

# BioGel til rensning af olieforurenede jord

Per Loll, Kaj Henriksen og Claus Larsen

Dansk Miljørådgivning A/S og Aalborg Universitet

Miljøprojekt **Nr. 1060** 2006  
Teknologiudviklingsprogrammet for jord- og grundvandsforurening

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

# Indhold

FORORD	5
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	7
SUMMARY AND CONCLUSIONS	9
1 INDLEDNING	10
2 LABORATORIEFORSØG	11
2.1 TEORI	11
2.2 FORSØGSOPSÆTNING	12
2.3 ANALYSEPROGRAM OG PRØVETAGNING	14
2.4 RESULTATER	16
2.4.1 <i>Vurdering af rådata</i>	16
2.4.2 <i>Overordnet vurdering af den biologiske nedbrydning</i>	17
2.4.3 <i>Kvantitativ vurdering af den biologiske nedbrydning</i>	18
2.4.4 <i>Perspektiver for in-situ oprensning</i>	20
2.5 SAMMENFATNING OG VURDERING	21
3 ERFARINGSOPSAMLING	23
3.1 ANVENDTE BIOLOGISKE TEKNIKKER	23
3.1.1 <i>BioGel og biologisk gel</i>	23
3.1.2 <i>Novacell og biovand</i>	24
3.2 SAGSOVERSIGT	24
3.3 RESULTATER	25
3.4 VURDERINGER OG ANBEFALINGER	27
4 VURDERINGER	29
5 REFERENCER	31
6 BILAG	33
Bilag A: Jordkarakterisering	
Bilag B: Opsætning af laboratorieforsøg	
Bilag C: Forsøgsresultater	
Bilag D: Geologi på feltsagerne	



# Forord

Denne rapport skitserer resultaterne af et samarbejdsprojekt mellem Dansk Miljørådgivning A/S og Sektion for Miljøteknologi, Aalborg Universitet. Projektet er udført under og finansieret af Miljøstyrelsens Teknologjudviklingsprogram for jord- og grundvandsforurening.

Det er projektets formål, at foretage en uvildig teknisk vurdering af BioGel-teknologiens potentiale ved nedbrydning af fyringsolie-/gasolieforurening i jordens umættede zone under danske forhold.

Vurderingen foretages dels på baggrund af et kontrolleret laboratorieforsøg og dels på baggrund af en opsamling på danske felterfaringer med teknologiens anvendelse.

Dele af laboratorieforsøget er gennemført i samarbejde med Biorem Aps., der p.t. er dansk udbyder af BioGel-teknologien, for at sikre størst mulig grad af sammenlignelighed imellem laboratorieundersøgelsen og den praktiske anvendelse af teknologien.

For at bevare uvildigheden i den tekniske vurdering af teknologiens potentiale påpeges det dog, at den endelige resultattolkning er foretaget af Dansk Miljørådgivning A/S og, for laboratorieresultaternes vedkommende også af Aalborg Universitet.



# Sammenfatning og konklusioner

<i>Formål og strategi</i>	Formålet med projektet er at søge en afklaring på det tekniske <i>potentiale</i> ved anvendelsen af BioGel-teknologien til aerob nedbrydning af gasolieforurening i jordens umættede zone. Den overordnede strategi har været, at gennemføre laboratorieforsøg under optimale forhold, samt at gennemføre en erfaringsopsamling for feltprojekter gennemført i Danmark.
<i>Laboratorieforsøg</i>	På baggrund af laboratorieforsøget er det konkluderet, at der kan opnås en signifikant forøget olienedbrydning udelukkende ved stimulering af naturlige mikroorganismer. I forsøget blev der opnået en signifikant ekstra effekt ved at tilsætte BioGel, mens der ikke var signifikant stimulering ved tilsætning af olienedbrydende mikroorganismer uden gel. Det er estimeret, at der potentielt kan opnås en reduktion af oprensningstiden på 25 – 30 % ved BioGel-behandling frem for at stimulere de naturligt forekommende mikroorganismer; et estimat der dog er behæftet med betydelige usikkerheder, og som sættes i relief af at der er benyttet en forsøgsjord med et formodet lavt mikrobiologisk aktivitetsniveau.
<i>Biologisk oprensning har potentiale – men tager tid</i>	På baggrund af forsøgsresultaterne vurderes det at stimuleret biologisk nedbrydning, både med og uden BioGel, har et teknisk potentiale som afværgeteknologi, men det pointeres, at der bør anlægges et realistisk forventningsniveau til oprensningshastigheden. På baggrund af forsøgene er det vurderet, at oprensninger af denne type, som absolut minimum, tager i størrelsesordenen 1,5 til 3 år; med mindre oprensningen i væsentlig grad benytter sig af fysiske fjernelsesmekanismer.
<i>Erfaringsopsamling</i>	Der er foretaget en opsamling på de danske erfaringer fra i alt 15 sager, hvor BioGel eller nært beslægtede teknologier har været anvendt til in-situ oprensning af gasolieforurening i den umættede zone.
<i>Generelt gode erfaringer – dog ikke i ler</i>	Overordnet er der, på baggrund af de foreliggende sagsoplysninger, tilsyneladende opnået gode resultater med anvendelsen af BioGel-teknologien og/eller beslægtede teknologier – dog ikke i deciderede lerjorde. For syv af 12 afsluttede sager foreligger der oplysninger om at sagerne er afsluttet helt eller delvist til myndighedernes tilfredsstillelse. For seks sager er den aktive indsats afsluttet indenfor en periode på seks måneder.
<i>Generelt meget sparsom dokumentation</i>	Der kan dog stilles spørgsmål til ovenstående tilsyneladende gode resultater, da der generelt, om end ikke for alle sager, vurderes at være tale om en meget sparsom (slut)dokumentation af oprensningen.
<i>Overordnede anbefalinger</i>	Der er opstillet overordnede anbefalinger omkring anvendelsen af biologisk afværge, herunder overordnede anbefalinger til aftalegrundlag og slutdokumentation, samt udvidet dokumentation af biologiske mekanismer og aktivitetsniveau for evt. tilsatte olienedbrydende mikroorganismer; anbefalinger der muligvis kan være med til at øge tiltroen til effekten af de biologisk baserede oprensninger. Det fremhæves dog, at flere af disse anbefalinger også bør følges ved andre typer af oprensninger.





# Summary and conclusions

<i>Purpose and strategy</i>	The purpose of this project is to investigate the technical potential of the BioGel technology for aerobic degradation of heating and diesel oil in the vadoze/unsaturated zone of soils. The overall strategy has been to perform a series of laboratory experiments under optimal conditions, and to compare information obtained in a number of in-situ projects carried out in Denmark.
<i>Laboratory experiment</i>	Based on the laboratory experiment it is concluded that a significant increase in the degradation of heating oil can be accomplished simply by stimulating the naturally occurring microorganisms. A significant additional effect was accomplished by adding BioGel, while no extra effect was accomplished by stimulating with a culture of oil-degrading microorganisms without gel. It is estimated that the clean-up time can be reduced by up to a 25 – 30 % by stimulating with BioGel, as compared to stimulating the naturally occurring microorganisms only. However, this estimate is associated with considerable uncertainties. Also, the test soil was selected so that it presumably had a low microbial activity level.
<i>Biodegradation has potential – but it takes time</i>	Based on the results of the laboratory experiment it is concluded that there is little doubt that stimulated biological degradation, both with and without BioGel, offers a technical potential. However, it is stressed that a realistic expectation level regarding the clean-up time should be assumed. Based on the results, it is estimated that this type of clean-up takes on the order of 1.5 to 3 years - as an absolute minimum - unless the biological treatment is supplemented with physical removal mechanisms.
<i>Field experience</i>	Experience from 15 cases was collected, where BioGel or closely related technologies were used for in-situ clean-up of heating oil or diesel-polluted soil in the unsaturated zone.
<i>Good results – although not in clay</i>	On the basis of the available case material, the field experience with the BioGel technology and/or closely related technologies has apparently been good – although not in clay soils. For seven of 12 closed cases, there is information that the case in part or as a whole was closed to the satisfaction of the environmental authorities. For six cases the active efforts were concluded within a period of six months.
<i>Documentation in general very poor</i>	The apparently good results are compromised by the fact that, in general, although not for all cases, the documentation of the clean-up is considered very poor.
<i>Overall recommendations</i>	Overall recommendations for the use of biological remediation have been presented, and among these, recommendations for site closure and end documentation, as well as a more thorough documentation of the biological mechanisms and activity levels for external microorganisms; recommendations that might increase belief in the effect of biologically based clean-ups. Note, however, that several of these recommendations also apply for other types of remediation.

# 1 Indledning

<i>Formål og strategi</i>	Formålet med projektet er at vurdere det tekniske potentiale ved anvendelsen af BioGel-teknologien til aerob nedbrydning af fyringsolieforurening (gasolie) i jordens umættede zone. Den overordnede strategi har været, at gennemføre laboratorieforsøg under optimale betingelser for de nedbrydende mikroorganismer, samt at gennemføre en opsamling på foreliggende erfaringer ved feltprojekter gennemført med BioGel-teknologien i Danmark.
<i>Laboratorieforsøg</i>	For at afklare BioGel-teknologiens tekniske potentiale er der gennemført et bench-skala laboratorieforsøg under optimale forhold mht. mikroorganismernes adgang til ilt og næringssalte. Den biologiske effekt ved BioGel-behandlingen sammenlignes bl.a. med stimulering af naturligt forekommende bakterier med næringssalte og ilt.
Erfaringsopsamling	Miljøstyrelsen har fremsendt en forespørgsel til alle landets amter og kommuner, hvori de anmodes om, at fremsende relevant sagsmateriale til brug for projektets erfaringsopsamling vedrørende feltanvendelse af BioGel-teknologien. På baggrund af denne forespørgsel er der fremsendt sagsmateriale fra 13 sager, hvor der har været anvendt BioGel eller nært beslægtede teknikker. Derudover er yderligere to sager inddraget i erfaringsopsamlingen.

## 2 Laboratorieforsøg

### 2.1 Teori

Der er to primære årsager til at mikroorganismer foretager nedbrydning af organiske forureningskomponenter, herunder fyringsolie; dels skaffer de sig energi til livsvigtige processer (enzymproduktion m.v.) og dels skaffer de sig kulstof til opbygning af ny cellebiomasse.

<i>Energi</i>	For at der kan frigives energi ved nedbrydningen kræves der en oxidation af det organiske kulstof i fyringsolien. Derfor foregår nedbrydningen under forbrug af elektronacceptor. Nedbrydning af eksempelvis fyringsolie foregår hurtigst - og medfører det største udbytte for mikroorganismene - når der er tale om aerob nedbrydning, dvs. når ilt fungerer som elektronacceptor.
<i>Kulstof</i>	Mikroorganismernes cellemateriale består af ca. 50% kulstof, hvorfor der kræves forholdsvis meget kulstof til biovækst. I forbindelse med nedbrydningen af organiske forureningsstoffer i jord og grundvand skaffes det nødvendige kulstof fra forureningsstofferne (heterotrof vækst).
<i>Andre faktorer</i>	I det aktuelle forsøg vil mikroorganismene have (næsten) ubegrænset adgang til fyringsolie, hvorfor der overordnet set ikke vil opstå mangel på energi- og kulstof. Ved opbygning af cellebiomasse kræves der dog, udover kulstof, også en vis mængde af andre stoffer, f.eks. næringssalte.
<i>Næringssalte</i>	De næringssalte, der benyttes i størst mængde til mikrobiel vækst er kvælstof og fosfor. Ved heterotrof vækst kan der som hovedregel regnes med et nødvendigt forhold imellem det indbyggede biomassekulstof (C), kvælstof (N) og fosfor (P); det såkaldte C:N:P-forhold, på 100:10:1 (EPA, 1995). Udover kvælstof og fosfor kræves endvidere mindre mængder sporstoffer (f.eks. metaller).
<i>Nedbrydningshastighed</i>	Hvis mikroorganismene har god/ubegrænset adgang til ilt og næringssalte vil nedbrydningshastigheden for den konkrete kultur af mikroorganismer overordnet set være styret af kulbrintesammensætningen for den tilbageværende fyringsolie, samt af temperaturen.
<i>Fyringsolie</i>	Fyringsolie er et blandingsprodukt, der består af ca. 1/3 alifatiske (ligekædede og forgrenede), 1/3 alicykliske (mættede ringformede) og 1/3 aromatiske (umættede ringformede) kulbrinter (Miljøstyrelsen, 1998a). Indenfor hver af disse grupper findes både mindre og større molekyler.  I forbindelse med mikrobiel nedbrydning er der generelt en tendens til, at små alifatiske molekyler og monoaromater nedbrydes forholdsvis hurtigt, mens større polyaromatiske molekyler nedbrydes langsommere. Dette kan medføre, at eventuelle indeklimaproblemer, der primært er forbundet til disse komponenter, kan blive reduceret/elimineret forholdsvis kort tid efter igangsættelsen af en effektiv biologisk oprensning. Efterhånden som de lettere oliekomponenter bliver nedbrudt, vil der endvidere være en tendens til, at nedbrydningen af den resterende fyringsolie

foregår langsommere og langsommere, hvorved den overordnede nedbrydningsrate kan forventes at falde med tiden.

### *Temperatur*

Da mikrobiologiske processer, som nedbrydning og vækst, ofte er forholdsvis temperaturafhængige, vil nedbrydningsaktiviteten for en given mikroorganisme eller blandet kultur af mikroorganismer ofte være størst ved høje temperaturer. Ved heterotrof omsætning af fyringsolie vil nedbrydningshastigheden typisk falde med en faktor 2 – 3 når temperaturen falder med 10°C [Helweg, 1988]. Ved tilsætning af eksternt opvoksede mikroorganismer kan denne tendens blive forstærket af, at mikroorganismene vil være tilpasset til et mere eller mindre snævert temperaturinterval omkring den temperatur, hvor de er opvokset (eksempelvis stuetemperatur), mens de i felten vil foretage nedbrydningen ved temperaturer der ofte ligger i området 8-15°C.

## 2.2 Forsøgsopsætning

### *Vurdering af teknisk potentiale*

Da formålet med laboratorieforsøgene er at undersøge BioGel-teknologiens tekniske *potentiale* er det besluttet, at gennemføre laboratorieforsøgene under optimale forhold med hensyn til mikroorganismernes adgang til ilt og næringssalte. Dette betyder, at forsøgene ikke umiddelbart kan betragtes som realistiske i forhold til praktisk feltanvendelse af teknologien.

