

Biologisk nedbrydning af PAH i jord fra Frederiksberg Gasværksgrund

Laboratoriestudie
Fase 2

Faglig rapport fra DMU, nr. 127

Pia A. Willumsen

Ulrich Karlson

Afdeling for Havmiljø og Mikrobiologi

Datablad

Titel: Biologisk nedbrydning af PAH i jord fra Frederiksberg Gasværksgrund

Undertitel: Laboratoriestudie. Fase 2

Forfattere: Pia A. Willumsen & Ulrich Karlson
Afdelingsnavn: Afdeling for Havmiljø og Mikrobiologi

Serietitel og nummer: Faglig rapport fra DMU, nr. 127

Udgiver: Miljø- og Energiministeriet
Danmarks Miljøundersøgelser ©

Udgivelsesår: Marts 1995

Redaktion: Pia A. Willumsen
Tegninger: Mary Imer Sørensen

Bedes citeret: Willumsen, P.A. & Karlson, U. (1995)
Biologisk nedbrydning af PAH i jord fra Frederiksberg Gasværksgrund.
Laboratoriestudie. Fase 2. Danmarks Miljøundersøgelser. 101 s. - Faglig
rapport fra DMU, nr. 127.

Gengivelse tilladt med tydelig kildeangivelse

Emneord: Bioreklamation, polyaromatiske hydrocarboner, tjæreforurennet jord, detergent

ISBN: 87-7772-186-1
ISSN: 0905-815X
Papirkvalitet: Cyclus
Tryk: Grønager's Grafisk Produktion
Oplag: 70
Sideantal: 101
Pris : kr. 80,- (inkl. 25% moms, ekskl. forsendelse)

Købes hos: Danmarks Miljøundersøgelser
Afdeling for Havmiljø og Mikrobiologi
Frederiksborgvej 399, Postboks 358
DK-4000 Roskilde
Tlf. 46 30 12 00
Fax 46 30 11 14

Miljøbutikken
Information og bøger
Læderstræde 1
DK-1201 København K
Tlf. 33 92 76 92 (Information)
Tlf. 33 93 92 92 (Bøger)

Indhold

Forord 5

Resumé 7

1 Indledning 9

2 Beskrivelse af forsøgsdesign 12

2.1 Mikrokosmosforsøg 12

2.2 Kolonneforsøg 13

3 Resultater og diskussion 15

3.1 Mikrokosmosforsøg 15

3.1.1 Bakteriel dyrkbarhed 15

3.1.2 Sammendrag 20

3.1.3 Nedbrydning af PAH 21

3.1.4 Sammendrag 32

3.2 Kolonneforsøg 34

3.2.1 Sammendrag 37

3.3 pH i kolonne- og mikrokosmossystemet 38

3.3.1 Sammendrag 42

4 Konklusion Fase 2 43

5 Referencer 45

Appendiks 1

Materialer og anvendte metoder

Appendiks 2

Rådata af PAH-analyser (Alfred Jørgensens laboratorium)

Appendiks 3

Beregning af mængden af tilsatte næringssalte, vand og detergent

Appendiks 4

Eksempler på statistiske beregninger

Appendiks 5

Udvikling i tørstofindhold

Appendiks 6

Bestemmelse af optimalt vandindhold

Appendiks 7

Resultater fra pladespredningsforsøg, mikrokosmos

Forord

Denne rapport omhandler eksperimenter udført af Danmarks Miljøundersøgelser i anden fase af laboratoriestudiet af projektet "Biologisk nedbrydning af PAH i jord fra Frederiksberg Gasværksgrund" udført for Rambøll, Hannemann og Højlund A/S (RHH). Laboratoriestudiet udgør sammen med feltforsøg på Frederiksberg gasværk, Finsensvej et af de ialt 6 forsøgsprojekter til oprensning af kommunale gasværksgrunde, som finansieres af staten og de berørte kommuner - her Frederiksberg kommune.

Formålet med anden fase var i et mikrokosmosforsøg at undersøge indflydelsen af temperatur samt tilsætning af detergent på nedbrydningen af udvalgte PAH-forbindelser. Derudover blev effekten af beluftning samt tilsætning af henholdsvis kompost og flis som strukturmateriale vurderet i et kolonneforsøg.

Rapporten er udarbejdet til Rambøll, Hannemann og Højlund A/S til orientering om de udførte laboratorieforsøg samt opnåede resultater.

Resumé

Formålet med anden fase af laboratoriestudiet vedrørende "Biologisk nedbrydning af PAH i jord fra Frederiksberg Gasværksgrund" var at undersøge indflydelsen af temperatur og detergent på nedbrydningen af udvalgte polyaromatiske hydrocarboner, (PAH). Derudover blev beluftning samt tilsætning af henholdsvis kompost og flis som strukturmaterialer undersøgt for effekt på nedbrydning af PAH i et kolonneforsøg.

Abiotiske processer

Mikrokosmosforsøg

Jord blev bestrålet og anvendt som kontrol af nedbrydningen i forsøget. På trods af gentagen bestråling af jorden var det ikke muligt at bibeholde 100% sterilitet gennem hele forsøgsperioden, og de bestrålede prøver kunne derfor ikke anvendes til at vurdere omfanget af abiotiske processer i systemet. Indflydelsen på fjernelsen af PAH af abiotiske processer som kemisk fiksering, fotooxidation, fordampning og dannelse af perkolat samt påvirkningen af prøveudtagning, prøveforberedning og kemiske analyser blev vurderet at være minimal i forsøgsdesignet. PAH-koncentrationerne faldt i løbet af forsøgsperioden. Den mest sandsynlige forklaring herpå var fjernelse vha. biologiske processer som mineralisering og inkorporering af PAH i jordens organiske fraktion.

Lagfaser

PAH-nedbrydningen var ubetydelig de første 4 måneder af forsøget, hvorefter koncentrationen af de undersøgte PAH-forbindelser (phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren) var signifikant aftagende i resten af forsøgsperioden. Antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier var i den initiale periode faldende, men steg generelt efterfølgende i forsøgets sidste 198 dage. Det totale antal dyrkbare bakterier viste ikke tilsvarende fluktuationer. Det var derfor sandsynligt, at de PAH-nedbrydende bakterier var påvirket af de initiale forsøgsbetingelser, men adapterede sig i løbet af de første 4 mdr. Forklaringen til denne midlertidige inhibering vurderes at være de høje pH-værdier i jorden efter tilsætning af næringssalte.

Effekt af detergent

I forsøgets første 127 dage var koncentrationsniveauet af PAH generelt lavere i de detergent behandlede prøver end i tilsvarende bestrålede prøver og baggrundsprøver. Den anvendte detergentblanding havde sandsynligvis en initial effekt på nedbrydningen af PAH. Virkningen af detergentblandingen udeblev med tiden. Dette skyldes formodentlig hel eller delvis mikrobiel omsætning af detergenten. Det bør derfor overvejes at tilsætte detergent flere gange i løbet af inkuberingsperioden for at opnå en varig effekt. Tilsætningen af detergent til jorden favoriserede ikke væksten af de phenanthren-nedbrydende bakterier.

Effekt af temperatur

Antallet af dyrkbare bakterier og antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier var signifikant højere ved 15 °C end ved 25 °C. Dette skyldes sandsynligvis, at omsætningen af karbon generelt er hurtigere ved 25 °C end 15 °C, og at den tilgængelige pulje af karbon derfor hurtigere bruges op ved den højere temperatur. En øget inkubationstemperatur på 25°C i forhold til 15 °C havde generelt ingen signifikant effekt på fjernelsen af PAH.

Mængde PAH omsat

De undersøgte PAH-forbindelser; phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren blev uafhængig af påført behandling (bestråling, temperatur og detergent) fjernet med henholdsvis 66, 74, 66, 64 og 71 % i løbet af forsøgsperiodens sidste 198 dage. Nedbrydningsprocenterne for phenanthren og anthracen var, forsøgsperiodens længde taget i betragtning, relativt lave, hvilket sandsynligvis skyldes en minimal tilgængelighed af de pågældende forbindelser i den anvendte jord. Mængden af omsat fluoranthen, pyren og benz(a)pyren samt de beregnede halveringstider for disse PAH adskiller sig dog generelt ikke fra de i litteraturen rapporterede værdier.

Kolonneforsøget

Ingen af de anvendte behandlinger (baggrund, beluftning, tilsætning af flis eller kompost) medførte signifikant nedbrydning af de seks udvalgte PAH-forbindelser (phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren) i løbet af de 126 dage forsøget varede. Den udeblivende nedbrydning af PAH-forbindelserne i kolonnerne skyldes formodentlig, som i mikrokosmosforsøget, at forsøgsbetingelser i jorden virkede hæmmende på PAH-nedbrydningen. Forsøgsperiodens 126 dage var ikke tid nok til, at bakterierne kunne adaptere til forholdene.

1 Indledning

Polyaromatiske hydrocarboner (PAH) er en gruppe af organiske forbindelser, som ofte findes i store mængder i jord på områder, hvor der tidligere har været industriel fremstilling eller anvendelse af gas, tjære, asfalt, træimpregneringsmidler etc. PAH-forbindelserne består af to eller flere sammensatte benzenringe arrangeret liniert eller forskudt i forhold til hinanden. Vandopløseligheden af disse organiske forbindelser er lav, f.eks. 30,0-31,7 mg/l for naphthalen og 0,71-1,29 mg/l for phenanthren, som er to af de mere vandopløselige PAH-forbindelser (Sims & Overcash 1993; Pearlman *et al.* 1984; Montgomery & Welkom 1989). Derudover har PAH-forbindelserne høje $\log K_{ow}$ værdier; 3,37 for naphthalen og 4,46 for phenanthren (Sims & Overcash 1993 og Montgomery & Welkom 1989). Sidstnævnte betyder, at PAH'erne i stor udstrækning vil adsorbere sig til den organiske fraktion i jorden. Denne egenskab tillige med forbindelsernes ringe vandopløselighed bevirker, at de i større eller mindre grad er svært tilgængelige substrater for mikroorganismer.

Der er fra flere forskere rapporteret om aerob mineralisering af lavmolekylære PAH'er (to- og tre-ringede forbindelser) ved forskellige naturligt forekommende mikroorganismer i forurenede jord (Boldrin *et al.* 1993; Guerin & Jones 1988; Mueller *et al.* 1989; Weissenfels *et al.* 1990). PAH-forbindelser med fire eller flere ringe er mindre vandopløselige, mere stabile og derfor mindre tilgængelige overfor mikroorganismene. Bakteriel mineralisering af disse høj molekylære forbindelser antages generelt at foregå ved hjælp af co-metabolske mekanismer. Der er dog i de senere år blevet rapporteret om bakterier, der er i stand til at anvende f.eks. pyren og chrysen (Grosser *et al.* 1991; Walter *et al.* 1991) og fluoranthen (Mueller *et al.* 1990; Weissenfels *et al.* 1990) som eneste kulstof- og energikilde.

Oprensningen af PAH-forurenede grunde er ofte omstændelig og dyr. Afhængig af forureningsgraden bliver den PAH-holdige jord ofte gravet op og kørt til forbrænding eller deponeret som fyldjord på deponeringspladser. Biologisk nedbrydning af PAH-forurenede jord *in situ*, *on site* eller ved hjælp af bioreaktorer er i løbet af de sidste år blevet afprøvet med varierende succes (Wilson & Jones 1993).

In situ bioremediering som metode anses for at være uegnet til PAH-forbindelser med fire eller flere ringe (Ellis *et al.* 1991; Morgan & Watkinson 1990) bl.a. på grund af de ovenfor omtalte fysisk-kemiske egenskaber for denne gruppe af organiske forbindelser samt generelle begrænsninger i den effektive behandlingsperiode pga. årlige variationer i bl.a. nedbør og temperatur. Anvendelse af reaktorsystemer til biologisk rensning af jord er i løbet af de sidste år blevet mere udbredt (Wilson & Jones 1993).

Dette skyldes, at de optimale forhold for den biologiske aerobe nedbrydningsproces er lettere at opretholde i reaktorsystemer end i det oprindelige jordsystem. Anvendelse af bioreaktorer har vist at kunne øge hastigheden og omfanget af PAH-nedbrydning i tjæreforurenet jord i forhold til *on site* behandling af den samme jord (Mueller et al. 1991a; Rittmann & Johnson 1989). Bioreaktor-metoden er stadig under udvikling, og driftsudgifterne er relativt høje. *On site* behandling af forurenet jord er en metode, der har været anvendt i mange år til bl.a. behandling af olieforurenet jord (Bossert & Bartha 1984). Dokumentation for anvendeligheden af *on site* "landfarmingsmetoder" til nedbrydning af PAH-forurenet jord bygger ofte kun på få parametre som f.eks. fald i "totale hydrocarboner" eller "totale PAH'er". Wang et al. 1990 har dog rapporteret, at *on site* bioremediering af dieselolieforurenet jord øgede nedbrydningen af lavmolekylære PAH-forbindelser. Succesfuld bioremediering af jord forurenet med højmolekylære PAH-forbindelser (f.eks. jord fra tidligere gasværksgrunde eller træbeskyttelseindustrier) er dog begrænset (Ellis et al. 1991; Sherman et al. 1990). Det er derfor interessant at optimere på *on site* teknikken, således, at den udover at være anvendelig til nedbrydning af lavmolekylære PAH-forbindelser, også bliver optimal med hensyn til nedbrydning af høj molekylære PAH-forbindelser.

En af de faktorer, der i de seneste år er blevet forsket meget i med hensyn til biologisk nedbrydning af PAH-forbindelser er optimeringen af deres biotilgængelighed. Tilsætning af detergenter (overflade aktive stoffer) til nedbrydningssystemerne gør PAH'erne mere tilgængelige overfor mikroorganismene. Anvendelsen af detergenter ved nedbrydning af PAH'er i tjæreforurenet jord har i de seneste år været forsøgt med varierende resultater (Bewley et al. 1989; Rittmann & Johnson 1989, Ellis et al. 1990). De anvendte detergenter bør være optimale for nedbrydningssystemet. Detergenten bør anvendes i lave koncentrationer, adsorbere minimalt til jordpartiklerne og være non-toksisk i de anvendte koncentrationer overfor mikroorganismene i jorden. Derudover skal detergenten være tilstrækkelig nedbrydelig i systemet, således at den ikke ophobes i miljøet. Omvendt bør detergenten ikke udgøre et så godt substrat for mikrofloraen i jorden, at den nedbrydes førend, den når at virke i systemet.

I første fase (Fase 1) af nærværende projekt blev PAH-nedbrydningspotentiallet i jorden fra Frederiksberg gasværksgrund estimeret ved hjælp af forskellige mikrobiologiske metoder. Derudover blev forskellige udvalgte detergenter screenet for deres evne til at mobilisere udvalgte PAH-forbindelser fra jorden til en vandig fase. Der blev udført optimeringsforsøg med hensyn til anvendte detergent koncentrationer. Yderligere blev det undersøgt om den anvendte koncentration inhiberede den naturlige mikrofloras evne til at mineralisere udvalgte PAH-forbindelser. Konklusionen på de i Fase 1 udførte forsøg var, at jorden indeholdt et potentiale for nedbrydning af udvalgte PAH-forbindelser.

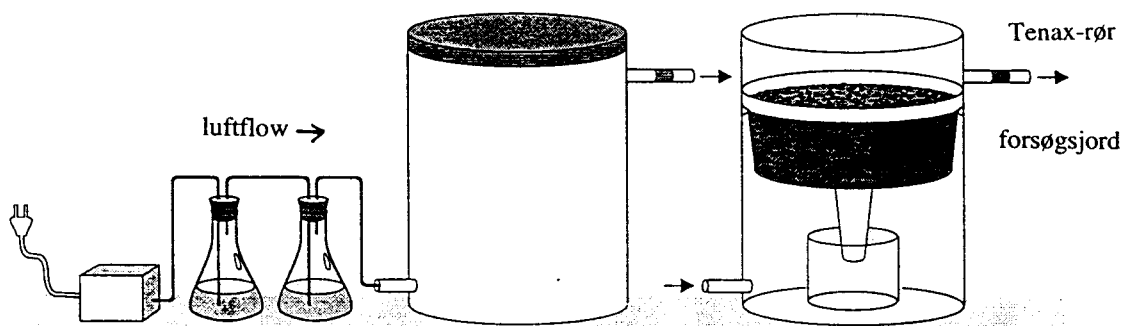
En af de undersøgte detergenter viste sig at være mere effektiv end de andre til at mobilisere PAH, og den optimale detergent koncentration ved den anvendte metode blev estimeret (Willumsen & Karlson 1993).

Formålet med de i dette projekt udførte laboratorieforsøg var at undersøge PAH-nedbrydningen i tjæreforurenet jord fra Frederiksberg gasværksgrund under forskellige forsøgsbetingelser. Den anvendte metode til bioremediering af jorden på Frederiksbergs gasværksgrund i de efterfølgende storskala forsøg (udført af RHH) er *on site* behandling af den forurenede jord i miler samt i et specielt designet telt på gasværksgrunden. Med udgangspunkt i ovenstående blev der i projektets anden del (Fase 2) udført et mikrokosmosforsøg, hvor indflydelsen af temperaturen samt tilsætning af en udvalgt detergent på nedbrydningen af udvalgte PAH-forbindelser i jorden blev vurderet. Der blev tillige udført et kolonneforsøg, hvor effekten af beluftning samt tilsætning af henholdsvis kompost og flis som strukturmateriale blev undersøgt.

2 Beskrivelse af forsøgsdesign

2.1 Mikrokosmosforsøg

Temperaturens indflydelse og effekten af detergent på nedbrydningen af udvalgte PAH-forbindelser blev undersøgt. Forsøgsdesignet for de anvendte mikrokosmos fremgår af nedenstående Figur 1 og er beskrevet i detaljer i Appendiks 1.



Figur 1 Forsøgsdesign til mikrokosmosforsøg.

En blanding af detergenterne Synperonic LF/RA310 og Synperonic LF/RA 30 (1:1) blev tilsat jorden for at øge tilgængeligheden af PAH-forbindelserne i forsøgsjorden. Blandingen blev udvalgt ved indledende screening (Willumsen & Karlson 1993).

Forsøget blev udført ved henholdsvis 15 °C og 25 °C for at estimere temperaturens effekt på PAH-nedbrydningen. Som kontrol af abiotisk omsætning blev kobolt 60 bestrålet jord anvendt. Tabel 1 giver en oversigt over de anvendte forsøgsbetingelser.

Tabel 1 Forsøgsbetingelser, mikrokosmosforsøg. Næringssalte (N tilsat som NaNO_3 , P tilsat som Na_2HPO_4 i C:N:P-forholdet 30:5:1) tilsat til alle mikrokosmos. Detergent (10 g/kg jord) tilsat ved forsøgets start. Hver behandling blev udført i dublikat

Forsøgsbetingelser	Temperatur	Tilsat detergent	Bestråling
A Baggrund	15 °C		
B Baggrund	25 °C		
C Detergent	15 °C	+	
D Detergent	25 °C	+	
E Bestrålet kontrol	15 °C		+
F Bestrålet kontrol	25 °C		+

Mikrokosmos blev inkuberet i 325 dage. Der blev udtaget jordprøver fra alle mikrokosmos efter 0, 25, 53, 89, 127, 204, 281 og 325 dage. Følgende parametre blev bestemt ved hver prøverunde; koncentrationen af phenantren (Phe), anthracen (Ant), fluoranthen (FAn), pyren (Pyr) og benz(a)pyren (BaP) (Appendiks 2); det totale antal bakterier, antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier (Appendiks 7) og vandindholdet i jorden (Appendiks 5.B). pH i jorden blev bestemt ved forsøgets start og afslutning. Udviklingen i pH er behandlet i afsnit 2.3.

2.2 Kolonneforsøg

Omfanget af nedbrydningen af udvalgte PAH-forbindelser i jord fra Frederiksberg Gasværksgrund blev undersøgt ved tilsætning af kompost samt ved beluftning. Indflydelsen af luft på PAH-nedbrydningen blev undersøgt, da Rambøll, Hannemann & Højlund A/S ville afprøve effekten af ventilation på PAH-nedbrydning i feltforsøget. Kompost og flis blev tilsat med det formål at øge iltgennemførelsen i systemet og derved øge omfanget af PAH-nedbrydningen. Tabel 2 giver en oversigt over de anvendte forsøgsbetingelser

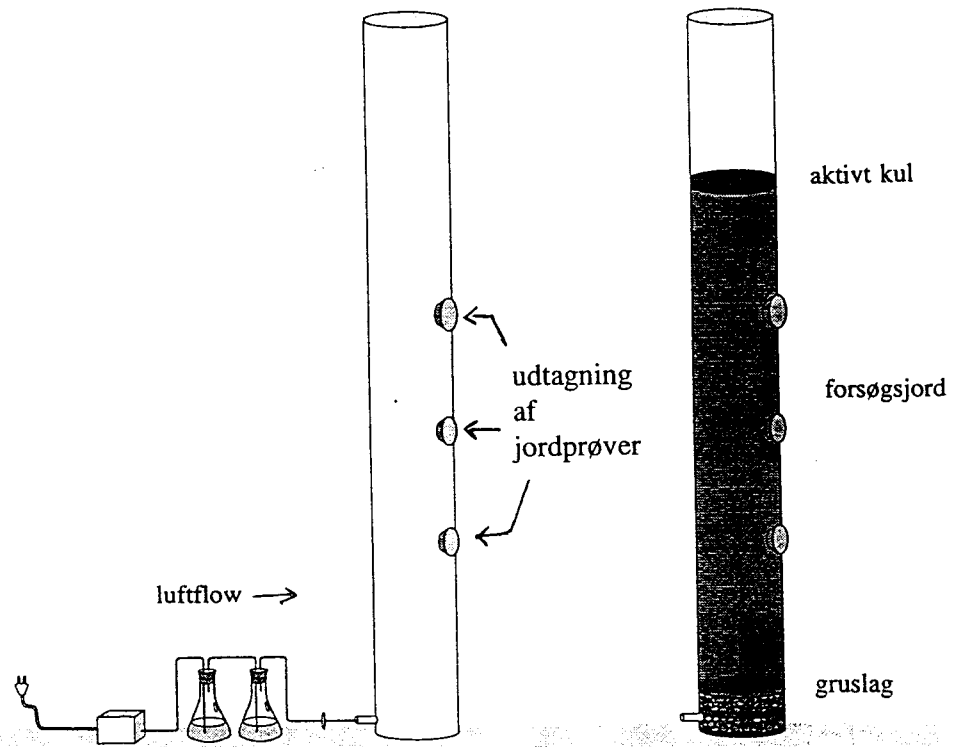
Tabel 2 Forsøgsbetingelser ved kolonneforsøget. Inkubationstemperatur: 15 °C, C:N:P- forhold 30:5:1 (N tilsat som NaNO₃, P tilsat som Na₂HPO₄), kompost tilsat i forholdet kompost:jord= 3:7 (v/v), flis tilsat i forholdet flis:jord= 1:2 (v/v). Hver behandling blev udført i dublikat.

Behandling	Kompost	Flis	Beluftning	Bemærkninger
A			+	Effekt af beluftning, baggrund
B				Uden behandling, baggrund
C	+		+	Effekt af kompost og beluftning
D	+			Effekt af kompost
E		+	+	Effekt af flis og beluftning

Forsøgsdesignet fremgår af Figur 2 og er beskrevet i detaljer i Appendiks 1. Kolonnerne blev beluftet vha akvariepumper. Luften blev ledt ind i bunden af kolonnerne. Et lag grus i bunden af kolonnerne skulle sikre en ensartet distribution af den tilførte luft. Det var ikke muligt at bestemme størrelsen af det effektive luftflow (den mængden luft der reelt kom i kontakt med jorden i kolonnerne), da designet af kolonnerne og beluftningssystemet ikke var 100% tæt. Det kan derfor ikke udelukkes, at beluftningen af jorden ikke har været optimal.

Kolonnerne blev inkuberet ved 15 °C i 126 dage. Der blev udtaget prøver efter 0, 22, 50, 84 og 126 dage.

Følgende parametre blev bestemt ved hver prøverunde; koncentrationen af phenanthren (Phe), anthracen (Ant), fluoranthen (FAn), pyren (Pyr) og benz(a)pyren (BaP) (Appendiks 2 og Figur 7); pH og tørstofindhold i jorden. Tabel over udviklingen i tørstofindholdet i kolonnerne i løbet af inkubationsperioden er placeret i Appendiks 5.A. Variationen i tørstofindholdet var minimal under forsøgsperioden. Udviklingen i pH i de forskellige kolonner i løbet af forsøgsperioden er behandlet i afsnit 3.3.



Figur 2 Eksperimentelt design af anvendte kolonner

Der blev sat to kolonner op for hver behandling. Ud fra økonomiske overvejelser blev det besluttet at bestemme PAH-koncentrationerne i forsøgsjorden ved udtagning af én prøve per kolonne per prøverunde. Ved ekstraktion og analyse af PAH'er i tjære-forurenede jorde ses ofte en stor variation på analyseresultatet af de enkelte PAH-forbindelser, selv mellem prøver udtaget som replikater til samme tidspunkt. Denne variation skyldes den meget inhomogene distribution af tjæreforureningen i jorden og vil på trods af grundig homogenisering, være svær at undgå. Spredningen på de opnåede resultater vil derfor ofte kunne overskygge en egentlig nedbrydningseffekt.

3 Resultater og diskussion

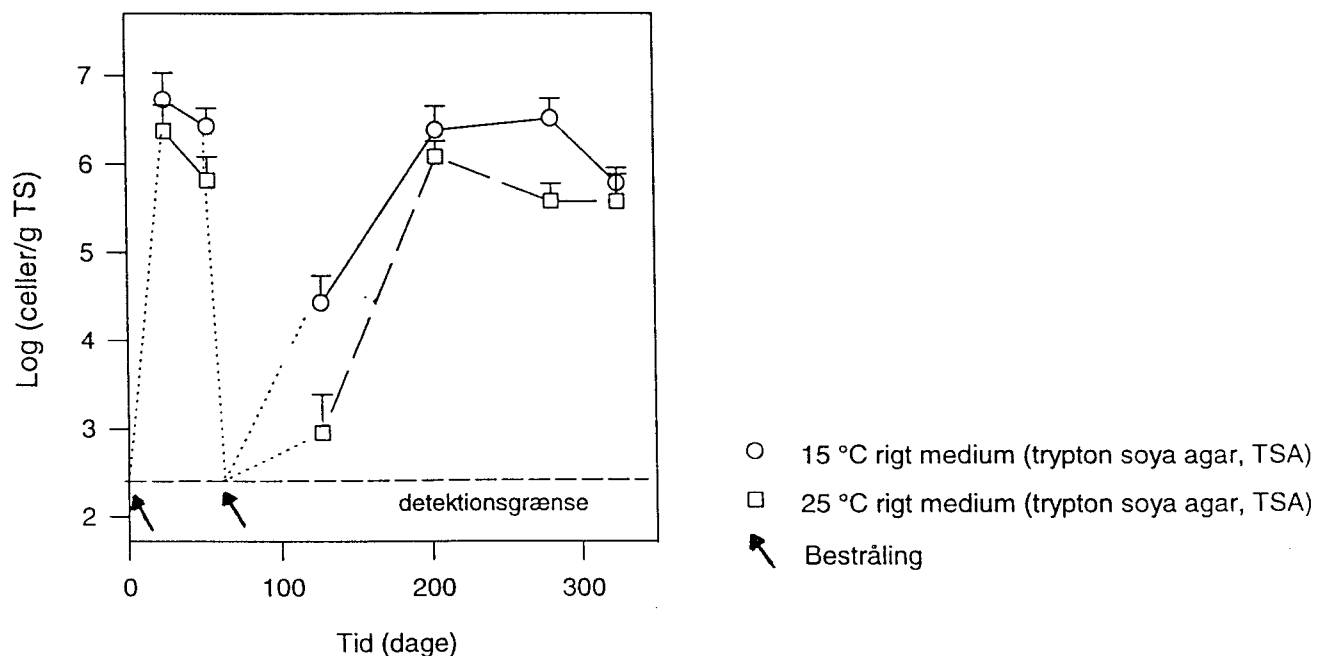
3.1 Mikrokosmosforsøg

3.1.1 Bakteriel dyrkbarhed

Udviklingen i den bakterielle dyrkbarhed blev fulgt under hele forsøget. Ved de forskellige prøveudtagninger blev det totale antal dyrkbare bakterier og antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier bestemt. Det totale antal dyrkbare bakterier blev bestemt på et medium forholdsvis rigt på karbon (trypton soya agar, TSA), og antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier blev bestemt ud fra antallet af klaringszoner på phenanthren-coatede agaroseplader.

Bestrålede kontrolprøver

Omfanget af en abiotisk fjernelse af de udvalgte PAH-forbindelser blev undersøgt i bestrålede kontrolprøver inkuberet sammen med forsøgets andre mikrokosmos. Mikrokosmossystemerne blev bestrålet første gang lige efter, at systemet var sat op. Det viste sig efter inkubation i 25 dage, at det ikke var muligt at bibeholde 100 % sterilitet i systemet. Selv efter en gentagelse af bestrålingen efter 63 dage voksede en dyrkbar population af bakterier frem på agarplader. Den fremvoksende population var af samme størrelse, som i de ikke bestrålede prøver (Figur 3).



Figur 3 Udviklingen i det totale antal dyrkbare bakterier i de bestrålede mikrokosmos. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af 2 gentagelser af hver behandling, hver bestemt som et gennemsnit af resultater fra 3 fortyndinger fremstillet ud fra en ekstraktion \pm std. afvigelse ($n=6$). Mikrokosmos blev bestrålet ved forsøgets start og efter 63 dage.

Det var dog tydeligt, at populationen af bakterier efter bestrålingerne ikke var så varieret som "den naturlige population" i jorden. Det var ikke muligt at påvise dyrkbare phenanthrennedbrydende bakterier ved hjælp af den anvendte metode (klaringszoner på phenanthren-coatede plader).

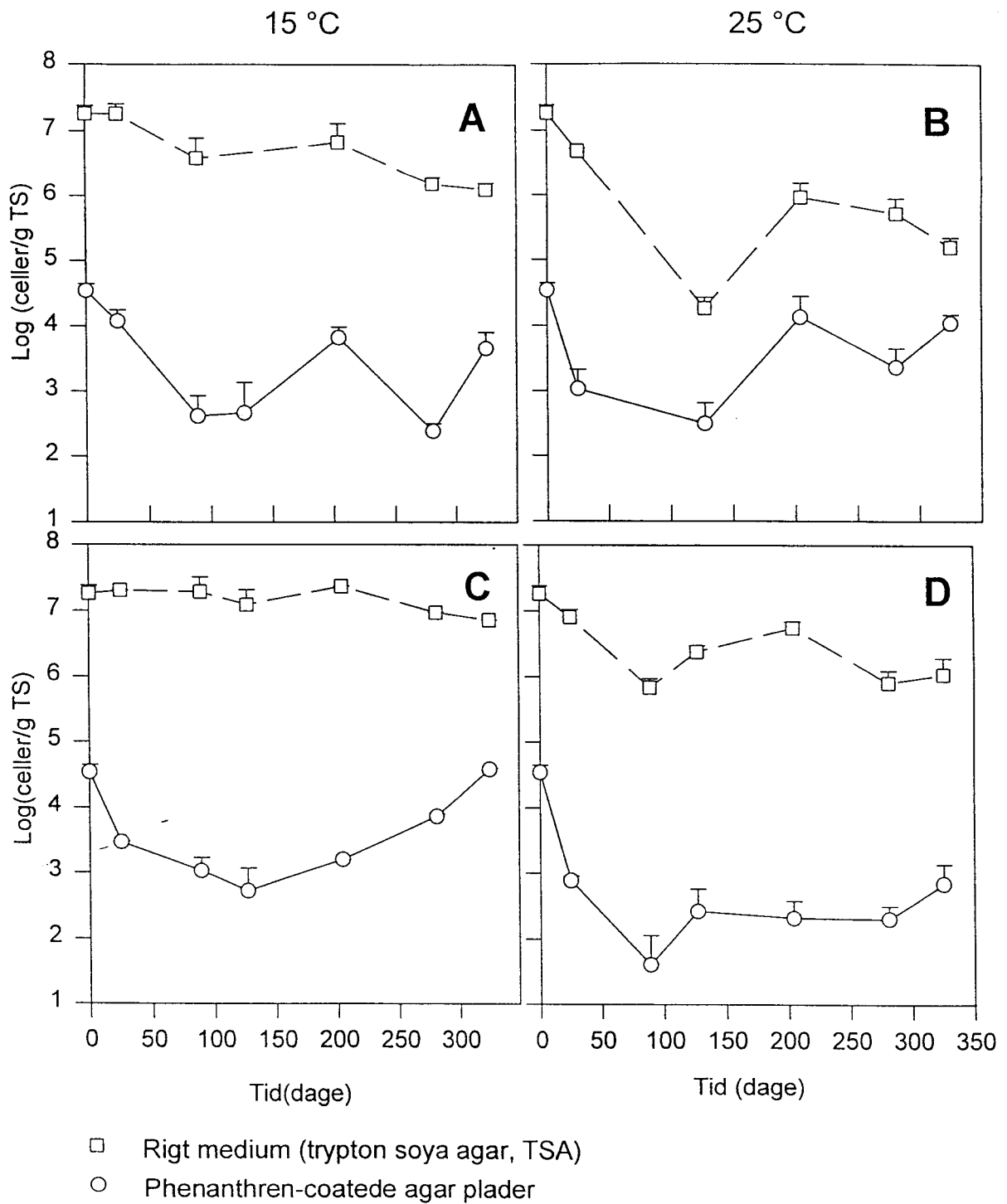
Dyrkbare bakterier

Det totale antal af dyrkbare bakterier i råjorden (ubehandlet forsøgsjord; ikke sigtet, homogeniseret eller tilsat næringsalte) blev i Fase 1 bestemt til ca. 10^7 cfu/g ts (Willumsen & Karlson 1993). Dette svarer til det initiale antal dyrkbare bakterier bestemt i den behandlede forsøgsjord. Den indledende behandling af jorden har ikke umiddelbart påvirket antallet af dyrkbare bakterier i jorden. Figur 4 viser den bakterielle dyrkbarhed i løbet af forsøgsperioden ved de forskellige forsøgsbetingelser. Det totale antal dyrkbare bakterier faldt, undtagen ved behandling C (detergent ved 15 °C), generelt fra ca. 10^7 til 10^5 - 10^6 dyrkbare bakterier per gram tørstof i løbet af forsøgsperioden (Figur 4A,B og D).

Forsøgsbetingelserne for behandling A/C henholdsvis B/D var, med undtagelse af tilsætningen af detergent til C og D, identiske. Hvis faldet i det totale antal dyrkbare bakterier skyldtes generelle hæmmende forsøgsbetingelser, skulle antallet af dyrkbare bakterier være aftagende ved alle forsøgsbetingelser. Dette var ikke tilfældet (Figur 4). En osmotisk hæmningseffekten ville manifestere sig i løbet af forsøgets første to prøveudtagninger, og det vurderes derfor, at det observerede fald i antallet af dyrkbare bakterier ikke skyldes et inhiberende osmotisk tryk i jorden som følge af de tilsatte næringsalte. Det konkluderes, at det ovenfor omtalte fald i det totale antal af dyrkbare bakterier sandsynligvis er et udtryk for mangel på tilgængelige kulstofkilder i jorden.

