirrtar aðstæður. Sumar þeirra geta losað fosfat úr umhverfinu. Hluti af loftfirrtu örverunum framleiðir líklega súlfíð (hugsanleg skýring á fulli lykt). Örverur sem geta sennilega unnið á eða framleitt kolvetni sem fundust í sýninu.

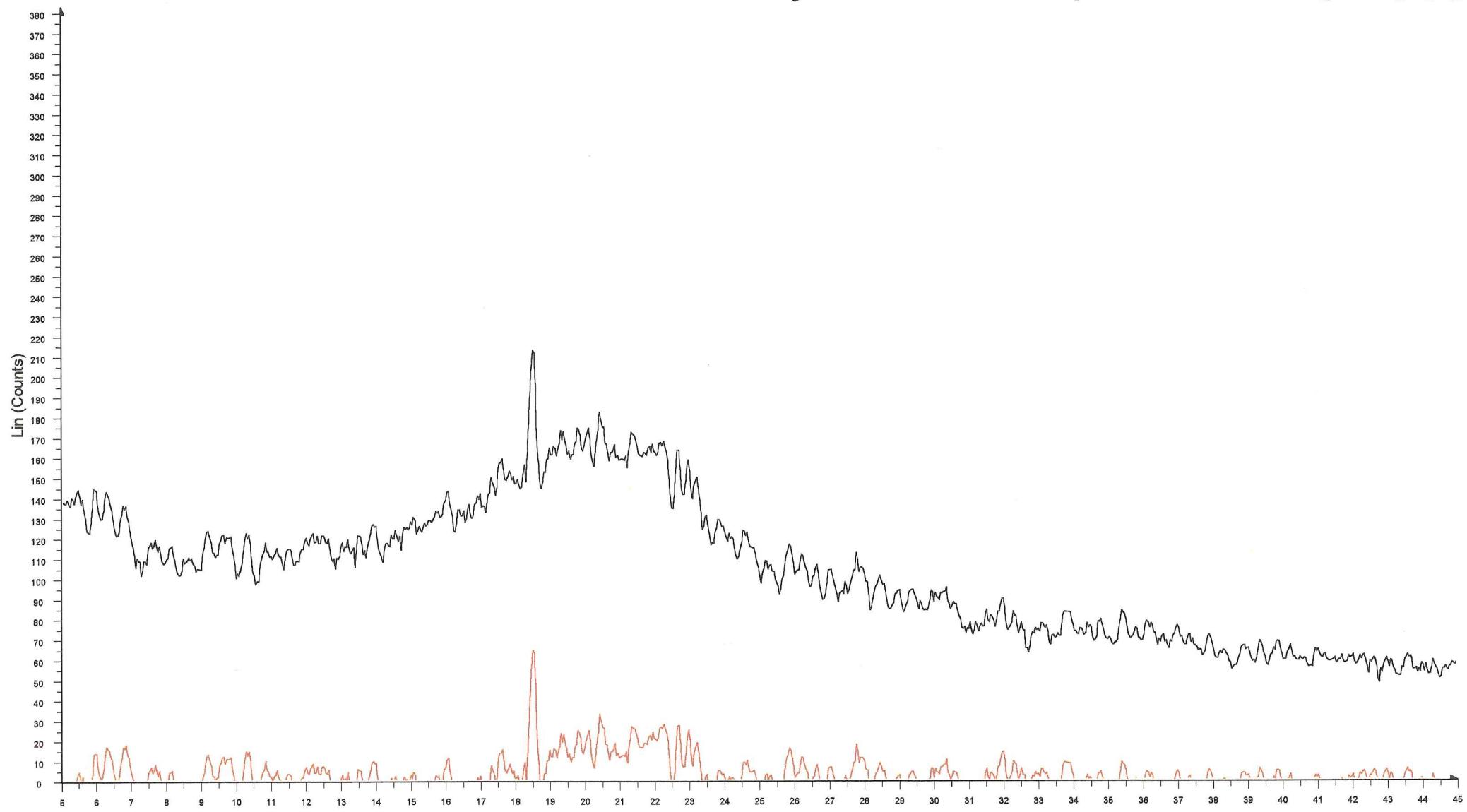
Ekki er vitað til þess að nokkur þeirra örvera sem voru greindar séu skaðlegar mönnum. Einn klónn sýndi skyldleika við örveruna *Achromobater piechaudii* en hún flokkast til sjúkdómsvaldandi örvera og gæti hugsanlega í einhverjum tilvikum valdið skaða á heilsu manna. Til að staðfesta með öryggi hvort um þessa tilteknu örveru er að ræða, yrði að heilraðgreina 16S rRNA genið.

Í því var mikið magn af örverum sem voru bæði staflaga og kúlulaga, og að svo stöddu er ekki hægt að segja um hvort þarna eru einhverjir sýklar á ferðinni en það er alls ekki óhugsandi. Til að vita meira, þá er sýnið í frekari greiningu sem tekur 1-2 vikur.

Það fyrsta sem kemur í hug án þess að kanna aðstæður, væri að reyna að auka gegnumstreymið í pottunum, eða bæta klóri út í eins og gert er í sundlaugum en samkvæmt upplýsingum er klór settur út í pottana fyrir notkun (Sigurður Sigfússon ESSO, munnlegar upplýsingar). Sennilega þarf þó að klórreinsa pottana með sterkri klórblöndu og skola vel með köldu vatni sem hægir mjög á myndun örvera. Einnig mætti athuga halla á botni pottanna og hvort í þeim nái að standa volgt vatn.

Vigdís Harðardóttir
M.Sc jarðfræðingur
Orkustofnun
Grensásvegi 9
108 Reykjavík
s. 5696000
vhd@os.is

Viggó Þór Martiesson Ph.D
Project manager Biodiversity
PROKARIA
Gylfaflót 5
IS-112 Reykjavík
Iceland
viggo@prokaria.com



35074/HITAVEITA LAUGAVATNS D5MEAS - Program:MIN-E.DQL D5MEAS - Program:MIN-E.DQL - File: 35074.raw - Type: 2Th/Th locked - Start: 5.000 ° - End: 45.000 ° - Step: 0.040 ° - Step time: 0.5 s - Temp.: 25.0 °C (Rock)

Operations: Smooth 0.150 | Aberrant 1 | Import

35074/HITAVEITA LAUGAVATNS D5MEAS - Program:MIN-E.DQL D5MEAS - Program:MIN-E.DQL - File: 35074.raw - Type: 2Th/Th locked - Start: 5.000 ° - End: 45.000 ° - Step: 0.040 ° - Step time: 0.5 s - Temp.: 25.0 °C (Rock)

Operations: Background 1.000,1.000 | Smooth 0.150 | Aberrant 1 | Import