Forsøgsdesignet er opstillet i samråd med Biorem Aps., der er udbyder af BioGel-teknologien i Danmark.

### *Fysisk opsætning*

Forsøgene udføres i 30 L gastætte beholdere med mulighed for løbende udtagning af gasprøver, samt mulighed for opstilling af en overordnet massebalance for ilt, kuldioxid og nedbrudt olie. Der er benyttet ca. 5 kg. jord (TS) i hver beholder, hvorved der opnås et gasvolumen på ca. 27 Liter.

### *Jordtype*

For i nogen grad at simulere en situation, der kunne være realistisk i forhold til feltanvendelse af BioGel-teknologien er det valgt, at udføre forsøgene på en sandjord, hvor problemer omkring rumlige variationer i forskellige forsøgsvariable endvidere kan holdes på et absolut minimum. Ydermere forventes problemer omkring diffusionsbegrænset adgang til ilt og næringssalte at være minimale.

Der er i forsøget anvendt en finkornet sandjord, som er udtaget fra en uforurennet lokalitet i det sydøstlige Vendsyssel. Jorden er udtaget i en dybde på 2,0-2,5 m.u.t; dvs. i en dybde, hvor det naturlige antal af mikroorganismer i jorden vurderes at være forholdsvis lavt, men realistisk i forhold til jorden på en sandet lokalitet, der udsættes for en frisk fyringsolieforurening. Der er foretaget en fysisk karakterisering af jorden i bilag A.

### *Fyringsolie*

For at simulere en situation, hvor BioGel-teknologien kunne tænkes anvendt i praksis, er der foretaget tilsætning af frisk fyringsolie til sandjorden. Der er valgt et koncentrationsniveau på ca. 3.000 mg/kg TS. Der er således tilsat ca. 15,3 g fyringsolie (18 mL) til hver forsøgsbeholder.

### *Ilt*

Som nævnt i afsnit 2.1 vil man typisk opnå den hurtigste mikrobielle nedbrydning af fyringsolie under aerobe forhold, hvorfor forsøgene gennemføres med en iltkoncentration på mere end ca. halvdelen af atmosfærekoncentrationen; dvs. med mere end ca. 10 % ilt. Ilttilførslen foretages, som udgangspunkt, ved at tilføre atmosfærisk luft under

prøvetagningen, ligesom der etableres en injektionsport i hver forsøgsbeholder, hvorigennem der er mulighed for injektion af ren ilt.

#### *Temperatur*

Forsøgene gennemføres ved en konstant temperatur på ca. 10 °C, for at simulere typiske danske in-situ forhold i ca. et par meters dybde i den umættede zone. Under forsøget er beholderne derfor opbevaret i et klimarum ved Sektion for Miljøteknologi på Aalborg Universitet.

#### *Næringsalte*

Næringsalte tilsættes i form af den næringssaltopløsning (N:P:S), som Biorem benytter ved felt-anvendelse af teknologien. Denne næringssaltopløsning består af 200 g N (kvælstof), 50 g P (fosfor) og 30 g S (svovl) pr. liter. Biorem har oplyst, at kvælstoffordelingen i næringssaltopløsningen er ca. 30 % ammonium-N, 30 % nitrat-N og 40 % amid-N, hvor amid-delen er organisk bundet kvælstof, der gøres biotilgængeligt efter mineralisering.

For at undgå en kvælstofforgiftning af biomassen, er der ved forsøgets igangsætning tilsat ca. 25 % af det maksimalt estimerede kvælstofbehov (ved 100 % olienedbrydning og 50 % kulstof-indbygning i biomassen). Eventuelt yderligere behov for næringsalte er vurderet på baggrund af den løbende dataopsamling, jf. afsnit 2.3.

#### *Mikroorganismer*

BioGel-teknologien er en integreret biologisk løsning, der består af:

- Mikroorganismer.
- Næringsalte.
- Gel (celluloseester).
- In-situ tilsætning og fordeling.

Mikroorganismene leveres initialt som en af flere mulige frysetørrede kulturer, som efterfølgende opformerer og vedligeholdes i en væskesuspension af den danske udbyder frem til anvendelsestidspunktet. I forbindelse med feltanvendelse af teknologien, vil der allerede under opformering og vedligeholdelse af mikroorganismene være foretaget en sammenblanding af mikroorganismer, næringsalte og gel til en såkaldt BioGel. Mikroorganismene vil således være tilvænnet gel, næringsalte m.v. inden der foretages injektion i felten.

For at kunne vurdere potentialet ved anvendelsen af BioGel-teknologien, sammenlignes nedbrydningsforløbet med det forløb der opnås når de naturligt forekommende bakterier i sandjorden stimuleres med næringsalte og/eller ilt. Endvidere sammenlignes med en behandling uden gel; dvs. med ilt, næringsalte og samme kultur af mikroorganismer, som ved BioGel behandlingen, der er opvokset uden tilstedeværelse af gel.

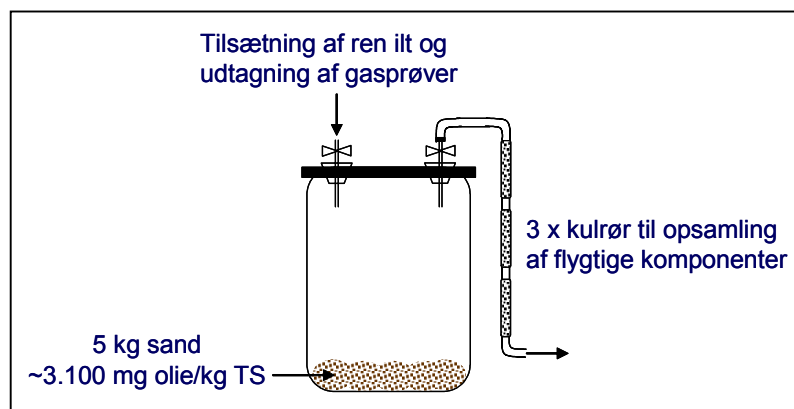
#### *Forsøgsmatrice*

Der udføres dobbeltbestemmelse for hver behandling. Den samlede forsøgsmatrice fremgår af tabel 2.1.

Behandling	Kontrol		Naturlig		Kultur		BioGel	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Ilt	X	X	X	X	X	X	X	X
Næringsalte			X	X	X	X	X	X
Kultur					X	X	(X)	(X)
BioGel							X	X

**Tabel 2.1:** Forsøgsmatrice. (X) = BioGel indeholder kultur.

<i>Kontrol</i>	Behandling A simulerer en situation, hvor der ligger en forholdsvis terrænnær forurening med gode betingelser for tilførsel af ilt via diffusion fra jordoverfladen, men hvor der ikke foretages yderligere i forhold til at stimulere nedbrydningen. I forsøget sikres ilttilførslen bl.a. ved en jævnlig homogenisering af jorden. Behandling A fungerer ydermere som aerob "kontrol" og giver et samlet niveau for den naturlige nedbrydning (kun stimuleret med ilt) og det abiotiske tab, herunder fordampning, der er forbundet med den benyttede forsøgsopstilling.
<i>Naturlig</i>	Behandling B simulerer en situation, hvor de naturlige mikroorganismer stimuleres med næringssalte og ilt. Sammen med behandling A vil denne behandling give information om i hvor høj grad der kan forventes næringssaltbegrænsning, hvis der udelukkende sørges for god tilførsel af ilt. Behandling B vil ydermere danne baggrund for en sammenligning med behandlingerne, hvor der stimuleres med eksterne mikroorganismer, så effekten af stimulering af de naturlige mikroorganismer kan adskilles fra den effekt, der opnås ved tilsætning af eksterne mikroorganismer og BioGel.
<i>Kultur</i>	Behandling C opstilles for, sammen med behandling B, at kunne vurdere effekten af tilsætning af en ekstern podekultur af mikroorganismer, der er specielt sammensat med henblik på nedbrydning af olie.
<i>BioGel</i>	Behandling D opstilles for at potentialet for den fulde BioGel-behandling kan vurderes; dvs. under tilstedeværelse af både ilt, næringssalte, podekultur og gel. Sammenlignet med behandling C opnås information om den ekstra effekt som opnås ved tilsætning/tilstedeværelse af gel.
<i>Forsøgsopsætning</i>	Proceduren ved den initiale forsøgsopsætning er gengivet i bilag B.1 og forsøgsopstillingen er gengivet i figur 2.1.



Figur 2.1: Forsøgsopstilling.

*Forsøgsvarighed* Det er forudsat, at nedbrydningsforsøget gennemføres over en periode på 3 måneder fra forsøgets igangsættelse.

### 2.3 Analyseprogram og prøvetagning

*Analyseparametre* Følgende parametre analyseres i forbindelse med forsøget:

- Totalkulbrinter.
- Ilt i tøndernes head-space.
- Vandindhold.
- Jord-pH.

- Kimtal v/ 22°C.

Dertil er der i et vist omfang foretaget analyse af BTEX'er, jordens kvælstofindhold (nitrat og ammonium) samt CO<sub>2</sub> i beholdernes head-space. Alle parametre, udover kulbrinterne, måles for at opnå et detaljeret grundlag for styring og vurdering af den biologiske nedbrydning.

Totalkulbrinter og BTEX er analyseret ved GC-FID hos A/S AnalyCen, Fredericia. Ilt og kuldioxid er bestemt ved GC-analyse på Aalborg Universitet. Vandindholdet er frem til dag 36 estimeret ud fra TS-indholdet fra kulbrinteanalysen, mens det efter dag 36 er bestemt efter DS204 på Aalborg Universitet. Jordens pH og kvælstofindhold er bestemt på filtreret ekstrakt efter udrystning med 1M KCl (DS287 [Borggaard et al., 1988], samt automatiseret udgave af DS223 og DS224) på Aalborg Universitet. Kimtal ved 22°C er bestemt ved pladeudspredning efter DS/INF 6222:1999 hos Steins Laboratorium A/S, Brørup.

#### *Analyseantal*

For hver parameter er der udtaget enkeltprøver til analyse, både til fastlæggelse af startniveauet og ved de efterfølgende analysetidspunkter. Indledningsvist er det forudsat, at der udtages prøver til analyse for ovennævnte parametre ca. hver 14. dag, svarende til 6 analyserunder efter forsøgets igangsætning. Den udtagne jordmængde vurderes i alt at svare til 15-20 % af den totale jordmængde i hver beholder fra start.

#### *Prøvetagning*

Under prøvetagning er der spændt en stor klar plasticpose på beholderen. I posen er der sat prøvetagningsemballage til kulbrinteanalysen (Red Cap glas), samt en beholder, hvor der kan udtages jord til de øvrige analyser.

Dernæst aftages beholderlåget, indenfor posen, og jorden homogeniseres grundigt manuelt. Det forsøges herved sikret at de udtagne jordprøver angiver en middelkoncentration i jordvoluminet på prøvetagningstidspunktet. Desuden tilstræbes det, at der med mellemrum opnås iltning af jorden samt (gen)skabes en ideel kontakt mellem mikroorganismer, næringsstoffer og forureningskomponenter.

Prøven til kulbrinteanalysen udtages og låget påsættes under plasticposen, for at mindske tabet af flygtige komponenter. Jorden til de øvrige analyser udtages til et afmålt mærke på emballagen for at sikre at der udtages en tilstrækkelig mængde jord.

#### *Løbende datavurdering*

Under forsøget er der foretaget en løbende fremsendelse af data til Miljøstyrelsen og Biorem for at vurdere behovet for en eventuel justering af stimuleringen, herunder at foretage eventuelle supplerende tilsætninger af ilt, bakterier og/eller hjælpestoffer.

#### *Tilsætning af ilt*

Visse af behandlingerne er tilsat ren ilt imellem prøvetagningsrunderne for at sikre et iltindhold over 10 %. Den fortrængte beholderatmosfære er opsamlet på kulrør af typen Dräger B for at kvantificere det abiotiske tab af flygtige kulbrinter, jf. figur 2.1.

#### *Supplerende tilsætning*

På baggrund af den løbende datavurdering er der på dag 57 foretaget supplerende tilsætning af hhv. kultur og BioGel til behandling C og D, ligesom der er foretaget tilsætning af næringsalte til behandling B, C og D. For at bevare et sammenligneligt vandindhold i alle behandlinger er der

tilsat almindeligt postevand til behandling A. Den supplerende behandling er foretaget i samråd med Biorem Aps. og er beskrevet i bilag B.2.

## 2.4 Resultater

I det følgende er forsøgets overordnede resultater præsenteret i form af de udførte kulbrinteanalyser. I relevant omfang er der henvist til detaljeresultaterne for de øvrige analyseparametre, jf. bilag C.

### 2.4.1 Vurdering af rådata

#### *Enkelte dobbelt-analyser*

For enkelte af behandlingerne er det i følgegruppen aftalt, at der til nogle analysetidspunkter skulle udtages dobbeltprøver i håb om at forbedre nøjagtighed og præcision i estimatet på kulbrintekonzentrationen.

Samtlige resultater for totalindhold af kulbrinter fremgår af tabel 2.2. Resultaterne, inkl. middelværdier, er angivet med to betydende cifre.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	5.300	2.800	4.100	3.700	3.000	3.400	2.700	3.100	2.900	2.800	2.800	2.800
14	4.500 3.900	3.400	3.900	4.300	3.300	3.800	3.100	3.300	3.200	3.300	2.800	3.100
36	2.400	2.300	2.400	3.600	2.100	2.900	1.800	1.800	1.800	1.900	2.000	2.000
57	2.100 2.100	2.400 1.900	2.100	2.100 2.200	2.000 1.500	2.000	1.800	1.300	1.600	1.400	1.200	1.300
70	1.700	1.900 1.700	1.800	1.900	1.200 950	1.400	1.200	1.200	1.200	880	970	930
84	1.800	1.800	1.800	1.600	1.200	1.400	910	1.100	1.000	950	810	880

**Tabel 2.2:** Forsøgsresultater for totalindhold af kulbrinter [mg/kg TS].

#### *Usikkert startniveau*

Som det fremgår af tabel 2.2 er der for behandling A1 og B1 konstateret et væsentligt højere startniveau end forventet på baggrund af den faktiske tilsætning (ca. 3.100 mg/kg TS). Umiddelbart vurderes dette at kunne tilskrives, at disse behandlinger blev fremstillet først, jf. bilag B, hvorved de muligvis ikke er blevet lige så godt homogeniseret som de efterfølgende behandlinger. Der er således tilsyneladende udtaget prøver til startkarakterisering fra dele af jorden med et relativt højt kulbrinteindhold. Det bemærkes, at behandlingerne A1, B1, C1 og D1 er fremstillet af den samme person, mens A2, B2, C2 og D2 er fremstillet af en anden person, jf. bilag B.