Den anvendte detergentblanding var sammensat af to detergenter, der begge opfylder kravene i det europæiske direktiv 82/242 om bionedbrydelighed (80% på 21 dage i et specielt testsystem) (ICI, Danmark). Forsøgsbetingelserne i nærværende mikrokosmossystem er ikke nødvendigvis sammenlignelige med det i direktivet anvendte testsystem, men det vurderes, at der vil ske en hel eller delvis mineralisering af den tilsatte detergent i løbet af forsøgsperioden. Det udeblivende fald i det totale antal dyrkbare bakterier ved behandling C vurderes således at være et udtryk for, at detergentblandingen har været et lettilgængeligt substrat for bakterierne og derved øget mængden af totalt tilgængelige kulstofkilder i jorden.

Det aftagende totale antal bakterier i behandling D i modsætning til C kan forklares ved, at omsætningen af organisk kulstof generelt er større ved 25 °C end ved 15 °C. Der vil således, på trods af den tilsatte detergent, hurtigere blive mangel på lettilgængeligt kulstof ved 25 °C end ved 15 °C. Dette underbygges af, at der ved begge temperaturer var signifikant flere dyrkbare bakterier i mikrokosmos tilsat detergent end i baggrundsmikrokosmos (Appendiks 4.B.0).



Figur 4 Udvikling i det totale antal dyrkbare bakterier såvel som antal phenanthren-nedbrydende bakterier i mikrokosmosforsøget. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af to gentagelser af hver behandling, hver bestemt som et gennemsnit af resultaterne fra tre fortyndinger fremstillet ud fra en ekstraktion \pm std. afvigelse ($n=6$). A: Baggrund ved 15 °C, B: Baggrund ved 25 °C, C: Tilsat detergent ved 15 °C og D: Tilsat detergent ved 25 °C.

Bakteriel nedbrydning af den tilsatte detergent vil medføre, at aktiviteten af detergenten mht. mobilisering af PAH-forbindelserne i jorden bliver formindsket. Samtidigt vil puljen af biotilgængeligt detergent i jorden med tiden blive mindre. Jordprøver indeholdende detergent skummede ved ekstraktion til pladespredning til forskel fra jordprøver uden detergent. Dette blev observeret igennem hele forsøgsperioden, og det må derfor antages, at der også ved forsøgets afslutning var detergent tilstede i jorden. Detergenterne er ikke 100% bionedbrydelige, og eventuelle nedbrydningsprodukter udgør ikke nødvendigvis lettilgængelige kulstofkilder eller virker aktive med hensyn til mobilisering af PAH-forbindelserne i jorden. Det er dog ikke muligt at vurdere i hvilket omfang mængden samt aktiviteten af den tilsatte detergent i jorden er blevet formindsket i løbet af inkubationsperioden. Nedbrydningen kan således have haft en tidsmæssig indflydelse på detergentens effektivitet ved nedbrydning af PAH i jorden (se afsnit 3.1.3).

En forøgelse af inkubationstemperaturen, 25 °C mod 15 °C, havde ikke en stimulerende effekt på det totale antal af dyrkbare bakterier, der var signifikant lavere ved 25 °C end ved 15 °C uafhængig af behandling (Appendiks 4.B.0). Det større fald i antallet af dyrkbare bakterier ved 25 °C end 15 °C skyldes sandsynligvis, som tidligere nævnt, at omsætningen af karbon generelt er større ved 25 °C end ved 15 °C, og at der derfor hurtigere bliver mangel på lettilgængeligt karbon ved 25 °C.

Dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier

Antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier i den ubehandlede råjord blev i Fase 1 bestemt til ca. 10^3 cfu/g ts (Willumsen & Karlson 1993). Dette er ca. 50 gange mindre end antallet bestemt i den behandlede forsøgsjord (sigtet, homogeniseret og tilsat næringssalte) ved forsøgets start ($5 \cdot 10^4$ cfu/g ts). Den indledende behandling af jorden har formodentlig haft en initial stimulerende effekt på antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier. Antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier faldt i forsøgsjorden i løbet af forsøgets første 127 dage fra omkring $5 \cdot 10^4$ til $5 \cdot 10^2$ cfu/g tørstof for behandlingerne A, B og C (Figur 4). Ved behandling D faldt antallet til omkring $5 \cdot 10^1$ cfu/g tørstof. I løbet af forsøgets sidste halvdel enten steg antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier fra omkring $5 \cdot 10^2$ til $5 \cdot 10^4$ - 10^5 cfu/g ts (Figur 4A, B og C) eller stabiliserede sig omkring 10^2 cfu/g TS (Figur 4D). De observerede fald i antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier i forsøgets første 127 dage kunne tyde på, at betingelser for phenanthrennedbrydning ikke har været optimale i jorden i forsøgets første periode. Den efterfølgende forøgelse i antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier peger på en bakteriel adaptering til forholdene i jordsystemerne.

Generelt viste det totale antal dyrkbare bakterier (som er et udtryk for mange forskellige bakteriestammers dyrkbarhed) ikke tilsvarende fluktuationer.

Det er derfor sandsynligt, at ikke alle bakterier i jorden har været påvirket af forsøgsbetingelserne i samme udstrækning som de phenanthren-nedbrydende bakterier. Sammenhængen mellem de her omtalte resultater fra pladespredningerne, de anvendte nærigssalte og udviklingen i pH er diskuteret i afsnit 3.3.

Antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier ved behandling A og B (baggrund ved 15 °C henholdsvis 25 °C) var ikke signifikant forskelligt. Antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier ved behandling C (detergent 15 °C) var derimod signifikant større end ved behandling D (detergent 25 °C). Samtidigt var antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier signifikant lavere i detergentbehandlede prøver ved 25 °C end i tilsvarende baggrundsprøver. Det kan således tyde på, at de phenanthren-nedbrydende bakteriers dyrkbarhed ved 25 °C var hæmmet i jorden. Det er muligt, at den anvendte detergentblanding virker inhiberende på de phenanthren-nedbrydende processer ved højere temperaturer, f.eks. hvis en højere opløselighed af detergenterne ved 25 °C end ved 15 °C påvirker transportprocesser over bakteriernes cellemembran etc. Sammenholdes antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier ved behandling A med B (baggrund ved 15 °C henholdsvis 25 °C) med antallet ved behandling C og D (tilsat detergent ved henholdsvis 15 °C og 25 °C) kan det konkluderes, at den tilførte detergentblanding ikke umiddelbart har haft en stimulerende effekt på de phenanthren-nedbrydende bakteriers evne til at danne klaringszoner f.eks. ved at udgøre en lettilgængelig karbonkilde, og derved øge det totale antal phenanthren-nedbrydende bakterier eller ved at øge tilgængeligheden af PAH-forbindelserne.

3.1.2 Sammendrag

Bestrålede kontrolprøver

Bestrålingen af den anvendte jord var ikke effektiv nok til at bibeholde systemet 100% sterilt igennem inkubationsperioden. De fremvoksende populationer var af samme størrelse, som populationerne i de ikke-bestrålede prøver. Det var dog ikke muligt at identificere phenanthren-nedbrydende bakterier ved klaringszonemetoden i den bestrålede jord.

Det totale antal dyrkbare bakterier

Antallet af dyrkbare bakterier var med undtagelse af jord tilsat detergent ved 15 °C aftagende igennem hele forsøgsperioden (fra 10^7 til 10^5 - 10^6 cfu/g ts). Faldet skyldes sandsynligvis mangel på lettilgængelige kulstofkilder i jorden. Det udeblivende fald i antallet dyrkbare bakterier i detergent behandlet jord ved 15 °C sammenholdt med et signifikant større antal bakterier ved tilsætning af detergent, ved 15 såvel som 25 °C i forhold til baggrundsjorden, kan forklares ved, at den tilsatte detergentblanding blev anvendt som letomsættelig karbonkilde af jordbakterierne i systemet. Antallet af bakterier, i baggrunds- såvel som i detergentprøver, var generelt signifikant større og mindre aftagende ved 15 °C end ved 25 °C. Dette skyldes sandsynligvis, at omsætningen af kulstof generelt er større ved 25 °C end 15 °C, og at puljen af letomsætteligt kulstof således hurtigere bruges op ved 25 °C.

Phenanthren-nedbrydende bakterier

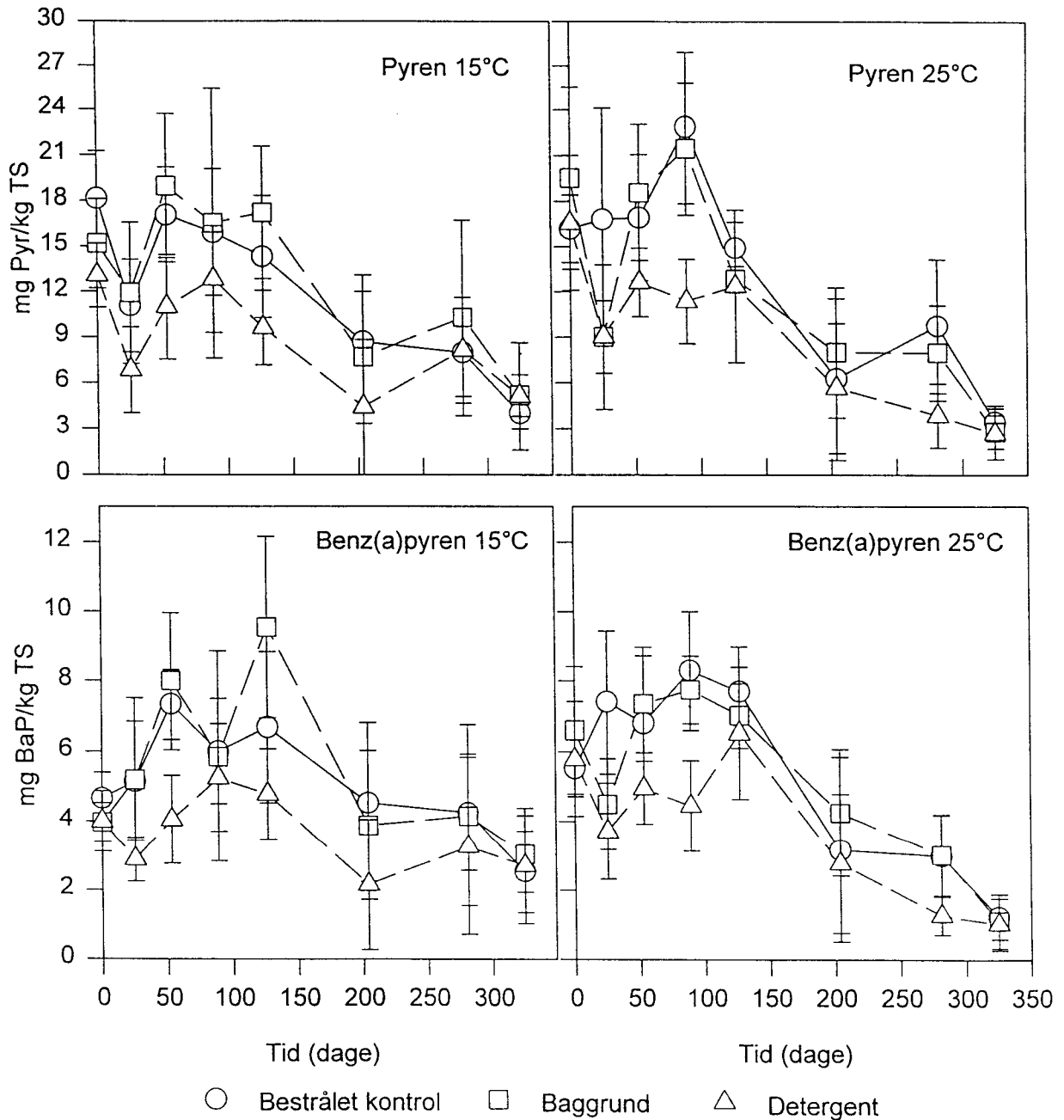
Antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier var faldende i forsøgets første 127 dage (fra $5 \cdot 10^4$ til $5 \cdot 10^1$ - 10^2 cfu/g ts). Med undtagelse af den detergentbehandlede jord inkuberet ved 25 °C steg antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier i forsøgets sidste 198 dage (fra $5 \cdot 10^2$ til 10^4 - 10^5 cfu/g ts). Det konkluderes, at forhold i jorden i forsøgets første 127 dage har virket hæmmende på dyrkbarheden af de phenanthren-nedbrydende bakterier. Efter inkubation i ca. 130 dage adapterede de phenanthren-nedbrydende bakterier til forsøgsbetingelserne, og antallet af bakterier steg efterfølgende. Det totale antal dyrkbare bakterier var ikke tilsvarende påvirket af de initiale forsøgsbetingelser.

Der er intet, der tyder på, at tilsætningen af detergent har medført forbedrede vækstbetingelser for de phenanthren-nedbrydende bakterier, f.eks. ved at udgøre en lettilgængelig karbonkilde, og derved øge det totale antal af phenanthren-nedbrydende bakterier eller ved at øge tilgængeligheden af PAH-forbindelserne.

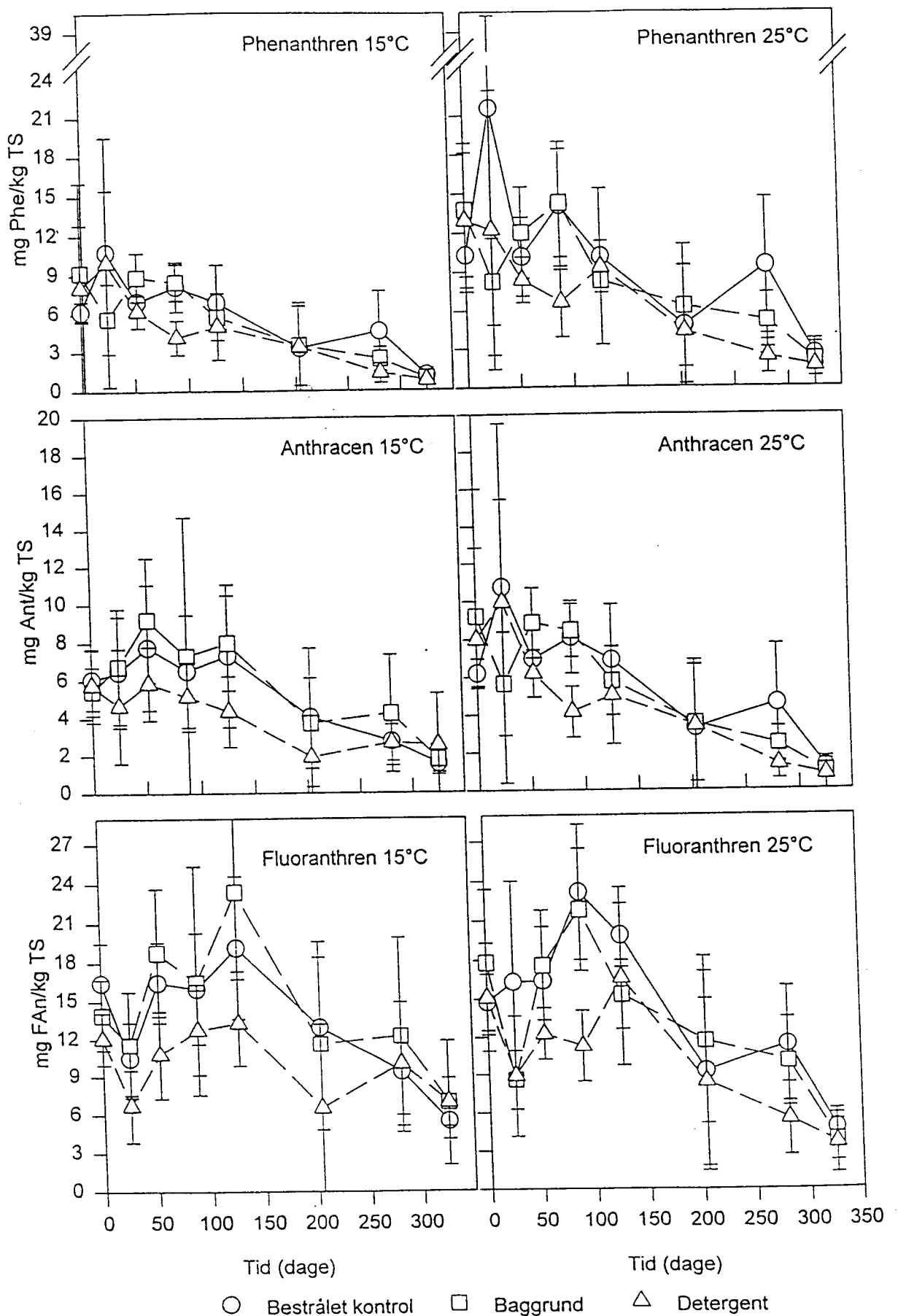
Antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier var signifikant lavere i detergentbehandlede prøver ved 25 °C (10^2 cfu/g ts) end i tilsvarende prøver ved 15 °C (10^4 - 10^5 cfu/g ts) og i baggrundsprøver ved både 15 °C og 25 °C (10^3 - 10^4 cfu/g ts). Det er muligt, at den anvendte detergentblanding har virket inhiberende på dyrkbarheden af de phenanthren-nedbrydende bakterier ved 25 °C.

3.1.3 Nedbrydning af PAH

Nedbrydningen af seks udvalgte PAH-forbindelser under de anvendte forsøgsbetingelser blev undersøgt ved udtagning af jordprøver efter inkubering af jorden i henholdsvis 0, 25, 53, 89, 127, 204, 281 og 325 dage. Figur 5 viser udviklingen i koncentrationerne af pyren (Pyr) og benz(a)pyren (BaP) ved 15 °C og 25 °C. Figur 6 viser tilsvarende for phenanthren (Phe), anthracen (Ant), fluoranthen (FAn).



Figur 5 Koncentration af pyren og benz(a)pyren i mikrokosmossystemet som funktion af tiden og de forskellige behandlinger. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af tre replikater fra hver to gentagelser af behandlingerne \pm std. afvigelse (n=6).



Figur 6 Koncentrationen af phenanthren, anthracen og fluoranthren i mikrokosmossystemet som funktion af tiden og de forskellige behandlinger. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af tre replikater fra hver to gentagelser af behandlingerne \pm std. afvigelse (n=6).

Bestrålede kontrolprøver

Da de bestrålede jorde ikke forblev sterile i hele forsøgsperioden (afsnit 3.1.1, Figur 3), og da det ikke var muligt at skelne mellem de bestrålede prøver og baggrundsprøverne i de statistiske test (afsnit 3.1.3, side 26), kunne de bestrålede kontrolprøver ikke anvendes til at vurdere, hvor stor en del af den observerede reduktion af PAH-koncentrationen i forsøgssystemerne, der kunne tilskrives abiotiske henholdsvis biologiske processer. I det følgende vil faktorer, der kan have haft indflydelse på de observerede fald i PAH-koncentrationen i de bestrålede kontrolprøver blive diskuteret.

Abiotiske processer

Kemisk bestrålingseffekt

Faldet i PAH-koncentrationerne i den bestrålede jord kan skyldes, at bestrålingen har haft en stimulerende effekt på den abiotiske omsætning af PAH f.eks. ved produktion af frie radikaler, oxidation af de organiske forbindelser eller ved at påvirke andre processer, som indvirker på den kemiske omsætning af PAH-forbindelser. Det ville være mest nærliggende, at et fald i PAH-koncentrationen på grund af ovennævnte processer ville finde sted kort tid efter bestrålingerne (dag 0 og 63) og ikke efter 127 dage med stigende intensitet i resten af forsøgsperioden, som tilfældet var i mikrokosmosforsøget. Det er derfor mindre sandsynligt, at bestrålingen har påvirket den kemiske omsætning af PAH i de bestrålede prøver nævneværdigt.

Biologiske processer

Hel/delvis mineralisering

Den mest nærliggende forklaring på det observerede fald i PAH-koncentrationerne i de bestrålede jordprøver er, at der er sket en biologisk betinget nedbrydning af PAH-forbindelserne i jorden. Hvis den fremvoksende bakteriepopulation i de bestrålede kontrolprøver lignede den naturligt forekommende meget, ville der i princippet ikke være forskel på behandlingen af "baggrundsjorden" og "den bestrålede jord". Bakteriekolonier fra de bestrålede jorde viste imidlertid en mindre variation end kolonier fra baggrundsjorden. Samtidig var det ikke muligt at detektere dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier vha klaringszonemetoden i den bestrålede jord (afsnit 3.1.1). Bestråling af jord vil normalt medfører, at størstedelen af den levende bakteriepopulation dør. Dog vil nogen bakteriesporer kunne overleve (Farkas 1994), og det kan heller ikke udelukkes, at enkelte stammer er i stand til at udbedre de skader bestrålingen påfører dem og således forblive aktive. Ved pladespredning estimeres antallet af dyrkbare bakterier, hvilket kun er en del af den totale bakteriepopulation. De udeblivende klaringszoner kan således skyldes, at der ikke var phenanthren-nedbrydende bakterier tilstede i jorden. I litteraturen er der dog enighed om, at mange levende bakterieceller er ikke-dyrkbare, og at højst 10% af alle bakteriearter i jorden vil kunne detekteres ved pladespredning. På baggrund af dette samt vores erfaringer med PCP-nedbrydende jordbakterier kan det ikke afvises, at de tilstedeværende ikke-dyrkbare bakterier stadig var aktive mht. PAH-nedbrydning og således i større eller mindre omfang har været i stand til at omsætte PAH-forbindelser.

Inkorporering af PAH i organisk materiale

Ufuldstændig mikrobiel nedbrydning samt de novo syntese af humusagtige stoffer fra mellemprodukter kan medføre inkorporering af PAH i jordens organiske materiale. Sidstnævnte proces er sandsynligvis enzymatisk (Mahro *et al.* 1994), og da mange enzymer forbliver aktive ved bestråling (Ramsay & Bawden 1983), vil denne proces kunne forløbe i de bestrålede prøver såvel som i de ikke-bestrålede.

På baggrund af ovenstående konkluderes, at de observerede fald i PAH-koncentrationer i de bestrålede prøver mest sandsynligt skyldtes biologiske processer (mineralisering såvel som inkorporering af PAH i organisk materiale). Det er ikke ud fra de udførte forsøg muligt at forklare, hvorfor forløbet af PAH-koncentrationerne i de bestrålede kontrolprøver i forsøgets sidste 198 dage ikke var signifikant forskelligt fra forløbene i baggrundshenholdsvis detergentbehandlede prøver.

Ikke-bestrålet forsøgsjord

Der var ikke forskel i forløbet af PAH-koncentrationerne i jorden ved de forskellige behandlinger (bestråling, detergent, baggrund og temperatur) i mikrokosmosforsøgets sidste 198 dage (afsnit 3.1.3, side 26). Det observerede fald i PAH-koncentrationerne kan teoretisk skyldes abiotiske såvel som biologiske processer. De vigtigste af disse processer, som kan have haft indflydelse på koncentrationen af PAH-forbindelserne i jordprøverne, vil blive diskuteret i det efterfølgende.

Abiotiske processer

Fordampning, fotooxidation og perkolatdannelse

Mikrokosmossystemet var designet som et lukket system, således, at et evt. tab til omgivelserne i form af flygtige forbindelser eller dannelsen af perkolat kunne detekteres. Der blev ikke observeret dannelse af perkolat i systemet, og mængden af opsamlede flygtige PAH-forbindelser i udgangsluften fra de anvendte mikrokosmos var minimal (Appendiks 2.3). Det var hovedsagligt de lav molekylære PAH-forbindelser, der kunne detekteres i prøverne, dog kun i mængder mellem 0 og 55 µg per mikrokosmos over hele forsøgsperioden. Det var ikke muligt at detektere pyren og benz(a)pyren i afgangsluften. Den mængde PAH, vi kunne detektere i afgangsluften, stemmer overens med tilsvarende forsøg beskrevet i litteraturen (Park 1990; Mueller *et al.* 1991b). Inkubationen af mikrokosmossystemerne foregik i mørke med undtagelse af den periode, hvor der blev udtaget prøver. Denne periode, hvor jorden blev udsat for lys, var dog i forhold til forsøgets længde minimal og ikke lang nok til, at fotooxidationsprocesser kunne få indflydelse på omsætningen af PAH-forbindelserne i jorden. Det konkluderes, at hverken fordampning, fotooxidation eller perkolatdannelse er årsag til de observerede fald i PAH i mikrokosmossystemet.

Prøveudtagningsproceduren og kemiske analyse af jordprøver

Den anvendte procedure til udtagning af jordprøver (Appendiks 1) var optimeret mht. ensartet udtagning og behandling samt efterfølgende homogenisering af prøverne.

Det var de samme to personer, der forestod udtagningen af prøver gennem hele forsøget. Ved forsøgets sidste prøverunde (dag 325) blev proceduren for udtagning af jordprøver af praktiske grunde delvis ændret. Der blev til forskel fra tidligere prøver under foretaget en grundig opblanding af den resterende jord i alle mikrokosmos. Den mindre variation i analyseresultaterne til dag 325 sammenlignet med resten af data (Figur 5 og Figur 6) kan tilskrives denne ekstra homogenisering af jorden.

Den kemiske analyse (inkl. ekstraktion) af jordprøverne blev foretaget på et akkrediteret analyselaboratorium. Det er af laboratoriet oplyst, at ekstraktion og analyse af prøverne har været så ensartet som muligt gennem hele forsøgsperioden. PAH-forbindelserne blev identificeret og kvantificeret vha. GC-MS-SIM (selektiv ion monitoring), hvilket betyder, at eventuelle oxiderede eller methylerede PAH-forbindelser ikke blev identificeret som de udvalgte PAH-forbindelser og således ikke bidrog til de målte koncentrationer. Variation i PAH-koncentrationerne på grund af ovenfor nævnte faktorer må antages at være minimal. Ved ekstraktion og analyse af PAH'er i tjære-forurenede jorde ses ofte en stor variation på analyseresultater af de enkelte PAH-forbindelser, selv mellem prøver udtaget som replikater til samme tidspunkt. Denne variation skyldes den meget inhomogene distribution af tjæreforureningen i jorden og vil, på trods af grundig homogenisering, være svær at undgå. Ekstraheres selv en lille tjæreklump, vil de målte PAH-koncentrationer, især af høj molekylære PAH, som regel være høje. Standardafvigelseerne på de udtagne prøver (triplikater) var generelt forholdsvis små (Figur 5 og 6). Det konkluderes, at indflydelsen af tilfældigt ekstraherede tjæreklumper på de observerede tidsafhængige fald i PAH-koncentrationerne var relativ lav.

Kemisk fiksering af PAH

Forureningen i den anvendte jord er mere end 30 år gammel, og en evt. fiksering af PAH til jordpartikler forventes derfor, på trods af opgravning, homogenisering etc. af jorden for brug i forsøget, ikke at have indflydelse på de observerede fald i PAH-koncentrationer.

Biologiske processer

Som omtalt i afsnittet "Bestrålede kontrolprøver" vil både mineralisering og inkorporering af PAH i den organiske fraktion i jorden kunne påvirke PAH-indholdet i jorden.

Inkorporering af PAH i organisk materiale i jorden

Inkorporering af oxiderede PAH-forbindelser i humuslignende strukturer i det organisk materiale i jord er en biologisk proces, som kan ændre PAH-forbindelsernes tilgængelighed i jord (Mahro *et al.* 1994). Det er i de seneste år blevet diskuteret i hvilket omfang disse processer påvirker den ekstraherbare fraktion af PAH i jord (Eschenbach *et al.* 1994).

De udførte forsøg danner ikke grundlag for at undersøge om det observerede fald i PAH-koncentrationerne i forsøgsjorden skyldes inkorporering af oxidationsprodukter af PAH i jordens organiske fraktion. Det kan dog ikke udelukkes, at sådanne processer bidrager til det observerede fald i mikrokosmosforsøgets sidste 198 dage i såvel bestrålede som ikke bestrålede mikrokosmos.

Mineralisering

På baggrund af resultaterne fra mineraliseringsforsøget udført efter mikrokosmosforsøgets afslutning, omtalt i afsnit 3.3, konkluderes det, at fuldstændig mineralisering af PAH fandt sted i større eller mindre omfang i mikrokosmossystemet.

Vurdering af omfanget af abiotiske henholdsvis biologiske processer

Af de udførte statistiske analyser (afsnit 3.1.3, side 26) fremgår det, at koncentrationen af de undersøgte PAH-forbindelser efter dag 127 er aftagende. I samme periode var antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier stigende. Det er ikke realistisk, at PAH-forbindelserne, i den udstrækning det er observeret, er forsvundet ud af systemet alene ved abiotiske processer. På baggrund af diskussionen ovenfor vurderes effekten af abiotiske processer på fjernelsen af PAH at have været minimal. De observerede PAH-koncentrationer må derfor antages at være et resultat af biologiske processer, mineralisering såvel som inkorporering af PAH i jordens organiske fraktion. Det er dog, på baggrund af de udførte forsøg, ikke muligt at vurdere, i hvor stort omfang hver af disse processer, har påvirket PAH-koncentrationerne i jorden. Ingen af processerne kan dog udelukkes at have deltaget i fjernelsen af PAH fra mikrokosmossystemet.

Lagfaser

Der var tendens til lagfaser på omkring 4 måneder i nedbrydningsforløbene for de undersøgte PAH-forbindelser, mest udbredt for benz(a)pyren, pyren og fluoranthen og mindst for anthracen og phenanthren (Figur 5 og 6). De observerede lagfaser sammenholdt med reduktionen af antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier i tilsvarende periode (afsnit 3.1.1) skyldes sandsynligvis tilstedeværelsen af inhiberende forsøgsbetingelser for de PAH-nedbrydende bakterier. Den forøgede omsætning af PAH i forsøgets sidste 198 dage i forhold til de første 127 dage hænger sandsynligvis sammen med, at de PAH-nedbrydende bakterier efter ca. 130 dage har adapteret til forsøgsbetingelserne i jordsystemerne. Sammenhæng mellem de observerede lagfaser, de anvendte næringssalte og pH i forsøgsjorden vil blive diskuteret i afsnit 3.3.

Effekt af behandling

Signifikante forskelle i hele nedbrydningsforløbet for de enkelte PAH-forbindelser mellem de forskellige behandlinger (bestrålet kontrol, baggrund og detergent) blev undersøgt ved 2-sidet variansanalyse. Der var ikke signifikant forskel mellem bestrålings- og baggrundsbehandlingen. Med undtagelse af anthracen (25°C), benz(a)pyren (15°C) og phenanthren (15°C) var der signifikant forskel mellem detergentbehandlingen og tilsvarende bestrålings- og baggrundsbehandlingerne.

Resultaterne fra variansanalysen findes opsummeret i Appendiks 4.B.1. Ved variansanalysen blev kurveforløbene over hele inkubationsperioden (0 til 325 dage) sammenlignet. En enkeltstående forskel mellem forløbet af behandlingerne i løbet af inkubationsperioden f.eks. i forsøgets start eller slutning ville således kunne betyde, at behandlingerne blev betragtet som værende signifikante forskellige. Af Figur 5 og 6 fremgår det, at der umiddelbart er størst forskel i PAH-koncentrationerne mellem de bestrålede kontrolprøver/ baggrundsprøverne og detergentprøverne i forsøgets første 3-4 måneder, hvorefter forskellene udlijnes. Det kunne således tyde på, at den forskel, der jvf. variansanalysen var mellem detergent og de bestrålede kontrolprøver/baggrundbehandlinger hovedsageligt var initial.

Effekt af detergent

En stimulerende effekt på bionedbrydning ved tilsætning af detergent forventes at hænge sammen med øget opløselighed af PAH-forbindelserne og deraf følgende øget mikrobiel tilgængelighed af PAH-forbindelserne i jordsystemet. Dette er formodentlig forklaringen på den observerede initiale forskel i PAH-koncentrationerne mellem detergentbehandlede prøver og bestrålede henholdsvis baggrundsprøver (Figur 5 og Figur 6). Antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier var i løbet af de første 127 dage aftagende for alle behandlinger. En øget tilgængelighed af PAH hænger således ikke direkte sammen med et øget antal phenanthren-nedbrydende bakterier. Dette kan forklares ved, at phenanthren er den af de undersøgte PAH, der er mindst hydrofob, og hvis opløselighed forventes at blive mindst påvirket af detergentblandingen (Falatko & Novak 1992, Willumsen & Karlsson 1993). Den med tiden udeblivende effekt af detergent tilsætningen kan skyldes, at mængden af detergent med tiden er blevet mindre i jorden. Dette underbygges af resultaterne fra pladespredningsforsøgene. Der var en signifikant større total bakteriell aktivitet i de mikrokosmos, som var tilsat detergent end i baggrundsgrunden (afsnit 3.1.1), hvilket indikerer, at detergenten er blevet omsat som relativt lettilgængelig karbonkilde. Det vil derfor sandsynligvis være nødvendig at tilsætte detergentopløsning til jorden flere gange i løbet af nedbrydningsperioden for at opnå en varig effekt.

På baggrund af resultaterne fra variansanalysen samt de ovenfor omtalte lagfaser blev ligningerne for nedbrydningsforløbene mellem 127 og 325 dage for de forskellige behandlinger og PAH-forbindelser bestemt ved lineær regression. Det blev testet om nedbrydningsforløbene for de forskellige behandlinger var signifikante forskellige fra hinanden. Resultaterne fra regressionsanalysen er opsummeret i Appendiks 4.B.2. Der var ikke signifikant forskel mellem de forskellige behandlinger (bestråling, baggrund og detergent) i forsøgets sidste 198 dage (fra dag 127 til dag 325). Hældningerne på de beregnede regressionslinier var alle negative og signifikante forskellige fra nul, hvilket betyder, at der i løbet af forsøgets sidste 198 dage fandt en signifikant reduktion af PAH sted.

Udfra de anvendte statistiske analyser samt Figur 5 og 6 konkluderes, at den anvendte detergentblanding ikke har haft en signifikant stimulerende effekt på nedbrydningen af de udvalgte PAH-forbindelser. Den med tiden udeblevne effekt af detergent skyldes sandsynligvis, som tidligere beskrevet, at detergenten blev forholdsvis hurtigt omsat i jordsystemet. Det er dog sandsynligt, at tilsætningen af detergentblanding har haft en initial stimulerende effekt på PAH-nedbrydningen.

*Effekt af forhøjet
inkubationstemperatur*

Den øgede inkubationstemperatur 25 °C mod 15 °C havde ikke umiddelbar effekt på niveauet af PAH-koncentrationerne i forsøgets første 127 dage. Da der ikke var signifikant forskel på behandlingerne mellem dag 127 og 325, blev data for denne periode for de bestrålede kontrolprøver, baggrund og detergentprøverne i det efterfølgende betragtet som replikater. Kurveforløbene for nedbrydningen af phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren mellem 127 og 325 dage ved henholdsvis 15 og 25 °C blev sammenlignet ved lineær regression (opsummeret i Appendiks 4.B.3). Den statistiske analyse viste ingen signifikant forskel i omsætningen af PAH ved henholdsvis 15 °C og 25 °C. Dette resultat stemmer delvis overens med konklusionerne på pladespredningsforsøget, hvor antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier i baggrundsprøverne var uafhængig af temperaturen. Tilsætning af detergent havde en hæmmende virkning på antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier ved 25°C til forskel for 15 °C (afsnit 3.1.1).