#### *Mulig systematisk fejl på dag 14*

Ydermere bemærkes en generel tendens til, at kulbrintenevauerne efter 14 dage ikke alene ligger højere end startniveauerne, men også ligger over det koncentrationsniveau, der forventes på baggrund af den faktiske tilsætning af fyringsolie. Dette vurderes mest sandsynligt, at skyldes en systematisk fejl på laboratoriet, om end det ikke har været muligt at bekræfte dette ved henvendelse til analyselaboratoriet.

#### *Generelt tilstrækkelig præcision fra dag 36*

Samlet set er ovenstående forhold naturligvis uheldige i forhold til en vurdering af den potentielle effekt der opnås ved behandling med BioGel; specielt da de største usikkerheder tilsyneladende ligger på udgangsniveauet (dag 0 og dag 14) og kontrolbehandlingerne (A og B). Ses der bort fra behandling B er der dog opnået en tilfredsstillende præcision i dobbeltbehandlingerne fra dag 36, hvilket vurderes at være et udtryk for, at de



gentagne homogeniseringer af forsøgsjorden ved prøvetagning har medført en tilstrækkelig ensartethed i oliefordelingen.

### Behandling B1

Som anført ovenfor er der god overensstemmelse imellem replikaterne for samtlige behandlinger fra dag 36, når der ses bort fra behandling B. Det bemærkes i den forbindelse, at analyseresultatet for behandling B1 på dag 36 ikke vurderes at være repræsentativt for middelindholdet i forsøgsjorden på dette tidspunkt. Denne vurdering er primært baseret på det faktum, at indholdet, såfremt det repræsenterer middelindholdet, svarer til, at der ved forsøgsopsætningen er tilsat ca. 3 mL fyringsolie for meget, ud af en tiltænkt tilsætning på 18 mL. Tilsætningen er sket med finpipette, hvorfor en unøjagtighed i tilsætningen på 3 mL ikke er realistisk.

Da det ikke er muligt, at foretage en realistisk korrektion af resultaterne for behandling B1 behandles resultaterne for de to B-replikater separat i det følgende.

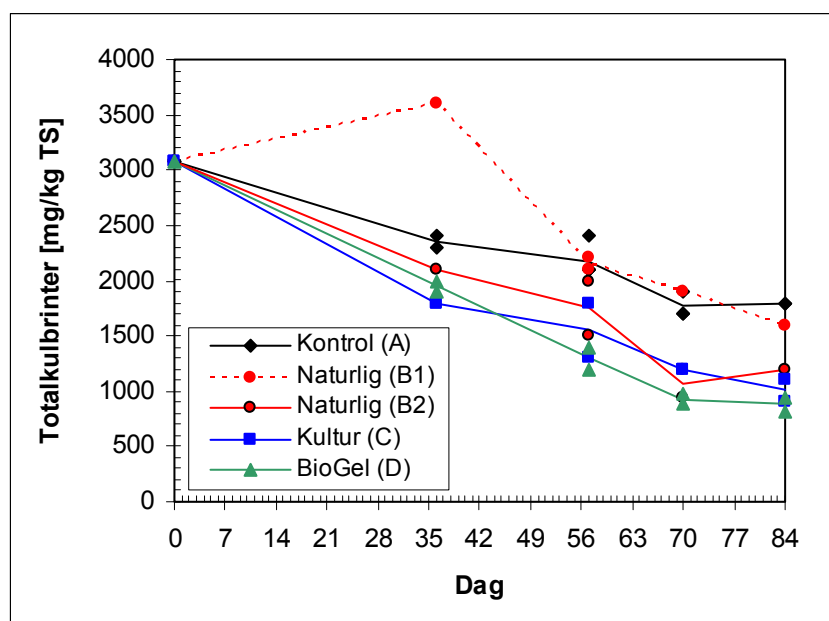
### Sammenligningsgrundlag

Som udgangspunkt for de følgende sammenligninger er det på baggrund af ovenstående vurderinger valgt, at benytte en kulbrintekonzentration beregnet ud fra den faktiske tilsætning af fyringsolie på dag 0 som startniveau (3.100 mg/kg TS), ligesom der er set bort fra analyseresultaterne fra dag 14.

Denne korrektion vurderes, at give det bedste grundlag for en overordnet vurdering af de forskellige stimuleringsstrategier, om end de korrigerede resultater naturligvis ikke kan benyttes til at sige noget om eventuelle korttidseffekter ved stimulering af den naturlige nedbrydning. Dette vurderes dog ikke at have nogen betydning for en perspektivering af resultaterne i forhold oprensingsforløb.

#### 2.4.2 Overordnet vurdering af den biologiske nedbrydning

De korrigerede resultater, hvor startniveauet er antaget lig den faktiske tilsætning og der er set bort fra analyserne fra dag 14, fremgår af figur 2.2.



Figur 2.2: Korrigerede resultater for totalindhold af kulbrinter.

### *Ikke biologisk aktivitet i kontrolbehandlinger*

På baggrund af de udførte ilt- og kuldioxidmålinger er det i bilag C.2 vurderet, at der ikke er tale om nævneværdig biologisk aktivitet i kontrolbehandlingerne (A1 og A2). Den observerede reduktion i kulbrinteindholdet for behandling A1 og A2 vurderes således at være abiotisk; herunder via tab af flygtige kulbrinter ved den anvendte forsøgsopsætning.

### *Biologisk aktivitet i de biologiske behandlinger*

I modsætning hertil er der via ilt- og kuldioxidmålingerne, jf. bilag C.2, konstateret en betydelig biologisk aktivitet i alle de øvrige behandlinger, og det er vurderet, at der er tale om en lagfase for behandling B på ca. 14 dage, hvorimod der for behandling C og D ses en signifikant biologisk aktivitet allerede indenfor de første 14 dage.

Chromatogrammerne for de biologiske behandlinger (B, C og D) bærer endvidere tydeligt præg af biologisk aktivitet, jf. bilag C.1. Den reduktion af kulbrinteindholdet der ses i disse beholdere ifht. kontrolbehandlingerne, vurderes derfor at skyldes biologisk nedbrydning. På baggrund af resultaterne for de øvrige kontrolparametre er der tilsyneladende ingen indikationer på, at der på noget tidspunkt har været tale om mangelsituationer eller inhiberende betingelser for de biologisk aktive behandlinger.

Ved en visuel sammenligning af kulbrinteforløbet for behandling B1 og kontrolbehandlingerne (A), vurderes der dog ikke entydigt at kunne dokumenteres en signifikant biologisk nedbrydning for behandling B1, selvom der i bilag C vurderes at være biologisk nedbrydningsaktivitet i denne på samme niveau som for behandling B2, jf. BTEX-resultater, chromatogrammer, ilt-, kuldioxid- og kvælstof-resultaterne.

I behandling B2 er der, i modsætning til behandling B1, konstateret en entydig biologisk nedbrydningsaktivitet, både i form af div. indikatorparametre og kulbrinteresultaterne. Da resultaterne for behandling B1 således er tvetydige, men overvejende peger i retning af en biologisk omsætning svarende til den der observeres i behandling B2, er det i det følgende valgt at lade resultaterne for behandling B2 repræsentere behandling B.

Der vurderes at være tale om en entydig effekt for behandling C og D.

### **2.4.3 Kvantitativ vurdering af den biologiske nedbrydning**

#### *Korrektion for abiotisk tab i kontrol*

Da der ikke er konstateret tegn på biologisk aktivitet i behandling A, antages det i det følgende, at den konstaterede kulbrintereduktion i kontrolbehandlingen udelukkende er abiotisk. Der foretages dernæst en fitning af et første ordens abiotisk fjernelsesforløb til resultaterne for A-behandlingen (vist i figur 2.2), og alle måleresultater korrigeres for det abiotiske tab beregnet via det fittede udtryk.

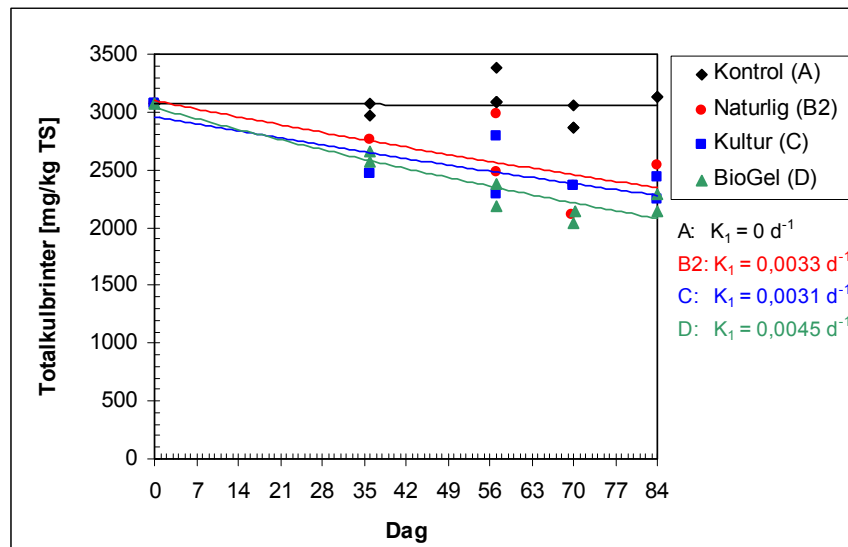
#### *1.-ordens rater*

Dernæst er der foretaget en fitning af 1.-ordens nedbrydningsforløb til de korrigerede resultater. Et 1.-ordens nedbrydningsforløb beskrives ved ligning 2.1.

$$C(t) = C(0) \cdot \exp(-K_1 \cdot t) \quad (2.1)$$

Hvor  $C(t)$  [mg/kg TS] er kulbrintekonzentrationen til tiden  $t$  [d],  $C(0)$  [mg/kg TS] er startkonzentrationen af kulbrinter og  $K_1$  [ $d^{-1}$ ] er 1.-ordens nedbrydningsraten.

De korrigerede resultater fremgår af figur 2.3 sammen med de fittede 1.-ordens nedbrydningsforløb og -rater.



Figur 2.3: Estimerer på 1.-ordens nedbrydningsrater ved 10 °C.

De estimerede 1.-ordens biologiske nedbrydningsrater fra figur 2.3 er opsummeret i tabel 2.3, sammen med biologiske halveringstider ( $T_{1/2}$ ) svarende til den fittede 1.-ordensrate.

	Kontrol	Naturlig *	Kultur	BioGel
	A	B2	C	D
$K_1$ [ $d^{-1}$ ]	0 <sup>a</sup>	0,0033	0,0031	0,0045
$T_{1/2}$ [d]	-	210	220	150

Tabel 2.3: Estimat på biologiske 1.-ordens nedbrydningsrater,  $K_1$ , og halveringstider,  $T_{1/2}$ , ved 10 °C.

\* = vurderet bedst repræsenteret ved behandling B2.

<sup>a</sup> = biologisk nedbrydning antaget/vurderet ikke-signifikant.

Til sammenligning med de biologiske nedbrydningsrater estimeret i tabel 2.3 er der i Miljøstyrelsens JAGG-model [Miljøstyrelsen, 1998b,c] angivet en 1.-ordens nedbrydningsrate for benzen (i grundvandsmagasiner) på 0,01 – 0,2  $d^{-1}$ ; altså en faktor 3 – 60 højere end dem der er estimeret for fyringsolie, jf. tabel 2.3.

#### Ingen ekstra effekt af tilsætning af kultur

På baggrund af resultaterne i tabel 2.3 kan der overordnet set ikke konstateres en positiv effekt af at stimulere den biologiske nedbrydning ved tilsætning af olienedbrydende mikroorganismer (C) frem for udelukkende at stimulere de naturligt forekommende mikroorganismer (B2) med ilt og næringssalte. Dette overordnede resultat ses selv om der indenfor de første 14 dage er observeret en biologisk respiration for behandling C, der adskiller sig signifikant fra behandling B, jf. bilag C.2. Det tidlige respons skyldes således formentlig respiration af lette alkaner i olieblandingen, hvilket understøttes af resultatet fra en mikrobiologisk aktivitetstest, der er udført på podekulturen (C). Denne test indikerer at den tilsatte kultur har et forholdsvist lavt vækstrespons i forhold til fyringsolie og højerekogende delkomponenter heri, jf. bilag C.7.

25 - 30 % reduktion af oprensningstid med BioGel

Tages der udgangspunkt i resultaterne i tabel 2.3 kan den biologiske oprensningstid tilsyneladende reduceres med ca. 25 - 30 % ved at stimulere med BioGel (D) frem for udelukkende at stimulere de naturligt forekommende mikroorganismer (B2) med ilt og næringssalte. Omtrent de samme resultater opnås, hvis der udelukkende ses på de opnåede reduktioner i kulbrintekonzentrationerne igennem forsøget. Resultaterne af disse betragtninger fremgår af bilag C.1.4

I forbindelse med den forholdsvist store effekt, der opnås ved stimulering af de naturligt forekommende olienedbrydende mikroorganismer er det værd at bemærke, at forsøgsjorden er udtaget fra en uforurennet lokalitet i en **dybde**, hvor den mikrobielle aktivitet vurderes at være forholdsvis lav, jf. afsnit 2.2. Det kan på den baggrund ikke udelukkes, at der kan opnås større (eller mindre) gavnlige effekter af at stimulere de naturlige mikroorganismer fra andre lokaliteter.

Usikkerheder

Det er ligeledes væsentligt, at anføre, at de ovenfor estimerede biologiske nedbrydningsrater er behæftet med betydelige usikkerheder, jf. punkternes spredning omkring de fittede 1.-ordens nedbrydningsforløb. Der kan således stilles spørgsmålstegn ved om nedbrydningsraterne for de biologisk aktive behandlinger rent statistisk adskiller sig signifikant fra hinanden.

#### 2.4.4 Perspektiver for in-situ oprensning

I det følgende er der forsøgt redegjort for nogle af de perspektiver resultaterne har for en feltanvendelse af stimuleret biologisk nedbrydning som strategi i forhold til in-situ oprensning af fyringsolieforurening, herunder for anvendelse af BioGel-teknologien.

Simple forsøgsbetingelser

Indledningsvist er det væsentligt at påpege, at det kontrollerede forsøg er gennemført under en række forsimplede forhold i forhold til en eventuel oprensning i felten, ligesom det i forsøgene er tilstræbt, at fremskynde nedbrydningen mest muligt. Der er i den henseende tale om et bevist valg, idet formålet med forsøget udelukkende var at afklare metodens tekniske *potentiale*; dvs. hvor godt virker metoden under betingelser nær det optimale. For at holde temperaturens betydning ude af billedet er det dog valgt, at gennemføre forsøget ved en realistisk (konstant) temperatur på 10°C.

Forskelle på forsøgs- og in-situ forhold

Forsøgene adskiller sig fra en typisk dansk in-situ situation på nogle væsentlige punkter:

- Der er tale om en ukompliceret geologisk situation, da der er benyttet en grundigt homogeniseret sandjord, med få problemer omkring diffusionsbegrænsning, geologisk heterogenitet og kontakt imellem hjælpestoffer og forurening.
- Der er monitoreret løbende for en lang række parametre, med nogenlunde sikkerhed for at resultaterne er repræsentative for hele jordpartiet. Dette har givet en bedre mulighed for en løbende vurdering og justering af oprensningen under forsøget.

Ovenstående betingelser medfører alle som udgangspunkt, at oprensningens forløb i forsøgene vil foregå hurtigere end tilfældet vil være i felten. Det betyder naturligvis, at de estimerede 1.-ordens biologiske nedbrydningsrater er højere end det man som udgangspunkt kan forvente i en given feltsituation.

Det er ligeledes væsentligt at notere sig, at nedbrydningsraterne er bestemt ved et kulbrinteniveau på ned til ca. 800 – 1.000 mg/kg TS, jf. figur 2.4, mens succeskriteriet for en given oprensning som udgangspunkt må forventes at ligge omkring Miljøstyrelsens jordkvalitetskriterium for totalindhold af kulbrinter, dvs. 100 mg/kg TS, eller i visse tilfælde lavere.

Umiddelbart må det forventes, at kulbrintesammensætningen ved forholdsvist lave koncentrationsniveauer vil være væsentligt anderledes end ved højere koncentrationsniveauer, ved oprensningens start, idet de letnedbrydelige kulbrinter vil være forsvundet og restforureningen primært vil bestå af forholdsvist svært nedbrydelige kulbrinter, jf. i afsnit 2.1. Alt andet lige må der således forventes lavere nedbrydningsrater mod slutningen af oprensningen.

#### *Minimale oprensningstider*

På baggrund af ovenstående betragtninger kan de biologiske nedbrydningsrater fra afsnit 2.4.3 dermed benyttes til at give et estimat på den absolut minimale forventede oprensningstid, for så vidt denne er baseret på biologiske processer.

For en homogen fyringsolieforurening med en startkoncentration på f.eks. 5.000 mg/kg TS, der skal nedbringes til et niveau omkring Miljøstyrelsens jordkvalitetskriterium på 100 mg/kg TS, kan der således estimeres en *minimal* nedbrydningstid på 870 dage (ca. 2,4 år) såfremt jorden behandles med BioGel, jf. behandling D. Ved tilsvarende betragtninger kan der estimeres en minimal nedbrydningstid på 1.185 dage (ca. 3,25 år) såfremt jordens naturlige mikroorganismer stimuleres med ilt og næringssalte, jf. behandling B2.

Hvis oprensningsskriteriet antages at være på 500 mg/kg TS i stedet for 100 mg/kg TS, kan der estimeres minimale nedbrydningstider på hhv. 1,4 og 1,9 år ved behandling med BioGel og ved stimulering af de naturligt forekommende mikroorganismer.

Hvis det antages, at temperaturen er 15°C i stedet for 10°C, så kan der skønnes halveringstider på hhv. ca. 120 og 90 dage for behandling B og D ( $Q_{10} = 3$ , jf. afsnit 2.1). I så fald vil de minimale nedbrydningstider kunne estimeres til 1,9 og 1,4 år (5.000 → 100 mg/kg TS).

#### *Oprensning varer år*

Eftersom ovenstående estimater på nedbrydningstider må betragtes som minimale estimater, vurderes det ikke realistisk at forvente nedbrydningstider på mindre end "år", og oprensningstider af varigheden "måneder" må derfor som udgangspunkt betragtes som urealistiske, med mindre der er tale om væsentlige fysiske fjernelsesmekanismer eller væsentligt mindre stringente succeskriterier for oprensningen.

### 2.5 Sammenfatning og vurdering

#### *Entydig effekt af biologisk stimulering*

På baggrund af de gennemførte forsøg ses, at der kan opnås en signifikant forøget olienedbrydning udelukkende ved stimulering af de naturlige mikroorganismer med ilt og næringssalte. Desuden er der påvist signifikant forøgede nedbrydningsaktiviteter i behandlingen tilsat olienedbrydende mikroorganismer, ilt og næringssalte, og i behandlingen tilsat ilt og BioGel, der består af olienedbrydende mikroorganismer, næringssalte og gel.

Forsøgsresultaterne indikerer, at den største effekt opnås med BioGel-behandlingen, mens de to øvrige aktive biologiske behandlinger ikke adskiller sig signifikant fra hinanden. Der er således tilsyneladende ikke opnået en

signifikant ekstra effekt ved tilsætning af kultur frem for udelukkende at stimulere de naturligt forekommende mikroorganismer.

*Oprensning muligvis kortere med BioGel*

For at kvantificere forskellen på BioGel-behandlingen og de øvrige biologiske behandlinger er der estimeret 1.-ordens nedbrydningsrater for de forskellige behandlinger. Resultaterne tyder på, at der, i den aktuelle situation (jord, forureningsniveau m.v.), kan opnås en reduktion af oprensningstiden på 25 – 30 % ved at stimulere med BioGel frem for at stimulere de naturligt forekommende mikroorganismer eller ved at tilsætte en olienedbrydende kultur. Rateestimerterne er dog behæftet med betydelige usikkerheder, hvorfor de observerede tendenser muligvis ikke er signifikante.

*Formentlig stor forskel på naturligt potentiale fra lokalitet til lokalitet*

Det er endvidere værd at bemærke, at forsøgsjorden, efter alt at dømme, som udgangspunkt har en meget lav naturlig mikrobiel aktivitet. På den baggrund kan det ikke udelukkes, at der kan opnås større gavnlig effekt af at stimulere naturlige mikroorganismer på/fra andre lokaliteter. Overordnet set bør dette forhold vurderes før en eventuel stimulering overvejes på en given lokalitet. Hvis det naturlige nedbrydningspotentiale på lokaliteten er tilstrækkeligt ved stimulering med ilt og næringssalte alene er der således ingen grund til at foretage stimulering med eksterne olienedbrydende kulturer, med et øget ressourceforbrug til følge.

*Oprensning varer minimum 1,5 - 3 år*

På baggrund af de estimerede nedbrydningsrater, vurderes det, at biologiske oprensninger af fyringsolie vil tage en årrække, med mindre oprensningen i væsentlig grad suppleres med en fysisk forureningsfjernelse; minimum i størrelsesordenen 1,5 til 3 år, afhængigt af det aktuelle oprensningskriterium.

## 3 Erfaringsopsamling

### *Fremsendt materiale fra 13 sager*

På baggrund af en forespørgsel som Miljøstyrelsen har sendt til amter og kommuner er der fremsendt materiale fra 13 sager, hvor BioGel og/eller beslægtede teknikker har været anvendt. I det følgende gennemgås de generelle erfaringer, der kan udledes fra de fremsendte sagsakter.

Samtlige 13 sager er gennemført af teamProtection Nordic A/S (tPN), der ophørte som udbyder på det danske marked med udgangen af 2003. I dag er Biorem Aps. så vidt vides den eneste danske udbyder af teknologien.

### 3.1 Anvendte biologiske teknikker

#### *Forudgående afværge*

På flere af sagerne har der, inden anvendelsen af BioGel-teknologien (eller en relateret teknologi), været foretaget anden afværge; eksempelvis afgravning. Erfaringsopsamlingen omhandler udelukkende den biologiske del af afværgen, da der kun foreligger summariske (eller ingen) oplysninger om den forudgående afværge i det fremsendte sagsmateriale.

#### *Navne på de anvendte teknikker*

Som nævnt, er det ikke alle projekterne, hvor den anvendte teknologi er benævnt BioGel. I nogle af projekterne har der været anvendt beslægtede teknikker, der er benævnt Novacell, biologisk gel og biovand. I den forbindelse kan det nævnes, at teamProtection Nordic A/S (tPN) i efteråret 2001 afbrød samarbejdet med Response Environmental Technologies (RET), der har forestået udviklingen af BioGel-teknologien [Biorem, 2003] og Novacell-teknologien. Efterfølgende er samarbejdet angiveligt fortsat med Enzyme Technologies [Biorem, 2003]. Umiddelbart ser der ud til at være sammenfald imellem ovenstående skæringstidspunkt og overgangen til anvendelse af teknologier, som tPN benævner "biologisk gel" og "biovand" i det fremsendte sagsmateriale.

#### *Underliggende kulturer formentlig ikke ens; men sammenlignelige*

På baggrund af sagsmaterialet er det ikke klart om der er overensstemmelse imellem de podekulturer, der er benyttet i de forskellige behandlinger, men på baggrund af skiftet i samarbejdspartner vurderes dette ikke at være tilfældet. På trods af at der formentlig ikke er anvendt de samme podekulturer vurderes der dog i alle tilfælde, at være tale om blandede mikrobielle kulturer med olienedbrydende egenskaber. Overordnet set vurderes metoderne således at være sammenlignelige selv om de ikke er ens.

#### 3.1.1 BioGel og biologisk gel

Det er uvist i hvor stor grad der er teknisk overensstemmelse imellem de behandlinger der benævnes hhv. BioGel og "biologisk gel", men i dokumentationsmaterialet fra tPN skelnes der stort set ikke imellem de to løsninger.

#### *Beskrivelse af gel*

På baggrund af de beskrivelser, der foreligger i materialet kan BioGel-teknologien beskrives som en gel, hvori der er blandet olienedbrydende mikroorganismer, kemisk bundet ilt og næringsstoffer, og hvor det produkt, der injiceres i jorden er sammensat ud fra viden om de geologiske og

forureningsmæssige forhold på den konkrete lokalitet. I nogle tilfælde tilsættes ligeledes enzymer og biosolvent (bionedbrydelig sæbe), der angiveligt hjælper med omsætning og biotilgængelighed af de tungere oliefraktioner.

#### *Fysisk tilførsel*

BioGel og biologisk gel introduceres oftest til jorden via injektionsbrønde; evt. filtersatte miljøtekniske boringer, ved gravimetrisk infiltration eller under et let overtryk (op til 4 bar), eller via såkaldte højtrykslanser under stort overtryk (op til 100 bar). I en enkelt sag er der benyttet såkaldt styret underboring til injektion under højt tryk. Dosering af BioGel og biologisk gel sker, i modsætning til biovand, typisk som diskrete tilsætninger med nogle ugers mellemrum.

I enkelte sager er der også eksempler på, at en forholdsvist tyndtflydende gel ledes ud på jord- eller belægningsoverfladen og derefter angiveligt gravimetrisk følger samme spredningsveje som forureningen.

#### **3.1.2 Novacell og biovand**

#### *On-site produktion af kultur*

Overordnet set består både Novacell- og biovandsteknikken i, at der opstilles en reaktor på lokaliteten til automatisk produktion af BioGel eller biovand og evt. iblanding af enzymer og biosolvent. Reaktoren tilføres ilt og holdes opvarmet til ca. 25°C. I enkelte dokumentationsrapporter beskrives det, at biovand i sammensætning svarer til BioGel uden geleringsmiddel.

Via reaktoren sikres en semi-kontinuert tilførsel af BioGel eller biovand til injektionsbrønde eller genopfyldte udgravninger via et antal daglige automatiske udpumpninger.

#### **3.2 Sagsoversigt**

#### *I alt 15 sager*

Nedenfor gives en oversigt over de 13 sager, hvorpå der er fremsendt sagsmateriale samt yderligere to sager som Miljøstyrelsen har kendskab til. Umiddelbart vurderes det, at der forefindes flere sager, hvor BioGel eller beslægtede teknologier bliver eller har været benyttet.

Tabel 3.1 giver en samlet oversigt over de overordnede sagsoplysninger for de 15 foreliggende sager.



Sag nr.	Kommune	Amt	Spild / beliggenhed
1	Gladsaxe	København	Spild fra nedgravet fyringsolietank; beliggende delvist under bygninger
2	Gladsaxe	København	Spild fra nedgravet fyringsolietank; beliggende delvist under bygninger
3	Gladsaxe	København	Gasolie; kilde/omfang ikke opgivet i tilgængeligt materiale
4	Fredericia	Vejle	Spild fra oliefyrsinstallationer; Beliggende under bygning
5	Fredericia	Vejle	Spild ved overfyldning af nedgravet dieselolietank
6	Aarup	Fyn	Læk på oliefyrsinstallationer; Beliggende under bygning
7	Hirtshals	Nordjylland	Læk på fyringsolietank; Beliggende omkring sokkel
8	Stenløse	Frederiksborg	Læk på nedgravet fyringsolietank
9	Stenløse	Frederiksborg	Spild fra mobil dieseltank på/langs villavej; beliggende under vejbelægning
10	Gråsten	Sønderjylland	Læk på fyringsolietank; Beliggende delvist under bygning
11	Herning	Ringkjøbing	Spild fra overjordisk dieseltank; Beliggende delvist under bygning
12	Herning	Ringkjøbing	Spild fra oliefyrsinstallationer; Beliggende delvist under bygning
13	Århus	Århus	Spild fra gasolieanlæg; Beliggende delvist under bygning
14	Hvidovre	København	Spild fra oliefyrsinstallationer; Beliggende delvist under bygning
15	Jelling	Vejle	Læk på fyringsolietank; Beliggende delvist under bygning

**Tabel 3.1:** Overordnede oplysninger for de tilgængelige sager.

### 3.3 Resultater

#### *Vurderinger baseret på sagsmateriale*

Tabel 3.2 indeholder en sammenfatning af de forureningsmæssige og oprensingsmæssige oplysninger for sagerne. Med hensyn til vurdering af forureningsmængder og -koncentrationer både før og efter behandlingen er oplysningerne taget direkte fra det fremsendte materiale, oftest afsluttende rapporter og/eller sammenfattende notater/korrespondance, uden særskilt stillingtagen til prøvetagningstæthed eller -placering.