*Estimering af mængden af
nedbrudt PAH*

Tabel 3 gengiver de estimerede ligninger for nedbrydningsforløbet for de undersøgte PAH-forbindelser. Alle de beregnede hældninger var negative (Tabel 3), hvilket betyder, at der i løbet af forsøgets sidste 198 dage fandt signifikant reduktion sted af PAH-forbindelserne.

Tabel 3 Ligninger for PAH-nedbrydningsforløb bestemt ved lineær regression. x= tiden i dage. Ligningerne er beregnet på baggrund af data for alle behandlinger ved 15 og 25 °C (n=36) for tiden 127 dage til 325 dage.

PAH-forbindelse	ln konc.= A+Bx	R ²
Phenanthren	2,9644 - 0,0054x	0,7047
Anthracen	2,6684 - 0,0067x	0,7915
Fluoranthen	3,5546 - 0,0055x	0,8009
Pyren	3,2106 - 0,0052x	0,7029
Benz(a)pyren	2,6873 - 0,0063x	0,7273

Tabel 4 angiver den teoretiske mængde PAH fjernet i systemet fra dag 127 til 325. Værdierne er beregnet på baggrund af de i Tabel 3 estimerede regressionsligninger for de undersøgte PAH-forbindelser. Da den udeblivende nedbrydning i forsøgets første 127 dage tilskrives ikke optimale nedbrydningsbetingelser i jorden, vil kun de sidste 198 dage af forsøget blive diskuteret.

Startkoncentrationerne i den anvendte PAH-forurenede gasværksjord var forholdsvis lave, og forureningen må betragtes som værende mindre sammenlignet med mange af de i litteraturen rapporterede nedbrydningsforsøg (Aprill *et al.* 1990; Weissenfels *et al.* 1990; Ellis *et al.* 1991). Samtidigt er forureningen på Frederiksberg gasværksgrund af ældre dato, og de mikrobielt lettilgængelige organiske forbindelser er sandsynligvis nedbrudt. De tilstedeværende PAH-forbindelser må derfor forventes at være relativt stærkere bundet til jordpartikler og derfor sværere tilgængelige for mikroorganismene end PAH-forbindelser i yngre forureninger.

Tabel 4 Procent PAH fjernet fra mikrokosmossystemet i perioden 127 til 325 dage (198 dage), beregnet på baggrund af de i Tabel 3 estimerede regressionsligninger. $t_{1/2}$ = halveringstid i forsøgsdesignet i dage.

PAH	mg PAH/kg TS t= 127 dage	mg PAH/kg TS t= 325 dage	% PAH fjernet	$t_{1/2}$ (dage)
Phenanthren	9,8	3,4	65,7	128
Anthracen	6,2	1,6	73,5	103
Fluoranthren	17,4	5,9	66,4	126
Pyren	12,8	4,6	64,3	133
Benz(a)pyren	6,6	1,9	71,2	110

Omsætningen af phenanthren og anthracen forventes på grund af disse forbindelsers kemiske struktur og fysisk-kemiske egenskaber (vandopløselighed, log Kow etc) at være relativ større end for PAH-forbindelserne fluoranthren, pyren og benz(a)pyren (Sims & Overcash 1983). Med udgangspunkt i ovenstående er det bemærkelsesværdigt, at reduktionen af phenanthren og anthracen er af samme størrelse (66-74% på 198 dage) som for fluoranthren, pyren og benz(a)pyren (64-71% på 198 dage), der normalt er betragtet som værende relativt biologisk sværere nedbrydelige. Den procentvise nedbrydning af udvalgte PAH i jordforsøg rapporteret i litteraturen er summeret i Tabel 5.

Med undtagelse af phenanthren og anthracen er de omsatte PAH-mængder (Tabel 4), forsøgsperiodens længde (198 dage) taget i betragtning, sammenlignelige med resultaterne vist i Tabel 5. Den procentvise lavere omsætning af phenanthren henholdsvis anthracen kan som tidligere nævnt skyldes PAH-forureningens alder. Halveringstider for nedbrydning af udvalgte PAH-forbindelser i jordforsøg rapporteret i litteraturen samt resultater for dette forsøg er beskrevet i Tabel 6. De rapporterede halveringstider for de undersøgte PAH-forbindelser varierede meget fra forsøg til forsøg, sandsynligvis pga. forskelle i startkoncentrationer, forsøgsbetingelser etc.

De i Tabel 6 opgivne halveringstider for phenanthren og pyren er generelt lavere end de i vores forsøg bestemte værdier. Halveringstider bestemt for anthracen, fluoranthen og benz(a)pyren adskiller sig ikke fra de i litteraturen rapporterede værdier.

Tabel 5 Nedbrydningsprocenter af udvalgte PAH-forbindelser rapporteret i litteraturen. Co: initial koncentration (mg/kg jord). - : ikke bestemt.

PAH	Co ¹	% nedbrudt	Co ²	% nedbrudt	Co ³	% nedbrudt
Phenanthren	11	57,1	30	61	88,5	98,8
Anthracen	10	88,5	38	89	-	-
Fluoranthen	35	56,2	154	45	-	-
Pyren	49	62,8	177	58	26,5	97,0
Benz(a)pyren	28	43,4	10	50	-	-

¹ Mueller *et al.* (1991), forsøgsperiode: 84 dage, ² Sims (1986), forsøgsperiode: 90 dage, ³ Wang & Bartha (1990), forsøgsperiode 84 dage

Ved rapportering af resultater fra PAH-nedbrydningsforsøg er det sjældent diskuteret, hvorvidt de reducerede PAH-koncentrationer skyldes mikrobiel nedbrydning eller mikrobiel betinget inkorporering af omdannet PAH i jordens organiske fraktion. Mahro og hans gruppe i Tyskland arbejder i disse år på at belyse de processer, der ligger bag mikrobiel inkorporering af PAH samt omfanget af disse processer i forhold til mineraliseringsprocesserne (Mahro *et al.* 1994; Eschenbach *et al.* 1994). Det bør udfra opreningsmæssige synspunkter diskuteres, hvorvidt PAH inkorporeret i jordens organiske fraktion (svarende til humus) skal betragtes som "nedbrudt". Det bør også undersøges, hvorvidt denne nye "humusfraktion" er stabil eller om inkorporeringen af PAH er reversibel, og om PAH således med tiden vil blive frigjort til omgivende jord.

Tabel 6 Halveringstider ved nedbrydning af udvalgte PAH-forbindelser i jordsystemer.

PAH	Co (mg/kg jord)	t½ (dage)	Reference
Phenanthren	2,1 *	26	Groenewegen & Stolp 1976
Phenanthren	9,8 *	128	Denne rapport
Phenanthren	30	69	Sims 1986
Anthracen	6,2 *	103	Denne rapport
Anthracen	10,3 *	143	Gardner <i>et al.</i> 1979
Anthracen	13,7 *	108	Gardner <i>et al.</i> 1979
Anthracen	38	28	Sims 1986
Fluoranthren	16,5 *	143	Gardner <i>et al.</i> 1979
Fluoranthren	17,4 *	126	Denne rapport
Fluoranthren	23,0 *	105	Gardner <i>et al.</i> 1979
Fluoranthren	154	104	Sims 1986
Pyren	5,0 *	3	Medvedev & Devidov 1972
Pyren	12,8 *	133	Denne rapport
Pyren	177	73	Sims 1986
Benz(a)pyren	6,6 *	110	Denne rapport
Benz(a)pyren	9,5 *	294	Gardner <i>et al.</i> 1979
Benz(a)pyren	10	91	Sims 1986
Benz(a)pyren	18,5 *	30	Gardner <i>et al.</i> 1979

*: forsøgene udført ved medium temperaturer (15-25°C). Co: initial koncentration.

3.1.4 Sammendrag

<i>Bestrålede kontrolprøver</i>	Da de bestrålede jorde ikke forblev sterile i hele forsøgsperioden (afsnit 3.1.1, Figur 3), og da det ikke var muligt at skelne mellem de bestrålede prøver og baggrundsprøverne i de statistiske test (afsnit 3.1.3), kunne de bestrålede kontrolprøver ikke anvendes til at vurdere, hvor stor en del af den observerede reduktionen af PAH-koncentrationen i forsøgssystemerne, der kunne tilskrives biologiske henholdsvis abiotiske processer.
<i>Abiotiske processer</i>	Den abiotisk fjernelse af PAH fra jorden via kemisk fiksering, fotooxidation, fordampning og dannelsen af perkolat var minimal. Ligeledes vurderedes påvirkningen fra prøveudtagning og de kemiske analyser at have været ubetydelig. Efter dag 127 var PAH-koncentrationerne signifikante aftagende. De observerede aftagende PAH-koncentrationer vurderedes at være et resultat af biologiske processer som mineralisering og inkorporering af PAH i jordens organiske fraktion.
<i>Lagfaser</i>	Der blev observeret lagfaser på PAH-nedbrydningen på omkring 4 måneder. Sammenholdt med aftagende antal phenanthren-nedbrydende bakterier i samme periode er det sandsynligt at de tilstedeværende forsøgsbetingelser (stigende pH pga. de tilsatte næringssaltene) har virket hæmmende på de PAH-nedbrydende bakterier og dermed været årsag til, at der ikke sås initial nedbrydning af PAH-forbindelserne. Efter inkubation i ca. 130 dage adapterede bakterierne sandsynligvis til forholdene.
<i>Effekt af behandling</i>	Generelt var de målte PAH-koncentrationer lavere i de detergent-behandlede prøver end i de bestrålede henholdsvis baggrundsprøverne i forsøgets første 127 dage. Efter de indledende lagfaser var der ikke signifikant forskel mellem behandlingerne (bestråling, detergent, baggrund og inkubationstemperatur).
<i>Effekt af detergent</i>	Den anvendte detergentblanding har haft en initial effekt på nedbrydningen af PAH-forbindelserne. Virkningen af detergentblandingen udeblev med tiden. Dette skyldes sandsynligvis mikrobiel omsætning af detergenten. Det bør derfor overvejes at tilsætte detergent flere gange i løbet af inkuberingsperioden for at opnå en varig effekt.

Effekt af temperatur

En øget inkubationstemperatur fra 15 til 25 °C havde generelt ingen signifikant stimulerende effekt på omsætningen af PAH. Dette stemmer delvis overens med resultaterne fra pladespredningsforsøgene, hvor dyrkbarheden af de phenanthren-nedbrydende bakterier i detergentbehandlet jord blev hæmmet ved 25 °C i forhold til 15 °C.

Mængde PAH fjernet i systemet

De undersøgte PAH-forbindelser; phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren blev uafhængig af påført behandling (bestråling, temperatur og detergent) fjernet med henholdsvis 66, 74, 66, 64 og 71 % i løbet af forsøgsperioden sidste 198 dage. I betragtning af forsøgsperiodens længde (198 dage, når der ikke tages hensyn til de indledende lagfaser) er nedbrydningsprocenterne for phenanthren og anthracen forholdsvis lave sammenholdt med lignende forsøg rapporteret i litteraturen. Dette skyldes formodentlig at tilgængeligheden af de pågældende forbindelser, pga. den anvendte jords forureningshistorie (ældre forurening, lave udgangskoncentrationer etc.) må antages at være lille. Den procentvise omsætning og de beregnede halveringstider for fluoranthen, pyren og benz(a)pyren adskiller sig generelt ikke fra de i litteraturen rapporterede værdier.

3.2 Kolonneforsøg

Effekt af forsøgsdesign

Det blev ved variansanalyse undersøgt, om kolonneforsøgets design havde givet anledning til signifikante forskelle i PAH-koncentrationerne. Analysen var baseret på data fra sidste prøverunde (dag 126). Resultaterne af variansanalysen er placeret i Appendiks 4.A.1. Der var med undtagelse af de beluftede "råjordskolonner" ingen signifikant forskel på PAH-koncentrationerne i de to replikatkolonner. Det blev konkluderet, at designet af forsøget generelt ikke havde signifikant indflydelse på PAH-koncentrationerne, og prøver udtaget fra samme type kolonner kunne i den efterfølgende behandling af resultaterne betragtes som replikater. PAH-koncentrationerne i forsøgsjorden blev således bestemt, som var der udtaget to prøver per behandling per prøverunde.

Faktorer, som beluftning af kolonnerne (indgangsflow i bunden af kolonnen) eller fordampning af de mest flygtige PAH-forbindelser fra toppen af kolonnerne, kunne tænkes at have indflydelse på PAH-forbindelsernes kvantitative vertikale fordeling i forsøgsopstillingen. Den anvendte prøveudtagningsprocedure (Appendiks 1) ville ved signifikant vertikal variation i PAH-koncentrationerne i kolonnerne være uanvendelig. Den vertikale variation i PAH-koncentrationerne blev ved forsøgets afslutning undersøgt ved at udtage enkeltprøver fra kolonnens top, midt og bund. Derudover blev en blandingsprøve bestående af delprøver fra hele kolonnens længde udtaget. Der var for ingen af kolonnerne signifikant forskel på PAH-koncentrationerne mellem top, midt, bund eller blandingsprøve. Dette betyder, at prøveudtagningsproceduren ikke har haft signifikant indflydelse på variationen af PAH-koncentrationen i prøverne.

Prøveforberedelse af flis/jordprøver

Den anvendte metode for prøveforberedelse af jordprøver indeholdende flis vanskeliggjorde tolkningen af analyseresultaterne af disse prøver mht. størrelsen af den nedbrudte mængde PAH. Større stykker af flis blev af analyselaboratoriet usystematisk frasorteret manuelt forud for den organiske ekstraktion af prøverne. Da flis med tiden nedbrydes i jordsystemet, vil der sandsynligvis med tiden være blevet fjernet mindre og mindre flis fra de udtagne prøver. Denne procedure kan have betydet, at de målte PAH-koncentrationer har haft varierende størrelse af forholdet flis:jord som grundlag for bestemmelse af tørstofindholdet. Reelt kan dette betyde, at der mod slutningen af forsøget er rapporteret for lave PAH-koncentrationer.

Effekt af behandling

De målte PAH-koncentrationer har større standardafvigelser og er mere variable i både råjorden og jord tilsat flis end i jorden tilsat kompost (Figur 7). Den indledende behandling af den til forsøgene anvendte jord, hvad enten tilsat kompost, flis eller anvendt "rå", har været ens og er således ikke grund til denne forskel. Det er muligt, at den tilsatte kompost har påvirket PAH-forbindelsernes fordeling i jorden, således at variationen er blevet mindre. Det er dog ikke på baggrund af de udførte forsøg muligt at undersøge dette.

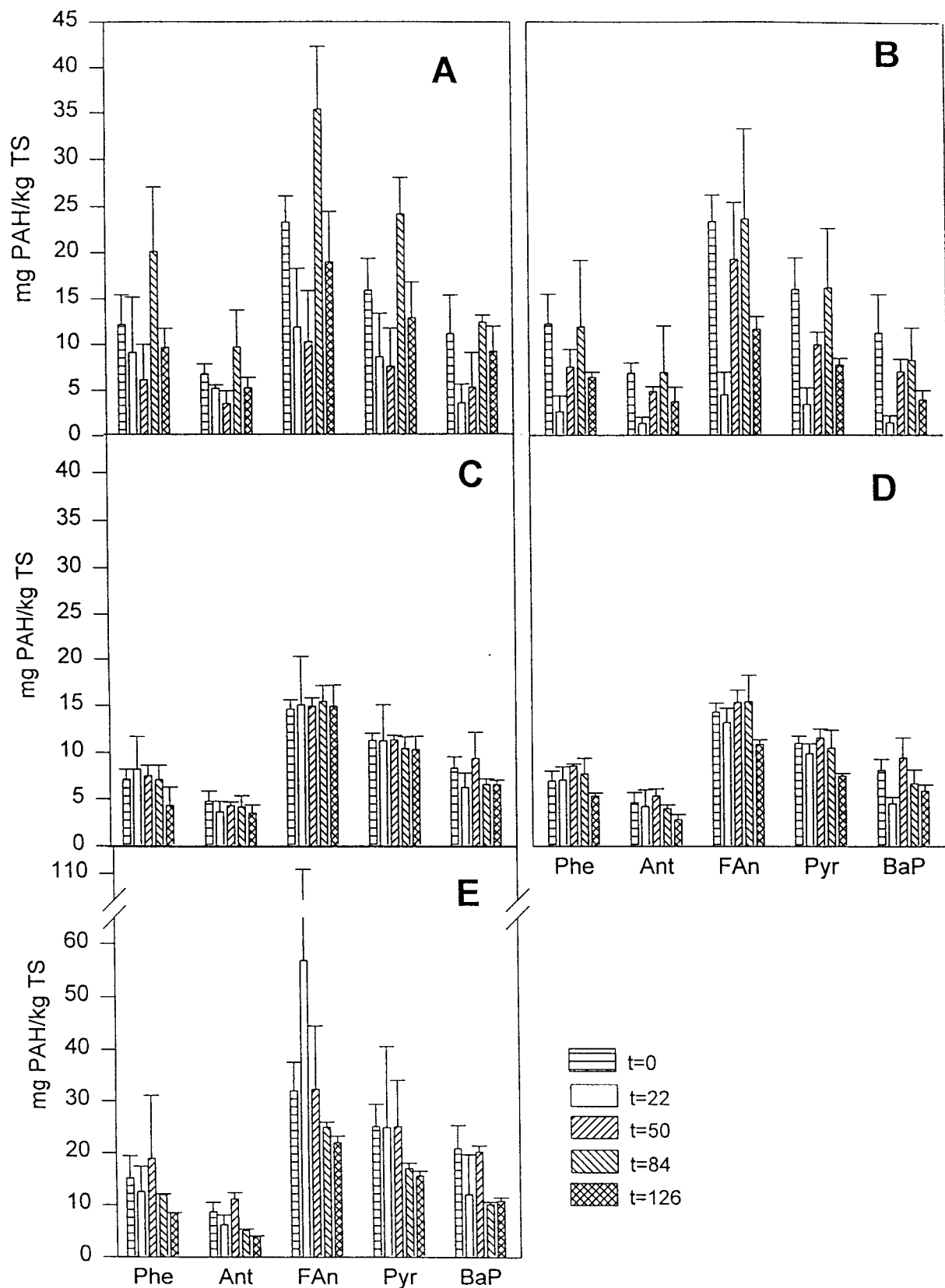
PAH-koncentrationerne i prøver fra E (beluftet jord tilsat flis) var gennem hele forsøgsperioden generelt højere end i prøver fra de andre behandlinger (Figur 7). Niveauforskellen kan ikke umiddelbart forklares. PAH-koncentrationerne per kilo tørstof i de forskellige typer prøver er ikke korrigeret for indholdet af flis henholdsvis kompost og kan derfor ikke direkte sammenlignes. Den udeblivende korrektion skyldes den ovenfor beskrevne prøveforberedelse for prøver med flis.

Der blev ikke observeret reduktion af PAH-koncentrationer i baggrundsjorden, og hverken beluftning eller tilsætning af kompost har i løbet af forsøgsperiodens 126 dage haft en reducerende effekt på PAH-koncentrationerne i jorden i forhold til råjorden (Figur 7 A,B,C og D). I de beluftede kolonner tilsat flis (Figur 7E) ses, på trods af spredningerne i modsætning til de andre behandlinger, en mere udbredt tendens til faldende PAH-koncentrationer i løbet af inkubationsperioden (Figur 7A,B,C,D). I Tabel 7 er mængden af fjernet PAH i kolonne E (beluftet, tilsat flis) beregnet på baggrund af de målte koncentrationer efter 0 og 126 dage. Der er ikke taget højde for de målte PAH-koncentrationer mellem disse tidspunkter. Som det fremgår af tabellen fjernes 24% phenanthren i løbet af de 126 dage mod 40% for benz(a)pyren. Phenanthren er den af de udvalgte PAH-forbindelser, der forventes hurtigst nedbrudt i jordforsøg (Mueller *et al.* 1991). Vores observation er således i modstrid med litteraturen.

Tabel 7 PAH-koncentrationer ved forsøgets start (t=0 dage) og afslutning (t=126 dage) i kolonne E (tilsat flis og beluftet). ¹⁾ Værdierne er gennemsnit ± std. afvigelse beregnet på baggrund af 3 replikater (n=3). ²⁾ Værdierne er gennemsnit ± std. afvigelse beregnet på baggrund af gennemsnit af 8 bestemmelser (top-, midt-, bund- og blandingsværdier for 2 replikat (n=16) kolonner).

PAH	t=0 dage ¹⁾ mg/kg TS	t=126 dage ²⁾ mg/kg TS	fjernet mg/kg TS	% fjernet
Phenanthren	15,2 ± 4,2	11,6 ± 4,4	3,6	24
Anthracen	8,8 ± 1,8	6,0 ± 3,3	2,8	32
Pyren	25,1 ± 4,3	18,1 ± 3,8	7,0	28
Fluoranthren	32,0 ± 5,6	25,9 ± 5,8	6,1	19
Benz(a)pyren	20,9 ± 4,5	12,6 ± 2,6	8,3	40

Omsætningen for de forskellige PAH-forbindelser blev bestemt ved lineær regression af PAH-koncentrationerne i de beluftede kolonner tilsat flis. Ingen af de beregnede hældninger var signifikant forskellige fra nul (95% konfidensniveau). Dette betyder, at de umiddelbare fald i PAH-koncentrationerne, som fremgår af Figur 7 og Tabel 7, ikke er signifikante, og at der således ikke har fundet signifikant nedbrydning af PAH sted i de beluftede kolonner tilsat flis. Resultaterne for de statistiske analyser er at finde i Appendiks 4.A.2



Figur 7 Koncentrationer af PAH som funktion af tid og behandlinger. Værdier for t_0 repræsenterer et gennemsnit af tre prøver \pm std. afvigelse ($n=3$), alle andre prøver et gennemsnit af to prøver \pm std. afvigelse ($n=2$). A) beluftede kolonner indeholdende råjord; B) kolonner indeholdende råjord; C) beluftede kolonner tilsat kompost; D) kolonner tilsat kompost; E) beluftede kolonner tilsat flis.

På baggrund af resultaterne præsenteret i Figur 7, Tabel 7 og regressionsanalyserne konkluderes, at ingen nedbrydning af de undersøgte PAH-forbindelser under de undersøgte forsøgsbetingelser (baggrund, beluftning, tilsætning af kompost og flis) har fundet sted efter 126 dages inkubation. Den udeblivende reduktion af PAH-koncentrationen i jorden efter 126 dages inkubation skyldes sandsynligvis, som diskuteret i afsnit 3.1.3 og 3.3.0 forhold i forsøgsjorden, som virkede hæmmende for PAH-nedbrydningen. Inkubationsperioden for kolonnerne var "kun" 126 dage i modsætning til 325 dage i mikrokosmosforsøget. Forsøgsperioden for kolonnerne var formodentlig ikke lang nok til, at de PAH-nedbrydende bakterier adapterede til forsøgsbetingelserne i jorden. Kolonnernes inkubationstid på 126 dage svarer således til lagfasen observeret i mikrokosmosforsøget.

3.2.1 Sammendrag

Ingen af de anvendte behandlinger (baggrund, beluftning, tilsætning af flis eller kompost) medførte signifikant nedbrydning af de seks udvalgte PAH-forbindelser (phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren) i løbet af de 126 dage kolonneforsøget varede. Der blev i mikrokosmosforsøget observeret lagfaser af ca. 4 måneders varighed for nedbrydningen af de pågældende PAH-forbindelser. Den udeblivende nedbrydning af PAH-forbindelserne i kolonnerne skyldes sandsynligvis, som i mikrokosmosforsøget, at forsøgsbetingelser i jorden virkede hæmmende på PAH-nedbrydningen. Forsøgsperiodens 126 dage var ikke tid nok til, at bakterierne kunne adaptere til forholdene i jorden.

3.3 pH i mikrokosmos- og kolonnesystemet

I kolonnesystemet blev pH bestemt til hvert udtagnings tidspunkt. Tabel 8 gengiver udviklingen i pH i de forskellige kolonner i løbet af forsøgsperioden. pH steg i alle kolonnerne fra 8,1-8,3 til 9,0-9,9 i løbet af forsøgsperioden.

Tabel 8 Udviklingen i pH i kolonneforsøget over forsøgsperioden. Bestemt i vand. ¹⁾ triplikabestemmelser, øvrige målinger er duplikatbestemmelser

pH i vand	dag 0 ⁿ	dag 22	dag 50	dag 84	dag 126 mix	dag 126 top	dag 126 midt	dag 126 bund
A1 (+luft)	8,1	8,9	9,3	9,8	9,8	9,9	9,7	9,7
A2 (+luft)	8,1	8,6	9,3	9,9	9,9	9,9	9,9	9,8
B1 (baggrund)	8,1	8,9	8,9	9,5	9,6	9,8	9,6	9,2
B2 (baggrund)	8,1	8,8	9,0	9,7	9,5	9,9	9,4	9,3
C1 (kompost+luft)	8,4	8,8	9,1	9,0	9,4	9,4	9,5	9,6
C2 (kompost+luft)	8,4	8,9	8,6	9,0	9,1	9,2	9,1	9,2
D1 (+kompost)	8,4	8,5	8,6	8,6	9,0	9,1	8,9	9,0
D2 (+kompost)	8,4	8,5	8,6	8,6	9,0	9,0	8,9	9,0
E1 (flis+luft)	8,3	9,0	8,5	9,8	9,9	10,1	9,9	9,9
E2 (flis+luft)	8,3	8,8	8,5	9,7	9,9	9,9	9,8	9,8

I mikrokosmosforsøget blev pH indledningsvis bestemt til 8,4 i den anvendte jord. Efter forsøgets afslutning (325 dage) blev pH bestemt i de enkelte mikrokosmos. Tabel 9 gengiver de målte pH-værdier. De målte pH-værdier efter inkubation i 325 dage er relativt høje (9,7-10,1) i forhold til startværdierne bestemt for systemet. Værdierne svarer i niveau til de pH-værdier, der blev bestemt i kolonneforsøget. Udviklingen i de målte pH-værdier for kolonneforsøget henholdsvis mikrokosmosforsøget tyder på, at pH har været omkring 130 dage om at blive stabiliseret i jordsystemet.

pH-niveauet i sunde jorde er normalt baseret på Ca^{++} - og Mg^{++} -karbonatbuffersystemet, og pH-værdier på mellem 6 og 8,5 er almindelige. Tilstedeværelsen af neutrale salte, specielt calcium og magnesiumkarbonater samt natriumklorider og -sulfater vil forhindre at pH stiger meget over 8,5. I jordtyper, hvor NaCO_3 er den mest udbredte salttype vil reaktion med CO_2 give et overskud af hydroxidioner i forhold til hydrogenioner i jordvæsken. Dette er dog mest udbredt for i forvejen udpinte jordtyper. Resultatet er, at jorden bliver basisk, og pH-værdier mellem 9 og 10 kan blive aktuelle (Brady 1974).

Tabel 9 pH i mikrokosmos ved forsøgets afslutning efter inkubation i 325 dage. Bestemt i vand. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af to målinger.

Spand nr.	pH	Bemærkninger
A1	9,9	Baggrund 15 °C
A2	9,8	Baggrund 15 °C
B1	9,8	Baggrund 25 °C
B2	9,8	Baggrund 25 °C
C1	9,8	Detergent 15 °C
C2	9,8	Detergent 15 °C
D1	10,0	Detergent 25 °C
D2	9,7	Detergent 25 °C
E1	9,9	Bestrålet 15 °C
E2	10,0	Bestrålet 15 °C
F1	10,1	Bestrålet 25 °C
F2	10,1	Bestrålet 25 °C

Dette betyder, at de alkaliske pH-værdier, der er målt i jordprøverne fra henholdsvis kolonne- og mikrokosmosforsøget formodentlig er fremkommet som et samspil mellem en ringe bufferkapacitet i jorden, den anvendte type næringssalte (Na_2HPO_4 og NaNO_3) og den tilsatte mængde af disse. De anvendte salte blev valgt, da de er letopløselige i vand. I kolonneforsøget blev saltene tilsat som krystaller, da den mængde vand, der skulle tilsættes til jorden var minimal og derfor ikke kunne opløse den nødvendige mængde salte. I mikrokosmosforsøget blev saltene tilsat opløst i vand (Appendiks 3.1.A og B samt Appendiks 3.2.A og B). Bufferkapaciteten i den anvendte jord blev ikke undersøgt inden forsøgets start, men efter forsøgets afslutning. Bufferkapaciteten i jorden var ringe (Appendiks 3.1.C) og formåede ikke at stabilisere pH ved tilsætning af NaHCO_3 . Mængden af tilsatte næringssalte blev beregnet ud fra et C:N:P-forhold på 30:5:1, hvilket er optimalt for bakterier (Paul & Clark 1989). Det aktuelle forhold for jorden blev beregnet på baggrund af jordens indhold af tilgængeligt P, totalt N og totalt organisk C, sidstnævnte bestemt ved glødetab. Alternativt kunne den nødvendige mængde nærings-salte være beregnet ud fra landbrugsmæssige betragtninger eller med udgangspunkt i jordens indhold af PAH-forbindelser. Da forsøgene blev startet op med et mikrobiologisk udgangspunkt blev de landbrugsmæssige betragtninger ikke overvejet, og da der ikke blev analyseret for samtlige PAH-forbindelser i jorden (især flere lavmolekylære forbindelser manglede), og da der sandsynligvis ville ske en mineralisering af andre organiske forbindelser i jorden, blev glødetabet brugt som grundlag for beregningerne.

Typen af næringssalte (Ca^{++} eller Na^+) kan, hvis saltene anvendes i høje koncentrationer, have betydning for pH i jord med ringe bufferkapacitet. Derimod er typen ikke afgørende for pH i tilfælde, hvor lave saltkoncentrationer benyttes. Det kan på baggrund af de målte pH-værdier samt den opnåede viden om jordens bufferkapacitet konkluderes, at typen såvel som mængden af de anvendte næringssalte burde have været overvejet nærmere.

De alkaliske pH-værdier målt i jordsystemerne nærmede sig et pH-område, som normalt ikke antages at være optimalt for nedbrydning af hydrocarboner (Weissenfels *et al.* 1990; Dibbles & Bartha 1979). Generelt antages det ikke for sandsynlig, at den generelle bakterielle aktivitet ved pH 8,4 vil være væsentlig forskellig fra aktiviteten ved pH 9,9. De observerede lagfaser i PAH-nedbrydningen samt de gennemgående fald i antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier efterfulgt af en stigning i antallet efter 127 dage (Figur 4) antyder dog, at de phenanthren-nedbrydende bakterier var følsomme overfor pH-stigningen. Bakterierne var stortset i stand til at adaptere til forholdene med tid. Det er kendt, at bakteriel aktivitet opretholdes selv under ekstreme pH og saltkoncentrationer. Med henvisning til tidligere erfaringer vurderes effekten af osmotisk stress pga. de tilsatte næringssalte ikke at påvirke bakterierne (Frankenberger & Karlson 1995).

pH's indflydelse på den bakterielle viabilitet og aktivitet i forsøgsjorden blev undersøgt. pH's indflydelse på viabiliteten af phenanthren-nedbrydende bakterier blev ved afslutning af mikrokosmosforsøget bestemt i forsøgsjord (jord tilsat detergent inkuberet i 325 dage, hvor pH havde stabiliseret sig omkring 9,8) ved dyrkning på phenanthren-coatede agarplader, hvor pH varierede mellem 7,4 og 10,0 (Appendiks 4.B.4). Der var signifikant forskel på antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier på pladerne afhængig af pH i mediet ($1,6 - 4,3 \cdot 10^4$ cfu/g tørstof). Der var dog ingen sammenhæng mellem antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier og stigende pH i mediet, og det kan på baggrund af dette forsøg ikke konkluderes, om høje pH-værdier har formindsket viabiliteten i forsøgsjorden. pH-målingerne for kolonne- og mikrokosmosforsøgene tydede som tidligere omtalt på, at pH i jorden stabiliserede sig efter ca. 130 dage. Det er derfor sandsynligt, at bakterierne i den anvendte forsøgsjord allerede var adapterede til miljøet, og at det var grunden til, at viabiliteten ikke blev påvirket af stigende pH i mediet. Dette underbygges af resultaterne fra pladespredningsforsøgene omtalt i afsnit 3.1.1, hvor viabiliteten af phenanthren-nedbrydende bakterier faldt fra omkring 10^4 til 10^2 cfu/g tørstof i forsøgets første 127 dage, i hvorefter antallet steg til omkring 10^4 cfu/g tørstof i tre ud af fire behandlinger. Det totale antal dyrkbare bakterier, bestemt som funktion af inkubationstiden ved de forskellige forsøgsbetingelser, er beskrevet i Figur 4. Det totale antal dyrkbare bakterier følger generelt ikke udviklingen for de dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier, der indledningsvis var aftagende, hvorefter antallet generelt steg.

De høje pH-værdier og/eller den tilsatte mængde næringssalte har således ikke umiddelbart haft indflydelse på dyrkbarheden af det totale antal bakterier i jorden, mens dyrkbarheden af de phenanthren-nedbrydende bakterier sandsynligvis er blevet påvirket.

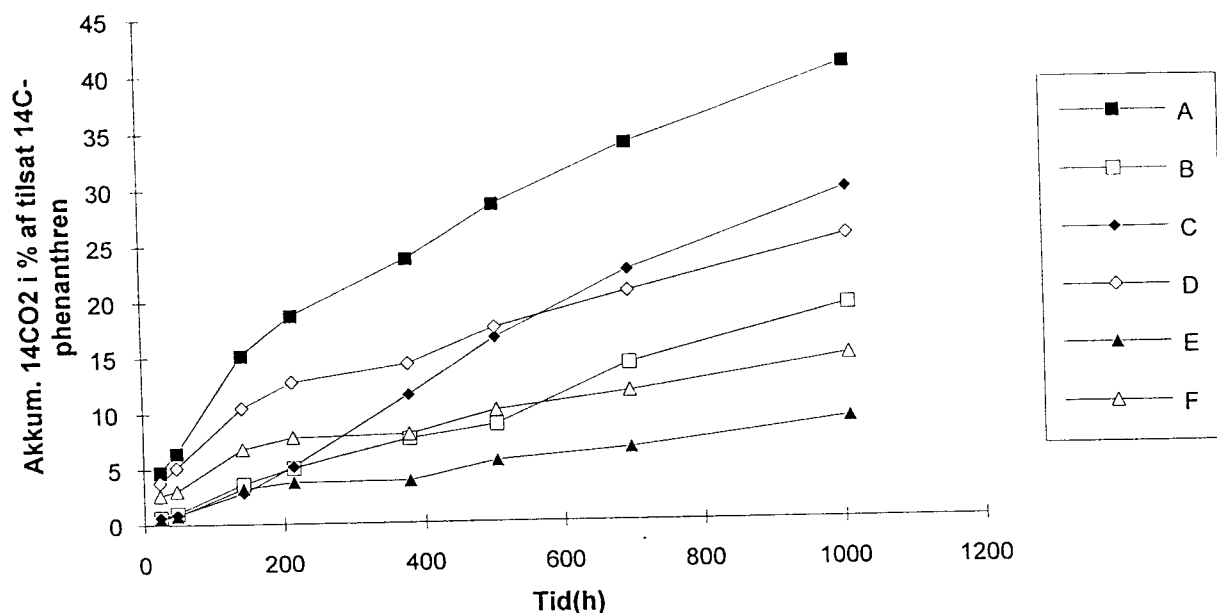
For at få kendskab til pH's indflydelse på dyrkbarheden af ikke-adaptede phenanthren-nedbrydende bakterier, ville det være nødvendigt at gentage forsøget med ikke inkuberet forsøgsjord. Dette var ikke muligt indenfor dette projekts rammer. Adaptation af phenanthren-nedbrydende bakterier til alkaliske pH-værdier er tidligere rapporteret. Mueller *et al.* (1991b) anvendte i tilsvarende mikrokosmosforsøg et PAH-forurenede sediment, som på grund af dets indhold af flyveaske var meget alkalisk (pH omkring 10). De fandt, at sedimentets indhold af phenanthren-nedbrydende bakterier (bestemt ved klaringszone-metoden) i løbet af 8 ugers inkubering var i stand til at adaptere til det alkaliske miljø.