Med hensyn til den i tabel 3.2 angivne tidsramme, refererer starttidspunktet til tidspunktet for den første behandling, mens sluttidspunktet refererer til tidspunktet for udtagning af dokumentationsprøver; evt. sidste runde dokumentationsprøver såfremt der er udtaget dokumentationsprøver af flere omgange.

Sag nr.	Før behandling			Efter behandling			Behandling <i>Metode</i>	Tidsramme
	Dybde [m.u.t.]	Maks konc. [mg/kg TS]	Mængde <sup>α</sup> [L]	Konc.* [mg/kg TS]	Mængde <sup>α</sup> [L]	Antal prøver		
1	2,5 - 4,0	34.000	550	450 / 970	10 - 20	14	BioGel, Novacell <i>H, IB, I</i>	Jun. 2000 - maj 2003
2	3,0 - 4,5	13.000	130	340 / 580	Ca. 5	12	BioGel, Novacell <i>H, IB</i>	Jun. 2000 - maj 2003
3	1,5 - 3,5	2.200	?	i.s. / 460	< 1	6	BioGel <i>SU, L</i>	Jul. 2000 - dec. 2000
4	0,5 - 2,0	2.900	60 - 70	300 / 490	1 - 2	8	BioGel, biovand <i>IB</i>	Sept. 2002 - mar. 2003
5	?	3.500	8 - 27	700 / 1.000	< 1	10	BioGel <i>L</i>	Jun. 2001 - nov. 2001
6	til ca. 2,0	Fri fase	ca. 300	ca. 500	5 - 6	-	BioGel <i>L, sandfyld</i>	Okt. 2001 - jun. 2002
7	1,3 - 2,0	29.000	50	i.s. / 4.200	ca. 3	4	BioGel <i>IB</i>	Okt. 2001 - nov. 2001
8	3,5 - 8,5	33.000	ca. 600	730 / 1.500	ca. 7	3	BG og biovand <i>I</i>	Apr. 2002 - nov. 2002
9	0,2 - 1,5	14.000	500-800 <sup>#</sup>	220 / 280	?	4	BioGel <i>I</i>	Maj 2001 - jul. 2001
10	0,5 - 3,0	26.000	Ca. 900 <sup>#</sup>	i.s. / 4.100	25 - 30	13	BioGel <i>L, IB</i>	Jan. 2001 - jun. 2001
11	0,0 - 2,5	29.000	55 - 60	ikke påvist	-	2	BioGel, BG, BV <i>IB, grusfyld</i>	Aug. 2001 - mar. 2002
12	0,2 - 5,0	9.300	ca. 1.200	Ikke afsluttet			BioGel, Novacell <i>IB, L</i>	Dec. 2002 -
13	0,0 - >2,0	13.000	50 - 75	- / 85	< 1	3	Biologisk gel <i>H, IB</i>	Dec. 2001 - maj 2002
14	1,0 - 4,0	3.300	?	Ingen effekt			biovand <i>IB</i>	Jan. 2001 - aug. 2002
15	- 4,5	15.000	?	Ikke afsluttet			BG og biovand <i>H, IB,</i>	Nov. 2002 -

**Tabel 3.2:** Oplysninger vedr. forurening, oprensingsniveau og behandlingsmetode.

\* = Før skråstreg: middel; efter skråstreg: maks. koncentration.

i.s. = intet skøn muligt/relevant.

α = Nogle omregnet fra skønnet masse vha. massefylde på 0,85 kg/L.

# = Før afgravning eller anden afværge; intet særskilt skøn før biologisk afværge.

= Forklaringsnøgle: BG = biologisk gel; BV = biovand. H = højtrykklanser; L = lanseinjektion;

IB = injektionsbrønde; I = infiltration; SU = styret underboring.

### Indflydelse af geologi

For størstedelen af sagerne vurderes de geologiske forhold i behandlingsområdet på de enkelte lokaliteter ikke at have afgørende indflydelse på resultatsammenfatningen, hvorfor disse er sammenstillet i bilag D. Dette er dog ikke gældende for sag nr. 14, hvor teknologien, uden held, forsøgte anvendt i en fed leret jord. I hvert fald en del af den manglende succes i denne sag vurderes at kunne skyldes ufavorable geologiske forhold.

<i>Generelt gode erfaringer</i>	Som det fremgår af tabel 3.2 er 12 af de 15 sager afsluttede og på baggrund af sagsoplysningerne er der tilsyneladende generelt opnået gode resultater med anvendelsen af BioGel-teknologien og/eller beslægtede teknologier. For otte af de ni sager, hvor materialet tillader en sammenligning, er der således opnået oprensningsgrader på mellem 94 og 98 %, bedømt på de foreliggende skøn over oliemængden fra start og slut.
<i>Sagsstatus efter endt afværg</i>	Da sagsmaterialet ikke konsekvent indeholder korrespondance i sagen, herunder afsluttende korrespondance imellem miljømyndighederne og bygherren eller dennes rådgiver, kan der ikke siges noget definitivt om succesraten ifht. eventuel påbudsopfyldelse og/eller status ifht. kortlægning på vidensniveau 2. For de 12 afsluttede sager er der dog fundet oplysninger herom i syv sager. Heraf fremgår det, at fem af lokaliteterne ikke kortlægges efter Jordforureningsloven, mens oprensningsspåbud fra kommunen betragtes som værende opfyldt i ét tilfælde. I det sidste tilfælde er sagen afsluttet på en risikovurdering, mens kortlægningsspørgsmålet stadig overvejes.
<i>Tidsramme for afværg</i>	10 af de 15 sager er afsluttet indenfor mindre end ét år. Heraf er seks sager afsluttet indenfor en periode på et halvt år fra første behandling til udtagning af prøver til slutdokumentation. For disse seks sager foreligger der for tre sager oplysninger om at lokaliteten ikke kortlægges på vidensniveau 2; alle tre med en skønnet forureningsmængde på mindre end 50 L fra start.
<i>Uvist om de fremsendte resultater er repræsentative</i>	Som nævnt ovenfor vurderes det umiddelbart, at der er yderligere et antal sager, hvor BioGel eller beslægtede teknologier bliver eller har været benyttet i Danmark. Om det foreliggende sagsmateriale kan betragtes som repræsentativt for alle denne type sager, kan derfor ikke afgøres.

### 3.4 Vurderinger og anbefalinger

I det følgende er der, på baggrund af gennemgangen af det foreliggende sagsmateriale, samt enkelte af erfaringerne fra afsnit 2, foretaget nogle overordnede vurderinger og anbefalinger omkring anvendelsen af denne form for afværgeteknologi.

<i>Forudgående aftale om oprensningskriterier</i>	Det vurderes, at både bygherre, udførende entreprenør og miljømyndigheden har fordel af, at der, inden igangsætningen af den biologiske afværg, er aftalt et succeskriterium for oprensningen med miljømyndigheden, herunder et rimeligt dokumentationsomfang. Det foreliggende materiale giver således indtryk af, at det snarere er undtagelsen end reglen, at disse ting er aftalt inden igangsætningen af den biologiske afværg.
<i>Koncentrationsfald = biologisk nedbrydning?</i>	Sagsmaterialet giver endvidere indtryk af, at alle (tilsyneladende) fald i koncentrationen over tiden i jordprøver, udtaget i ca. samme dybde og punkt i planen, uden videre tilskrives biologisk nedbrydning. Dermed antages efter vores vurdering en uheldig batch-synsvinkel i oprensningen, hvor der indirekte ses bort fra rumlige variationer i forureningsfordelingen og/eller en eventuel forureningstransport under oprensningen. Konsekvensen af at henregne alle, tilsyneladende, koncentrationsfald til biologisk nedbrydning sættes tydeligst i relief når der observeres "stigende" koncentrationer i kortere eller længere perioder, da der jo i givet fald skulle være tale om en forureningsproduktion.

### *Slutdokumentation*

Når der er tale om komplicerede forureningsforhold eller forurening over større områder bør dette afspejles i antallet af prøver der udtages til kemisk analyse i forbindelse med slutdokumentationen, således at der også udtages prøver i områder (horisontalt og vertikalt), hvor der ikke er monitoreret løbende under oprensningen. Et sådant analyseprogram vil i nogen grad tage hensyn til geologiske rumlige variationer og spredningsveje, der potentielt ikke blev afklaret i forbindelse med de indledende undersøgelser på lokaliteten, og dermed give en større tryghed for at oprensningen er foretaget tilfredsstillende. Der bør, i den forbindelse, udtages dokumentationsprøver i behandlingsområdets randområder, dvs. bund og kant.

Det foreliggende materiale giver, i modsætning til ovenstående, indtryk af at der ofte næsten udelukkende udtages prøver i konstaterede hot-spots frem til et tidspunkt i løbet af oprensningen, hvor der konstateres et tilfredsstillende koncentrationsniveau i det enkelte monitoringspunkt, hvorefter monitoringen i dette punkt indstilles og monitoringen fortsættes i de øvrige monitoringspunkter. Ved en sådan monitoringsstrategi ses der indirekte bort fra betydningen af de rumlige variationer i forureningsituationen der kan være betydelig indenfor ganske korte afstande, ligesom der kun monitoreres i områder, hvor indsatsen har været koncentreret, og hvor oprensningseffekten kan antages at have været størst.

### *Generelt meget sparsom dokumentation*

Generelt, om end ikke for alle sager, vurderes der at være tale om en meget sparsom (slut)dokumentation af oprensningen, hvilket sætter spørgsmålstegn ved de tilsyneladende generelt gode resultater skitseret i afsnit 3.3.

### *Indledende vurdering af stimuleringsstrategi*

Inden der tilsættes en olienedbrydende kultur på en given lokalitet vurderes det overordnet set at kunne være hensigtsmæssigt, at udføre nogle korte forsøg (varighed ca. 5-10 dage) med forurenede jord fra lokaliteten til vurdering af den overordnede stimuleringsstrategi. I sådanne forsøg kunne det indledningsvist vurderes, hvor stort et nedbrydningspotentiale den naturlige jord på lokaliteten besidder ved stimulering med næringssalte og ilt, og hvor stor en yderligere gevinst der kan opnås ved en eventuel stimulering med olienedbrydende kultur og/eller BioGel. Der kunne f.eks. være tale om en respirationstest, hvor en given mængde olieforurenede jord, i en lukket flaske (f.eks. 250 mL), tilsættes en mængde næringssalte, kultur og/eller BioGel, der mængdemæssigt svarer til den påtænkte strategi. Efterfølgende sammenlignes udviklingen i ilt- og kuldioxidkoncentrationen, som mål for den biologiske aktivitet.

### *Dokumentation af aktivitetsniveau*

I forlængelse af ovenstående vurderes det, at alle kunne have gavn af et standardiseret aktivitetsmål, der kan benyttes til at vurdere og dokumentere aktivitetsniveauet for den biologiske kultur der tilsættes på en given lokalitet. Der vurderes således, at kunne være betydelige forskelle i aktivitetsniveauet for kulturer, der tilsættes fra gang til gang. Der kunne f.eks. være tale om en respirationstest, hvor en given mængde bakteriekultur og olie (som eneste substrat) sammenblandes i en lukket flaske, og hvor udviklingen i ilt- og kuldioxidkoncentrationen måles over tid. Der kunne alternativt være tale om en substrat-specifik test, eksempelvis som den der er beskrevet i bilag C.7.

## 4 Vurderinger

### *Laboratorieforsøg*

Der er gennemført et laboratorieforsøg med stimuleret biologisk nedbrydning af en frisk fyringsolieforurening i en uforurennet sandjord. Tre forskellige stimuleringsstrategier er undersøgt – under optimale forhold:

1. Stimulering af naturligt forekommende mikroorganismer med ilt og næringssalte.
2. Stimulering ved tilsætning af en olienedbrydende mikroorganismer, ilt og næringssalte.
3. Stimulering ved tilsætning af BioGel (olienedbrydende mikroorganismer og gel), ilt og næringssalte.

På baggrund af de gennemførte laboratorieforsøg ses, at der er opnået en signifikant forøget olienedbrydning udelukkende ved stimulering af naturlige mikroorganismer med ilt og næringssalte, mens der tilsyneladende ikke er opnået en signifikant ekstra effekt ved at tilsætning af olienedbrydende mikroorganismer. Den største effekt blev opnået med BioGel-behandlingen, og det er estimeret, at der kan opnås en reduktion af den biologiske oprensningstid på 25 – 30 % frem for udelukkende at stimulere de naturligt forekommende mikroorganismer; et estimat der dog er behæftet med betydelige usikkerheder.

Det bemærkes, at der er taget udgangspunkt i en forsøgsjord med et formodet lavt mikrobiologisk aktivitetsniveau, hvorfor det formodes, at det naturlige nedbrydningspotentiale, ved stimulering med ilt og næringssalte, kan være større på andre lokaliteter.

### *Biologiske teknikker har potentiale – men tager tid*

På baggrund af forsøgsresultaterne vurderes det, at stimuleret biologisk nedbrydning, både med og uden BioGel, har et teknisk potentiale som afværgeteknologi, men det skal fremhæves, at der bør anlægges et realistisk forventningsniveau til oprensningshastigheden. På baggrund af forsøgene er det vurderet, at oprensninger af denne type formentlig tager en årrække; med absolut minimum i størrelsesordenen 1,5 til 3 år, med mindre den biologiske oprensning i væsentlig grad suppleres med en fysisk forureningsfjernelse.

### *Erfaringsopsamling*

Der er foretaget en opsamling på de danske erfaringer fra i alt 15 sager, hvor BioGel eller nært beslægtede teknologier har været anvendt til in-situ oprensning af fyringsolie- eller dieselolie. Heraf var 12 sager afsluttet på indsamlingstidspunktet. Det vides ikke om det foreliggende sagsmateriale kan betragtes som repræsentativt for denne type oprensninger.

### *Generelt gode erfaringer – dog ikke i ler*

På baggrund af de foreliggende sagsoplysninger er der tilsyneladende generelt opnået gode resultater med anvendelsen af BioGel-teknologien og/eller beslægtede teknologier, dog ikke i deciderede lerjorde.

### *Sagsstatus efter endt afværge*

For syv af de 12 afsluttede sager, fremgår det af sagsmaterialet, at fem lokaliteter ikke V2-kortlægges, mens oprensningspåbud fra kommunen betragtes som værende opfyldt i ét tilfælde. I et enkelt tilfælde er sagen afsluttet på en risikovurdering, mens kortlægningsspørgsmålet stadig overvejes. På de resterende fem sager foreligger der ikke oplysninger om sagsstatus efter endt afværge i det fremsendte materiale.

<i>Tidsramme for afværgen</i>	Ti af de 15 sager er afsluttet indenfor mindre end ét år. Heraf er seks af sagerne afsluttet indenfor en periode på et halvt år. Dette er bemærkelsesværdigt set i forhold til de opnåede laboratorieresultater.
<i>Generelt meget sparsom dokumentation</i>	Der kan dog stilles spørgsmål ved ovenstående tilsyneladende gode resultater da der generelt, om end ikke for alle sager, vurderes at være tale om en meget sparsom (slut) dokumentation af oprensningen.
<i>Overordnede anbefalinger</i>	<p>På baggrund af gennemgangen af det foreliggende sagsmateriale og erfaringerne fra laboratorieforsøget, er der opstillet nogle overordnede anbefalinger omkring anvendelsen af biologisk afværgen:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Succeskriterium og dokumentationsniveau bør aftales med miljømyndigheden inden igangsætning af afværgen. Dette har, så vidt det fremgår af det foreliggende materiale, ikke været tilfældet i størstedelen af de gennemgæede sager.</li> <li>• Slutdokumentationen bør omfatte prøvetagning i områder udenfor konstaterede hot-spots, hvor der ikke er monitoreret løbende under oprensningen.</li> <li>• Det vurderes at kunne være økonomisk fordelagtigt at undersøge nedbrydningspotentialer ved stimulering af de naturlige mikroorganismer, og sammenholde dette med potentialer ved stimulering med eksterne kulturer, inden en afværgen baseret på tilsætning af olienedbrydende kulturer, herunder BioGel, igangsættes.</li> <li>• Der vurderes at være behov for et standardiseret aktivitetsmål, der kan benyttes til at vurdere og dokumentere aktivitetsniveauet for eksterne mikrobielle kulturer der påtænkes tilsat på en given lokalitet.</li> </ul>

## 5 Referencer

- Borggaard et al. (1988)* Borggaard, O.K., J.P. Møberg og L. Petersen, 1988. Edafologi; Øvelsesvejledning for jordbundsundersøgelser. DSR Forlag, København.
- EPA (1995)* USEPA, 1995. Bioventing Principles and Practice. Volume I: Bioventing Principles. EPA/540/R-95/534a.
- Helweg (1988)* Helweg, A. (red.), 1988. Kemiske stoffer i landjordsmiljøer. Teknisk Forlag A/S. ISBN 87-571-1035-2.
- Hesselsoe (2005)* Hesselsoe, M., M.L. Bjerring, K. Henriksen, P. Loll og J.L. Nielsen, 2005. Substrate preferences of microbial mixtures proposed for bioaugmentation. Manuskript indsendt med henblik på publikation i Environmental Science & Technology.
- Miljøstyrelsen (1998a)* Miljøstyrelsen, 1998. Branchevejledning for benzin- og olieforurenede grunde. Vejledning nr. 11.
- Miljøstyrelsen (1998b)* Miljøstyrelsen, 1998. Oprydning på forurenede lokaliteter - hovedrapport. Vejledning nr. 6.
- Miljøstyrelsen (1998c)* Miljøstyrelsen, 1998. Oprydning på forurenede lokaliteter – appendikser. Vejledning nr. 7.
- Romano og Santini (1997)* Romano, N. og A. Santini, 1997. Effectiveness of using pedo-transfer functions to quantify the spatial variability of soil water retention characteristics. Journal of Hydrology, vol. 202, side 137-157.



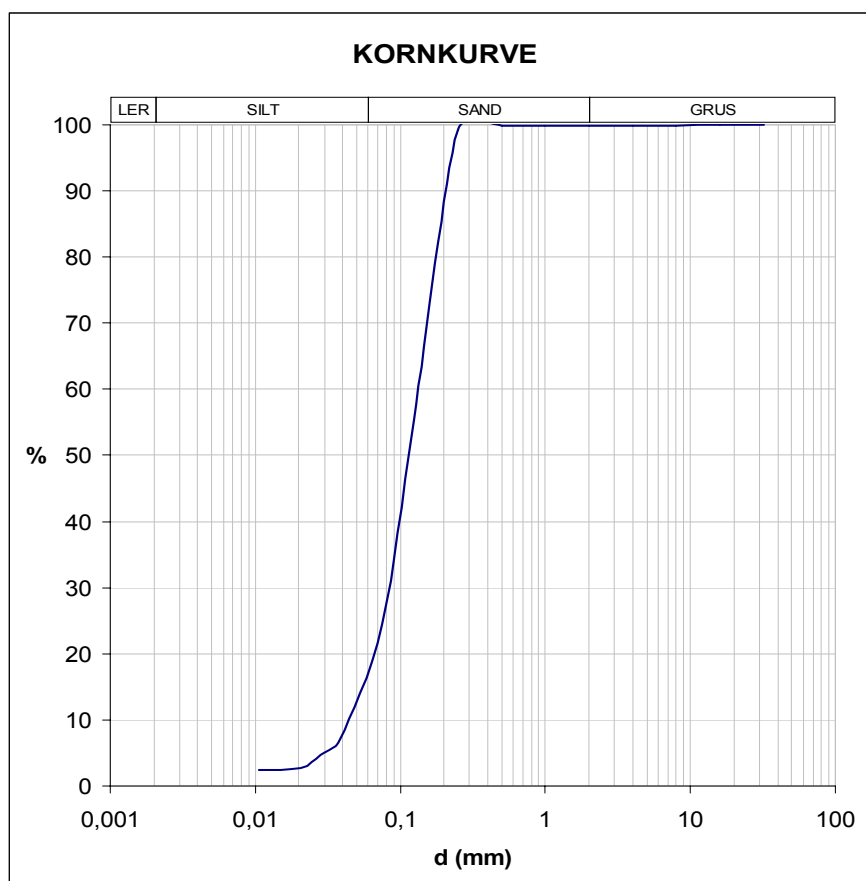


## 6 Bilag



# Bilag A: Jordkarakterisering

DMR har den 16. februar 2004 udtaget jord på en uforurenet lokalitet i det sydøstlige Vendsyssel (2,0-2,5 m.u.t.). Der er foretaget sigte- og hydrometeranalyse samt vandindholds- og glødetabsbestemmelse på jorden. Kornstørrelsesfordelingen er gengivet i figur A.1. På baggrund af kornstørrelsesfordelingen kan jorden karakteriseres som finsand.



Figur A.1: Kornstørrelsesfordeling for forsøgsjord.

Nøgletal for jorden fremgår af tabel A.1, hvor indholdet af organisk kulstof ( $f_{oc}$ ) er estimeret på baggrund af glødetabet via følgende relation:  $f_{oc} = \text{glødetab}(\%)/100 \cdot 0,58$  [Romano og Santini, 1997].

Jordtype	w (%)	Ler (%)	Silt (%)	Sand (%)		Gru s (%)	Glødeta b (%)	$f_{oc}$ (-)
				fin	mellem			
Finsand	10,4	0	17	73	10	0	0,71	0,004

Tabel A.1: Resultater af jordtypekarakterisering.



# Bilag B: Opsætning af laboratorieforsøg

Forsøgsmatricen for forsøget til gennemførelse af en kontrolleret afprøvning af BioGel-teknologien i forhold til nedbrydning af frisk fyringsolie fremgår af tabel B.1.

Behandling	Kontrol		Naturlig		Kultur		BioGel	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Ilt	X	X	X	X	X	X	X	X
Næringssalte			X	X	X	X	X	X
Mikroorganismer					X	X	(X)	(X)
BioGel							X	X

Tabel B.1: Forsøgsmatrice. (X) = BioGel indeholder kultur.

## A.1: Initial forsøgsopsætning

Forsøget er igangsat den 11. august 2004. Til stede ved forsøgsopsætningen var: Per Loll (Dansk Miljørådgivning A/S), Kaj Henriksen (Aalborg Universitet) samt Jørgen Mølgaard Christensen og Per Axelgaard (begge Biorem).

### *Jord og vandindhold*

Forsøgene er udført på en finkornet sandjord udtaget den 16. februar 2004 af DMR; jf. bilag A. Som det fremgår af bilag A er det naturlige vandindhold i sandjorden (ved markkapacitet) ca. 10 w/w %, hvorfor det er tilstræbt, at gennemføre forsøgene ved et initialt vandindhold på ca. 8 w/w %, svarende til et vandindhold tæt på markkapacitet, men med mulighed for yderligere tilsætning af diverse forbrugsstoffer.

Inden forsøgsopsætningen blev der foretaget en lufttørring af sandjorden ved at udbrede denne i et tyndt lag. Der blev efterfølgende udført dobbeltbestemmelse af startvandindholdet i jorden (hhv. 0,5 og 0,3 w/w %). Der blev afvejet otte portioner á 5 kg jord, svarende til ca. 4,98 kg TS.

### *Olie*

Alle forsøgsbeholdere er til start tilsat 18 mL frisk fyringsolie, svarende til et startniveau på ca. 3.070 mg/kg TS.

### *Næringssalte*

Til behandlingerne B, C og D er der tilsat næringssalte i opløsning leveret af Biorem. Densiteten for næringssaltopløsningen er opgivet til 1,36 g/mL. Opløsningen indeholder kvælstof (N), fosfor (P) og svovl (S) i følgende koncentrationer: N (200 g/L) : P (50 g/L) : S (30 g/L)

Der er tilstræbt en tilsætning af næringssaltopløsningen på mellem 1 og 2 mL pr. behandling, svarende til det forventede behov ved nedbrydning af ca. 25 % af den tilsatte fyringsolie. På baggrund af oplæg fra Biorem er behandling B og C tilsat 1,1 mL næringssaltopløsning, mens behandling D er tilsat 0,74 mL.

Den mindre tilsætning for behandling D end for behandling B og C skyldes et indhold af næringssalte i den tilsatte gel anslået af Biorem på ca. 0,5 g, hvilket omregnet til en ækvivalent mængde næringssaltopløsning giver ca. 0,36 mL.

Biorem har efterfølgende oplyst, at der i kulturen tilsat behandling C kan anslås en maksimal kvælstofkoncentration på ca. 0,4 g/L, mens der i BioGel'en tilsat behandling D kan anslås en maksimal kvælstofkoncentration på ca. 0,48 g/L. Begge disse koncentrationer er anslået på baggrund af den mængde kvælstof der er tilsat under opformeringen, samt under antagelse af at der ikke er sket biomassevækst, hvorfor der er tale om absolut maksimale estimater.

Ved den aktuelle tilsætning af kultur og BioGel på 300 g (se nedenfor), kan det på baggrund af ovenstående anslås, at kvælstoftilsætningen med kultur og BioGel har været på maksimalt mellem 0,12 og 0,14 g N pr. tønde. Dette modsvarer en maksimal ækvivalent tilsætning af næringssaltopløsning til behandling C og D på hhv. ca. 0,6 og 0,7 mL.

#### *Kultur/BioGel*

Behandling C er tilsat mikroorganismer i form af 300 mL kultur (BS03) opdyrket i vandig suspension af Biorem. Kulturen tilsat behandling C består således af mikroorganismer samt den suspension de er opvokset i med eventuelt restindhold af substrater (olie, glukose) og næringssalte. Der bemærkedes en svag olielugt i kulturen ved forsøgsopstillingen. pH i kulturen er af Biorem oplyst til 7,4.

Behandling D er tilsat BioGel, der er en færdig blanding af vand, mikroorganismer (BS03), 1,5 % gel (celluloseether) og 0,5 % calciumkarbonat. Opdyrkningen af bakterier er foretaget i gelen, således, at mikroorganismene er tilvænnet forholdene i denne. pH i BioGelen er af Biorem oplyst til 6,8. Der er arbejdet efter en geltilsætning på 300 g pr. tønde (300 g gel pr. 4,98 kg TS), svarende til dosering af ca. 6 % BioGel.

Biorem har oplyst, at de olienedbrydende kulturer er opvokset ved 23°C med glukose og dieselolie som substrater (forhold mellem 2,5:1 og 5:1).

#### *Faktisk tilsætning*

I tabel B.2 er der foretaget en sammenstilling af de faktiske tilsætninger af diverse forbrugsstoffer til de otte forsøgsbeholdere.

Behandling	Kontrol		Naturlig		Kultur		BioGel	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Olie [mL]	18	18	18	18	18	18	18	18
Næringssalte [mL]	0	0	1,1	1,1	1,1*	1,1*	0,74*	0,74*
Kultur [mL]	0	0	0	0	300	300	0	0
BioGel [mL]	0	0	0	0	0	0	299,1	300
Vand [mL]	400	400	400	400	100	100	100	100

**Tabel B.2:** Initial forsøgsopsætning.

\* = eksklusiv det der er tilsat via kultur og BioGel.

#### *Fysisk opsætning*

For at opnå en homogen opblanding af olie i de ca. 5 kg jord pr. beholder er der først udtaget mellem 250 og 350 g jord i en mindre plasticpose. I dette mindre batch er der tilsat olie, hvorefter der er foretaget en grundig sammenblanding.

Efterfølgende er der foretaget en sammenblanding af den mindre delmængde i resten af jordpartiet sammen med de afmålte væskemængder (kultur, BioGel og vand tilsat næringssaltopløsning). Sammenblanding er foretaget i en klar plasticpose, hvorfra der er udtaget jordprøver til startkarakterisering af

kulbrinteindhold, kimtal, pH og kvælstof. Efterfølgende er indholdet i poserne overført til en på forhånd afmærket beholder.

For at opnå en ensartet prøvebehandling har én og samme person foretaget afmærkning af prøveemballage og afmåling af olie og næringssalte, mens én har foretaget sammenblanding af behandling A1, B1, C1 og D1, én har foretaget sammenblanding af behandling A2, B2, C2 og D2, og én har stået for efterfølgende prøveudtagning og overførsel til tønderne.