Den umiddelbare bakterielle aktivitet i jorden mht. mineralisering af PAH-forbindelserne blev undersøgt med ^{14}C -mærket phenanthren som modelstof. Den anvendte jord havde, som i forsøget ovenfor, været inkuberet i 325 dage. Figur 8 viser resultaterne af dette indledende forsøg. Resultaterne kan ikke umiddelbart bruges til at sammenligne effektiviteten af de forskellige behandlinger, men det fremgår, at op til omkring 40% af den tilsatte mængde ^{14}C -mærket phenanthren blev omsat i jorden på 42 dage. Da bakterierne i den anvendte jord, som omtalt ovenfor sandsynligvis allerede var adapteret til miljøet i jorden, kan disse resultater ikke direkte anvendes til at forklare, om den mikrobiologiske mineralisering af phenanthren var blevet hæmmet af pH i jorden sammenlignet med jord med normal pH. I mikrokosmosforsøget blev der på 198 dage omsat 66 % phenanthren (Tabel 4). Forskellen mellem dette resultat og resultaterne opnået i mineraliseringsforsøget (Figur 8) skyldes sandsynligvis, at den tilsatte ^{14}C -mærket phenanthren var bundet mindre stærkt til jorden sammenlignet med phenanthren-forureningen i forsøgsjorden.

Sammenholdes resultaterne med resultater for omsætning af ^{14}C -mærket phenanthren i jord rapporteret af Manila & Alexander (1991) og med tidligere erfaringer med omsætning af ^{14}C -mærket anthracen og pyren i den pågældende forsøgsjord (Willumsen & Karlson 1993) fremgår det, at der ved forsøgets afslutning var signifikant phenanthren-nedbrydende mikrobiel aktivitet tilstede i jorden.

Det er ikke muligt på baggrund af de ovenfor omtalte pladesprednings- og mineraliseringsforsøg at vurdere, om de alkaliske pH-værdier og mængden af de anvendte næringssalte har påvirket omfanget af PAH-nedbrydningen i jorden. Mineraliseringsforsøget viste imidlertid, at der ved mikrokosmosforsøgets afslutning var aktive phenanthren-nedbrydende bakterier tilstede i forsøgsjorden.

Dette tyder, sammen med det gennemgående fald efterfulgt af stigning i antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydende bakterier i mikrokosmosforsøget (afsnit 3.1.1) samt omfanget af PAH-nedbrydningen mikrokosmosforsøgene før og efter 130 dage (afsnit 3.1.3) og den udeblivende nedbrydning i kolonneforsøget (afsnit 3.2) på, at bakterierne var omkring 130 dage om at adaptere til miljøet i jordsystemerne.



Figur 8 Den mikrobielle aktivitet mht. ^{14}C -mærket phenanthren i forsøgsjorden udtaget efter 325 dages inkubation i mikrokosmos. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af seks replikater ($n=6$). A: baggrund 15 °C; B: baggrund 15 °C; C: detergent 15 °C; D: detergent 25 °C; E: bestrålet kontrol 15 °C; F: bestrålet kontrol 25 °C.

3.3.1 Sammendrag

På baggrund af ovenstående kan det konkluderes, at de høje pH-værdier observeret i jordsystemerne sandsynligvis skyldes et samspil mellem den ringe bufferkapacitet i den anvendte jord, mængden af de tilsatte næringssalte samt tilsætningen af N og P som Na-salte. Den observerede lagfase i mikrokosmos- og kolonneforsøgene skyldes formodentlig, at bakteriepopulationen i jorden var omkring 127 dage om at adaptere til de alkaliske pH-værdier og/eller saltindholdet i jorden.

4 Konklusion

Mikrokosmosforsøget

Der blev observeret lagfaser på PAH-nedbrydningen på omkring 4 måneder. Sammenholdt med et aftagende antal phenanthren-nedbrydende bakterier i samme periode (fra $5 \cdot 10^4$ til 10^1 - 10^2 cfu/g ts) er det sandsynligt, at de tilstedeværende forsøgsbetingelser (stigende pH pga. tilsatte næringssalte) har virket hæmmende på de PAH-nedbrydende bakterier. Det totale antal dyrkbare bakterier var ikke tilsvarende påvirket af de initiale forsøgsbetingelser. Antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier steg generelt i forsøgets sidste 198 dage. Det blev konkluderet, at de phenanthren-nedbrydende bakterier i løbet af forsøgets sidste 198 dage adapterede sig til forsøgsbetingelserne. Efter de indledende lagfaser var koncentrationen af de undersøgte PAH-forbindelser (phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren) signifikant aftagende, og der blev uafhængig af påført behandling (bestråling, temperatur og detergent) fjernet med henholdsvis 66, 74, 66, 64 og 71 % i løbet af forsøgsperiodens sidste 198 dage. Indflydelsen af abiotiske processer på fjernelsen af PAH blev vurderet at være minimal i forsøgsdesignet. Udviklingen i PAH-koncentrationerne i løbet af forsøgsperioden blev antaget, at være påvirket af biologiske processer som mineralisering og inkorporering af PAH i jordens organiske fraktion.

I betragtning af forsøgsperiodens længde (198 dage, når der ikke tages hensyn til de indledende lagfaser) er nedbrydningsprocenterne for phenanthren og anthracen forholdsvis lave sammenholdt med lignende forsøg rapporteret i litteraturen. Dette skyldes sandsynligvis en minimal tilgængelighed af de pågældende forbindelser, der pga. den anvendte jords forureningshistorie (gammel forurening, lave udgangs-koncentrationer etc.) må antages at være forholdsvis godt bundet i jorden. Mængden af omsat fluoranthen, pyren og benz(a)pyren samt de beregnede halveringstider for disse PAH adskiller sig dog generelt ikke fra de i litteraturen rapporterede værdier.

Den anvendte detergentblanding havde en initial effekt på nedbrydningen af PAH-forbindelserne. Der blev observeret en generel tendens til, at niveauet af PAH-koncentrationerne i forsøgets første 127 dage var lavere i de detergent behandlede prøver end i tilsvarende bestrålede prøver og baggrundsprøver. Virkningen af detergentblandingen udeblev med tiden. Dette skyldes, at den tilsatte detergentblanding helt eller delvist blev anvendt som letomsættelig karbonkilde af jordbakterierne i systemet. En øget inkubationstemperatur på 25°C i forhold til 15°C havde generelt ingen signifikant stimulerende effekt på nedbrydningen af PAH.

Kolonneforsøget

Ingen af de anvendte behandlinger (baggrund, beluftning, til-sætning af flis eller kompost) medførte signifikant nedbrydning af de seks udvalgte PAH-forbindelser (phenanthren, anthracen, fluoranthen, pyren og benz(a)pyren) i løbet af de 126 dage forsøget varede. Den udeblivende nedbrydning af PAH-forbindelserne i kolonnerne skyldes formodentlig, som i mikrokosmosforsøget, at forsøgsbetingelser i jorden virkede hæmmende på PAH-nedbrydningen. Forsøgsperiodens 126 dage var ikke tid nok til, at bakterierne kunne adaptere til forholdene.

5 Referencer

Aprill, W., Sims, R.C., Sims, J.L. & Matthews, J.E. (1990): Assessing detoxification and degradation of wood preserving and petroleum wastes in contaminated soil. *Waste Management and Research*, 8: 45-65.

Bauchop & Elsen. 1960. *Journal of General Microbiology*. 23: 457-469.

Bewley, R., Ellis, B., Theile, P., Viney, I. & Rees, J. (1989): Microbial clean-up of contaminated soil. *Chemistry & Industry*, (14-24): 778-783.

Boldrin, B., Tiehm, A. & Fritzsche, C. (1993): Degradation of phenanthren, fluorene, fluoranthene and pyrene by a *Mycobacterium* sp. *Applied and Environmental Microbiology*, juni: 1927-1930.

Bossert, I., Kachel, W.M. & Bartha, R. (1984): Fate of hydrocarbons during oily sludge disposal in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 47: 763-767.

Brady, N.C. (1974): Soil reaction: acidity and alkalinity. In: *The nature and properties of soil* (8th ed.). Macmillan Publishing co., Inc. New York.

Cerniglia, C.E. (1992): Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation* 3: 351-368.

Dansk Standardiseringsråd. (1990): Dansk Standard no. 204. Tørstof og gløderest.

Dibble, J.T. & Bartha, R. (1979): Effects of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge, *Applied Environmental Microbiology*: 37: 729.

Ellis, B. Balba, M.T. & Theile, P. (1990): Bioremediation of contaminated land. *Environmental Technology*, 11: 443-455.

Ellis, B., Harold, P. & Kronborg, H. (1991): Bioremediation of a creosote contaminated site. *Environmental Technology*, 12: 447-459.

Eschenbach, A., Kästner, M., Bierl, R., Schaefer, G. & Mahro, B. (1994): Evaluation of a new, effective method to extract polycyclic aromatic hydrocarbons from soil samples. *Chemosphere*, 28 (4): 683-692.

Farkas, J. (1994): Tolerance of spores to ionizing radiation: mechanisms of inactivation, injury and repair. *Journal of Applied Symposium Supplement*: 76: 81-90.

Frankenberger, W.T., Jr & Karlson, U. (1995): Soil management factors affecting volatilization of selenium from dewatered sediments. *Geomicrobiology Journal*: 12 (4), in press.

Gardner, W.S, Lee, R.F., Tenore, K.R. & Smith, L.W (1979): Degradation of selected polycyclic aromatic hydrocarbons in coastal sediments: Importance of microbes and polychaete worms. *Water, Air and Soil Pollution II*: 339.

Groenewegen, D. & Stolp, H. (1976): Microbial breakdown of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Tbl. Bakt. Hyg. I. Abt: Orig. B162*, 225.

Grosser, R.J, Warshawsky, D. & Vestal, J.R. (1991): Indigenous and enhanced mineralization of Pyrene, Benzo(a)pyrene and Carbazole in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (2): 3462-3469.

Guerin, W.F. & Jones, G.E. (1998): Mineralization of phenanthrene by a *Mycobacterium* sp. *Applied Environmental Microbiology*, 54: 937-944.

Hilgard, E.W. (1912). 208-209, In: *Soil, their formations, properties, composition and relations to climate and plant growth in the humid and arid regions*. The Macmillan Company, London.

Holm & Jensen (1972). *Oikos*. 23: 248-260.

Mahro, B., Schaefer, G. & Kästner, M. (1994): Pathways of microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. I: Hinchee, R.E. & Leeson, A. (red): *Bioremediation of chlorinated and polycyclic aromatic hydrocarbon compounds*: 203-217.

Maniatis, T., Fritsh, E.F. & Sambrook, J. (1982). *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 440. Coldspring Harbour Press. New York.

Manila, V.B & Alexander (1991): Factors affecting the microbial degradation of phenanthrene in soil. *Applied Microbiology and biotechnology*, 35: 401-405.

Medvedev, V.A. & Davidov, V.D. (1972): Transformation of individual organic products of the coke industry in chernozemic soils. *Pochvovedenie* 11: 22.

Methods of soil Analysis (1986). Part 2: 12-2.6.5, Chemical and Microbiological Properties (second edn).

Montgomery, J.H. & Welkom, L.M. (1990). *Groundwater Chemicals Desk Reference*. Lewis Publishers Inc.

Morgan, P. & Watkinson, R.J. (1990): Assessment of the potential for *in situ* biotreatment of hydrocarbon-contaminated soils. *Water Science and Technology*, 22: 63-68.

Mueller, J.G., Chapmann, P.J & Pritchard, P.H. (1989a): Creosote-contaminated sites. Their potential for bioremediation. *Environmental Science and Technology*, 23 (10): 1197-1201.

Mueller, J.G., Chapmann, P.J & Pritchard, P.H. (1989b): Action of Fluorethrene-utilizing bacterial community on Polyaromatic hydrocarbons components of creosote. *Applied and Environmental Microbiology*, 55 (12): 3085-3090.

Mueller, J.G., Chapmann, P.J, Blattmann, B.O. & Pritchard, P.H. (1990): Isolation and characterization of a Fluoranthrene-utilizing strain of *Pseudomonas paucimobiles*. *Applied and Environmental Microbiology*, 56 (4): 1079-1086.

Mueller, J.G., Lantz, S.E., Blattmann, B.O. & Chapman, P.J. (1991a): Bench-scale evaluation of alternative biological treatment processes for the remediation of Pentacholophenol- and Creosote-contaminated materials: Slurry-Phase bioremediation. *Environmental Science and Technology*, 25 (6): 1055-1061.

Mueller, J.G., Lantz, S.E., Blattmann, B.O. & Chapman, P.J. (1991b): Bench-scale evaluation of alternative biological treatment processes for the remediation of Pentacholophenol- and Creosote-contaminated materials: Solid-phase bioremediation. *Environmental Science and Technology*, 25 (6): 1045-1055.

Park, K.S. (1990): Fate of PAH compounds in two soil types: influence of volatilization, abiotic loss and biological activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 9: 187-195.

Paul, E.A. & Clark, F.E. (1989): Phosphorus Transformation in Soil. In: *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc.

Pearlman, R.S., Yalkowsky, S.H. and Banerjee, S. (1984): Water solubilities of polynuclear aromatic and heteroaromatic compounds. *Journal of Physical Chemistry Reference Data*, 13 (2): 555-562.

Ramsay, A.J. & Bawden, D.A. (1983): Effects of sterilization and storage on respiration, nitrogen status and direct count of soil bacteria using acridine orange. *Soil Biological Biochemistry*, 15 (3): 263-268.

Rittmann, B.E. & Johnson, N.M. (1989): Rapid biological clean-up of soils contaminated with lubricating oil. *Water Science Technology*, 21: 209-219.

Sherman, D.F., Stroo, H.F. & Bratina, J. (1990). Degradation of PAHs in soil utilising enhanced bioremediation. In *Gas, Oil and Coal Technology I*, ed. C. Akin & J. Smith. Institute of Gas Technology, Chicago, IL, USA, pp. 417-28.

Sims, R.C. & Overcash, M.R. (1983): Polynuclears in soil-plant systems. *Residue Review*, 88: 1-68.

Sims, R.S. (1986): Loading rates and frequencies for land treatment systems. I: Loehr, R.C. & Manila, J.F. (red): Landtreatment a Hazardous Waste Management Alternative. 151-170. Water Resources Symposium, Number thirteen.

Walter, U., Beyer, M., Klein, J. & Rehm, H.J. (1991): Degradation of pyrene by Rhodococcus sp. UW1. Applied Microbiology and Biotechnology, 34: 671-676.

Wang, X., Yu, X. & Bartha, R. (1990): Effect of bioremediation on polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soil. Environmental Science Technology, 24 (7): 1086-1089.

Weissenfels, W.D., Beyer, M. & Klein J. (1990): Degradation of phenanthrene, fluorene and fluoranthene by pure bacterial cultures. Applied Microbiology and Biotechnology, 32: 479-484.

Willumsen, P. & Karlson, U. (1993): Rapport over laboratorieforsøg udført af Danmarks Miljøundersøgelser i Fase 1 af projektet "Biologisk nedbrydning af PAH på Frederiksberg Gasværksgrund. Danmarks Miljøundersøgelser. 40 s.

Wilson, S.C. & Jones, K.C. (1993): Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. Environmental Pollution, 81: 229-249.

Appendiks 1

Materialer og anvendte metoder

Kemikalier og radioisotoper

Jordprøver

Jord

Kompost

Flis

Generel behandling af anvendte jord

Behandling af jord til kolonneforsøg

Reagenser og stamopløsninger

Winogradskyopløsning

Sporstofopløsning

Medier

Analyser

pH i vand

Markkapacitet

Tørstofindhold

Strålesterilisering

GC-MS-analyser

Ekstraktion af bakterier fra jord

Ekstraktion af TENAX

Undersøge effektivitet af TENAX-ekstraktion

Pladespredning

Estimering af antallet af phenanthren-nedbrydere

Estimering af totalt dyrkbare bakterier

Estimering af optimalt vandindhold

Mikrokosmosforsøg

Eksperimentelt design

Procedure for udtagning af prøver

Opfølgende forsøg

Kolonneforsøg

Eksperimentelt design

Procedure for udtagning af prøver

Appendiks 1

Materialer og anvendte metoder

Kemikalier og radioisotoper

Agarose, Sea Chem. (GTG. FMC Bioproducts), BactoTryptic Soy Broth (TSB) (Difco), Bacto Agar (Difco), Phenanthren; 96% (Sigma), Detergenter: Synperonic LF/RA30 og Synperonic LF/RA310 (ICI); NaNO₃ (Merck); Na₂HPO₄ (Rhone Polene Chimie; TENAX-TA 20-35 Mesh (Mikrolab Aarhus A/S); Aktivt kul (Mogens Nielsen Aps); Ready protein⁺ scintillationscocktail (Beckman), Ready Gel scintillationscocktail (Beckman), [4,5,9,10-¹⁴C]pyren (specifik aktivitet 56 mCi/mmol) 95% radiokemisk rent (Amersham), [9,14-¹⁴C]phenanthren (specifik aktivitet 8,3 mCi/mmol) >98% radiokemisk rent (Sigma).

Alle øvrige kemikalier er af analytisk renhed.

Jordprøver

Jord

Den anvendte jord stammer fra Frederiksberg gasværksgrund, København. Forsøgsjorden består af en blanding af prøver fra jordbunke 1, 2, 7, 9 og 12. Prøverne er udtaget som delprøver fra de respektive tidligere opgravede jordbunker (se delrapport 1, Appendiks 1). Sammensætningen af jordprøverne blev valgt efter ønske fra RH&H. Efter udtagning og indtil videre behandling blev prøverne opbevaret i lukkede plastic tønder ved 4 °C.

Kompost (Renoflex kompost, Valby)

Produceret ud fra have og parkaffald samt mindre mængder hestegødning, fremstillet ved madraskompostering, pH i vand: 7,9, vandopløseligt kvælstof (N): 360 mg/kg og citratopløseligt fosfor (P): 0,09 mg/kg (Renoflex, 1994).

Flis (Junkers A/S, Køge)

Elmeflis fra træer med elmesyge.

Generel behandling af anvendte jord

Før anvendelse blev jorden sigtet gennem en 4 mm sigte og blandet grundigt vha en tvangsblender (360 L). Indtil opstart af forsøgene blev jorden opbevaret i lukkede plastic tønder ved 4 °C.

Behandling af jord til kolonneforsøg

Både flis og kompost blev iblandet jorden vha. en tvangsblender som medførte en god og homogen distribution af disse materialer i jorden. Næringsalte (N og P tilsat således, at C:N:P forholdet i jorden var 30:5:1), tilsat som krystaller, blev tilsvarende iblandet jorden vha. tvangsblender. Se Appendiks 3 for detaljer angående beregning af tilsat mængde næringsalte.

Komposten blev tilsat jorden i forholdet 3 volumener kompost til 7 volumener jord. Flis blev tilføjet jorden i forholdet 1 volumener flis til 2 volumener jord.

Reagenser og stamopløsninger

Winogradsky-opløsning (Holm og Jensen 1972) (pr. L): 0,25 g K_2HPO_4 , 0,125 g $MgSO_4$, 0,125 g NaCl, 0,0025 g $Fe_2(SO_4)_3$, 0,0025 g $MnSO_4$. pH blev indstillet med 1 M NaOH og 1 M HCl til 6,5-6,7. K_2HPO_4 blev opløst og autoklaveret separat.

Sporstofopløsning (Bauchop & Eldsen, 1960): Opløsning A: 5,37 g MgO, 1,0 g $CaCO_3$, 2,25 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,887 g $ZnSO_4 \cdot H_2O$, 0,13 g $CuSO_4 \cdot H_2O$, 0,14 $CoSO_4 \cdot 7H_2O$, 9,87 mg H_3BO_3 er tilsat ca. 400 ml sterilt destilleret vand og 25,6 ml konc. HCl. Blandingen blev braft i opløsning og 0,42 g $MnSO_4 \cdot H_2O$ blev tilsat. Der blev fyldt op til 500 ml med sterilt destilleret vand. Opløsning B: 2,5 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ blev opløst i 250 ml sterilt destilleret vand. Opløsning C: 61,62 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ blev opløst i 250 ml sterilt destilleret vand. Opløsningerne A, B og C blev blandet (=1 L), sterilfiltreret og opbevaret ved 4 °C.

Medier:

M9 (pr. L) (Maniatis et al., 1982): 6,0 g Na_2HPO_4 ; 3,0 g KH_2PO_4 ; 0,5 g NaCl blev opløst i 1 L destilleret vand, hvorefter 1,0 g NH_4Cl blev tilsat. pH blev indstillet til 7,4 med 1 M NaOH og 1 M HCl.

M9_s (pr. L): M9-medie blev beriget med 2,5 ml/L sporstofopløsning.

Ved fremstilling af agaroseplader blev M9_s-mediet tilsat 0,7% agarose.

0,3% w/v TSA (Tryptone Soya Agar) (pr. L): 3 g TSB og 15 g agar opløses i 1 L destilleret vand.

Analyser

pH i vand:

Modifikation af metode 12-2.6.5 i "Methods of Soil Analysis" (1986). Prøver á 5 g jord blev afvejet i et 50 ml bægerglas. MilliQ-vand (25 ml) blev tilsat. pH blev bestemt med et pH-meter (Metrohm 691 pH Meter), efter at opslemningen var blevet omrørt i 30 min vha. en magnetomrører og efterfølgende havde stået 10 min uden omrøring. Der blev udført dobbeltbestemmelser.

Markkapacitet

Modifikation af Hilgard Cup metoden (Hilgard 1912). En sigte blev foret med et tilpasset stykke filterpapir. Filteret blev fugtet med destilleret vand, og overskydende vanddråber blev tørret af. Sigte+fugtigt filterpapir blev vejet.

Sigten blev fyldt med jord tørret ved 105 °C. Sigte+tør jord blev vejet. Sigten blev placeret i en petriskål indeholdende vand op til nederste lag af jorden. Sigten blev vha. jordens kapillærkræfter fyldt med vand. Da overskydende vand kunne ses på jordoverfladen, blev sigten overført til et stykke papir, hvorpå overskydende vand blev drænet fra ved henstand i ca. 15 min. Sigten blev tørret af for vanddråber og vejet. Vandindholdet er nu lig markkapaciteten, da vandpotentialer er ca. lig 0 kPa.

Tørstofindhold

Modifikation af DS 204 (1990). En tom digel blev anbragt ved 500 °C i 2 timer og vejet efter 30 min afkøling i eksikator. Ca. 5 g jord blev afvejet i diglen og tørret ved 105 °C natten over. Efter afkøling og vejning af diglen kunne prøvens tørstofindhold beregnes.

Strålesterilisering:

Jorden til sterilkontrollerne blev bestrålet to gange. **Første bestråling** blev udført på RISØ; Afd. for Kemisk Reaktivitet. Jorden blev pakket i plasticposer med 2,75 kg jord i hver. Prøverne blev bestrålet med 2*11 KGy fra en β -elektron accelerator. Efter steriliseringen blev jorden pasteuriseret ved 63 °C i 1 time. Tre prøver á 10 g jord blev bestrålet, opbevaret i midten af en 2,75 kg jordpose. Steriliteten af den bestrålede jord blev kontrolleret ved pladespredning på 0,3% w/v TSA-plader. Kontrol: ikke steriliseret jord. **Anden bestråling** blev udført efter, at forsøget var i gang. Jorden blev derfor bestrålet i keramiktragtene omsluttet af plasticspandene. Bestrålingen blev udført hos NUNC, Kampstrup. Prøverne blev bestrålet med 1*25 KGy fra en Cobalt 60 kilde. Steriliteten blev undersøgt ved pladespredning.

GC-MS-analyser

Analyser af jordprøvernes samt TENAX-rørens indhold af PAH-forbindelser blev foretaget ved kapillargaschromatografi i kombination med massespektrometri (GC-MS) og udført af Alfred Jørgensen Laboratorium, Frederiksberg. Specifikationer vedrørende analyserne samt rådata findes i Appendiks 2.

Ekstraktion af bakterier fra jord

Prøver af ca. 10 g PAH-forurenede jord blev udtaget og ekstraheret med Winogradskyopløsning i forholdet 1:9. Suspensionen blev blendet i en Waring blender (3x1 min) med afkøling (1 min) på is mellem hver blendeperiode. Blenderen blev vasket af med sprit inden brug, og spritten fik lov til at afdampe inden jorden blev tilsat. Større jordpartikler blev fjernet ved henstand i 1 min. Supernatanten blev anvendt ved fremstilling af decimalfortyndinger i Winogradskyopløsning.

Ekstraktion af TENAX:

Indholdet af PAH-forbindelser blev bestemt ved forsøgets afslutning. Adsorberede PAH-forbindelser blev ekstraheret fra TENAX'en som beskrevet nedenfor. De to TENAX-kamre overførtes til hver sin glasvial.

Først blev TENAX fra det kamre, hvori der forventes mindst kontaminering (kammer 1) udtaget. Vatproppen i midten overførtes sammen med TENAX fra kammeret tættest på spandene (kammer 2). Glasrøret blev rensed for PAH-forbindelser med 1000 µl pentan, som ligeledes blev overført til den vial, der indeholdt TENAX fra kammer 2. Der blev derefter tilsat henholdsvis 3000 µl og 2000 µl pentan til vials indeholdende TENAX fra kammer 1 og 2. Evt. organiske forbindelser blev ekstraheret fra TENAX'en ved ultralyd i 15 min. Herefter overførtes pentan-fasen til GC-vial til AJL. Disse vials blev lukket tæt, og prøverne afsendt til analyse. Prøverne blev analyseret med ekstern standard.

Undersøge effektiviteten af TENAX-ekstraktionen

Kontrol af den anvendte ekstraktionsprocedure for TENAX-rørene er blevet undersøgt vha. ¹⁴C-mærket pyren. 150 mg Tenax blev pakket i et glasrør omgivet af glasuldspropper i begge ender. TENAX'en blev spiket med 500 µl acetone indeholdende ca. 10³ dpm af henholdsvis ¹⁴C-Nap og ¹⁴C-Pyr. To kontrolrør blev "spiket" med 500 µl acetone. Rørene henstod i stinkskaab i 7 dage for at sikre, at acetonen var dampet af, og at PAH-forbindelserne havde haft tid til at adsorbere til TENAX'en. Ekstraktionerne udførtes i triplikat med hver forbindelse.

Ekstraktion udførtes ved, at rørenes indhold af TENAX samt de to glasvats propper overførtes til en glas scintillationsvial, og glasrørene blev rensed med 500 µl pentan som overførtes til scintillationsvialen. Der blev yderligere tilsat 1000 µl pentan til vialen, og låget blev omviklet med parafilm. TENAX'en blev ekstraheret i 30 min ved ultralyd. Straks efter de 30 min overførtes 500 µl af supernatanten til en scintillationsvial, der blev tilsat 4,5 ml Ready protein⁺ scintillationsvæske og talt efter 4 timer. Resultaterne blev efterfølgende korrigeret for fortynding. Effektiviteten af væskescintillationstælleren ved anvendelse af Ready Protein blev bestemt til mellem 10 og 12 %. Resultatet blev regnet om til 100%.

Pladespredning

Et estimat for antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydere samt for antallet af totalt dyrkbare bakterier i jorden blev bestemt til tiden T=0 samt til efterfølgende prøveudtagninger.

Estimering af antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydere

Plader bestående af M9_s tilsat 1,5% agarose påførtes med glaspipet 1 ml phenanthrenopløsning (4 mg Phe/ml acetone), og Phe-opløsningen blev fordelt på pladerne. Pladerne henstod ved stuetemperatur i stinkskaab til acetone kunne formodes at være afdampet (minimum 3 timer). Der blev inokuleret med 100 µl pr. plade af jordfortyndinger fremstillet på baggrund af ekstrakter af de udtagne prøver. Inokulumet blev fordelt uden at beskadige PAH-laget. Der blev fremstillet triplikat fortyndinger ud fra hver jordekstraktion. Pladerne inkuberedes ialt 30 dage i mørke ved 15 °C.

Antallet af klaringer omkring kolonier på pladerne (Phe-nedbrydere) blev opgjørt efter 14 og 30 dages inkubation. Som kontrolplader benyttedes inokulerede M9_s-agaroseplader uden Phe samt ikke inokulerede M9_s-agaroseplader med Phe.

Estimering af totalt dyrkbare bakterier

Plader bestående af 0,3% w/v TSA blev inokuleret med 100 µl pr plade af jordekstraktfortyndinger som beskrevet ovenfor under estimering af antallet af dyrkbare Phe-nedbrydere. Antallet af kolonier blev opgjørt efter 30 dage.

Estimering af optimalt vandindhold

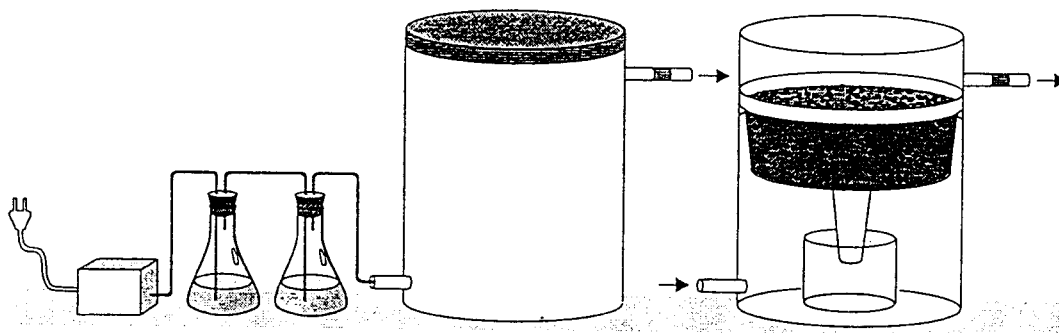
Det optimale vandindhold for PAH-nedbrydningen i den anvendte jord blev bestemt ved anvendelse af ¹⁴C-mærket pyren. Vandindhold på 30, 40, 45, 50 og 60% af markkapaciteten blev undersøgt.

Triplikat 250 ml Erlenmeyer kolber indeholdende 5 g (våd vægt) jord blev tilsat ¹⁴C-pyren svarende til 10⁶ dpm opløst i acetone. Jord samt mærket substrat blev blandet grundigt, og kolberne henstod til acetonen formodedes at være fuldstændigt fordampet (minimum 1-2 timer) før den resterende jord (35 g) blev tilsat, og kolberne blev rystet grundigt. Den beregnede mængde sterilt vand tilsattes dråbevis fordelt jævnt over hele overfladen. Kolberne blev lukket med siliconegummipropper, hvorpå KOH-fælder indeholdende 400 µl 1 M KOH var fastgjorte. Kolberne inkuberedes mørkt ved 15 °C. KOH-fælderne blev udskiftet hver dag den første uge, derefter jævnt fordelt over inkubationsperioden med nye fælder indeholdende frisk 1 M KOH. Mængden af produceret ¹⁴CO₂ bestemtes ved væskescintillationstælling. Der blev tilsat 4,8 ml scintillationsvæske (Ready*Protein) til fælderne, og disse henstod minimum 4 timer i mørke for at minimere chemiluminescence, før deres indhold af ¹⁴CO₂ blev talt på væskescintillationstæller (Beckman, LS 1801). Der blev talt i 10 min eller til 10⁷ dpm. Til korrektion for baggrund inkuberedes for hver af de testede vandindhold tre kolber med jord uden tilsætning af ¹⁴C-pyren. Til kontrol af chemiluminescence blev tre tællerør indeholdende 400 µl frisk 1 M KOH-opløsning talt ved hver scintillationstælling. Effektiviteten af væskescintillationstælleren ved anvendelse af Ready Protein blev bestemt til mellem 10 og 12 %. Resultatet blev regnet om til 100%.

Mikrokosmosforsøg

Eksperimentelt design

Til mikrokosmosforsøgene, hvor effekten af tilsætning af detergent samt temperaturen på PAH-nedbrydningen i jord blev undersøgt, anvendtes "nedbrydningskamre" som illustreret i nedenstående figur.



Figur A1.1 Design af mikrokosmos

"Nedbrydningskamrene" blev designet som lukkede systemer. Hvert kammer bestod af en keramik Buchnertragt (Ø 240mm, Bie & Berntsen) som blev nedsænket i 15 l plasticspand med tætsluttende låg (Ø 295 mm, Grathwol A/S, Glostrup). Tragten blev placeret ovenpå et glas bægerglas således, at evt. dannet perkolat kunne opsamles. For at undgå at forsøgsjorden skulle falde gennem tragten, blev denne foret med et cirkulært stykke nylondug, NY300NP (KC maskine- og laboratorieudstyr, Silkeborg). Hver spand blev forsynet med to studse beregnet til at opretholde et svagt overtryk i kamrene for at sikre at eventuelt flygtige PAH-forbindelser ville blive tvunget til at forlade kamrene på udgangssiden. Samtidigt sikkeredes aerobe forhold i atmosfæren i spandene. Udgangssiden (foroven) blev forsynet med en TENAX-fælde. En TENAX-fælde blev fremstillet af 10 cm langt glasrør, hvori to gange 150 mg TENAX blev pakket. TENAX-kamrene blev adskilt og afsluttet med propper af silaniseret glasuldsvat (Mikrolab Aarhus A/S). Mht. ekstraktion af TENAX, se afsnittet "Ekstraktion af TENAX". Det svage overtryk blev opretholdt ved anvendelse af akvariepumper (ELITE 802, Tensile FLEX). Der blev anvendt én pumpe per seks nedbrydningskamre. For at hindre udtørring af jorden, blev indgangsluften før indgang til kamrene mættet med vand. Indgangsluften blev sterilfiltreret ved anvendelse af sterilfiltre (Millex FG 0,2 µm, Millipore) på indgangsluften. Luftflowet var ca. 16 ml/min, hvilket svarer til, at luften i kamrene blev udskiftet ca. en gang i døgnet. Hver tragt blev tilført 5,5 kg prøvejord. Jorden blev rystet på plads i tragtene. Der blev opsat to replikater per behandling.

Da næringssaltindholdet i jorden ikke måtte være begrænsende blev N og P tilsat jordprøverne ved korrektion af vandindholdet ved forsøgets begyndelse. Makro-næringssaltene blev tilført i opløsning som NaNO_3 og Na_2HPO_4 (letopløselige salte). Med udgangspunkt i et for mikroorganismer optimalt C:N:P-forhold på 30:5:1 (Paul & Clark 1989) samt tidligere udførte C-, N- og P-analyser på den anvendte jord, blev mængden af NaNO_3 og Na_2HPO_4 , som skulle tilsættes beregnet til 30 henholdsvis 78 g/5,5 kg prøvejord. Detaljer vedrørende beregninger findes i Appendiks 3.

Af de i projektets fase 1 screenede detergenter var en 1:1 blanding af Synperonic 30 og 310 blevet udvalgt som værende mest effektiv til at mobilisere PAH-forbindelser fra forsøgsjorden over i en vandig fase. Den mest effektive og ikke toksiske detergent koncentration var tidligere blevet bestemt til 1 % w/v. Der blev således fremstillet en 1 % w/v blanding af Synperonic 30 og 310. Der blev ialt tilsat 55 g detergentblanding/5,5 kg jord.

Korrektion af forsøgsjordens vandindhold blev udført ved justering af vandindholdet i jorden til 60% af markkapaciteten (650 ml steril MilliQ vand per 5,5 kg forsøgsjord). Både næringssalte og detergent blev tilført de respektive mikrokosmos i disse 650 ml steril MilliQ-vand. Vandet, indeholdende næringssalte og detergent, blev tilsat jorden efter, at denne var blevet overført til tragtene. Mikrokosmossystemerne blev inkuberet ved henholdsvis 15 og 24 °C (stuetemperatur) i 325 dage.

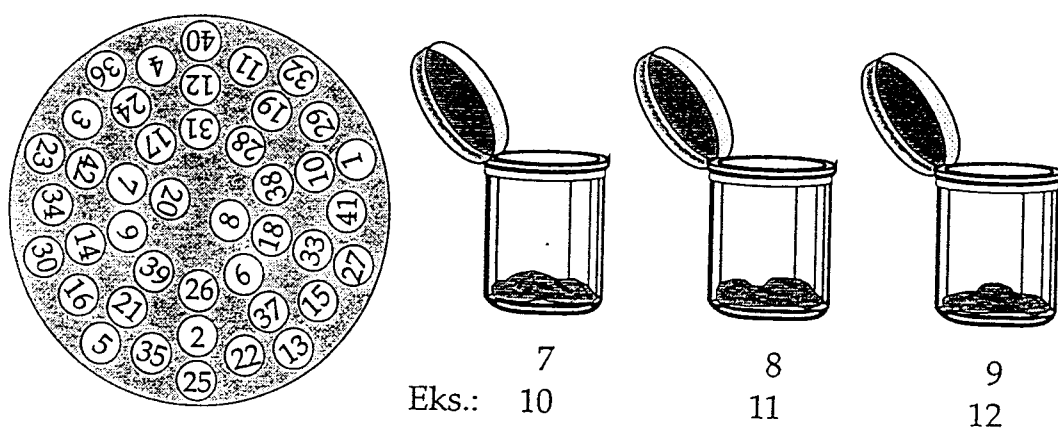
Procedure for udtagning af prøver

Ved hver prøveudtagning blev prøver udtaget til PAH-analyser (tre replikater per -mikrokosmos), til tørstofbestemmelse (dobbelbestemmelse) samt en jordprøve til estimering af antallet af totalt dyrkbare bakterier samt antallet af phenanthren-nedbrydere. Resultatet fra tørstofbestemmelserne anvendte til korrektion af et evt. fugtighedstab fra jorden. Anvendte metoder til bestemmelse af tørstof samt ekstraktion af bakterier fra jord findes beskrevet i et tidligere afsnit i dette Appendiks.

Jordprøverne (ca. 3 x 50 g) blev udtaget, overført til tætlukkede patentglas og opbevaret ved 4 °C indtil transport til analyselaboratoriet. Prøverne til ekstraktion af bakterier (ca. 10-20 g) blev udtaget i scintillationsglas (20 ml) og tilsvarende opbevaret ved 4 °C indtil ekstraktion. Prøverne til PAH-analyserne blev hurtigst muligt efter prøveudtagning transporteret til Alfred Jørgensens Laboratorium, Frederiksberg, hvor de blev opbevaret ved 4 C indtil ekstraheret og analyseret.

Der blev udtaget prøver til syv tidspunkter fordelt over forsøgsperiodens 325 dage. Prøverne til T=0 blev udtaget efter jorden var overført til tragtene og næringssalte samt detergent var tilsat jorden. De efterfølgende tidspunkter for prøveudtagning var fordelt over inkubationsperioden med hyppigst udtagning i forsøgets første halvdel.

Seks prøver blev udtaget random per mikrokosmos per prøveudtagningstidspunkt. Der blev udfærdiget en random udtagningsprocedure, se figur A1.2. Delprøve 1 og 4 overførtes til syltetøjsglas A, 2 og 5 til glas B og prøve 3 og 6 til glas C. Delprøverne i de tre glas blev derefter blandet grundigt. Fra disse tre glas blev der udtaget delprøver til bakterieekstraktion samt tørstofbestemmelser. Jordprøverne blev udtaget vha. et glasrør. For at mindske randeffekter fra det ved prøveudtagningen opståede hul, blev det anvendte glasrør efter anvendelse nedsat i det fremkomne hul i jorden. Ved afslutning af forsøget (dag 325, T=7) blev jordprøverne (tre replikater per tragt) udtaget efter, at de nedsatte glasrør var fjernet, og den tilbageblevne jord i tragtene var blevet grundigt homogeniseret.



Figur A1.2 Procedure for udtagning af jordprøver.

Opfølgende forsøg (efter sidste prøveudtagning af mikrokosmosforsøg)

Mikrobiel aktivitet i jorden ved forsøget afslutning

For at verificere udstrækningen af aktiviteten af PAH-nedbrydningen i mikrokosmosforsøget blev jord udtaget fra mikrokosmos udsat for forskellige behandlinger spiket med ^{14}C -mærket phenanthren og inkuberet i glaskolber. Mineraliseringen af det tilsatte mærket phenanthren blev løbende fuldt under inkubationsperioden ved opsamling af $^{14}\text{CO}_2$. Mængden af det dannede $^{14}\text{CO}_2$ blev bestemt ved scintillationstælling.

Triplikat 250 ml Erlenmeyer kolber tilførtes ca. 40 g våd jord fra de respektive mikrokosmos så "uforstyrret" som muligt. Prøverne blev udtaget før homogeniseringen af den resterende jord). Det optimale vandindholdet i jorden mht. PAH-nedbrydningen var tidligere bestemt til 60% af markkapaciteten. Den mængde sterilt vand, der således på baggrund af tørstofbestemmelser af jordprøverne skulle tilsættes, blev spiket med ^{14}C -mærkede phenanthren svarende til 10^5 dpm tilsat opløst i acetone og tilsat dråbevis fordelt jævnt på jordoverfladen. Dette blev gjort for at undgå "hot spot" områder på jordoverfladen.

Kolberne blev lukkede med siliconepropper, hvorpå KOH-fælder indeholdende 400 µl 1 M KOH var fastgjorte. Kolberne inkuberedes mørkt ved henholdsvis 15 og 24 °C (afhængigt af jordens tidligere inkubationstemperatur). KOH-fælderne blev udskiftet hver dag den første uge, derefter jævnt fordelt over inkubationsperioden. Mængden af produceret $^{14}\text{CO}_2$ blev bestemt ved væskescintillationstælling, som beskrevet under "Estimering af optimalt vandindhold". Det anvendte scintillationsvæske var "Ready Gel" (1,5 ml vand og 1 ml Ready Gel). Effektiviteten af væskescintillationstælleren ved anvendelse af Ready Gel blev bestemt til mellem 91 og 93 %. Resultatet blev regnet om til 100%.

pH effekt på bakterielle viabilitet

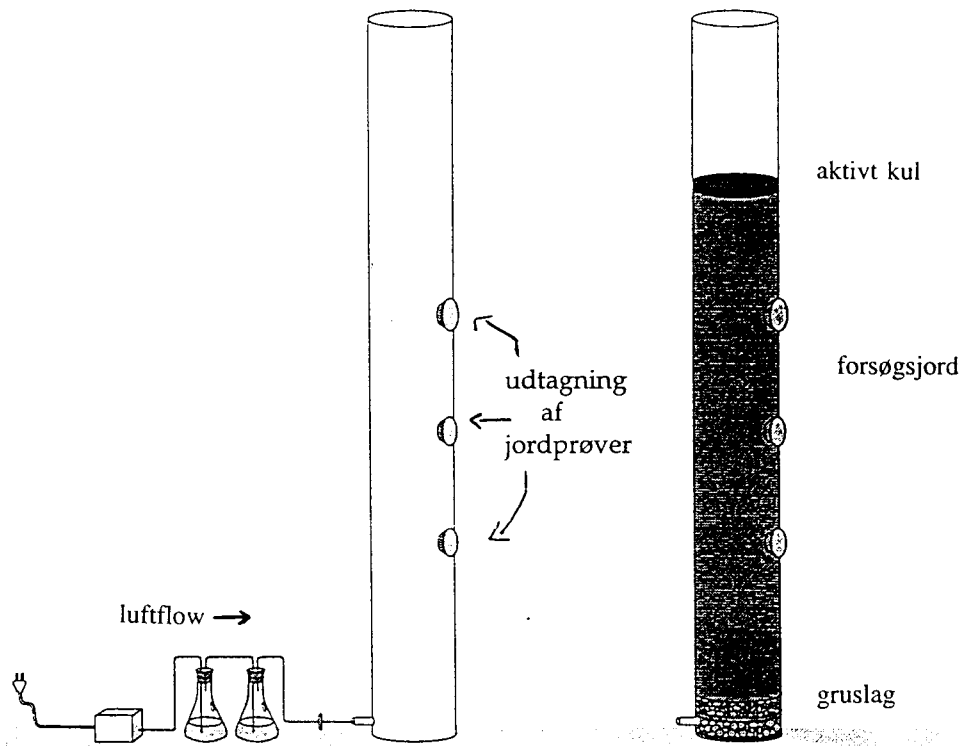
For at undersøge pH's indflydelse på phenanthren-nedbrydende bakteriers aktivitet blev minimalmedie agaroseplader (M9_s) med varierende pH-værdier påsprøjtet et phenanthrenlag og efterfølgende inokuleret. Normalt indstilles pH i M9_s-mediet til 7,4. pH-værdier mellem 8 og 10 blev undersøgt. pH indstilledes med 1 M HCl og 1 M NaOH. Det anvendte inokulum stammede fra den mikrokosmos, hvori bakterierne ud fra tidligere pladespredninger udviste størst phenanthren-nedbrydningsaktiviteten, bestemt ved antallet af klaringszoner i phenanthrenlag omkring kolonier. Jordprøverne ekstraheres som tidligere beskrevet i "Ekstraktion af bakterier fra jord". Pladerne inokuleres og inkuberes som tidligere beskrevet under "Estimering af antallet af dyrkbare phenanthren-nedbrydere".

Kolonieforsøg

Eksperimentelt design

I kolonieforsøget skulle effekten af beluftning samt tilsætning af flis henholdsvis kompost undersøges. Kolonnerne blev designet som åbne systemer (Figur A1.3).

En kolonne bestod af et PVC-rør (19 cm i diameter, 160 cm i højden). Forneden sikrede en pakningsliste, at bunden sluttede helt tæt til PVC-røret. Studse til luftindtag var monteret i bunddelene. Den tilførte luft blev leveret af aquariepumper (ELITE 802, Tensile FLEX). Sterilfiltre (Millex FG50; 0,2 µm, Millipore) var monteret på indgangsluften. For at hindre udtørring af jorden, blev indgangsluften mættet med vand. Bestemmelse af det effektive luftflow gennem kolonnerne vanskeliggjordes af designet af kolonnerne som ikke lukkede systemer. Det var således ikke muligt at bestemme luftflowet på afgangsluften. I stedet blev flowet af indgangsluften estimeret ved at bestemme volumen af fortrængt vand i et 1 L måleglas per tid. Indgangsluftflowet var ca. 1200 ml/min. I de kolonner, der blev beluftet, sikrede et ca. 10 cm. gruslag (størrelse på grus 10-15 mm) i bunden en ens distribution af den indkomne luft. De respektive jordprøver (jord, jord tilsat kompost og jord tilsat flis) blev efter grundig homogenisering (se tidligere afsnit om prøvebehandling) overført til kolonnerne.



Figur A1.3 Design af kolonner

Kolonnerne blev fyldt med jord til 120 cm højde. For at undgå kontaminering af inkubationsrummet med flygtige organiske forbindelser fra jorden afdækkedes toppen af kolonnerne med poser indeholdende aktivt kul. Der blev til alle kolonnerne tilsat næringssalte (N og P) i krystalform (se tidligere afsnit om røvebehandling). Detaljer vedrørende N og P, se Appendiks 3.

Justering af vandindholdet (svarende til 60 % af markkapaciteten) blev først foretaget efter jordblandingerne var overført til kolonnerne. Det var dog ikke muligt ved denne metode at tilføre nok vand, så kolonnerne blev efterfølgende tømt, og vandet tilført jorden ved opblanding i en trillebør. Kolonnerne blev inkuberet ved 15 °C. Der blev udført dobbeltbestemmelse på hver behandling.

Procedure for udtagning af prøver

Ved hver prøveudtagning blev prøverne analyseret for indhold af PAH-forbindelser (Alfred Jørgensens Laboratorium A/S, Frederiksberg), tørstofindhold samt pH bestemt som pH i vand. Der blev ialt udtaget prøver fem gange fordelt over inkubationsperioden på 126 dage. Prøverne blev udtaget som enkeltbestemmelser. Prøverne til $T=0$ blev udtaget på det tidspunkt jorden blev tilsat kolonnerne. Prøverne til $T=1, 2$ og 3 blev udtaget vha. et tilspidset PVC-filtrerrør, der blev indført i specielt designede huller i kolonnernes sider (se Figur A1.3).

For at sikre et uforstyrret system efter prøveudtagningerne blev tilpassede filterrør indsat i de ved prøveudtagningen opståede huller. Disse filterrør blev efterfølgende fyldt op med sterilt sand (størrelse på sandet) og hullet i kolonnens side lukket med sillikone propper.

Prøverne til T=4 (afslutningen af forsøget) blev udtaget efter, at kolonnerne var blev tømt for den resterende jord. Tømningen blev udført således, at det var muligt at udtage prøver fra kolonnes top, midte og bund. Derudover blev der udtaget en blandingsprøve repræsenterende gennemsnitsjorden i kolonnen. Alle prøver blev overført til tætsluttende patentglas, som blev opbevaret ved 4 °C indtil ekstraktion og analyse af prøvernes indhold af PAH-forbindelser.

Appendiks 2

Rådata fra Alfred Jørgensens laboratorie (AJL)
(Analyserapport fra AJL foreligger som separat rapport)

- 2.1 Rådata kolonneforsøg
- 2.2 Rådata mikrokosmosforsøg
- 2.3 TENAX-prøver

Eksempler på anvendte forkortelser:

Kolonne-data

OKJA: råjord til kolonneforsøg til tiden $t=0$, rep A

OKFA: råjord+flis til kolonneforsøg til tiden $t=0$, rep. A

OKKA: råjord+kompost til kolonneforsøg til tiden $t=0$, rep. A

1K1A: tiden $t=1$, kolonne K1, rep A

4K1AB: tiden $t=4$, kolonne 1A, bundprøve

4K1AT: tiden $t=4$, kolonne 1A, toppørøve

4K1AM: tiden $t=4$, kolonne 1A, midterprøve

4K1ABL: tiden $t=4$, kolonne 1A, blandingsprøve

Phe: phenanthren

Ant: anthracen

Pyr: pyren

FAn: fluoranthen

BaP: benzo(a)pyren

Kolonne 1A/B: jord+luft

Kolonne 2A/B: jord+kompost

Kolonne 3A/B: jord+kompost+luft

Kolonne 4A/B: jord

Kolonne 5A/B: jord+flis+luft

Mikrokosmosdata

0S1A: spand 1 (steril 15 °C), rep A til tiden $t=0$

2S2A: spand 2 (steril 15 °C), rep A til tiden $t=2$

Spand 1 og 2: steril, 15 °C

Spand 3 og 4: baggrund, 15 °C

Spand 5 og 6: detergent, 15 °C

Spand 7 og 8: steril, 25 °C

Spand 9 og 10: baggrund, 25 °C

Spand 11 og 12: detergent, 25 °C

Tenax-resultater

Slinda: spand 1, 1. kammer som luften passerer på vej ud, første skift af Tenax.

Sludb: spand 1, sidste kammer luften passerer på vej ud af spand, sidste skift af fælde.

Appendiks 2.1

Rådata- kolonneforsøg													
PAH-resultater fra AJL - kolonneforsøg													
PAH-konc i mg/kg TS													
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	% TS
OKJA	0,75	0,32	0,21	0,75	1,07	0,21	9,76	5,58	14,60	23,71	18,99	14,16	91,67
OKJB	0,80				2,20		11,10	7,20		20,40	12,20	>1,0	
OKJC	1,00				3,00		15,90	7,70		26,00	16,60	8,20	
Average	0,85				2,09		12,25	6,83		23,37	15,93	11,18	
Std	0,13				0,97		3,23	1,11		2,82	3,44	4,22	
OKFA	0,91	0,34	0,23	0,91	1,47	0,23	10,76	6,79	17,67	25,59	20,15	20,27	
OKFB	1,46	0,79	0,67	1,80	3,26	0,45	19,20	10,22	23,76	36,04	27,85	25,60	83,41
OKFC	1,20	0,44	0,44	1,42	2,18	0,33	15,61	9,28	18,28	34,39	27,40	16,70	
Average	1,19	0,52	0,45	1,37	2,30	0,33	15,19	8,76	19,91	32,01	25,13	20,86	
Std	0,28	0,23	0,22	0,45	0,90	0,11	4,24	1,77	3,36	5,62	4,32	4,48	
OKKA	0,36	0,12	0,12	0,36	0,84	0,12	6,59	3,72	7,68	13,67	10,43	7,31	
OKKB	0,60	0,24	0,24	0,72	1,31	0,12	8,36	4,66	8,43	15,65	11,95	8,01	85,23
OKKC	0,60	0,24	0,12	0,48	0,96	0,12	6,38	5,90	9,07	14,45	11,44	9,64	
Average	0,52	0,20	0,16	0,52	1,04	0,12	7,11	4,76	8,39	14,59	11,27	8,32	
Std	0,14	0,07	0,07	0,18	0,25	0,00	1,09	1,10	0,70	1,00	0,77	1,19	
PAH-konc i mg/kg TS													
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	% TS
1K1A	0,24	0,12	0,00	0,37	0,73	0,12	4,87	4,99	2,92	7,43	5,48	2,07	82,14
1K1B	0,60	0,48	0,48	1,56	2,52	0,24	13,45	5,52	5,85	16,45	12,01	5,04	83,29
1K2A	0,49	0,12	0,12	0,49	0,73	0,12	6,21	3,04	4,84	12,42	9,37	4,14	82,14
1K2B	0,60	0,36	0,24	0,84	1,32	0,24	8,25	5,62	5,92	14,59	10,88	5,14	83,61
1K3A	0,48	0,24	0,24	1,08	1,80	0,24	10,69	4,44	7,57	18,74	13,93	7,33	83,26
1K3B	0,36	0,12	0,12	0,48	0,84	0,12	5,75	2,87	5,12	11,37	8,50	5,15	83,52
1K4A	0,12	0,12	0,12	0,24	0,48	0,00	3,81	1,78	2,41	6,18	4,64	1,90	84,09
1K4B	0,12	0,00	0,00	0,12	0,12	0,00	1,32	0,84	1,08	2,64	2,04	0,84	83,28
1K5A	0,66	0,33	0,33	2,07	2,40	1,42	16,05	7,64	19,32	94,98	36,03	17,47	91,60
1K5B	0,56	0,23	0,11	0,68	1,36	0,11	9,15	4,97	7,46	18,75	13,78	6,67	88,52

Appendiks 2.1

Radata- kolonneforsøg														
PAH-resultater fra AJL - kolonneforsøg														
PAH-konc i mg/kg TS														
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	% TS	
2K1A	0,24	0,12	0,00	0,24	0,36	0,00	3,46	2,51	3,76	6,33	4,66	2,63	84,15	
2K1B	0,59	0,24	0,24	0,48	0,95	0,12	8,92	4,52	8,61	14,27	10,58	7,97	83,53	
2K2A	0,72	0,36	0,24	0,72	1,21	0,12	8,93	4,95	9,47	14,72	11,10	8,09	83,4	
2K2B	0,72	0,30	0,24	0,60	1,20	0,12	8,55	6,02	11,65	16,62	12,52	11,20	83,71	
2K3A	0,60	0,24	0,24	0,60	1,20	0,12	8,31	4,57	10,73	15,53	11,68	11,32	84,05	
2K3B	0,60	0,24	0,12	0,36	0,72	0,12	6,76	3,98	8,37	14,25	10,99	7,37	83,44	
2K4A	2,03	0,48	0,36	0,60	1,32	0,12	8,85	4,42	7,18	14,83	10,88	5,98	84,29	
2K4B	0,47	0,12	0,12	0,47	0,83	0,12	6,14	5,19	8,43	11,80	8,85	7,91	84,82	
SK5A	3,89	1,77	1,18	2,94	5,65	0,59	27,55	12,01	23,11	40,98	31,56	21,08	83,84	
2K5B	1,08	0,48	0,24	0,84	1,56	0,36	10,30	10,30	15,02	23,59	18,68	19,40	80,12	
PAH-konc i mg/kg TS														
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	% TS	
3K1A	2,4	0,5	0,5	1,3	3,6	0,3	15,2	6,9	14,6	30,5	21,5	11,9	87,1	
3K1B	1,7	0,6	0,7	1,8	6,4	0,6	25,1	12,6	16,1	40,3	27	13	87,42	
3K2A	0,8	0,2	0,4	0,7	2,2	0,1	9,1	4,4	9,2	17,8	12,1	7,9	82,59	
3K2B	1	0,2	0,2	0,5	1,7	0,1	6,7	3,8	6,7	13,7	9,3	5,8	83,24	
3K3A	0,7	0,1	0,1	0,5	1,2	0,1	6	3,3	7	14,1	9,5	6,1	83,84	
3K3B	0,7	0,1	0,2	0,6	2,1	0,1	8,2	5	8,1	16,6	11,3	7	84,35	
3K4A	0,7	0,1	0,1	0,5	1,4	0,1	6,8	3,3	7,9	16,9	11,5	6,5	85,59	
3K4B	1,7	0,5	0,5	1,2	4,5	0,2	17	10,5	13	30,4	20,7	10,7	86,81	
3K5A	1,4	0,2	0,2	0,7	2,5	0,2	12,1	5,4	12,3	25,7	17,8	10,5	81,07	
3K5B	1,3	0,4	0,4	1	2,6	0,2	11,9	5	11,5	24,3	16,4	9,8	82,33	

Appendiks 2.1

Rådata- kolonneforsøg													
PAH-resultater fra AJL - kolonneforsøg													
PAH-konc i mg/kg TS													
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	% TS
4K1AB	0,7	0,2	0,2	0,3	1,6	0,1	8,5	4,4	3,1	11,8	7,8	1,9	84,14
4K1BB	0,8	0,2	0,3	0,3	1,9	0,1	9,2	4,2	6,4	15,9	11,1	8,3	84,32
4K1AT	0,8	0,2	0,2	0,3	1,7	0,2	10,3	6,7	7,8	22,4	15,4	8,5	87,05
4K1BT	1,0	0,2	0,3	0,4	2,2	0,2	12,4	6,5	10,5	25,4	17,8	15,2	86,58
4K1AM	0,4	0,1	0,1	0,2	0,7	0,1	5,2	2,3	2,9	9,8	6,6	2,4	83,85
4K1BM	0,5	0,1	0,1	0,2	0,9	0,1	6,3	3,2	3,6	11,9	8,0	3,6	84,47
4K1ABL	0,5	0,1	0,2	0,3	1,5	0,1	8,2	4,5	5,9	15,1	10,2	7,3	85,04
4K1BBL	0,7	0,3	0,3	0,5	2,4	0,2	11,2	6,1	8,8	22,9	15,7	11,2	86,04
4K2AB	0,3	0,1	0,1	0,1	0,5	0,0	3,7	1,8	3,3	8,9	6,3	4,6	83,00
4K2BB	0,4	0,1	0,1	0,2	0,9	0,1	5,3	2,4	4,5	10,7	7,2	5,8	83,06
4K2AT	0,4	0,1	0,1	0,2	0,8	0,1	4,9	2,6	5,0	11,2	7,7	6,4	84,94
4K2BT	0,5	0,1	0,1	0,2	1,0	0,1	6,4	3,7	5,8	14,1	9,8	7,8	87,27
4K2AM	0,4	0,1	0,2	0,4	2,2	0,1	10,1	5,7	6,5	18,2	12,0	7,7	83,55
4K2BM	0,3	0,1	0,1	0,1	0,6	0,1	3,7	2,0	3,8	8,5	6,0	4,5	84,57
4K2ABL	0,4	0,1	0,1	0,2	0,8	0,1	5,2	2,5	5,0	11,5	7,9	6,5	83,45
4K2BBL	0,4	0,1	0,1	0,2	1,0	0,1	5,7	3,3	4,4	10,8	7,5	5,5	84,14
4K3AB	0,7	0,2	0,2	0,4	1,8	0,1	9,7	5,0	6,2	18,2	12,5	6,9	83,92
4K3BB	0,5	0,1	0,2	0,3	1,4	0,1	7,2	4,2	5,8	13,4	9,2		
4K3AT	0,7	0,2	0,2	0,3	1,3	0,1	6,9	3,4	7,7	17,4	12,6	11,0	87,50
4K3BT	0,7	0,2	0,2	0,3	1,9	0,1	9,6	4,4	8,3	20,2	14,2	11,0	87,53
4K3AM	0,5	0,1	0,1	0,2	1,2	0,1	6,0	3,5	6,6	13,8	9,8	9,2	82,42
4K3BM	0,9	0,2	0,3	0,3	1,8	0,4	8,5	4,6	7,0	16,7	11,4	8,6	83,82
4K3ABL	0,5	0,1	0,1	0,2	1,0	0,1	5,7	2,9	5,6	13,3	9,3	6,2	84,11
4K3BBL	0,7	0,2	0,2	0,3	1,6	0,1	8,6	4,1	6,3	16,5	11,3	6,9	83,82

Appendiks 2.1

Rådata- kolonneforsøg													
PAH-resultater fra AJL - kolonneforsøg													
PAH-konc i mg/kg TS													
PRØVE MRK.	Naphthalen	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	% TS
4K4AB	0,1	0,0	0,0	0,1	0,3	0,0	2,5	1,2	1,5	4,7	3,1	1,7	80,67
4K4BB	0,2	0,1	0,1	0,1	0,7	0,1	4,2	1,7	2,7	7,9	5,4	2,9	82,78
4K4AT	0,5	0,1	0,1	0,2	1,1	0,1	6,1	3,3	5,3	13,1	8,9	5,5	82,97
4K4BT	0,9	0,2	0,3	0,4	2,4	0,2	11,5	5,0	9,0	23,6	16,3	11,6	86,22
4K4AM	0,4	0,1	0,1	0,2	0,8	0,1	5,0	2,3	3,8	10,9	7,5	4,5	83,62
4K4BM	0,4	0,1	0,1	0,2	0,7	0,1	4,5	1,8	2,6	8,1	5,7	2,6	83,86
4K4ABL	0,3	0,1	0,1	0,2	1,1	0,1	6,8	4,8	3,8	12,6	8,2	3,1	83,08
4K4BBL	0,4	0,1	0,1	0,2	1,0	0,1	6,0	2,5	3,9	10,6	7,2	4,6	83,47
4K5AB	1,1	0,3	0,4	0,5	2,9	0,2	13,0	5,9	11,0	28,6	20,0	13,1	85,63
4K5BB	1,4	0,6	0,7	0,9	5,9	0,4	19,4	13,5	14,4	36,1	24,7	17,5	86,95
4K5AT	0,9	0,2	0,2	0,3	1,4	0,1	7,2	3,6	8,9	20,5	14,5	12,9	86,76
4K5BT	1,3	0,4	0,4	0,7	3,1	0,6	16,4	6,9	12,2	32,2	22,2	15,0	85,21
4K5AM	0,7	0,1	0,2	0,3	1,7	0,1	8,4	4,1	8,2	22,0	15,3	10,3	81,67
4K5BM	0,9	0,2	0,2	0,4	2,2	0,2	11,2	5,9	7,8	23,8	16,8	10,3	83,47
4K5ABL	0,9	0,2	0,2	0,3	1,6	0,2	8,5	4,1	8,4	22,9	16,3	11,3	86,79
4K5BBL	0,7	0,2	0,2	0,4	1,7	0,2	8,6	3,9	8,3	21,1	15,0	10,4	84,78

Appendiks 2.1

RÅDATA		mg PAH/kg dry wt.											
PAH-koncentrationer, gennemsnit af to replikatkolonner													
Værdierne repræsenterer en gentagelse, værdierne til sidste prøveudtagning er fra blandingsprøverne													
Kolonne 1A og 1B (jord+luft)													
PAH-forbindelse:		Phe		Ant		FAn		Pyr		BaP			
Tid (h)		1A	1B	1A	1B	1A	1B	1A	1B	1A	1B	1A	1B
0		9.8	9.8	5.6	5.6	23.7	23.7	19.0	19.0	14.2	14.2		
22		4.9	13.5	5.0	5.5	7.4	16.5	5.3	12.0	2.1	5.0		
50		3.5	8.9	2.5	4.5	6.3	14.3	4.7	10.6	2.6	8.0		
84		15.2	25.1	6.9	12.6	30.5	40.3	21.5	27.0	11.9	13.0		
126		8.2	11.2	4.5	6.1	15.1	22.9	10.2	15.7	7.3	11.2		
Kolonne 2A og 2B (jord+kompost)													
PAH-forbindelse:		Phe		Ant		FAn		Pyr		BaP			
Tid (h)		2A	2B	2A	2B	2A	2B	2A	2B	2A	2B	2A	2B
0		7.11	7.11	4.75	4.75	14.59	14.59	11.27	11.27	8.32	8.32		
22		6.2	8.3	3.0	5.6	12.4	14.6	9.4	10.9	4.1	5.1		
50		8.9	8.6	5.0	6.0	14.7	16.6	11.1	12.5	8.1	11.2		
84		9.1	6.7	4.4	3.8	17.8	13.7	12.1	9.3	7.9	5.8		
126		5.2	5.7	2.5	3.3	11.5	10.8	7.9	7.5	6.5	5.5		
Kolonne 3A og 3B (jord+kompost+luft)													
PAH-forbindelse:		Phe		Ant		FAn		Pyr		BaP			
Tid (h)		3A	3B	3A	3B	3A	3B	3A	3B	3A	3B	3A	3B
0		7.11	7.11	4.75	4.75	14.59	14.59	11.27	11.27	8.32	8.32		
22		10.7	5.8	4.4	2.9	18.7	11.4	13.9	8.5	7.3	5.2		
50		8.3	6.8	4.6	4.0	15.5	14.3	11.7	11.0	11.3	7.4		
84		6.0	8.2	3.3	5.0	14.2	16.6	9.5	11.3	6.1	7.0		
126		5.7	2.9	2.9	4.1	13.3	16.5	9.3	11.3	6.2	6.9		
Kolonne 4A og 4B (jord)													
PAH-forbindelse:		Phe		Ant		FAn		Pyr		BaP			
Tid (h)		4A	4B	4A	4B	4A	4B	4A	4B	4A	4B	4A	4B
0		9.8	9.8	5.6	5.6	23.7	23.7	19.0	19.0	14.2	14.2		
22		3.8	1.3	1.8	0.8	6.2	2.6	4.6	2.0	1.9	0.8		
50		8.9	6.1	4.4	5.2	14.8	23.6	10.9	8.9	6.0	7.9		
84		6.8	17.0	3.3	10.5	16.9	30.4	11.5	20.7	5.7	10.7		
126		6.8	6.0	4.8	2.5	12.6	10.6	8.2	7.2	3.1	4.6		
Kolonne 5A og 5B (jord+flis+luft)													
PAH-forbindelse:		Phe		Ant		FAn		Pyr		BaP			
Tid (h)		5A	5B	5A	5B	5A	5B	5A	5B	5A	5B	5A	5B
0		15.19	15.19	8.76	8.76	32.01	32.01	25.13	25.13	20.86	20.86		
22		16.05	9.15	7.64	4.97	94.98	18.75	36.03	13.78	17.47	6.67		
50		27.55	10.3	12.01	10.3	40.98	23.59	31.56	18.68	21.08	19.4		
84		12.1	11.9	5.4	5	25.7	24.3	17.8	16.4	10.5	9.8		
126		8.5	8.6	4.1	3.9	22.9	21.1	16.3	15	11.3	10.4		

Appendiks 2.1

GENNEMSNITSVÆRDIER						STANDARD DEVIATION					
Kolonne 1A og 1B (jord+luft)						Kolonne 1A og 1B (jord+luft)					
PAH-forbindelse:						PAH-forbindelse:					
Tid (h)						Tid (h)					
	Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP		Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP
0	9.8	5.6	23.7	19.0	14.2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
22	9.2	5.3	11.9	8.6	8.9	22	6.1	0.4	6.4	4.8	2.1
50	6.2	3.5	10.3	7.6	7.7	50	3.9	1.4	5.6	4.2	3.8
84	20.2	9.8	35.4	24.3	8.9	84	7.0	4.0	6.9	3.9	0.8
126	9.7	5.3	19.0	13.0	8.9	126	2.1	1.1	5.5	3.9	2.8
Kolonne 2A og 2B (jord+kompost)						Kolonne 2A og 2B (jord+kompost)					
PAH-forbindelse:						PAH-forbindelse:					
Tid (h)						Tid (h)					
	Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP		Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP
0	7.1	4.8	14.6	11.3	7.8	0	1.1	1.1	1.0	0.8	1.2
22	7.2	4.3	13.5	10.1	8.0	22	1.4	1.8	1.5	1.1	0.7
50	8.7	5.5	15.7	11.8	8.9	50	0.3	0.8	1.3	1.0	2.2
84	7.9	4.1	15.8	10.7	7.7	84	1.7	0.4	2.9	2.0	1.5
126	5.5	2.9	11.2	7.7	7.1	126	0.4	0.6	0.5	0.3	0.7
Kolonne 3A og 3B (jord+kompost+luft)						Kolonne 3A og 3B (jord+kompost+luft)					
PAH-forbindelse:						PAH-forbindelse:					
Tid (h)						Tid (h)					
	Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP		Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP
0	7.1	4.8	14.6	11.3	7.7	0	1.1	1.1	1.0	0.8	1.2
22	8.2	3.7	15.1	11.2	6.9	22	3.5	1.1	5.2	3.8	1.5
50	7.5	4.3	14.9	11.3	7.5	50	1.1	0.4	0.9	0.5	2.8
84	7.1	4.2	15.4	10.4	7.6	84	1.6	1.2	1.7	1.3	0.6
126	4.3	3.5	14.9	10.3	7.4	126	2.0	0.8	2.3	1.4	0.5
Kolonne 4A og 4B (jord)						Kolonne 4A og 4B (jord)					
PAH-forbindelse:						PAH-forbindelse:					
Tid (h)						Tid (h)					
	Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP		Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP
0	9.8	5.6	23.7	19.0	9.2	0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
22	2.6	1.3	4.4	3.3	7.2	22	1.8	0.7	2.5	1.8	0.7
50	7.5	4.8	19.2	9.9	7.3	50	1.9	0.5	6.2	1.4	1.4
84	11.9	6.9	23.7	16.1	7.7	84	7.2	5.1	9.5	6.5	3.6
126	6.4	3.7	11.6	7.7	6.9	126	0.6	1.6	1.4	0.7	1.1
Kolonne 5A og 5B (jord+flis+luft)						Kolonne 5A og 5B (jord+flis+luft)					
PAH-forbindelse:						PAH-forbindelse:					
Tid (h)						Tid (h)					
	Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP		Phe	Ant	FAn	Pyr	BaP
0	15.2	8.8	32.0	25.1	20.86	0	4.2	1.8	5.6	4.3	4.5
22	12.6	6.8	56.9	24.9	12.07	22	4.9	1.5	53.9	15.7	7.6
50	18.9	11.4	32.3	25.1	20.24	50	12.2	1.0	12.3	9.1	1.2
84	12.0	5.3	25.0	17.1	10.15	84	0.1	0.2	1.0	1.0	0.5
126	8.6	4.0	22.0	15.7	10.85	126	0.1	0.1	1.3	0.9	0.6