#### *Bemærkninger*

Under sammenblanding af jorden til behandling A2 opstod der et hul i plasticposen, hvorved en mindre jordmængde (~ 200 g) faldt på gulvet. Denne jordmængde blev efterfølgende opsamlet og sammenblandet med resten af jordmængden.

For tønde D1 blev næringssaltopløsningen ved en fejl ikke tilsat den afmålte vandmængde inden vandet blev tilsat jorden. Næringssaltene blev tilsat efterfølgende, hvorefter sammenblandingen blev foretaget.

Ovenstående vurderes ikke at have nogen betydning for forsøgsresultaterne.

### **A.2: Supplerende behandling**

#### *Tidspunkt*

På forsøgets dag 57 er der foretaget en supplerende behandling. Der er redegjort for motivationen og detaljerne for behandlingen i det følgende.

#### *Vandindhold*

Resultaterne for vandindholdet fra dag 36, viser tilsyneladende et fald i vandindholdet i jorden i samtlige forsøgsbeholdere fra ca. 7,3 til ca. 5,8 w/w %, jf. bilag C.3. På baggrund af disse resultater er det vurderet hensigtsmæssigt at hæve vandindholdet med 4 % til et niveau omkring 10 %, svarende til jordens markkapacitet, jf. bilag A.

En øgning af vandindholdet med ca. 4 % er, på baggrund af et skøn over den resterende jordmængde i beholderne, vurderet at svare til ca. 185 mL væske pr. beholder.

#### *Kultur/BioGel*

Ved feltanvendelse af BioGel-teknologien vil der ifølge Biorem ofte blive foretaget en supplerende behandling/reinjektion af BioGel efter en periode på omkring 3 uger. Ved den påtænkte hævning af vandindholdet er det således vurderet hensigtsmæssigt, og repræsentativt for feltanvendelser af teknologien, at foretage en yderligere tilsætning af mikroorganismer, hhv. kultur og BioGel, til jorden for behandling C og D.

Behandling C er tilsat mikroorganismer i form af 185 mL kultur opdyrket i vandig suspension af Biorem. Behandling D er tilsat ca. 185 g BioGel med en gel-koncentration på 1 %, hvorimod den første gel-behandling blev foretaget med 1,5 % gel. Den lavere gel-koncentration er valgt for at lette homogeniseringen af jorden.

#### *Næringssalte*

Til behandlingerne B, C og D er der tilsat næringssalte, svarende til ca. 1 mL stokopløsning. Næringssaltene er opløst i de tilsatte væskemængder, jf. ovenfor. Biorem har således oplyst, at koncentrationen af kvælstof (N) og fosfor (P) i hhv. postevand (tilsat behandling B), kultur (tilsat behandling C) og BioGel (tilsat behandling D) var 670 mg nitrat-N/L, 240 mg ammonium-N/L, 210 mg amid-N/L og 130 mg fosfat-P/.

Totalt set er hver beholder således tilsat ca. 0,21 g N og 0,024 g P, svarende til en stigning i kvælstofkoncentrationen med ca. 47 mg N/kg TS (+28 mg nitrat-N/kg TS og +19 mg ammonium-N/kg TS), hvilket ses at stemme overens med de faktiske målinger, jf. bilag C.5.

### *Tilsætning*

I henhold til ovenstående betragtninger er behandling A tilsat 185 mL postevand, mens behandling B er tilsat 185 mL fortyndet næringsopløsning, svarende til 1 mL stokopløsning opløst i 184 mL postevand, behandling C er tilsat 185 mL kultur og behandling D er tilsat ca. 185 g BioGel. Både kultur og BioGel indeholder en mængde næringssalte der svarer til den fortyndede næringsopløsning som er tilsat behandling B.

For at opnå en homogen opblanding af de tilsatte væskemønder, er væsken så vidt muligt spredt jævnt ud over jorden i hver beholder. Derefter er der foretaget en manuel opblanding af jorden. Tilsætningen og opblandingen er foretaget under en påspændt plasticpose, som beskrevet i afsnit 2.3.



# Bilag C: Forsøgsresultater

I det følgende er detailresultaterne for det udførte kontrollerede laboratorieforsøg gennemgået og vurderet.

## A.3: Kulbrinter

Resultaterne fra analyserne for totalindhold af kulbrinter i jordprøverne fremgår af afsnit 2.4. I det følgende vurderes yderligere detailresultater af kulbrinteanalyserne i form af resultater for indhold af BTEX i jordprøverne, udvalgte chromatogrammer for behandlingerne og resultaterne fra de analyserede kulrør, ligesom der er foretaget en kvantitativ vurdering af reduktionen i kulbrintekonzentrationerne.

### A.3.1: BTEX'er

*BTEX i jordprøver*

Resultaterne for summen af BTEX i jordprøverne fremgår af tabel C.1.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	10	5,9	8,0	9,8	5,7	7,8	6,2	4,9	5,6	5,9	4,3	5,1
14	2,9 3,5	3,4	3,3	7,4	4,2	5,8	0,58	0,53	0,56	1,7	1,5	1,6
36	i.a.	i.a.	-	i.a.	i.a.	-	i.a.	i.a.	-	i.a.	i.a.	-
57	1,3 0,79	1,2 1,4	1,2	0,21 0,22	0,15 0,13	0,18	0,18	i.p.	0,09	i.p.	i.p.	-
70	0,99	0,67 0,81	0,82	i.p.	i.p. i.p.	-	i.p.	i.a.	-	i.a.	i.a.	-
84	0,66	0,62	0,64	i.a.	i.a.	-	i.a.	i.a.	-	i.a.	i.a.	-

**Tabel C.1:** Forsøgsresultater for sum af BTEX [mg/kg TS].

i.p. = ikke påvist (under analysemetodens analysegrænse).

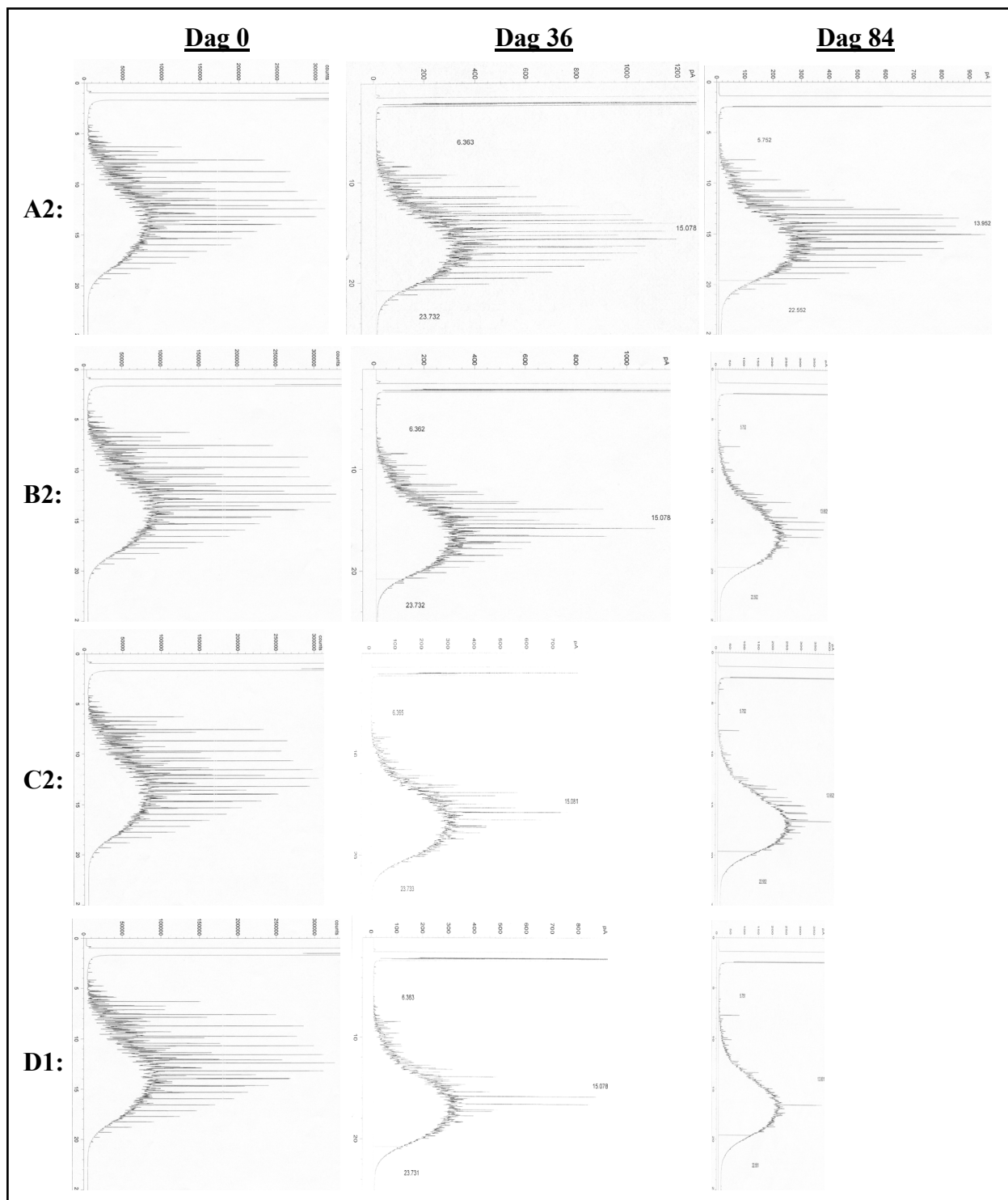
i.a. = ikke analyseret.

Som det fremgår af tabel C.1 er der konstateret mere end en faktor to i forskel på indholdet af BTEX'er fra starten af forsøget. Dertil kommer, at visse analyseresultater (for totalindhold af kulbrinter) ikke er vurderet repræsentative for middelinholdet i jorden på analysetidspunktet, jf. afsnit 2.4. Disse faktorer vanskeliggør en direkte sammenligning imellem de forskellige behandlinger.

Ovenstående usikkerheder til trods vurderes der at være følgende tendenser i data: En hurtig BTEX-reduktion i behandling C indenfor de første 14 dage, efterfulgt af behandling D og B. Reduktionen i kontrollen (A) foregår uden sammenligning, langsomt, og dette er den eneste behandling hvor der stadig er påvist BTEX'er efter dag 57.

### A.3.2: Chromatogrammer

Figur C.1 viser chromatogrammer for udvalgte, repræsentative, behandlinger og analysetidspunkter. Skaleringen af y-aksen tillader en visuel sammenligning imellem de forskellige behandlinger til hvert analysetidspunkt.



Figur C.1: Chromatogrammer for udvalgte, repræsentative, behandlinger og tidspunkter. Som det fremgår af figur C.1 er der, helt som forventet, en

tydelig visuel overensstemmelse imellem chromatogrammerne for de enkelte behandlinger ved forsøgets start.

Den mest markante forskel på behandlingerne er den udtalte relative mangel på alkaner for de biologisk aktive behandlinger (B, C og D) fra dag 36 og frem. Sammenholdt med de øvrige resultater vurderes denne relative mangel på alkaner for de biologisk aktive behandlinger at skyldes en biologisk nedbrydning af disse forholdsvist letnedbrydelige komponenter i fyringsolien.

For dag 84 er denne tendens specielt udtalt, og det kan, rent visuelt, konstateres, at fjernelsen af alkaner har været størst for BioGel-behandlingen (D1), mens den er en anelse mindre (og på ca. samme niveau) for de øvrige biologiske behandlinger (B2 og C2).

### A.3.3: Kulrør

#### Kulbrinter på kulrør

I tabel C.2 er resultaterne for kulbrinteindholdet på de analyserede kulrør (behandling B, C og D) gengivet. De angivne resultater repræsenterer de flygtige kulbrinter som er fortrængt fra forsøgsbeholderne under injektion af ren ilt til de enkelte forsøgsbeholdere, jf. afsnit C.2.

Komponent	Naturlig		Kultur		BioGel	
	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Benzen	0,08	0,057	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
Toluen	0,25	0,18	<0,05	<0,05	0,061	0,050
Ethylbenzen	0,27	0,31	0,10	0,047	0,13	0,057
Xylener	1,7	0,77	0,34	0,17	1,2	0,62
Sum BTEX	2,3	1,3	0,44	0,22	1,4	0,73
C9+C10-aromater	2,9	0,41	0,60	0,19	3,6	0,91
Totalindhold	550	160	740	540	1.400	640

**Tabel C.2:** Resultater for indhold af kulbrinter i kulrør [ $\mu\text{g/rør}$ ].

Som det fremgår af tabel C.2 er der forholdsvis stor forskel på det abiotiske tab af kulbrinter for de forskellige beholdere. En del af forskellen skyldes forskelle i de luftmængder, som indholdene repræsenterer, og en del af forskellen skyldes luftmængdernes fordeling i tid.

#### Abiotisk tab

Det største tab er observeret fra beholder D1, svarende til 1,4 mg kulbrinter. Da det samlede indhold af kulbrinter i beholderne fra start var ca. 15,3 g fyringsolie, svarer det observerede abiotiske tab af kulbrinter fra beholder D1 til under 0,1 ‰ af det samlede kulbrinteindhold i beholderen fra forsøgets start. Tilsvarende svarer tabet af BTEX i alle tilfælde til mindre end 0,05 ‰ af jordens totale startindhold af BTEX'er.

På baggrund af ovenstående betragtninger vurderes det abiotiske tab som følge af injektionen af ren ilt at være ubetydelig.