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg											
PAH-konc i mg/kg TS											
Prøve mrk.	Naphtalen	Me-naph	Dime-naph	Fluoren	Acenaphtylen	Phenantren	Antracen	Chrysen	Fluorant.	Pyren	Benz(a)P
OS1A	1.00	1.10	1.40	3.00	0.20	17.10	8.70	6.20	21.70	23.50	4.50
OS1B	0.80	0.60	0.70	1.60	0.10	10.20	5.10	5.60	16.60	18.40	4.90
OS1C	0.80	0.50	0.70	1.40	0.10	8.50	5.10	4.90	13.90	15.60	5.90
gennem	0.87	0.73	0.93	2.00	0.13	11.93	6.30	5.57	17.40	19.17	5.10
std	0.12	0.32	0.40	0.87	0.06	4.55	2.08	0.65	3.96	4.01	0.72
OS2A	2.50	0.70	0.70	1.20	0.10	8.10	5.10	4.60	13.60	15.40	3.70
OS2B	1.00	0.60	0.80	1.50	0.10	9.60	5.00	4.90	14.90	16.40	4.30
OS2C	1.10	0.70	0.90	2.00	0.20	12.00	7.40	5.40	17.90	19.60	4.70
gennem	1.53	0.67	0.80	1.57	0.13	9.90	5.83	4.97	15.47	17.13	4.23
std	0.84	0.06	0.10	0.40	0.06	1.97	1.36	0.40	2.21	2.19	0.50
OS3A	0.90	0.50	1.00	1.80	0.20	12.20	7.10	4.80	17.10	18.20	3.80
OS3B	2.10	1.60	1.60	4.50	0.20	16.10	56.10	6.60	17.50	19.20	4.80
OS3C	0.60	0.50	0.80	0.50	0.10	9.20	4.30	3.60	12.00	13.00	3.50
gennem	1.20	0.87	1.13	2.27	0.17	12.50	22.50	5.00	15.53	16.80	4.03
std	0.79	0.64	0.42	2.04	0.06	3.46	29.13	1.51	3.07	3.33	0.68
OS4A	0.60	0.40	0.60	1.00	0.10	7.10	4.00	3.50	11.20	12.30	3.30
OS4B	0.70	0.50	0.70	1.60	0.10	9.40	5.90	4.60	14.10	15.50	4.40
OS4C	0.70	0.50	0.70	1.40	0.10	7.60	5.80	4.30	11.70	12.90	4.00
gennem	0.67	0.47	0.67	1.33	0.10	8.03	5.23	4.13	12.33	13.57	3.90
std	0.06	0.06	0.06	0.31	0.00	1.21	1.07	0.57	1.55	1.70	0.56
OS5A	0.80	0.80	1.20	2.20	0.20	11.60	4.90	4.00	13.10	14.00	3.70
OS5B	0.40	0.20	0.50	1.00	0.10	5.50	4.20	3.10	9.20	9.90	2.60
OS5C	0.70	0.40	0.50	1.10	0.10	6.90	4.50	4.50	10.80	12.30	4.40
gennem	0.63	0.47	0.73	1.43	0.13	8.00	4.53	3.87	11.03	12.07	3.57
std	0.21	0.31	0.40	0.67	0.06	3.20	0.35	0.71	1.96	2.06	0.91
OS6A	0.70	0.50	0.70	1.30	0.10	8.10	6.00	3.70	10.80	11.90	3.60
OS6B	1.10	0.60	1.00	1.80	0.10	10.80	5.40	4.70	13.60	14.70	4.80
OS6C	0.70	0.70	1.10	2.20	0.10	11.20	9.50	5.70	14.70	15.70	4.90
gennem	0.83	0.60	0.93	1.77	0.10	10.03	6.97	4.70	13.03	14.10	4.43
std	0.23	0.10	0.21	0.45	0.00	1.69	2.21	1.00	2.01	1.97	0.72
OS7A	1.40	0.80	1.30	2.10	0.20	12.80	7.60	6.00	17.10	18.70	6.40
OS7B	0.80	0.50	0.70	1.40	0.10	9.20	5.70	4.70	12.80	14.30	4.90
OS7C	1.40	1.30	1.40	2.50	0.20	14.70	6.00	7.10	17.80	19.30	6.70
gennem	1.20	0.87	1.13	2.00	0.17	12.23	6.43	5.93	15.90	17.43	6.00
std	0.35	0.40	0.38	0.56	0.06	2.79	1.02	1.20	2.71	2.73	0.96
OS8A	0.80	0.40	0.60	1.10	0.10	7.90	5.80	5.30	13.40	15.10	5.30
OS8B	0.50	0.20	0.60	1.20	0.10	8.30	5.60	4.50	14.50	15.50	5.10
OS8C	0.60	0.40	0.70	1.20	0.10	8.60	6.70	5.10	12.90	14.20	4.80
gennem	0.63	0.33	0.63	1.17	0.10	8.27	6.03	4.97	13.60	14.93	5.07
std	0.15	0.12	0.06	0.06	0.00	0.35	0.59	0.42	0.82	0.67	0.25
OS9A	1.30	0.90	1.40	2.90	0.20	17.10	11.50	7.40	20.50	22.10	7.60
OS9B	0.70	0.60	1.10	2.30	0.20	12.10	7.90	6.00	15.70	17.30	6.10
OS9C	0.80	0.60	0.80	1.70	0.10	10.70	5.80	4.60	12.70	13.70	4.50
gennem	0.93	0.70	1.10	2.30	0.17	13.30	8.40	6.00	16.30	17.70	6.07
std	0.32	0.17	0.30	0.60	0.06	3.36	2.88	1.40	3.93	4.21	1.55
OS10A	0.70	0.40	0.70	1.30	0.10	9.90	7.20	6.50	15.60	17.50	6.80
OS10B	0.80	0.80	1.20	1.90	0.20	10.10	7.20	5.40	14.50	16.10	5.10
OS10C	1.10	0.80	1.80	4.40	0.50	22.70	15.60	10.20	27.90	30.50	9.50
gennem	0.87	0.67	1.23	2.53	0.27	14.23	10.00	7.37	19.33	21.37	7.13
std	0.21	0.23	0.55	1.64	0.21	7.33	4.85	2.51	7.44	7.94	2.22
OS11A	0.60	0.70	1.70	3.60	0.40	21.00	10.50	7.30	20.20	21.70	7.40
OS11B	0.60	0.40	0.70	1.20	0.10	7.60	5.20	4.40	10.80	12.00	4.20
OS11C	0.60	0.40	0.80	2.20	0.10	15.40	12.00	8.10	19.40	21.30	7.80
gennem	0.60	0.50	1.07	2.33	0.20	14.67	9.23	6.60	16.80	18.33	6.47
std	0.00	0.17	0.55	1.21	0.17	6.73	3.57	1.95	5.21	5.49	1.97
OS12A	0.40	0.40	0.70	1.10	0.10	7.20	3.80	3.90	10.10	11.30	3.90
OS12B	0.50	0.50	1.00	2.30	1.40	13.90	10.20	5.80	15.80	17.50	6.20
OS12C	1.20	1.10	1.40	2.50	0.20	12.70	6.50	5.40	14.30	15.50	5.20
gennem	0.70	0.67	1.03	1.97	0.57	11.27	6.83	5.03	13.40	14.77	5.10
std	0.44	0.38	0.35	0.76	0.72	3.57	3.21	1.00	2.95	3.16	1.15

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg											
PAH-konc i mg/kg TS											
Prøve	Naphta	Me-naph	Dimenaph	Fluoren	Acenaph	Phenant	Antrac	Chrysen	Fluoran	Pyren	Benz(a)
1S1A	0.50	0.30	0.70	1.20	0.10	8.10	4.10	5.00	9.20	10.00	4.50
1S1B	1.00	0.80	1.30	3.00	0.20	15.00	11.10	8.40	15.40	16.20	8.10
1S1C	0.70	0.50	0.60	1.30	0.10	8.80	7.90	6.60	11.50	12.30	5.60
gennem	0.73	0.53	0.87	1.83	0.13	10.63	7.70	6.67	12.03	12.83	6.07
stdev	0.25	0.25	0.38	1.01	0.06	3.80	3.50	1.70	3.13	3.13	1.84
1S2A	0.50	0.40	0.60	1.20	0.10	7.10	5.40	6.00	10.10	11.00	5.40
1S2B	0.60	0.40	0.70	1.50	0.10	8.00	7.10	4.70	9.90	9.90	4.10
1S2C	0.50	0.40	0.70	0.80	0.00	6.50	3.00	3.10	6.70	7.00	3.20
gennem	0.53	0.40	0.67	1.17	0.07	7.20	5.17	4.60	8.90	9.30	4.23
stdev	0.06	0.00	0.06	0.35	0.06	0.75	2.06	1.45	1.91	2.07	1.11
1S3A	0.90	0.60	1.20	3.30	0.20	18.90	11.30	11.80	19.00	20.60	9.70
1S3B	0.50	0.40	0.80	1.50	0.10	9.50	5.20	5.50	11.70	11.70	4.50
1S3C	0.60	0.70	1.40	3.10	0.20	14.80	9.30	6.30	11.80	11.80	5.40
gennem	0.67	0.57	1.13	2.63	0.17	14.40	8.60	7.87	14.17	14.70	6.53
stdev	0.21	0.15	0.31	0.99	0.06	4.71	3.11	3.43	4.19	5.11	2.78
1S4A	0.40	0.10	0.40	0.70	0.00	4.70	3.00	3.80	6.10	6.60	3.40
1S4B	0.50	0.40	0.60	2.30	0.10	11.90	6.50	5.60	10.80	10.80	4.50
1S4C	0.40	0.20	1.00	2.00	0.10	10.70	5.20	4.60	10.00	10.00	3.70
gennem	0.43	0.23	0.67	1.67	0.07	9.10	4.90	4.67	8.97	9.13	3.87
stdev	0.06	0.15	0.31	0.85	0.06	3.86	1.77	0.90	2.51	2.23	0.57
1S5A	0.50	0.20	0.40	0.70	0.10	5.60	3.10	3.20	6.40	6.70	3.00
1S5B	0.50	0.50	0.80	1.70	1.30	8.20	5.90	3.60	6.30	6.40	2.70
1S5C	0.60	0.40	0.50	0.90	0.10	6.20	4.90	5.00	8.20	8.30	3.70
gennem	0.53	0.37	0.57	1.10	0.50	6.67	4.63	3.93	6.97	7.13	3.13
stdev	0.06	0.15	0.21	0.53	0.69	1.36	1.42	0.95	1.07	1.02	0.51
1S6A	0.20	0.10	0.20	0.40	0.00	2.60	1.50	2.30	3.30	3.30	2.10
1S6B	1.00	0.80	1.10	2.90	0.10	13.80	10.00	5.60	11.40	11.40	3.60
1S6C	0.40	0.10	0.40	0.70	0.00	4.10	2.70	3.10	4.60	4.90	2.40
gennem	0.53	0.33	0.57	1.33	0.03	6.83	4.73	3.67	6.43	6.53	2.70
stdev	0.42	0.40	0.47	1.37	0.06	6.08	4.60	1.72	4.35	4.29	0.79
Prøve	Naphta	Me-naph	Dimenaph	Fluoren	Acenaph	Phenant	Antrac	Chrysen	Fluoran	Pyren	Benz(a)
1S7A	1.90	1.90	2.40	5.30	0.40	23.70	14.20	8.00	15.70	15.70	7.40
1S7B	0.70	0.50	1.20	3.20	0.20	15.80	10.70	7.70	14.20	15.00	6.60
1S7C	0.70	0.40	0.60	1.30	0.10	9.60	7.20	7.70	11.70	12.50	5.90
gennem	1.10	0.93	1.40	3.27	0.23	16.37	10.70	7.80	13.87	14.40	6.63
stdev	0.69	0.84	0.92	2.00	0.15	7.07	3.50	0.17	2.02	1.68	0.75
1S8A	0.60	0.40	0.60	1.10	0.10	7.00	4.70	5.50	9.50	10.80	6.10
1S8B	0.80	0.60	1.30	3.20	0.10	14.70	9.80	8.30	15.60	15.60	7.00
1S8C	8.50	8.80	6.90	17.60	1.20	58.70	17.80	15.30	31.20	31.20	11.40
gennem	3.30	3.27	2.93	7.30	0.47	26.80	10.77	9.70	18.77	19.20	8.17
stdev	4.50	4.79	3.45	8.98	0.64	27.89	6.60	5.05	11.19	10.67	2.84
1S9A	0.20	0.20	0.40	0.80	0.00	5.10	2.90	3.30	5.90	6.20	3.60
1S9B	0.70	1.10	1.40	3.60	0.20	13.60	9.90	7.10	11.30	11.60	5.70
1S9C	0.40	0.20	0.50	0.90	0.10	5.20	3.20	3.60	6.40	6.70	2.70
gennem	0.43	0.50	0.77	1.77	0.10	7.97	5.33	4.67	7.87	8.17	4.00
stdev	0.25	0.52	0.55	1.59	0.10	4.88	3.96	2.11	2.98	2.98	1.54
1S10A	0.40	0.20	0.50	0.90	0.10	6.30	4.30	4.60	7.50	8.00	4.30
1S10B	0.70	0.40	0.70	1.90	0.10	9.60	7.50	5.50	9.70	10.00	4.60
1S10C	0.70	0.40	0.70	1.70	0.20	9.50	6.30	7.40	10.80	11.60	6.20
gennem	0.60	0.33	0.63	1.50	0.13	8.47	6.03	5.83	9.33	9.87	5.03
stdev	0.17	0.12	0.12	0.53	0.06	1.88	1.62	1.43	1.68	1.80	1.02
1S11A	0.60	0.40	0.50	0.90	0.10	5.60	4.70	3.60	6.90	7.10	3.10
1S11B	0.50	0.20	0.40	0.90	0.00	5.80	4.60	3.50	6.20	6.40	3.50
1S11C	0.20	0.10	0.20	0.40	0.00	2.50	1.80	2.10	3.30	3.50	1.60
gennem	0.43	0.23	0.37	0.73	0.03	4.63	3.70	3.07	5.47	5.67	2.73
stdev	0.21	0.15	0.15	0.29	0.06	1.85	1.65	0.84	1.91	1.91	1.00
1S12A	3.90	4.20	4.20	11.00	0.60	30.50	27.20	8.20	16.40	16.40	5.40
1S12B	1.20	1.40	2.00	5.50	0.40	19.90	15.00	6.80	13.10	13.10	5.10
1S12C	0.70	0.50	0.70	2.00	0.10	8.90	6.40	4.30	7.50	7.70	3.60
gennem	1.93	2.03	2.30	6.17	0.37	19.77	16.20	6.43	12.33	12.40	4.70
stdev	1.72	1.93	1.77	4.54	0.25	10.80	10.45	1.98	4.50	4.39	0.96

Appendiks 2.2

Prve	Naphta	Me-naph	Dimenaph	Fluoren	Acenaph	Phenant	Antrac	Chrysen	Fluoran	Pyren	Benz(a)
2S1A	0.70	0.40		1.10	0.10	9.30	6.70	6.70	16.70	17.90	7.70
2S1B	0.70	0.40		1.00	0.10	9.00	6.30	6.40	16.60	17.80	7.30
2S1C	1.40	0.60		1.50	0.10	11.30	7.30	6.40	16.50	16.50	8.00
gennem	0.93	0.47		1.20	0.10	9.87	6.77	6.50	16.60	17.40	7.67
stdev	0.40	0.12		0.26	0.00	1.25	0.50	0.17	0.10	0.78	0.35
2S2A	1.10	0.60		1.60	0.10	11.50	6.20	5.60	15.50	16.70	7.20
2S2B	2.00	1.30		3.10	0.20	16.80	14.40	7.00	21.60	21.60	8.30
2S2C	0.50	0.10		0.70	0.10	6.10	5.60	4.40	11.90	11.90	5.50
gennem	1.20	0.67		1.80	0.13	11.47	8.73	5.67	16.33	16.73	7.00
stdev	0.75	0.60		1.21	0.06	5.35	4.92	1.30	4.90	4.85	1.41
2S3A	1.00	0.70		2.60	0.20	18.60	11.60	8.90	26.70	26.70	11.30
2S3B	0.60	0.40		1.50	0.10	10.20	7.70	5.80	16.50	16.50	7.40
2S3C	0.80	0.50		1.90	0.10	12.80	11.70	7.00	21.00	21.00	8.40
gennem	0.80	0.53		2.00	0.13	13.87	10.33	7.23	21.40	21.40	9.03
stdev	0.20	0.15		0.56	0.06	4.30	2.28	1.56	5.11	5.11	2.03
2S4A	0.70	0.40		1.10	0.10	9.40	5.90	5.50	15.20	16.40	6.90
2S4B	0.70	0.40		1.90	0.10	14.20	13.00	7.40	20.20	20.20	8.50
2S4C	0.50	0.40		1.00	0.10	7.20	5.40	4.90	13.10	13.10	5.50
gennem	0.63	0.40		1.33	0.10	10.27	8.10	5.93	16.17	16.57	6.97
stdev	0.12	0.00		0.49	0.00	3.58	4.25	1.31	3.65	3.55	1.50
2S5A	0.20	0.10		0.60	0.00	4.40	3.50	2.40	6.90	7.20	2.90
2S5B	0.50	0.40		1.40	0.10	10.10	8.10	5.10	14.80	15.20	6.00
2S5C	0.50	0.20		1.10	0.10	7.50	5.00	3.10	9.60	9.70	3.60
gennem	0.40	0.23		1.03	0.07	7.33	5.53	3.53	10.43	10.70	4.17
stdev	0.17	0.15		0.40	0.06	2.85	2.35	1.40	4.02	4.09	1.63
2S6A	0.50	0.20		0.90	0.10	6.10	7.30	3.40	9.20	9.60	3.90
2S6B	0.90	0.70		2.20	0.20	14.20	7.30	4.70	15.40	15.40	5.00
2S6C	0.40	0.20		0.70	0.10	5.70	4.00	2.70	8.80	8.90	2.70
gennem	0.60	0.37		1.27	0.13	8.67	6.20	3.60	11.13	11.30	3.87
stdev	0.26	0.29		0.81	0.06	4.80	1.91	1.01	3.70	3.57	1.15
Prve	Naphta	Me-naph		Fluoren	Acenaph	Phenant	Antrac	Chrysen	Fluoran	Pyren	Benz(a)
2S7A	0.70	0.50		2.00	0.10	14.60	10.10	7.00	21.10	21.10	8.80
2S7B	0.50	0.20		0.80	0.10	6.30	4.50	3.00	9.80	10.00	3.40
2S7C	0.50	0.20		0.90	0.10	8.00	5.40	5.10	14.50	15.10	6.70
gennem	0.57	0.30		1.23	0.10	9.63	6.67	5.03	15.13	15.40	6.30
stdev	0.12	0.17		0.67	0.00	4.38	3.01	2.00	5.68	5.56	2.72
2S8A	0.90	0.50		1.40	0.10	11.00	7.60	6.50	19.10	19.90	8.00
2S8B	0.70	0.30		1.50	0.10	12.00	8.00	5.90	19.00	19.50	7.80
2S8C	0.70	0.00		1.20	0.10	8.70	6.10	5.10	14.80	15.30	6.10
gennem	0.77	0.27		1.37	0.10	10.57	7.23	5.83	17.63	18.23	7.30
stdev	0.12	0.25		0.15	0.00	1.69	1.00	0.70	2.45	2.55	1.04
2S9A	0.90	0.50		1.40	0.10	13.60	9.90	6.90	21.20	21.90	7.80
2S9B	0.60	0.40		1.70	0.10	13.50	8.70	5.60	18.80	21.60	9.00
2S9C	0.80	0.40		2.40	0.20	17.10	12.10	7.70	22.90	23.60	9.20
gennem	0.77	0.43		1.83	0.13	14.73	10.23	6.73	20.97	22.37	8.67
stdev	0.15	0.06		0.51	0.06	2.05	1.72	1.06	2.06	1.08	0.76
2S10A	0.70	0.40		1.50	0.10	11.10	7.30	5.90	16.90	17.60	6.90
2S10B	0.50	0.40		1.20	0.10	8.20	7.90	4.50	12.70	13.30	5.40
2S10C	0.60	0.20		1.10	0.10	8.20	7.40	5.10	12.90	13.40	5.70
gennem	0.60	0.33		1.27	0.10	9.17	7.53	5.17	14.17	14.77	6.00
stdev	0.10	0.12		0.21	0.00	1.67	0.32	0.70	2.37	2.45	0.79
2S11A	0.90	0.40		1.30	0.10	8.70	5.40	4.10	12.30	12.80	4.90
2S11B	0.60	0.30		1.20	0.10	8.90	8.00	4.80	13.50	13.80	3.50
2S11C	0.40	0.20		0.90	0.10	7.30	5.90	4.00	11.00	11.10	4.80
gennem	0.63	0.30		1.13	0.10	8.30	6.43	4.30	12.27	12.57	4.40
stdev	0.25	0.10		0.21	0.00	0.87	1.38	0.44	1.25	1.37	0.78
2S12A	0.50	0.20		0.80	0.10	6.10	4.70	5.30	11.20	11.80	5.00
2S12B	0.70	0.50		1.80	0.10	11.20	7.40	5.70	15.60	16.40	6.70
2S12C	0.50	0.20		1.10	0.10	7.80	5.90	3.30	9.90	9.90	4.80
gennem	0.57	0.30		1.23	0.10	8.37	6.00	4.77	12.23	12.70	5.50
stdev	0.12	0.17		0.51	0.00	2.60	1.35	1.29	2.99	3.34	1.04

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg											
Prøve	Naphta	Me-naph	Dimenaph	Fluoren	Acenaph	Phenant	Antrac	Chrysen	Fluoran	Pyren	Benz(a)
3S1A	0.60	0.30	0.50	0.90	0.10	8.50	5.70	9.50	17.00	17.00	6.70
3S1B	0.60	0.40	0.70	0.80	0.10	9.00	5.30	10.50	16.40	16.60	7.50
3S1C	0.60	0.50	0.80	1.50	0.10	12.50	9.70	9.60	19.00	18.70	6.60
gennem	0.60	0.40	0.67	1.07	0.10	10.00	6.90	9.87	17.47	17.43	6.93
stdev	0.00	0.10	0.15	0.38	0.00	2.18	2.43	0.55	1.36	1.12	0.49
3S2A	0.40	0.20	0.40	0.60	0.10	5.90	4.10	6.10	9.90	9.90	3.70
3S2B	1.30	0.60	0.90	1.80	0.10	12.70	10.60	10.90	21.50	21.20	6.90
3S2C	0.40	0.20	0.60	0.60	0.10	6.30	3.50	6.80	12.10	12.20	4.60
gennem	0.70	0.33	0.63	1.00	0.10	8.30	6.07	7.93	14.50	14.43	5.07
stdev	0.52	0.23	0.25	0.69	0.00	3.82	3.94	2.59	6.16	5.97	1.65
3S3A	1.00	0.30	0.40	0.60	0.10	6.50	3.10	5.50	11.10	11.10	4.00
3S3B	0.40	0.30	0.50	0.90	0.10	8.20	4.90	7.90	14.10	13.90	4.40
gennem	0.70	0.30	0.45	0.75	0.10	7.35	4.00	6.70	12.60	12.50	4.20
stdev	0.42	0.00	0.07	0.21	0.00	1.20	1.27	1.70	2.12	1.98	0.28
3S4A	0.50	1.00	0.50	0.70	0.10	6.20	5.80	7.50	12.10	12.40	4.80
3S4B	0.90	0.30	0.30	3.00	0.20	22.30	21.10	19.50	32.30	32.40	11.30
3S4C	0.60	0.70	1.20	0.80	0.10	7.00	4.90	7.20	12.80	12.90	6.40
gennem	0.67	0.67	0.67	1.50	0.13	11.83	10.60	11.40	19.07	19.23	7.50
stdev	0.21	0.35	0.47	1.30	0.06	9.07	9.10	7.02	11.47	11.41	3.39
3S5A	0.40	0.40	0.60	0.70	0.00	5.60	3.60	5.00	8.80	8.80	3.00
3S5B	0.40	0.20	0.40	0.60	0.10	5.50	4.40	6.90	10.50	10.70	4.50
3S5C	0.40	0.20	0.40	0.70	0.10	5.80	3.30	6.90	11.10	11.30	5.70
gennem	0.40	0.27	0.47	0.67	0.07	5.63	3.77	6.27	10.13	10.27	4.40
stdev	0.00	0.12	0.12	0.06	0.06	0.15	0.57	1.10	1.19	1.31	1.35
3S6A	0.70	0.30	0.40	1.40	0.10	9.70	8.00	12.70	17.50	17.60	7.60
3S6B	0.80	0.60	0.80	1.10	0.10	8.50	5.00	6.80	11.70	11.80	5.00
3S6C	1.40	0.60	0.60	1.80	0.10	12.40	6.60	10.70	16.90	16.80	5.80
gennem	0.97	0.50	0.60	1.43	0.10	10.20	6.53	10.07	15.37	15.40	6.13
stdev	0.38	0.17	0.20	0.35	0.00	2.00	1.50	3.00	3.19	3.14	1.33
Prøve	Naphta	Me-naph	Dimenaph	Fluoren	Acenaph	Phenant	Antrac	Chrysen	Fluoran	Pyren	Benz(a)
3S7A	2.50	1.30	1.20	2.30	0.40	21.00	9.40	13.30	29.60	29.00	9.20
3S7B	0.70	1.30	1.00	1.00	0.10	9.80	7.50	10.80	18.90	18.70	8.90
3S7C	0.60	0.40	0.60	0.90	0.10	9.00	5.10	9.10	18.30	18.30	5.70
gennem	1.27	1.00	0.93	1.40	0.20	13.27	7.33	11.07	22.27	22.00	7.93
stdev	1.07	0.52	0.31	0.78	0.17	6.71	2.15	2.11	6.36	6.07	1.94
3S8A	0.80	0.30	0.40	1.20	0.10	11.60	7.40	11.50	21.60	21.40	9.10
3S8B	1.20	0.40	0.70	2.50	0.20	18.80	10.60	17.10	29.60	29.40	10.20
3S8C	0.90	0.90	1.30	2.00	0.10	13.80	8.70	10.30	20.90	20.50	6.80
gennem	0.97	0.53	0.80	1.90	0.13	14.73	8.90	12.97	24.03	23.77	8.70
stdev	0.21	0.32	0.46	0.66	0.06	3.69	1.61	3.63	4.83	4.90	1.73
3S9A	0.60	0.50	0.90	1.20	0.10	10.90	9.00	10.00	19.10	18.60	8.50
3S9B	0.90	0.40	0.60	1.60	0.20	13.40	8.50	13.20	24.90	25.20	8.10
3S9C	0.60	0.50	0.90	1.20	0.10	8.90	5.80	7.90	15.00	15.30	5.90
gennem	0.70	0.47	0.80	1.33	0.13	11.07	7.77	10.37	19.67	19.70	7.50
stdev	0.17	0.06	0.17	0.23	0.06	2.25	1.72	2.67	4.97	5.04	1.40
3S10A	0.80	0.40	0.50	2.40	0.40	20.50	9.80	13.90	27.70	26.60	8.30
3S10B	0.80	0.70	0.80	2.30	0.20	16.60	8.40	11.60	24.30	23.70	8.10
3S10C	1.20	0.60	1.00	2.00	0.20	14.90	9.20	9.40	19.90	19.40	7.50
gennem	0.93	0.57	0.77	2.23	0.27	17.33	9.13	11.63	23.97	23.23	7.97
stdev	0.23	0.15	0.25	0.21	0.12	2.87	0.70	2.25	3.91	3.62	0.42
3S11A	0.70	1.00	0.90	1.70	0.20	11.90	5.50	7.00	15.30	15.20	3.90
3S11B	0.70	0.70	1.00	0.80	0.10	6.60	5.80	7.40	12.20	12.40	5.10
3S11C	0.40	0.30	0.40	0.70	0.10	6.60	4.50	9.20	13.10	13.20	5.90
gennem	0.60	0.67	0.77	1.07	0.13	8.37	5.27	7.87	13.53	13.60	4.97
stdev	0.17	0.35	0.32	0.55	0.06	3.06	0.68	1.17	1.59	1.44	1.01
3S12A	0.40	0.20	0.40	0.50	0.10	5.10	3.00	6.00	9.30	9.30	3.70
3S12B	0.30	0.20	0.20	0.50	0.10	5.10	2.60	6.30	10.20	10.70	5.60
3S12C	0.30	0.20	0.20	0.50	0.10	4.50	3.30	4.00	7.50	7.50	2.50
gennem	0.33	0.20	0.27	0.50	0.10	4.90	2.97	5.43	9.00	9.17	3.93
stdev	0.06	0.00	0.12	0.00	0.00	0.35	0.35	1.25	1.37	1.60	1.56

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg												
PAH-konc i mg/kg TS												
PRØVE MRK.	Naphtalen	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr	
4S1A	0.50	0.14	0.70	0.80	0.10	6.50	5.00	5.48	13.50	10.60	4.90	
4S1B	0.40	0.10	0.50	0.90	0.10	8.10	3.80	5.40	15.20	11.50	5.10	
4S1C	0.70	0.20	1.00	1.80	0.20	13.70	6.80	7.73	21.80	16.00	6.90	
Average	0.53	0.15	0.73	1.17	0.13	9.43	5.20	6.20	16.83	12.70	5.63	
Stdev	0.15	0.05	0.25	0.55	0.06	3.78	1.51	1.32	4.38	2.89	1.10	
4S2A	1.00	0.40	1.60	3.10	0.30	20.00	13.00	10.88	28.00	21.00	10.50	
4S2B	0.50	0.10	0.60	1.00	0.10	7.50	4.40	5.85	15.30	11.10	5.20	
4S2C	0.70	0.20	0.90	1.60	0.20	11.60	10.80	8.40	21.00	15.70	7.50	
Average	0.73	0.23	1.03	1.90	0.20	13.03	9.40	8.38	21.43	15.93	7.73	
Stdev	0.25	0.15	0.51	1.08	0.10	6.37	4.47	2.51	6.36	4.95	2.66	
4S3A	1.20	0.30	1.00	1.70	0.20	11.30	8.60	8.93	21.70	16.10	8.50	
4S3B	2.40	1.00	2.50	4.30	0.50	25.00	11.60	12.38	34.00	25.00	11.20	
4S3C	0.80	0.30	1.00	1.70	0.30	10.70	8.80	9.68	22.00	16.00	9.70	
Average	1.47	0.53	1.50	2.57	0.33	15.67	9.67	10.33	25.90	19.03	9.80	
Stdev	0.83	0.40	0.87	1.50	0.15	8.09	1.68	1.81	7.02	5.17	1.35	
4S4A	0.60	0.10	0.70	0.90	0.10	6.80	4.00	6.60	16.60	12.30	6.10	
4S4B	0.80	0.40	1.40	2.30	0.30	15.60	8.10	10.20	26.00	19.00	13.60	
4S4C	0.70	0.20	0.90	1.60	0.20	11.00	6.80	8.48	20.00	15.00	8.20	
Average	0.70	0.23	1.00	1.60	0.20	11.13	6.30	8.43	20.87	15.43	9.30	
Stdev	0.10	0.15	0.36	0.70	0.10	4.40	2.10	1.80	4.76	3.37	3.87	
4S5A	0.30	0.10	0.40	0.60	0.10	4.80	3.30	3.83	8.80	6.70	3.00	
4S5B	0.80	0.30	1.00	2.00	0.20	11.30	7.50	7.13	17.00	12.00	5.20	
4S5C	0.40	0.10	0.40	0.60	0.10	4.40	3.00	5.03	11.10	8.30	4.70	
Average	0.50	0.17	0.60	1.07	0.13	6.83	4.60	5.33	12.30	9.00	4.30	
Stdev	0.26	0.12	0.35	0.81	0.06	3.87	2.52	1.67	4.23	2.72	1.15	
4S6A	0.50	0.10	0.60	0.90	0.10	7.40	4.00	5.85	14.00	10.00	5.50	
4S6B	0.40	0.10	0.50	0.70	0.10	5.90	2.60	4.20	10.60	7.80	3.70	
4S6C	1.20	0.30	0.90	1.60	0.20	10.00	5.60	7.20	16.90	12.90	6.60	
Average	0.70	0.17	0.67	1.07	0.13	7.77	4.07	5.75	13.83	10.23	5.27	
Stdev	0.44	0.12	0.21	0.47	0.06	2.07	1.50	1.50	3.15	2.56	1.46	
4S7A	0.70	0.20	0.80	1.50	0.20	10.20	5.70	8.63	20.40	15.40	8.60	
4S7B	0.60	0.20	0.60	1.10	0.10	8.30	3.70	7.05	17.60	13.20	6.40	
4S7C	0.60	0.20	0.80	1.70	0.20	10.00	12.00	7.20	17.00	13.00	6.30	
Average	0.63	0.20	0.73	1.43	0.17	9.50	7.13	7.63	18.33	13.87	7.10	
Stdev	0.06	0.00	0.12	0.31	0.06	1.04	4.33	0.87	1.81	1.33	1.30	
4S8A	0.80	0.20	0.70	1.20	0.20	9.30	5.00	7.80	19.70	14.70	7.20	
4S8B	0.60	0.20	1.00	1.80	0.20	11.10	8.00	8.78	20.70	15.40	8.20	
4S8C	0.70	0.20	0.90	1.60	0.20	11.60	6.90	10.28	23.70	17.70	9.50	
Average	0.70	0.20	0.87	1.53	0.20	10.67	6.63	8.95	21.37	15.93	8.30	
Stdev	0.10	0.00	0.15	0.31	0.00	1.21	1.52	1.25	2.08	1.57	1.15	
4S9A	0.60	0.10	0.60	1.10	0.10	8.20	8.00	7.28	19.00	14.00	6.50	
4S9B	0.50	0.20	0.80	1.60	0.10	9.70	7.90	8.25	18.00	13.70	8.50	
4S9C	0.50	0.20	0.80	1.20	0.10	8.80	3.90	6.90	16.00	12.00	6.60	
Average	0.53	0.17	0.73	1.30	0.10	8.90	6.60	7.48	17.67	13.23	7.20	
Stdev	0.06	0.06	0.12	0.26	0.00	0.75	2.34	0.70	1.53	1.08	1.13	
4S10A	0.40	0.10	0.60	1.00	0.10	7.30	4.20	6.53	16.00	12.00	6.30	
4S10B	0.40	0.10	0.60	1.00	0.10	8.10	4.80	7.65	17.00	13.00	7.80	
4S10C	0.50	0.10	0.60	0.90	0.20	7.30	5.80	6.90	16.50	12.30	6.40	
Average	0.43	0.10	0.60	0.97	0.13	7.57	4.93	7.03	16.50	12.43	6.83	
Stdev	0.06	0.00	0.00	0.06	0.06	0.46	0.81	0.57	0.50	0.51	0.84	
4S11A	0.40	0.10	0.50	0.70	0.10	5.60	3.20	6.45	13.00	9.60	6.60	
4S11B	0.60	0.20	0.80	1.30	0.20	7.80	5.00	6.00	14.40	10.90	5.30	
4S11C	0.40	0.10	0.30	0.70	0.10	4.90	2.80	5.85	11.90	9.00	5.80	
Average	0.47	0.13	0.53	0.90	0.13	6.10	3.67	6.10	13.10	9.83	5.90	
Stdev	0.12	0.06	0.25	0.35	0.06	1.51	1.17	0.31	1.25	0.97	0.66	
4S12A	0.40	0.10	0.40	0.80	0.10	6.00	3.60	5.48	12.30	9.00	4.40	
4S12B	0.80	0.60	2.20	4.30	0.40	20.80	9.80	11.25	30.00	22.00	9.80	
4S12C	0.80	0.20	0.80	1.40	0.60	10.50	5.70	7.95	18.00	13.80	7.20	
Average	0.67	0.30	1.13	2.17	0.37	12.43	6.37	8.23	20.10	14.93	7.13	
Stdev	0.23	0.26	0.95	1.87	0.25	7.59	3.15	2.90	9.03	6.57	2.70	

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg											
PAH-konc i mg/kg TS											
PRØVE MRK.	Naphtalen	1-me-naph	Dimet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr
5S1A	0.24	0.12	0.24	0.73	0.00	3.40	1.82	3.16	6.68	4.37	2.43
5S1B	0.60	0.12	0.48	1.32	0.12	6.71	2.88	5.99	13.78	9.23	4.55
5S1C	0.61	0.24	0.37	1.22	0.12	4.63	2.07	2.56	6.09	4.14	1.95
Average	0.48	0.16	0.36	1.09	0.08	4.91	2.26	3.90	8.85	5.91	2.98
Stdev	0.21	0.07	0.12	0.32	0.07	1.67	0.55	1.83	4.28	2.87	1.39
5S2A	0.48	0.12	0.36	0.84	0.12	5.04	2.40	4.92	10.07	6.71	3.84
5S2B	0.84	0.36	1.08	3.97	0.24	14.81	11.44	10.84	22.88	14.93	6.86
5S2C	0.60	0.12	0.36	1.07	0.12	7.17	3.58	8.96	18.15	12.66	7.52
Average	0.64	0.20	0.60	1.96	0.16	9.00	5.81	8.24	17.03	11.44	6.07
Stdev	0.19	0.14	0.42	1.75	0.07	5.14	4.91	3.03	6.48	4.24	1.97
5S3A	0.12	0.00	0.12	0.37	0.00	2.08	1.22	1.95	3.78	2.56	1.47
5S3B	0.96	0.36	0.84	3.48	0.60	14.15	6.72	9.84	21.11	13.91	7.32
5S3C	0.73	0.36	0.85	4.38	0.24	14.47	6.81	7.42	18.73	11.92	5.59
Average	0.60	0.24	0.60	2.74	0.28	10.23	4.92	6.40	14.54	9.47	4.79
Stdev	0.43	0.21	0.42	2.11	0.30	7.07	3.20	4.04	9.39	6.06	3.01
5S4A	0.49	0.12	0.37	0.98	0.12	4.89	2.32	3.79	8.68	5.87	2.81
5S4B	0.36	0.12	0.24	0.96	0.12	4.92	2.40	4.44	9.85	6.73	3.24
5S4C	0.72	0.12	0.24	0.84	0.12	3.50	2.89	3.86	7.48	5.06	2.89
Average	0.52	0.12	0.28	0.93	0.12	4.44	2.54	4.03	8.67	5.89	2.98
Stdev	0.18	0.00	0.07	0.07	0.00	0.81	0.31	0.36	1.19	0.83	0.23
5S5A	0.24	0.00	0.24	0.73	0.00	3.31	1.71	3.31	7.23	4.90	2.33
5S5B	0.12	0.00	0.12	0.25	0.00	0.98	0.49	1.23	2.34	1.60	0.86
5S5C	0.12	0.00	0.00	0.12	0.00	0.98	0.73	1.22	2.07	1.46	0.85
Average	0.16	0.00	0.12	0.37	0.00	1.76	0.98	1.92	3.88	2.65	1.35
Stdev	0.07	0.00	0.12	0.32	0.00	1.34	0.65	1.20	2.90	1.95	0.85
5S6A	2.32	0.73	1.10	4.39	0.24	15.11	6.34	8.41	19.62	13.04	5.85
5S6B	0.24	0.00	0.12	0.24	0.00	1.83	0.85	2.07	3.78	2.68	1.58
5S6C	0.24	0.00	0.12	0.37	0.00	2.20	1.34	2.20	4.15	2.81	1.47
Average	0.93	0.24	0.45	1.67	0.08	6.38	2.84	4.23	9.18	6.18	2.97
Stdev	1.20	0.42	0.56	2.36	0.14	7.57	3.04	3.62	9.04	5.95	2.50
5S7A	0.12	0.00	0.12	0.24	0.00	1.45	1.45	2.05	3.62	2.41	1.33
5S7B	0.11	0.00	0.00	0.11	0.00	1.29	0.76	1.51	3.24	2.16	0.97
5S7C	0.24	0.12	0.12	0.49	0.00	2.81	1.71	2.56	5.49	3.78	1.83
Average	0.16	0.04	0.08	0.28	0.00	1.85	1.30	2.04	4.12	2.79	1.38
Stdev	0.08	0.07	0.07	0.19	0.00	0.83	0.49	0.53	1.21	0.87	0.43
5S8A	0.36	0.12	0.24	1.09	0.00	4.62	4.01	3.77	7.78	5.23	2.55
5S8B	1.32	0.36	0.96	3.12	0.12	13.46	9.61	11.06	24.04	16.22	8.05
5S8C	0.48	0.12	0.24	0.84	0.12	5.06	2.17	5.42	11.32	7.83	4.34
Average	0.72	0.20	0.48	1.69	0.08	7.71	5.27	6.75	14.38	9.76	4.98
Stdev	0.52	0.14	0.42	1.25	0.07	4.98	3.88	3.82	8.55	5.75	2.81
5S9A	0.24	0.00	0.12	0.37	0.00	3.05	1.58	3.65	6.94	4.87	2.68
5S9B	0.48	0.12	0.48	1.21	0.12	6.40	2.78	6.28	13.03	9.17	5.07
5S9C	1.21	0.24	0.61	2.90	0.12	15.49	9.68	10.29	24.20	16.09	7.50
Average	0.65	0.12	0.40	1.49	0.08	8.31	4.68	6.74	14.73	10.05	5.08
Stdev	0.50	0.12	0.25	1.29	0.07	6.44	4.37	3.34	8.75	5.66	2.41
5S10A	0.72	0.12	0.36	1.08	0.12	5.28	3.60	5.16	10.45	7.20	3.96
5S10B	0.24	0.12	0.24	0.73	0.00	3.76	1.70	4.36	8.24	5.94	3.52
5S10C	0.48	0.12	0.24	0.48	0.00	3.51	1.82	3.88	7.15	4.85	2.79
Average	0.48	0.12	0.28	0.76	0.04	4.19	2.37	4.47	8.61	6.00	3.42
Stdev	0.24	0.00	0.07	0.30	0.07	0.96	1.07	0.65	1.68	1.18	0.59
5S11A	0.24	0.12	0.24	0.72	0.00	4.10	1.93	3.86	8.45	5.67	2.53
5S11B	0.24	0.00	0.12	0.24	0.00	1.70	0.97	2.43	4.62	3.28	1.70
5S11C	0.12	0.00	0.12	0.12	0.00	0.98	0.73	1.71	2.94	2.08	1.10
Average	0.20	0.04	0.16	0.36	0.00	2.26	1.21	2.67	5.33	3.68	1.78
Stdev	0.07	0.07	0.07	0.32	0.00	1.63	0.63	1.09	2.82	1.83	0.72
5S12A	0.36	0.12	0.24	0.48	0.00	2.41	1.57	4.46	8.33	5.79	3.14
5S12B	0.24	0.00	0.12	0.36	0.00	2.17	0.84	2.41	4.82	3.38	1.57
5S12C	0.84	0.36	0.96	3.73	0.24	14.44	9.63	9.87	21.06	13.84	6.62
Average	0.48	0.16	0.44	1.53	0.08	6.34	4.01	5.58	11.40	7.67	3.77
Stdev	0.32	0.18	0.46	1.91	0.14	7.02	4.88	3.85	8.55	5.48	2.59

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg												
PAH-konc i mg/kg TS												
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	imet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr
6S1A	0.10	0.00	0.00	0.10	0.30	0.00	1.50	0.60	2.10	2.80	2.70	2.10
6S1B	0.40	0.20	0.10	0.40	2.20	0.10	9.20	3.60	6.50	12.60	10.80	4.40
6S1C	0.70	0.20	0.20	0.30	1.30	0.10	6.70	3.80	5.50	10.50	8.50	4.80
Average	0.40	0.13	0.10	0.27	1.27	0.07	5.80	2.67	4.70	8.63	7.33	3.77
Stdev	0.30	0.12	0.10	0.15	0.95	0.06	3.93	1.79	2.31	5.16	4.17	1.46
6S2A	0.70	0.30	0.20	0.30	1.60	0.10	6.70	3.90	7.20	10.90	9.90	7.00
6S2B	0.30	0.10	0.10	0.30	1.30	0.10	5.40	2.30	4.70	9.30	7.10	3.00
6S2C	0.50	0.10	1.00	0.30	1.10	0.90	5.40	2.20	5.60	10.20	8.90	4.20
Average	0.50	0.17	0.43	0.30	1.33	0.37	5.83	2.80	5.83	10.13	8.63	4.73
Stdev	0.20	0.12	0.49	0.00	0.25	0.46	0.75	0.95	1.27	0.80	1.42	2.05
6S3A	2.40	0.60	0.50	0.80	4.90	0.30	18.20	7.50	12.30	25.30	21.10	8.20
6S3B	0.30	0.10	0.10	0.20	1.00	0.10	6.30	2.80	6.40	10.80	9.70	4.60
6S3C	0.30	0.10	0.00	0.10	0.40	0.00	2.30	1.40	2.80	5.20	4.40	1.80
Average	1.00	0.27	0.20	0.37	2.10	0.13	8.93	3.90	7.17	13.77	11.73	4.87
Stdev	1.21	0.29	0.26	0.38	2.44	0.15	8.27	3.20	4.80	10.37	8.53	3.21
6S4A	0.60	0.20	0.10	0.40	2.40	0.10	8.30	8.30	8.00	13.50	12.10	5.70
6S4B	0.20	0.00	0.00	0.10	0.30	0.00	1.90	0.90	1.70	4.30	3.10	1.20
6S4C	0.70	0.20	0.20	0.50	2.40	0.20	10.60	4.40	6.20	14.40	11.40	3.40
Average	0.50	0.13	0.10	0.33	1.70	0.10	6.93	4.53	5.30	10.73	8.87	3.43
Stdev	0.26	0.12	0.10	0.21	1.21	0.10	4.51	3.70	3.24	5.59	5.01	2.25
6S5A	0.40	0.10	0.10	0.20	0.60	0.00	3.40	1.50	3.20	6.40	5.30	1.40
6S5B	0.40	0.20	0.10	0.30	1.50	0.80	6.60	4.10	4.00	9.00	6.80	1.80
6S5C	0.40	0.10	0.10	0.40	1.40	0.20	5.90	2.50	4.20	9.60	8.00	2.00
Average	0.40	0.13	0.10	0.30	1.17	0.33	5.30	2.70	3.80	8.33	6.70	1.73
Stdev	0.00	0.06	0.00	0.10	0.49	0.42	1.68	1.31	0.53	1.70	1.35	0.31
6S6A	0.70	0.20	0.10	0.20	1.30	0.10	7.70	3.40	11.60	19.70	15.00	8.30
6S6B	0.50	0.10	0.10	0.20	1.00	0.10	4.70	2.70	5.70	8.30	7.40	3.00
6S6C	0.40	0.10	0.10	0.10	0.60	0.10	4.40	1.80	4.20	7.00	6.40	3.10
Average	0.53	0.13	0.10	0.17	0.97	0.10	5.60	2.63	7.17	11.67	9.60	4.80
Stdev	0.15	0.06	0.00	0.06	0.35	0.00	1.82	0.80	3.91	6.99	4.70	3.03
6S7A	2.20	1.30	0.90	0.80	5.20	0.20	14.50	10.10	5.90	11.20	9.60	3.30
6S7B	0.90	0.50	0.40	0.60	3.10	0.20	11.20	4.80	5.10	11.30	10.40	3.00
6S7C	1.00	0.40	0.30	0.70	3.30	0.20	15.90	5.80	8.90	19.80	18.00	4.90
Average	1.37	0.73	0.53	0.70	3.87	0.20	13.87	6.90	6.63	14.10	12.67	3.73
Stdev	0.72	0.49	0.32	0.10	1.16	0.00	2.41	2.82	2.00	4.94	4.64	1.02
6S8A	0.50	0.20	0.10	0.20	1.00	0.10	5.70	2.70	5.20	11.20	8.40	3.30
6S8B	0.30	0.10	0.00	0.20	1.10	0.10	5.30	2.10	2.70	6.90	6.30	1.60
6S8C	0.30	0.10	0.10	0.10	0.60	0.10	3.40	1.90	3.40	8.00	5.80	1.90
Average	0.37	0.13	0.07	0.17	0.90	0.10	4.80	2.23	3.77	8.70	6.83	2.27
Stdev	0.12	0.06	0.06	0.06	0.26	0.00	1.23	0.42	1.29	2.23	1.38	0.91
6S9A	0.20	0.10	0.00	0.10	0.50	0.00	3.90	1.60	4.00	8.60	6.40	2.40
6S9B	0.90	0.20	0.20	0.30	1.40	0.10	8.30	3.30	6.60	13.60	10.60	4.00
6S9C	0.20	0.00	0.00	0.10	0.50	0.00	3.10	1.10	2.70	5.80	4.50	1.70
Average	0.43	0.10	0.07	0.17	0.80	0.03	5.10	2.00	4.43	9.33	7.17	2.70
Stdev	0.40	0.10	0.12	0.12	0.52	0.06	2.80	1.15	1.99	3.95	3.12	1.18
6S10A	0.30	0.10	0.10	0.20	0.80	0.10	4.90	2.50	3.80	9.50	7.40	2.50
6S10B	0.70	0.20	0.10	0.30	1.20	0.10	7.10	3.40	8.20	14.90	12.90	4.90
6S10C	0.20	0.10	0.00	0.10	0.50	0.00	3.50	2.60	3.90	7.70	6.20	2.70
Average	0.40	0.13	0.07	0.20	0.83	0.07	5.17	2.83	5.30	10.70	8.83	3.37
Stdev	0.26	0.06	0.06	0.10	0.35	0.06	1.81	0.49	2.51	3.75	3.57	1.33
6S11A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.60	0.50	1.30	2.40	1.80	0.70
6S11B	0.10	0.00	0.00	0.10	0.40	0.00	2.80	1.80	1.90	4.60	3.40	1.00
6S11C	0.20	0.00	0.00	0.20	0.10	0.00	1.50	1.10	1.80	4.60	3.10	1.00
Average	0.13	0.00	0.00	0.10	0.20	0.00	1.63	1.13	1.67	3.87	2.77	0.90
Stdev	0.06	0.00	0.00	0.10	0.17	0.00	1.11	0.65	0.32	1.27	0.85	0.17
6S12A	0.30	0.80	0.10	0.10	0.50	0.00	4.40	2.60	4.50	10.80	7.90	2.30
6S12B	0.10	0.00	0.00	0.10	0.20	0.00	2.00	0.90	1.90	4.70	3.10	1.40
6S12C	0.20	0.10	0.00	0.10	0.30	0.00	2.60	1.10	2.40	5.70	3.90	1.20
Average	0.20	0.30	0.03	0.10	0.33	0.00	3.00	1.53	2.93	7.07	4.97	1.63
Stdev	0.10	0.44	0.06	0.00	0.15	0.00	1.25	0.93	1.38	3.27	2.57	0.59

Appendiks 2.2

PAH-resultater fra AJL - mikrokosmosforsøg												
PAH-konc i mg/kg TS												
PRØVE MRK.	Naphtalen	2-me-naph	1-me-naph	imet-naph	Fluoren	Acenapht	Phenant	Antracen	Chrysen	Fluorant	Pyren	Benz(a)pyr
7S1A	0.20	0.10	0.00	0.10	0.50	0.00	2.60	1.30	1.90	4.50	3.30	2.10
7S1B	0.10	0.10	0.00	0.10	0.90	0.00	3.30	2.20	3.70	6.20	4.50	4.50
7S1C	0.10	0.10	0.00	0.10	0.40	0.00	2.70	1.30	2.30	5.80	4.30	2.70
average	0.13	0.10	0.00	0.10	0.60	0.00	2.87	1.60	2.63	5.50	4.03	3.10
stdev	0.06	0.00	0.00	0.00	0.26	0.00	0.38	0.52	0.95	0.89	0.64	1.25
7S2A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	1.30	0.70	1.40	3.20	2.40	0.80
7S2B	0.10	0.10	0.00	0.10	0.50	0.00	3.40	1.60	3.30	7.20	5.30	2.70
7S2C	0.40	0.30	0.80	0.10	0.80	0.00	3.80	2.20	2.20	5.90	4.20	2.40
average	0.20	0.13	0.27	0.07	0.50	0.00	2.83	1.50	2.30	5.43	3.97	1.97
stdev	0.17	0.15	0.46	0.06	0.30	0.00	1.34	0.75	0.95	2.04	1.46	1.02
7S3A	0.20	0.10	0.00	0.10	0.50	0.00	2.80	1.40	3.60	6.50	4.90	4.30
7S3B	0.30	0.10	0.10	0.10	0.80	0.10	4.70	3.00	3.40	8.90	6.60	3.30
7S3C	0.20	0.10	0.00	0.10	0.60	0.00	3.70	1.80	2.70	6.80	4.90	2.70
average	0.23	0.10	0.03	0.10	0.63	0.03	3.73	2.07	3.23	7.40	5.47	3.43
stdev	0.06	0.00	0.06	0.00	0.15	0.06	0.95	0.83	0.47	1.31	0.98	0.81
7S4A	0.70	0.20	0.10	0.20	0.70	0.20	4.20	1.50	2.10	6.40	4.90	2.00
7S4B	0.40	0.30	0.10	0.30	1.30	0.10	5.80	1.90	3.90	9.20	6.70	4.30
7S4C	0.10	0.00	0.00	0.10	0.20	0.00	1.80	1.00	1.90	4.00	3.00	1.70
average	0.40	0.17	0.07	0.20	0.73	0.10	3.93	1.47	2.63	6.53	4.87	2.67
stdev	0.30	0.15	0.06	0.10	0.55	0.10	2.01	0.45	1.10	2.60	1.85	1.42
7S5A	0.20	0.20	0.10	0.10	0.70	0.10	3.60	1.80	2.10	5.10	3.70	2.10
7S5B	0.20	0.10	0.00	0.10	0.40	0.00	2.50	1.80	3.30	5.10	3.80	2.90
7S5C	0.10	0.00	0.00	0.00	0.30	0.00	1.70	0.90	1.30	3.20	2.30	0.74
average	0.17	0.10	0.03	0.07	0.47	0.03	2.60	1.50	2.23	4.47	3.27	1.91
stdev	0.06	0.10	0.06	0.06	0.21	0.06	0.95	0.52	1.01	1.10	0.84	1.09
7S6A	0.20	0.10	0.10	0.10	0.60	0.00	3.40	1.30	2.90	6.20	4.70	3.00
7S6B	0.20	0.10	0.00	0.10	0.40	0.00	2.70	1.30	2.10	5.40	4.10	1.80
7S6C	0.50	0.50	0.20	0.40	3.00	0.10	11.30	8.10	6.60	16.80	12.10	5.70
average	0.30	0.23	0.10	0.20	1.33	0.03	5.80	3.57	3.87	9.47	6.97	3.50
stdev	0.17	0.23	0.10	0.17	1.45	0.06	4.78	3.93	2.40	6.36	4.46	2.00
7S7A	0.10	0.10	0.00	0.00	0.30	0.00	1.80	1.00	2.10	4.70	3.40	1.90
7S7B	0.20	0.10	0.00	0.10	0.80	0.00	3.90	1.60	2.60	6.50	4.80	2.20
7S7C	0.10	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	1.10	0.40	1.00	2.40	1.80	0.60
average	0.13	0.07	0.00	0.03	0.40	0.00	2.27	1.00	1.90	4.53	3.33	1.57
stdev	0.06	0.06	0.00	0.06	0.36	0.00	1.46	0.60	0.82	2.06	1.50	0.85
7S8A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.20	0.00	1.70	0.80	1.70	4.00	3.00	0.90
7S8B	0.10	0.10	0.00	1.10	0.70	0.00	4.00	1.80	2.00	6.20	4.40	0.90
7S8C	0.10	0.10	0.00	0.10	0.30	0.00	2.40	1.50	1.80	4.70	3.30	0.90
average	0.10	0.07	0.00	0.40	0.40	0.00	2.70	1.37	1.83	4.97	3.57	0.90
stdev	0.00	0.06	0.00	0.61	0.26	0.00	1.18	0.51	0.15	1.12	0.74	0.00
7S9A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.90	0.50	0.80	1.90	1.50	0.40
7S9B	0.20	0.10	0.10	0.20	0.60	0.50	4.40	1.70	2.30	6.30	4.50	2.10
7S9C	0.10	0.10	0.00	0.10	0.30	0.00	2.30	1.00	1.40	4.20	3.10	0.90
average	0.13	0.07	0.03	0.10	0.33	0.17	2.53	1.07	1.50	4.13	3.03	1.13
stdev	0.06	0.06	0.06	0.10	0.25	0.29	1.76	0.60	0.75	2.20	1.50	0.87
7S10A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.90	0.50	1.20	2.40	1.90	0.50
7S10B	0.10	0.00	0.00	0.10	0.30	0.00	2.30	1.00	2.20	4.60	3.40	2.10
7S10C	0.10	0.00	0.00	0.10	0.20	0.00	1.70	0.90	1.30	3.30	2.50	0.70
average	0.10	0.00	0.00	0.07	0.20	0.00	1.63	0.80	1.57	3.43	2.60	1.10
stdev	0.00	0.00	0.00	0.06	0.10	0.00	0.70	0.26	0.55	1.11	0.75	0.87
7S11A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.80	0.40	1.20	2.50	2.00	0.60
7S11B	0.10	0.00	0.00	0.10	0.20	0.00	2.00	1.00	2.80	5.30	4.10	1.50
7S11C	0.20	0.10	0.10	0.10	0.90	0.00	5.10	2.30	3.00	7.50	5.40	2.30
average	0.13	0.03	0.03	0.07	0.40	0.00	2.63	1.23	2.33	5.10	3.83	1.47
stdev	0.06	0.06	0.06	0.06	0.44	0.00	2.22	0.97	0.99	2.51	1.72	0.85
7S12A	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.30	1.00	1.80	1.40	0.50
7S12B	0.10	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.80	0.40	1.00	2.10	1.60	0.30
7S12C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.50	0.30	1.60	2.10	1.70	0.90
average	0.07	0.00	0.00	0.00	0.07	0.00	0.57	0.33	1.20	2.00	1.57	0.57
stdev	0.06	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.21	0.06	0.35	0.17	0.15	0.31

Appendiks 2.3

Rådata fra AJL afleveret i ug/ml												
PAH-forbindelser opsamlet på TENAX.												
Et tomt felt betyder at konc. af stoffet ikke kunne detekteres. UD= under detektionsgrænsen < 0,1 ppm og <0,5 ppm for Pyr og BaP												
PRØVE MRK.	Nap	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Flu	Acenapht	Phe	Ant	Chr	FAn	Pyr	BaP
S1inda	15.7		1.9	0.8	0.3	0.1	0.8	0.2	0.4			
S1uda	0.4								0.6	0.2		
S1indb	0.9		0.1									
S1udb												
Totalt opsamlet	17.0	0.0	2.0	0.8	0.3	0.1	0.8	0.2	1.0	0.2		
S2inda prøve tabt												
S2uda	0.1								0.2			
S2indb	2.8	0.5	0.4	0.2		0.1	0.1					
S2udb												
Totalt opsamlet	2.9	0.5	0.4	0.2	0.0	0.1	0.1	0.0	0.2	0.0		
S3ind	1.8	1.6	1.2	1.9	0.4	1.4	1.1	0.5	0.1	0.1		
S3ud	0.6	0.1	0.1									
Totalt opsamlet	2.4	1.7	1.3	1.9	0.4	1.4	1.1	0.5	0.1	0.1		
S4ind	1.2	0.4	0.4	0.2	0.1	0.1						
S4ud												
Totalt opsamlet	1.2	0.4	0.4	0.2	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0		
S5ind	5.3	4.0	5.3	8.9	1.9	8.1	6.7	2.1	0.2	0.1		
S5ud	2.8	0.2	0.3									
Totalt opsamlet	8.1	4.2	5.6	8.9	1.9	8.1	6.7	2.1	0.2	0.1		
S6ind	3.5	1.8	2.3	0.5	0.5	2.0	1.6	0.5	0.1			
S6ud												
Totalt opsamlet	3.5	1.8	2.3	0.5	0.5	2.0	1.6	0.5	0.1	0.0		
S7inda	42.8		4.3	1.5	0.4	0.2	1.3	0.3	0.3			
S7uda	0.3								0.3			
S7indb	1.9	0.5	0.4	0.2		0.1						
S7udb												
Totalt opsamlet	45.0	0.5	4.7	1.7	0.4	0.3	1.3	0.3	0.6	0.0		
PAH-forbindelser opsamlet på TENAX.			Resultater fra AJL afleveret i ug/ml.									
Et tomt felt betyder at konc. af stoffet ikke kunne detekteres. UD= under detektionsgrænsen < 0,1 ppm og <0,5 ppm for Pyr og BaP												
PRØVE MRK.	aphtale	2-me-naph	1-me-naph	Dimet-naph	Fluore	Acenapht	Phe	Ant	Chr	FAn	Pyr	BaP
S8inda	9.8		1.1	0.4	0.1	0.1	0.4		0.3			
S8uda	0.1								0.3			
S8indb	11.3	2.5	1.9	1.2	0.2	0.7	0.8	0.1				
S8udb												
Totalt opsamlet	21.2	2.5	3.0	1.6	0.3	0.8	1.2	0.1	0.6	0.0		
S9inda	0.7		0.3	0.2								
S9uda									0.2			
S9indb *tabt tenax	0.3	0.3	0.2	0.4	0.1	0.1	0.1					
S9udb												
Totalt opsamlet	1.0	0.3	0.5	0.6	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.0		
S10ind	4.3	2.5	1.8	2.0	0.3	0.9	0.6	0.2	0.1	0.1		
S10ud	0.8											
Totalt opsamlet	5.1	2.5	1.8	2.0	0.3	0.9	0.6	0.2	0.1	0.1		
S11ind	5.0	4.9	6.9	9.5	2.1	7.1	3.9	1.7	0.6	0.3		
S11ud	5.2											
Totalt opsamlet	10.2	4.9	6.9	9.5	2.1	7.1	3.9	1.7	0.6	0.3		
S12ind	8.0	3.9	4.5	4.7	0.9	2.1	0.8	0.1				
S12ud	0.6											
Totalt opsamlet	8.6	3.9	4.5	4.7	0.9	2.1	0.8	0.1	0.0	0.0		
Kontrol af PAH-indhold/opsamling af PAH-forbindelser fra indgående luft (evt fra pumpen)												
15 °C	0.1	0.3	0.2	0.7	1.6	3.1	1.9	0.3	0.1			
25 °C				0.2		0.3	2.3	0.3	0.2	0.3		

Appendiks 2.3.

Totalt mængde PAH (ug) opsamlet på TENAX fra de respektive mikrokosmos efter inkubation i 325 dage.

ug PAH

PAH-forbindelse	Steril 15 °C		Steril 25 °C		Baggrund 15 °C			Baggrund 25 °C		
	1	2	7	8	3	4	9	10		
Naphthalen	51	8.7	7.2	3.6	24.3	10.5	135	63.6		
2-met-nap	0	1.5	5.1	1.2	12.6	5.4	1.5	7.5		
1-met-nap	6	1.2	3.9	1.2	16.8	6.9	14.1	9		
Dimet-nap	2.4	0.6	5.7	0.6	26.7	1.5	5.1	4.8		
Fluoren	0.9	0	1.2	0.3	5.7	1.5	1.2	0.9		
Ace-nap	0.3	0.3	4.2	0.3	24.3	6	0.9	2.4		
Phenanthren	2.4	0.3	3.3	0	20.1	4.8	3.9	3.6		
Anthracen	0.6	0	1.5	0	6.3	1.5	0.9	0.3		
Chrysen	3	0.6	0.3	0	0.6	0.3	1.8	1.8		
Fluoranthren	0.6	0	0.3	0	0.3	0	0	0		
Pyren	0	0	0	0	0	0	0	0		
Benz(a)pyren	0	0	0	0	0	0	0	0		

ug PAH

PAH-forbindelse	Detergent 15 °C		Detergent 25 °C		Kontrol 15 °C		Kontrol 25 °C		Litteraturværdier sediment*	Litteraturværdier overflade jord*
	5	6	11	12	15 °C	25 °C	15 °C	25 °C		
Naphthalen	3	15.3	30.6	25.8	0.3	0	0	0	1288.3	1.9
2-met-nap	0.9	7.5	14.7	11.7	0.9	0	0	0	914.3	
1-met-nap	1.5	5.4	20.7	13.5	0.6	0	0	0	406.6	1
Dimet-nap	1.8	6	28.5	14.1	2.1	0.6	0.6	0.6		
Fluoren	0.3	0.9	6.3	2.7	4.8	0	0	0	1.5	0.2
Ace-nap	0.3	2.7	21.3	6.3	9.3	0.9	0.9	0.9	66.3	
Phenanthren	0.3	1.8	11.7	2.4	5.7	6.9	0.9	0.9	0.2	0.3
Anthracen	0	0.6	5.1	0.3	0.9	0.9	0.9	0.9	0.7	0.8
Chrysen	0.6	0.3	1.8	0	0.3	0.6	0.6	0.6	0.3	0.4
Fluoranthren	0	0.3	0.9	0	0	0.9	0	0	0.4	
Pyren	0	0	0	0	0	0	0	0	0.3	
Benz(a)pyren	0	0	0	0	0	0	0	0	0.4	1.7

* Mueller et al. 1991.

Appendiks 3

- 1 Beregninger vedrørende tilsatte næringssalte
 - A Kolonneforsøg
 - B Mikrokosmosforsøg
 - C Undersøgelser af pH i anvendt jord

- 2 Beregninger vedrørende tilsatte mængde vand
 - A Kolonneforsøg
 - B Mikrokosmosforsøg

- 3 Beregninger vedrørende tilsatte mængde detergent
 - A Mikrokosmosforsøg

3.1.A. Beregninger vedrørende tilsatte næringssalte i kolonneforsøget

Der blev tilsat næringssalte til jorden i alle kolonnerne og i ens mængde uafhængig af hvilken anden behandling jorden ellers fik.

Næringssaltene blev tilsat således, at C:N:P-forholdet i jorden blev justeret til 30:5:1, hvilket jvf. Paul & Clark 1989 er det optimale forhold for bakterier i jord. Kvælstof (N) er tilsat som NaNO_3 og fosfat (P) som Na_2HPO_4 , som begge er letopløselige salte. Saltene blev tilsat som krystaller iblandet jorden vha. en tvangsblender.

Jordens totale C-indhold blev bestemt til 25000 mg/kg TS ved hjælp af glødetabet (regnet med maksimalt **organisk** C-indhold). Total-N blev bestemt til 800 mg/kg TS og opløseligt P til 14 mg/kg TS. Det vil sige at det reelle C:N:P-forhold i råjorden var 25000:800:14 og det aktuelle skulle være 25000:4165:833. På baggrund af dette blev den nødvendige mængde N og P, som skulle tilsættes beregnet til:

N: 3365 mg/kg TS	N: 14 g/mol
P: 819 mg/kg TS	P: 31 g/mol

mol N tilsat: $3,363 \text{ g/kg TS} : 14 \text{ g/mol} = 0,24 \text{ mol/kg TS}$
mol P tilsat: $0,819 \text{ g/kg TS} : 31 \text{ g/mol} = 0,03 \text{ mol/kg TS}$

NaNO_3 : 84,99 g/mol
 Na_2HPO_4 : 141,96 g/mol

Mængde NaNO_3 /kg TS: 20,4 g/kg TS
Mængde Na_2HPO_4 /kg TS: 4,3 g/kg TS

Tilsat mængde næringssalt/kolonne:

Råjord:

1L råjord vejer 1,375 kg
Tilsat 40 L vådt jord, hvilket svarer til 52,1 kg TS.
Tilsat 1063 g NaNO_3 /kolonne råjord
Tilsat 224 g Na_2HPO_4 /kolonne råjord

Jord+kompost:

1L blanding vejer 0,920 kg
Tilsat 40 L vådt jord, hvilket svarer til 21,1 kg TS
Tilsat 430 g NaNO_3 /kolonne kompostblanding
Tilsat 90,7 g Na_2HPO_4 /kolonne kompostblanding

Jord+flis:

1L blanding vejer 1,47 kg
Tilsat 40 L vådt jord, hvilket svarer til 47,7 kg TS
Tilsat 973 g NaNO_3 /kolonne kompostblanding
Tilsat 205 g Na_2HPO_4 /kolonne kompostblanding

3.1.B. Beregninger vedrørende tilsatte næringssalte i mikrokosmosforsøget

Der blev tilsat samme mængde næringssalte til jorden til de forskellige mikrokosmos, uafhængig af hvilken anden behandling jorden ellers fik.

Næringssaltene blev tilsat således, at C:N:P-forholdet i jorden blev justeret til 30:5:1, hvilket jvf. Paul & Clark 1989 er det optimale forhold for bakterier i jord. Kvælstof (N) er tilsat som NaNO_3 og fosfat (P) som Na_2HPO_4 , som begge er letopløselige salte. Saltene blev tilsat jorden efter den var overført til keramiktragtene. Saltene blev tilsat opløst i vand.

Jordens totale C-indhold blev bestemt til 25000 mg/kg TS ved hjælp af glødetabet (regnet med maksimalt **organisk** C-indhold). Total-N blev bestemt til 800 mg/kg TS og opløseligt P til 14 mg/kg TS. Det vil sige at det reelle C:N:P-forhold i råjorden var 25000:800:14 og det aktuelle skulle være 25000:4165:833. På baggrund af dette blev den nødvendige mængde N og P, som skulle tilsættes beregnet til:

N: 3365 mg/kg TS	N: 14 g/mol
P: 819 mg/kg TS	P: 31 g/mol

mol N som skal tilsættes: $3,363 \text{ g/kg TS} : 14 \text{ g/mol} = 0,24 \text{ mol/kg TS}$
mol P som skal tilsættes: $0,819 \text{ g/kg TS} : 31 \text{ g/mol} = 0,03 \text{ mol/kg TS}$

NaNO_3 : 84,99 g/mol
 Na_2HPO_4 : 141,96 g/mol

Mængde NaNO_3 /kg TS: 20,4 g/kg TS
Mængde Na_2HPO_4 /kg TS: 4,3 g/kg TS

Tilsat mængde næringssalt/mikrokosmos:

Tilsat 5,5 kg vådt jord, hvilket svarer til 5,1 kg TS per mikrokosmos.

Tilsat 104,04 g NaNO_3 og 21,93 g Na_2HPO_4 /mikrokosmos opløst i 650 ml H_2O .

pH i næringssaltopløsningen (104,04 g NaNO_3 og 21,93 g Na_2HPO_4 /650 ml H_2O) blev bestemt til 8,4.

3.1.C Undersøgelse af pH samt bufferkapaciteten i den anvendte jord

Undersøgelse af bufferkapaciteten af den anvendte jord

Na⁺-ioner kan i ikke-stabile jorde (f.eks. udpinte jorde, jorde med dårlig bufferkapacitet) medfører høje pH. For at undersøge bufferkapaciteten af den anvendte jord, blev råjorden tilsat to forskellige salte, der begge reagerer som baser, henholdsvis NaOH (forventer pH går op ved tilsætning) og NaHCO₃ (forventer ingen eller svag pH-stigning ved en normal bufferkapacitet).

Mængde Na⁺ tilsat med næringssaltene:

Mængde NaNO ₃ /kg TS: 20,4 g/kg TS	= 5,52 g Na ⁺ /kg TS
Mængde Na ₂ HPO ₄ /kg TS: 4,3 g/kg TS	= 1,30 g Na ⁺ /kg TS
Mængde Na ⁺ tilsat ialt/kg TS	6,91 g Na ⁺ /kg TS

6,91 g Na⁺/kg TS svarer til: 25,24 g NaHCO₃/kg TS
12,02 g NaOH/kg TS

Metode:

100 g jord tilsættes 500 ml vand tilsat henholdsvis NaHCO₃ eller NaOH. Efter omrøring 30 min og henstand i 10 min måles pH. pH-målingen gentages efter kontinuerlig omrøring af suspensionen i 1, 2 og 3 dage.

<u>Resultater:</u>	30 min	1 dag	2 dage	3 dage
pH råjord ved tilsætning af H ₂ O:	8,9			8,7
pH råjord ved tilsætning af 2,52 g NaHCO ₃	8,3	8,8	9,0	9,1
pH råjord ved tilsætning af 1,20 g NaOH	12,6	12,5	12,4	12,3
pH i prøvejord (fra spand 11, t = 325 dage)	9,8			9,2

Det, at pH i jorden stiger kontinuerligt ved tilsætning af NaHCO₃, indikerer, at den anvendte jord sandsynligvis har en ringe bufferkapacitet.

3.2.A. Tilsat mængde vand til de forskellige kolonner

	Råjord	Råjord tilsat kompost	Råjord tilsat flis
Markkapacitet (g H ₂ O/kg TS)	353	433	299
60% af markkapacitet (g H ₂ O/kg TS)	212	260	180
Vandindhold før korrektion	53	426	189
Beregnet mængde vand, der skal tilsætte (g/kg TS)	159	0	0
Reel tilsat mgd vand ¹⁾	79	0	9 ²⁾

Den ved forsøgets start tilsatte mængden vand blev beregnet på baggrund af bestemmelse af markkapacitet for og % tørstof i de til forsøgene anvendte jordblandinger. Optimal vandindhold i råjorden blev ved indledende forsøg bestemt til 60% af markkapaciteten.

¹⁾ Der blev tilsat mindre vand end beregnet til de kolonner indeholdende råjord alene. Dette skyldes, at vandet var svært at fordele homogent med det resultat, at jorden fik mudder "hotspots".

²⁾ De 9 ml vand/kg TS blev fejlagtig tilsat kolonnerne.

Råjorden tilsat flis virkede efter korrektion meget tør i forhold til de to andre jordtyper. Dette skyldes sandsynligvis, at flis er istand til at suge og holde på fugtigheden i jorden. Vandet i denne jordblanding skulle derfor nok have været korrigeret uden flis. Flisen kunne så tilsættes efter, at vandindholdet var blevet korrigeret som for råjorden.

3.2.B. Tilsat mængde vand til mikrokosmosforsøget

Tilsat mængde vand pr. mikrokosmos (5,5 kg "våd" jord):

60% WHC : 211,8 g H₂O/kg TS svarer til 1074,7 g H₂O/mikrokosmos

Jorden indeholder allerede 425 g H₂O/mikrokosmos.

Der skal således tilsættes 650 ml H₂O/mikrokosmos.

3.3.A Beregninger vedrørende tilsatte mængde detergent i mikrokosmosforsøget

Optimal detergentkoncentration bestemt ud fra screeningsforsøg:

1% v/w detergentopløsning.

Anvendt mængde detergent i screeningsforsøg:

10 ml detergentopløsning pr. 10 "våd" g jord svarer til 10 g detergent/kg "våd" jord.

Anvendt mængde detergent/mikrokosmos:

55 g detergentblanding/5,5 kg "våd" råjord.

Appendiks 4

Eksempler på statistiske beregninger

Kolonneforsøg

- A.1 Undersøge om vertikalfordeling af PAH-forbindelserne i kolonnerne: 2-sidet variansanalyse
- A.2 Regressionsanalyse på PAH-konc. i beluftede kolonner tilsat flis

Mikrokosmosforsøg

- B.0 2-sidet variananalyse, test af det totale antal dyrkbare bakterier og phenanthren-nedbrydende bakterier
- B.1 2-sidet variansanalyse, test af kurveforløb på nedbrydningskurver
- B.2 Regressionsanalyse på analyseresultater mellem 127 og 325 dage
Test af behandlinger
- B.3 Regressionsanalyse på analyseresultater mellem 127 og 325 dage
Test af temperatur
- B.4 pH's indflydelse på variabiliteten af phenanthren-nedbrydende bakterier

Appendiks 4.A.1

Opsummering af 2-sidet variansanalyse

Undersøge om der er en vertikal fordeling af PAH-koncentrationerne i kolonnerne.

Ho: alle prøverne er fra én population med gennemsnit μ og varians σ^2

Testen tager højde for om der er en kolonneeffekt i systemet

Fkriteffekt (0,95%)= 9,28

Fkriteffekt (0,95%)= 10,13

Kolonner	Phenanthren						Anthracen						Fluoranthren												
	Kolonner		Vertikal		p		Kolonner		Vertikal		p		Kolonner		Vertikal		p								
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p							
1A/1B	11,13*	0.04	20,66*	0.02	1.41	0.32	16,84*	0.02	9,46*	0.05	22,70*	0.01	0.14	0.73	0.12	0.94	0.85	0.22	0.21	0.28	0.26	0.25	0.21	0.21	0.24
2A/2B	0.14	0.73	0.12	0.94	0.07	0.81	0.40	0.76	0.10	0.77	0.17	0.91	0.56	1.16	0.36	0.26	0.85	0.22	0.21	0.28	0.26	0.25	0.21	0.24	
3A/3B	1.16	0.36	0.26	0.85	1.72	0.28	0.91	0.53	0.28	0.63	0.84	0.56	0.21	1.03	0.39	2.68	0.22	0.21	0.21	0.53	0.26	0.25	0.21	0.24	
4A/4B	1.03	0.39	2.68	0.22	0.03	0.87	2.29	0.26	0.53	0.52	2.77	0.21	5.36	0.10	2.82	0.21	0.21	0.21	0.21	2.57	0.25	0.25	0.21	0.24	
5A/5B	5.36	0.10	2.82	0.21	3.57	0.16	2.34	0.25	2.57	0.21	2.46	0.24													

Kolonner	Pyren						Benzo(a)pyren																
	Kolonner		Vertikal		p		Kolonner		Vertikal		p												
	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p	F	p											
1A/1B	13,00*	0.04	21,78*	0.02	12,62*	0.04	9,72*	0.05	0.23	0.67	0.33	0.80	0.70	0.14	0.74	0.52	0.70	0.43	0.43	0.21	0.21	0.14	
2A/2B	0.23	0.67	0.33	0.80	0.07	0.82	1.23	0.43	0.07	0.82	1.23	0.43	0.14	0.73	1.28	0.42	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	
3A/3B	0.14	0.73	1.28	0.42	1.10	0.37	2.77	0.21	1.10	0.37	2.77	0.21	0.68	0.47	2.83	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	
4A/4B	0.68	0.47	2.83	0.21	1.41	0.32	4.17	0.14	1.41	0.32	4.17	0.14	2.61	0.20	2.48	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	
5A/5B	2.61	0.20	2.48	0.24																			

Konklusioner:

Statistisk signifikant kolonneeffekt ved kolonne 1A og 1B (råjord + beluftning), PAH-koncentrationerne gennemløber i kolonne 5B end 5A

Statistisk signifikant vertikal forskel i Phe-, FAn-, Pyr- og BaP-koncentrationerne i kolonne 1A/1B: PAH-koncentrationerne højere i top end bund for alle undersøgte PAH-forbindelser

Ingen signifikante kolonneeffekter eller vertikale forskelle for kolonnerne 2A/2B, 3A/3B, 4A/4B og 5A/5B.

Appendiks 4.A.2

Opsummering af regressionsanalyse

Undersøge om der har fundet en signifikant nedbrydning sted i beluftede kolonner tilsat flis
H₀: hældningerne er ikke forskellige fra 0 Fkrit: (0,95%) =5,32

PAH-forbindelse	A	B:	F	p
Phe	16.2	-0.048	1.94	0.236
Ant	9.1	-0.036	4.59	0.064
FAn	43.5	-0.17	1.23	0.299
Pyr	26.5	-0.087	3.36	0.104
BaP	18.7	-0.068	3.99	0.081

p: sandsynligheden for B er lig 0

Konklusion

Ingen af de beregnede B-værdier kan sige at være signifikant forskellige fra 0, og der er altså ikke sket en statistisk signifikant fjernelse af de udvalgte PAH-forbindelser

Appendiks 4.B.0

Sammenlægning af 2-sidet variansanalyse

Undersøge om der er forskel på antallet af dyrkbare bakterier ved de forskellige behandlinger
 H_0 = antallet af dyrkbare bakterier er ens ved alle behandlinger

	Tidsmæssig		Behandling	
	F1	p	F2	p
F1krit= 2.23; F2krit=3.98				
Test om behandlinger er sign. forskel.				
TSAbaggrund 15: TSAbaggrund25	*145.3	3.48E-32	*25.63	4.21E-06
TSAdet 15: TSAdet25	*21.74	2.97E-14	*68.68	5.40E-12
TSAbaggrund 15: TSAdet 15	*20.43	1.15E-13	*37.96	4.05E-08
TSAbaggrund 25: TSAdet 25	*662.99	4.01E-51	*35.43	1.47E-07
Phebaggrund 15: Phebaggrund25	*53.79	2.77E-24	0.08	7.81E-01
Phedet 15: Phedet25	*46.81	1.36E-22	*15.22	2.00E-04
Phebaggrund 15: Phedet 15	*41.42	3.83E-21	*4.117	4.62E-02
Phebaggrund 25: Phedet 25	*61.87	4.93E-26	*5.98	1.72E-02

Resultater mærket med * betyder at antallet af dyrkbare bakterier er signifikant forskellige ved de testede behandlinger

Appendiks 4.B.1.

Opsummering 2-sidet variansanalyse

Undersøge om der er forskel på kurveforløb mellem forskellige behandlinger.

H0: alle kurverne er ens med gennemsnit u og varians Rho02

15 °C	Forskel mellem behandlinger		Forskkel i tid		25 °C	Forskel mellem behandlinger		Forskkel i tid	
	F	p	F	p		PAH	F	p	F
PAH	6,73*	0.005498	7,47*	0.000224	Phe	3,73*	0.04114	7,02*	0.000334
Phe	4,36*	0.02607	8,46*	0.0000963	Ant	1,44	0.259	8,09*	0.000131
Ant	9,58*	0.001106	11,63*	0.00000946	FAn	8,32*	0.002181	15,53*	9.45E-07
FAn	10,43*	0.000716	16,91*	0.000000467	Pyr	10,49*	0.000693	23,67*	2.52E-08
Pyr	10,06*	0.000864	9,12*	0.0000567	BaP	12,14*	0.00313	29,77*	3.17E-09
BaP									

Fkrit (behandlinger) (0,95%)= 3,47

Fkrit (tid) (0,95%)= 2,57

15 °C	Forskel ml. steril og baggrund		Forskel ml. baggrund og detergent		Forskel ml. steril og detergent	
	F	p	F	p	F	p
PAH	2.59	0.13006	11,37*	0.004561	5,55*	0.03365
Phe	0.71	0.41375	8,00*	0.0134	5,99*	0.028198
Ant	1.65	0.2204	17,33*	0.000958	10,35*	0.006209
FAn	1.34	0.26558	17,34*	0.000955	13,89*	0.002255
Pyr	0.80	0.38749	18.27	0.180156	12.28*	0.003508
BaP						

Fkrit (0,95%)= 4,60

25 °C	Forskel ml. steril og baggrund		Forskel ml. baggrund og detergent		Forskel ml. steril og detergent	
	F	p	F	p	F	p
PAH	3.34	0.089	1.32	0.26973	5,73*	0.03118
Phe	-	-	-	-	-	-
Ant	1.55	0.233867	8,38*	0.011784	13,80*	0.002306
FAn	1.91	0.188759	10,16*	0.006576	18,53*	0.000727
Pyr	0.82	0.3811	17,03*	0.001028	19,46*	0.000592
BaP						

Fkrit (0,95%)= 4,60

Appendiks 4.B.2

Opsummering af regressionsanalyse

Formål: at undersøge om der er signifikant forskel på behandlingerne (steril, baggrund, detergent) for forsøgsperioden 127 til 325 dage)

- 1: Ho = alle behandlinger ens
- 2: Ho = hældning er lig nul
- 3: Ho = alle skæringspunkter med y-aksen er ens

PAH	p1	p2	p3
BaP15	0,5177	0,0065	0,1411
BaP25	0,8176	0,001	0,1202
Ant15	0,2119	0,034	0,3885
Ant25	0,7542	0,0003	0,2060
Phe15	0,2681	0,0028	0,2249
Phe25	0,5867	0,0022	0,2342
Pyr15	0,5010	0,0124	0,3804
Pyr25	0,8657	0,0008	0,3029
FAn15	0,3020	0,0024	0,2506
FAn25	0,8232	0,0033	0,2814

Resultater: der er ikke signifikant forskel mellem hældningerne for nogen af de undersøgte PAH-forbindelser

Alle hældningerne signifikante forskellige fra nul.

Udover at være parallelle er kurverne også sammenfaldende, da skæringspunkterne med y-aksen ikke er signifikante forskellige fra hinanden

Appendiks 4.B.3

Opsummering af regressionsanalyse

Formål: at undersøge om temperatur har signifikant effekt på omsætning af PAH-forbindelserne i forsøgsperioden 127 til 325 dage.

- 1: Ho = temperaturrens effekt ens
- 2: Ho = hældningerne er nul
- 3: Ho = ikke forskel på skæringspunkt på y-aksen
- 4: estimat af fælles ligning (resultater opsummeret i tabel i rapport)

PAH	p1	p2	p3
Ant1525	0,3908	0,0047	0,3301
BaP1525	0,0917	0,0060	0,3523
Fan1525	0,6992	0,0039	0,2920
Phe1525	0,6130	0,0108	0,2658
Py1525	0,5269	0,0143	0,4345

Resultater: For ingen af de undersøgte PAH er der signifikant forskel mellem temperaturerne

Appendiks 4.B.4

pH's indflydelse på variabiliteten af phenanthren-nedbrydende bakterier i anvendte forssøgsjord

pH	cfu/g TS \pm std dev.
7,4	35487 \pm 748
8,0	18355 \pm 2134
8,5	22761 \pm 2758
9,0	35732 \pm 1573
9,5	39648 \pm 2967
10,0	21782 \pm 2451

cfu/g TS er bestemt som gennemsnit af 3 replikater (tre fortydningsrækker fremstillet på baggrund af 1 ekstraktion)

Opsummering af 1- sided variansanalyse

1: Ho = antal cfu/g TS ens for alle undersøgte pH-værdier

	F _{krit}	F	p
1		31,058	53,999
			0,00786

Resultat 1: signifikant forskel mellem antal cfu/g TS ved de undersøgte pH-værdier

Appendiks 5

Udvikling i tørstofindhold

5.A Kolonneforsøg

5.B Mikrokosmosforsøg

Appendiks 5.A Udvikling i % tørstof i kolonneforsøg

	t= 22	t= 50	t= 84	t= 126 Mix	t= 126 Top	t= 126 Midt	t= 126 Bund
Jord+luft 1A	82,7	84,2	87,6	85,6	86,2	83,4	83,4
Jord+luft 1B	83,4	83,5	87,6	86,7	86,4	84,1	82,9
Jord+ kompost 2A	83,0	83,4	83,0	82,7	83,4	85,9	83,3
Jord+ kompost 2B	83,6	83,7	79,2	83,4	85,7	83,3	83,0
Jord+ kompost +luft 3A	84,0	84,1	83,5	84,0	86,6	83,3	83,4
Jord+ kompost +luft 3B	82,9	83,4	83,6	84,2	87,2	83,4	82,8
Jord 4A	83,6	84,3	84,2	83,1	84,5	85,2	82,6
Jord 4B	83,0	84,8	86,6	83,8	85,9	83,4	82,2
Jord+ flis+luft 5A	89,0	83,8	81,0	84,4	85,2	82,9	87,0
Jord+ flis+luft 5B	84,5	80,1	83,0	83,0	86,2	81,9	85,9

Tabel 5.A.1. Tørstofindhold i % i jord fra kolonneforsøget. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af to prøver. t: tiden i dage.

Appendiks 5.B

Korrektion af vandindhold i spandeforsøget

vand justeret den 18/3/94
svarende til mellem T=4 og T=5

Start vandindhold 0,1954 g H₂O/g jord

0.1954

Spand 1	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5284	5066	4822	4646	4454	4247	4051
udtaget mgd jord (g)	216	218	244	176	192	207	196	536
mgd jord tilbage (g)	5284	5066	4822	4646	4454	4247	4051	3515
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1436	0.1506	0.1736	0.179	0.1875
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			240.66	199.54	92.585	66.436	27.769
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8564	0.8494	0.8264	0.821	0.8125

Spand 2	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5264	5050	4805	4609	4382	4202	3992
udtaget mgd jord (g)	236	214	245	196	227	180	210	549
mgd jord tilbage (g)	5264	5050	4805	4609	4382	4202	3992	3443
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1438	0.1491	0.167	0.179	0.1836
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			237.82	202.89	119.34	65.469	40.627
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8562	0.8509	0.833	0.821	0.8164

Spand 3	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5285	5058	4846	4618	4372	4117	3860
udtaget mgd jord (g)	215	227	212	228	246	255	257	352
mgd jord tilbage (g)	5285	5058	4846	4618	4372	4117	3860	3508
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1514	0.1465	0.175	0.1671	0.1772
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			203.19	213.62	92.221	109.24	63.846
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8486	0.8535	0.825	0.8329	0.8228

Spand 4	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5294	5068	4839	4596	4354	4107	3892
udtaget mgd jord (g)	206	226	229	243	242	247	215	551
mgd jord tilbage (g)	5294	5068	4839	4596	4354	4107	3892	3341
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1515	0.1511	0.173	0.173	0.1894
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			201.76	192.88	0	87.181	20.046
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8485	0.8489	0.827	0.827	0.8106

Spand 5	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5277	5051	4822	4553	4284	4032	3783
udtaget mgd jord (g)	223	226	229	269	269	252	249	504
mgd jord tilbage (g)	5277	5051	4822	4553	4284	4032	3783	3279
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1533	0.1511	0.1836	0.1848	0.1938
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			191.68	189.78	47.578	40.1	5.2464
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8467	0.8489	0.8164	0.8152	0.8062

Spand 6	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5281	5050	4831	4610	4363	4134	3890
udtaget mgd jord (g)	219	231	219	221	247	229	244	530
mgd jord tilbage (g)	5281	5050	4831	4610	4363	4134	3890	3360
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1502	0.1447	0.1801	0.1851	0.1851
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			208.37	221.2	63.25	40.067	34.608
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8498	0.8553	0.8199	0.8149	0.8149

Appendiks 5.B

Korrektion af vandindhold i spandeforsøget

vand justeret den 18/3/94

Start vandindhold 0,1954 g H₂O/g jord

0.1954

svarende til mellem T=4 og

Spand 7	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5297	5075	4836	4670	4490	4276	4077
udtaget mgd jord (g)	203	222	239	166	180	214	199	817
mgd jord tilbage (g)	5297	5075	4836	4670	4490	4276	4077	3260
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1435	0.143	0.1763	0.1822	0.1834
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			242.37	235.28	81.672	53.816	39.12
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8565	0.857	0.8237	0.8178	0.8166

Spand 8	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5292	5072	4848	4659	4444	4252	4044
udtaget mgd jord (g)	208	220	224	189	215	192	208	502
mgd jord tilbage (g)	5292	5072	4848	4659	4444	4252	4044	3542
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1567	0.1334	0.1718	0.1806	0.1772
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			180.3	275.53	100.35	59.851	64.464
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8433	0.8666	0.8282	0.8194	0.8228

Spand 9	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5280	5047	4824	4567	4340	4087	3838
udtaget mgd jord (g)	220	233	223	257	227	253	249	773
mgd jord tilbage (g)	5280	5047	4824	4567	4340	4087	3838	3065
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1601	0.1525	0.1746	0.173	0.1836
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			161.22	186.19	85.01	85.971	36.167
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8399	0.8475	0.8254	0.827	0.8164

Spand 10	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5277	5063	4824	4587	4341	4088	3836
udtaget mgd jord (g)	223	214	239	237	246	253	252	861
mgd jord tilbage (g)	5277	5063	4824	4587	4341	4088	3836	2975
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1603	0.1492	0.1723	0.1724	0.1818
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			161	200.55	94.433	88.228	40.46
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8397	0.8508	0.8277	0.8276	0.8182

Spand 11	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5295	5077	4860	4617	4388	4161	3921
udtaget mgd jord (g)	205	218	217	243	229	227	240	862
mgd jord tilbage (g)	5295	5077	4860	4617	4388	4161	3921	3059
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1467	0.1434	0.1771	0.1869	0.1721
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			224.85	228.18	76.146	33.328	71.275
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8533	0.8566	0.8229	0.8131	0.8279

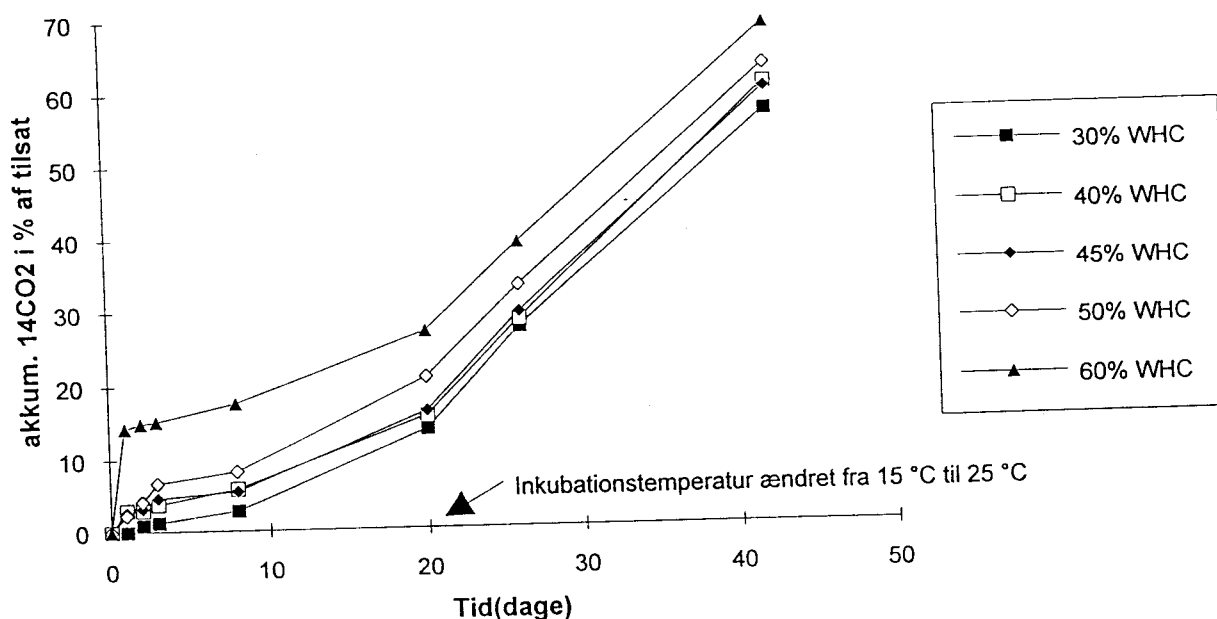
Spand 12	T=0	T=1	T=2	T=3	T=4	T=5	T=6	T=7
mgd jord i spand (g)	5500	5282	5056	4837	4575	4339	4096	3834
udtaget mgd jord (g)	218	226	219	262	236	243	262	876
mgd jord tilbage (g)	5282	5056	4837	4575	4339	4096	3834	2958
aktuelt vandindhold (g vand/g jord)	0.1954			0.1549	0.1495	0.1704	0.1751	0.1793
Mgd vand der skal tilsættes/spand	0			185.29	199.16	102.4	77.83	47.624
Aktuelt tørstofindhold i prøverne (g TS/g jord)	0.8046			0.8451	0.8505	0.8296	0.8249	0.8207

Appendiks 6

Bestemmelse af optimalt vandindhold for nedbrydning af pyren.

Det optimale vandindhold for PAH-nedbrydning i den anvendte jord blev estimeret ved anvendelse af ^{14}C -mærket pyren. Vandindhold på 30, 40, 45, 50 og 60% af markkapaciteten blev undersøgt.

Nedenstående figur illustrerer den forholdsvise omsætning af den tilsatte ^{14}C -mærkede pyrenforbindelse bestemt ved opsamling af ^{14}C -mærket CO_2 . Efter 21 dages inkubation af kolberne ved 15 °C blev inkubationstemperaturen hævet til 25 °C. Som det fremgår af figuren havde temperaturstigningen en positiv effekt på mineraliseringen af pyren uafhængig af vandindhold.



Figur A6.1 Akkumuleret udvikling af $^{14}\text{CO}_2$ i % af tilsat ^{14}C -Pyren ved forskellige vandindhold. Værdierne repræsenterer et gennemsnit af tre replikater. WHC: markkapacitet.

Tabel A6.1 opsummerer den statistiske behandling af resultaterne. Ifølge de anvendte statistiske tests har et vandindhold på 60% af markkapaciteten indledningsvis en positiv effekt på mineraliseringen af det tilsatte pyren. Efter de første dage udlignes forskellen mellem de testede vandindhold. Et vandindhold på 70% af markkapaciteten blev ikke testet, da jorden ved tilsætning af denne mængde vand begyndte at få et mudret udseende. På baggrund af forsøget, blev det besluttet at anvende et vandindhold på 60% af markkapaciteten til de efterfølgende kolonne- og mikrokosmosforsøg.

Tabel A6.1

Opsummering af 1-sidet variansanalyse

Undersøge om vandindholdet i jorden (beregnet som % af WHC) har en indflydelse på mineraliseringen af 14C-mærket PAH til de forskellige tidspunkter

Ho: der er ikke forskel på et vandindhold svarende til 30, 40, 45, 50 og 60% WHC

Fkrit (0,95%): 3,48

Dage	F	P
1	3,31(*)	0,056
2	3,54*	0,047
3	2,5	0,109
8	2,17	0,146
20	1,67	0,23
26	0,88	0,507
42	0,88	0,511

Konklusioner:

Statistisk signifikant forskel mellem størrelsen af mineraliseringen af det tilsatte 14C-pyren til dag 2. Tendens til forskel også til dag 1. Efter dag 2 ingen signifikant forskel mellem de forskelligt anvendte vandindhold i jorden.

Appendiks 7

Resultater fra pladespredningsforsøg, mikrokosmos

Pladespredning, totale antal dyrkbare bakterier

Appendiks 7

Antal af dyrkbare bakterier/g tørstof som funktion af tid og behandling

Behandling		A	B	C	D
Dage		TSAbaggrund 15 °C	TSAbaggrund 25 °C	TSAdet 15 °C	TSAdet25 °C
Tid0	1	29063509.1	29063509.1	29063509.1	29063509.1
	2	26910656.6	26910656.6	26910656.6	26910656.6
	3	23681377.8	23681377.8	23681377.8	23681377.8
	4	29063509.1	29063509.1	29063509.1	29063509.1
	5	26910656.6	26910656.6	26910656.6	26910656.6
	6	23681377.8	23681377.8	23681377.8	23681377.8
Tid25	1	17401392	4396843	20992366	9914862
	2	12761021	4453213	22900763	9860976
	3	31322506	4772642	9541985	11315875
	4	20078081	5026455	24500907	5479103
	5	17847183	5574452	33575318	6307339
	6	10039041	5253212	10889292	5733945
Tid89	1	43431	sl2	29562251	967423
	2	108578	sl2	36384309	562685
	3	260586	sl2	27288232	947680
	4	29261	sl2	459084	366300
	5	51207	sl2	8033972	805861
	6	7315	sl2	10329393	476191
Tid127	1	sl1	16221	25573192	2650291
	2	sl1	32441	14991182	3102780
	3	sl1	24331	13227513	2973497
	4	sl1	14771	6468828	1692421
	5	sl1	14771	12937657	2281089
	6	sl1	7386	815195	1766004
Tid204	1	4475703	862600	19607843	4824259
	2	19181586	1	20761246	4203997
	3	6393862	1109057	35755479	4686423
	4	4581152	862069	24781341	8078231
	5	1963351	689655	24781341	5612245
	6	3926702	1896552	14577259	6037415
Tid 281	1	911162	1151316	9174312	861141
	2	1518603	328947	9174312	861141
	3	1594533	246711	17642908	1399354
	4	1497242	625000	8840354	578704
	5	1339638	210337	5200208	636574
	6	2206462	486779	6240250	231481
Tid325	1	936037	242338	13950073	420315
	2	1794072	171062	3671072	218914
	3	1482059	199572	9544787	402802
	4	856531	120996	5709135	1695980
	5	1070664	71174	4927885	1444724
	6	1213419	128114	5288462	2324121

Prøve 1, 2 og 3 er replikater af 1 prøve

Prøve 4, 5 og 6 er replikater af 1 prøve

sl1= prøven er tabt, pga anvendelse af forkert medie

sl2= prøven tabt

Appendiks 7

Pladespredninger, antallet af phenanthren-nedbrydende bakterier

Antal af dyrkbare bakterier/g tørstof som funktion af tid og behandling

Behandling		A	B	C	D
Dage		Phebaggrund 15 °C	Phebaggrund 25 °C	Phedet 15 °C	Phedet 25 °C
Tid0	1	62433	62433	62433	62433
	2	32293	32293	32293	32293
	3	35522	35522	35522	35522
	4	62433	62433	62433	62433
	5	32293	32293	32293	32293
	6	35522	35522	35522	35522
Tid25	1	17401	125	477	733
	2	18561	131	954	711
	3	15081	75	763	582
	4	7808	2028	4174	841
	5	5577	2003	5717	917
	6	6693	2079	5535	879
Tid89	1	1017	sl2	1933	0
	2	803	sl2	1308	0
	3	589	sl2	1308	0
	4	0	sl2	918	183
	5	94	sl2	459	0
	6	0	sl2	459	61
Tid127	1	977	162	441	0
	2	651	0	1764	646
	3	760	243	970	646
	4	2926	739	0	0
	5	439	0	0	294
	6	878	739	0	0
Tid204	1	9591	739	1326	138
	2	8951	2649	2595	207
	3	6394	1417	692	482
	4	2618	23276	1531	85
	5	9162	36207	2041	0
	6	3272	16379	1385	340
Tid 281	1	228	4030	7057	323
	2	228	3372	15526	215
	3	228	5263	2823	323
	4	158	481	3120	58
	5	394	361	8320	231
	6	236	300	6240	58
Tid325	1	624	8553	41850	158
	2	4914	16393	46255	201
	3	6630	12830	29369	26
	4	6709	8541	66106	754
	5	8565	12811	601	1508
	6	71	5694	42067	1508

Prøve 1, 2 og 3 er replikater af 1 prøve

Prøve 4, 5 og 6 er replikater af 1 prøve

sl2= prøven er tabt

Pladespredninger, bestrålede mikrokosmos

Appendiks 7

Antal af dyrkbare bakterier/g tørstof som funktion af tid og behandling

Behandling		E	F	E	F
Dage		TSABestrålet 15 °C	TSABestrålet 25 °C	PheBestrålet 15 °C	PheBestrålet 25 °C
Tid0	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
Tid25	1	9921082	296764	0	0
	2	11386697	278654	0	0
	3	9808343	234841	0	0
	4	797448	4293935	0	0
	5	159490	4482072	0	0
	6	79745	4714475	0	0
Tid53	1	4211230	250379	0	0
	2	4545455	220030	0	0
	3	3542781	288316	0	0
	4	989283	624133	0	0
	5	906843	1664355	0	0
	6	1896125	901526	0	0
Tid63	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	6	0	0	0	0
Tid127	1	749	0	0	0
	2	1499	0	0	0
	3	749	0	0	0
	4	52356	966	0	0
	5	52356	3986	0	0
	6	52356	483	0	0
Tid204	1	2869955	710732	0	0
	2	2152466	1990050	0	0
	3	1524664	1918977	0	0
	4	6422764	678426	0	0
	5	813008	610583	0	0
	6	894309	1356852	0	0
Tid 281	1	1456816	256654	0	0
	2	624350	209125	0	0
	3	1664932	247148	0	0
	4	4987685	431706	0	0
	5	5295567	318471	0	0
	6	5665025	813871	0	0
Tid325	1	228050	21708	0	0
	2	285063	7236	0	0
	3	570125	65123	0	0
	4	797980	631136	0	0
	5	878788	631136	0	0
	6	878788	631136	0	0

Prøve 1, 2 og 3 er replikater af en prøve f.eks. spand 1 (bestrålet 15 °C)

Prøve 4, 5 og 6 er replikater af en prøve f.eks. spand 2 (bestrålet 25 °C)

0= under detektionsgrænsen 1*E2