### A.3.4: Kvantitativ vurdering af kulbrinterreduktion

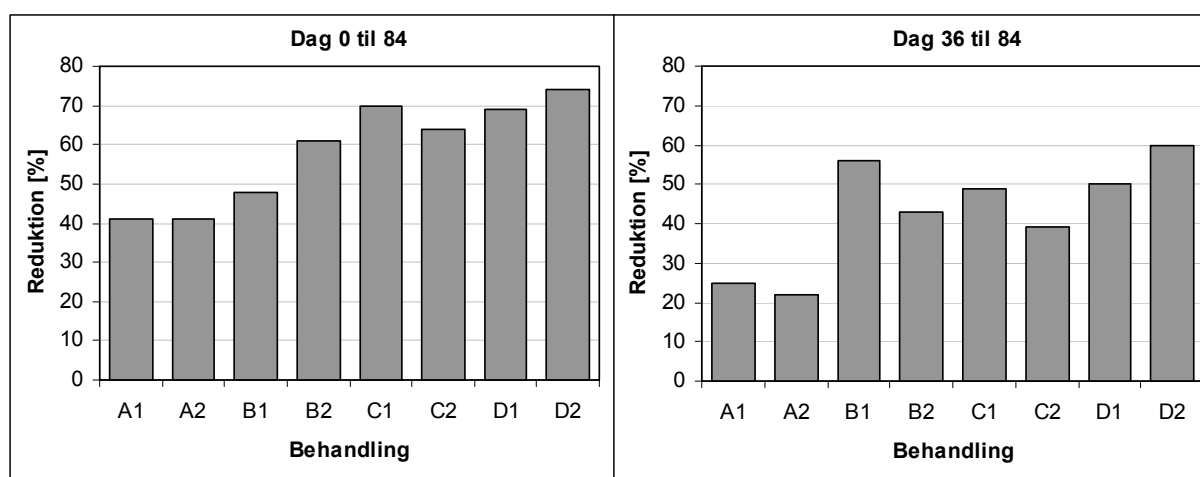
Den procentuelle reduktion i totalindholdet af kulbrinter fra dag 0 til 84 fremgår af tabel C.3, hvor udgangsniveauet er fastlagt som den faktiske tilsætning af fyringsolie på dag 0 (ca. 3.100 mg/kg TS). Grundet usikkerhed omkring kulbrinteindholdet til og med dag 14, er der ligeledes beregnet en procentuel reduktion i totalindholdet af kulbrinter fra dag 36 til 84.

Reduktion [%]	Kontrol		Naturlig		Kultur		BioGel	
	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Dag 0 til 84*	41	41	48	61	70	64	69	74
Dag 36 til 84	25	22	56	43	49	39	50	60

Tabel C.3: Reduktion i det totale kulbrinteindhold [%].

\* = Antaget kulbrinteindhold på dag 0 = 3.100 mg/kg TS.

Resultaterne fra tabel C.3 er gengivet grafisk i figur C.2.



Figur C.2: Reduktion i totalindhold af kulbrinter fra hhv. dag 0 til dag 84 og fra dag 36 til dag 84.

Som det fremgår af figur C.2 er der tale om entydige resultater i de to delanalyser, der bekræfter de kvalitative konklusioner fra figur 2.1. Således observeres det, at kulbrinterreduktionen for de stimulerede behandlinger adskiller sig klart fra kontrolbehandlingerne (A1 og A2).

#### Behandling B (naturlig)

Som det fremgår af afsnit 2.4.2 er det for behandling B1 vurderet, at der ikke kan påvises en signifikant biologisk nedbrydning på baggrund af kulbrinterresultaterne (selvom alle øvrige indikatorparametre viser biologisk aktivitet på niveau med behandling B2). Men for behandling B2 er der, i forhold til kontrolbehandlingerne, observeret yderligere ca. 20 % reduktion ved stimulering af de naturlige mikroorganismer med ilt og næringssalte, både set over hele forsøgsperioden og over de sidste 7 uger af forsøget.

#### Behandling C (kultur)

For C-behandlingerne, stimuleret med ilt, næringssalte og kultur, opnået en yderligere reduktion i kulbrinteindholdet på mellem 25 og 30 %, over hele forsøgsperioden, og på 15 til 25 % over de sidste 7 uger.

### Behandling D (BioGel)

For D-behandlingerne, stimuleret med ilt og BioGel, opnås en yderligere reduktion i forhold til kontrolbehandlingerne, på 30 til 35 % over hele forsøgsperioden, og på 25 til 35 % over de sidste 7 uger.

#### A.4: Ilt og kuldioxid

Der er foretaget tilsætning af ren ilt på dag 14 (C og D) og dag 29 (B, C og D). De tilsatte mængder fremgår af tabel C.4.

Tid	Kontrol		Naturlig		Kultur		BioGel	
Dag	A1	A2	B1	B2	C1	C2	D1	D2
14	-	-	-	-	2,0	2,0	2,0	2,0
29	-	-	2,7	2,1	2,7	3,7	3,0	2,1
Sum	0	0	2,7	2,1	4,7	5,7	5,0	4,1

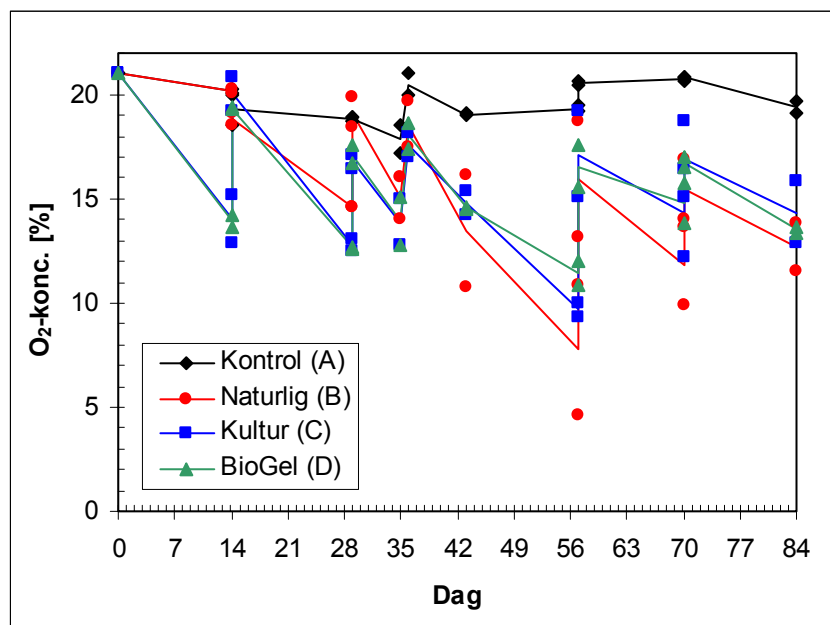
Tabel C.4: Tilsætning af ren ilt til forsøgsbeholderne [L].

Analyseresultaterne for ilt i beholderatmosfæren fremgår af tabel C.5.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0	21,0
14	20,3 18,6	20,1 20,0	20,2 19,3	20,1 18,6	20,3 19,1	20,2 18,8	15,1 20,9	12,9 19,2	14,0 20,1	14,2 19,4	13,7 19,3	14,0 19,3
29	19,0	18,7	18,8	14,6 18,5	14,6 19,9	14,6 19,2	13,1 16,4	12,5 17,1	12,8 16,8	12,6 17,6	12,7 16,7	12,6 17,1
35	17,2	18,5	17,9	14,0	16,1	15,1	12,7	15,0	13,9	15,1	12,8	13,9
36	20,0	21,1	20,5	17,5	19,7	18,6	17,0	18,2	17,6	18,6	17,4	18,0
43	19,1	19,0	19,1	10,8	16,1	13,4	14,3	15,4	14,8	14,5	14,6	14,6
57	19,5 20,7	19,2 20,5	19,3 20,6	4,6 13,1	10,9 18,7	7,7 15,9	10,0 15,0	9,4 19,3	9,7 17,1	12,0 17,6	10,9 15,6	11,5 16,6
70	20,8 20,9	20,7 20,8	20,7 20,9	9,9 14,0	13,7 17,0	11,8 15,5	12,2 15,1	16,5 18,7	14,3 16,9	15,7 17,0	13,8 16,5	14,8 16,7
84	19,7	19,1	19,4	11,5	13,8	12,7	12,9	15,8	14,4	13,6	13,4	13,5

Tabel C.5: Forsøgsresultater for ilt i beholderatmosfæren [%].

Resultaterne for ilt er vist grafisk i figur C.3.



Figur C.3: Resultater for iltindhold i beholderatmosfæren.

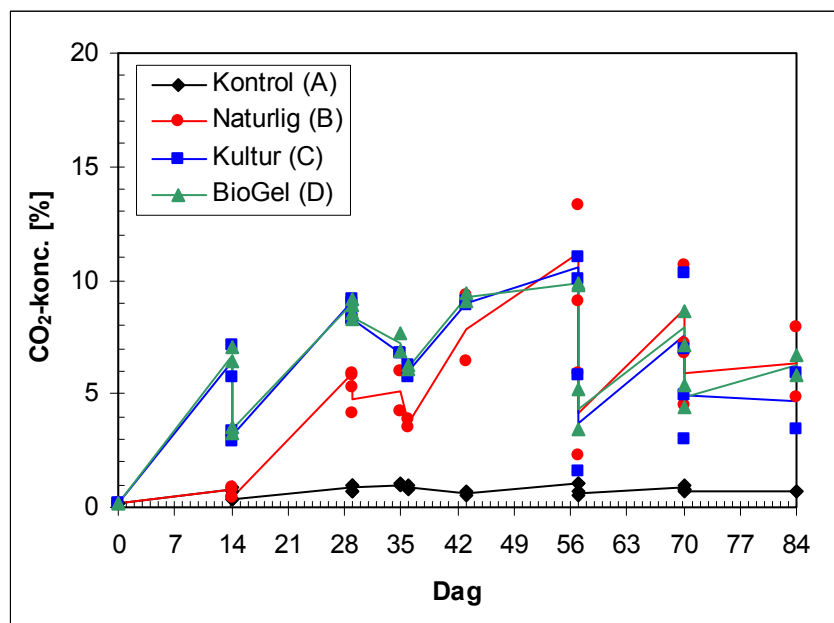
Som det fremgår af figur C.3 er der kun 2 gange konstateret iltindhold under target-indholdet på 10 %. Der er konstateret et klart iltforbrug i behandling B, C og D, mens forbruget i behandling A umiddelbart vurderes at være negligerbart. For behandling B ses iltforbruget først at starte efter dag 14, hvorfor det vurderes at der for denne behandling er tale om en lagfase på i størrelsen 14 dage (eller lidt mere). Denne lagfase springes tilsyneladende over ved tilsætning af eksterne kulturer, hvor der kan konstateres et signifikant iltforbrug indenfor de første 14 dage.

Resultaterne for kuldioxid i beholderatmosfæren fremgår af tabel C.6.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
14	0,7	0,9	0,8	0,9	0,8	0,8	5,7	7,1	6,4	6,4	7,0	6,7
	0,3	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	2,9	3,4	3,1	3,2	3,5	3,4
29	0,7	1,0	0,8	5,8	5,9	5,9	9,0	9,1	9,0	8,9	9,2	9,0
				5,3	4,2	4,7	8,3	8,3	8,3	8,3	8,5	8,4
35	1,0	0,9	1,0	6,0	4,2	5,1	6,8	6,8	6,8	6,9	7,6	7,2
				3,9	3,6	3,7	6,2	5,7	6,0	6,1	6,2	6,2
43	0,6	0,7	0,6	9,4	6,4	7,9	9,0	8,9	9,0	9,4	9,1	9,2
				1,1	1,1	1,1	13,3	9,1	11,2	10,0	11,0	10,5
57	0,5	0,7	0,6	5,9	2,3	4,1	5,8	1,6	3,7	3,5	5,2	4,3
				0,8	0,9	0,9	10,7	6,8	8,7	10,3	4,9	7,6
70	0,7	0,8	0,7	7,2	4,5	5,9	6,9	3,0	5,0	4,4	5,4	4,9
				0,7	0,7	0,7	7,9	4,9	6,4	5,9	3,4	4,7
84	0,7	0,7	0,7	7,9	4,9	6,4	5,9	3,4	4,7	5,9	6,7	6,3

Tabel C.6: Forsøgsresultater for kuldioxid i beholderatmosfæren [%]. Der er foretaget tilsætning af ren ilt på dag 14 (C og D) og dag 29 (B, C og D).

Resultaterne for kuldioxid er vist grafisk i figur C.4.



Figur C.4: Resultater for kuldioxidindhold i beholderatmosfæren.

Som der fremgår af figur C.4 indikerer kuldioxidproduktionen en klar mineralisering af organisk stof for behandling B, C og D, mens der ikke er tegn på nogen nævneværdig mineralisering for behandling A. Som for iltresultaterne ses der en lagperiode på ca. 14 dage for behandling B, mens der for behandling C og D kan konstateres en signifikant mineralisering indenfor de første 14 dage.

#### *Abiotisk tab fra kontrol-behandlingen*

Sammenholdes kuldioxidresultaterne med iltresultaterne vurderes der ikke umiddelbart at være tale om nævneværdig oliemineralisering i beholderne for behandling A. Overordnet vurderes det observerede tab af kulbrinter fra behandling A, jf. afsnit 2.4, at skyldes abiotiske faktorer, herunder afdampning af flygtige komponenter.

#### *Abiotisk tab ved prøvetagning*

Ved at antage, at stigning af iltkoncentrationen og fald i kuldioxidkoncentrationen ved prøvetagning skyldes udskiftning af beholderatmosfæren med atmosfærisk luft kan det skønnes hvor stor udskiftningen af beholderatmosfæren har været under prøvetagningen. På baggrund af resultaterne fra dag 14, 36 og 70 kan der skønnes en udskiftning af beholderatmosfæren på mellem 30 og 40 %, svarende til udskiftning af mellem 7 og 10 L luft.

Som det fremgår af figur C.3 og C.4 har luftudskiftningen på dag 57, ved den supplerende behandling og grundige homogenisering, været væsentligt større end angivet ovenfor. På denne dag kan luftudskiftningen skønnes til mellem 55 og 65 %, svarende til mellem ca. 15 og 17 L luft.

På baggrund af resultaterne i tabel C.3 og oplysningerne i tabel C.4 kan det skønnes, at den gennemsnitlige kulbrintekonzentration i beholderatmosfæren, frem til dag 29, har ligget i området ca. 80 – 280 µg/L, svarende til 80.000 – 280.000 µg/m<sup>3</sup>, jf. tabel C.7.

	Naturlig		Kultur		BioGel	
	B1	B2	C1	C2	D1	D2
Indhold på kulrør [ $\mu\text{g}$ ]	550	160	740	540	1.400	640
Luftskifte [L]	2,7	2,1	4,7	5,7	5,0	4,1
Gns. Konc. [ $\mu\text{g/L}$ ]	200	76	160	95	280	160

**Tabel C.7:** Skøn over gennemsnitlig kulbrintekonzentration i beholdere.

Med tre almindelige prøvetagningsrunder (dag 14, 36 og 70) og én omfattende den supplerende behandling (dag 57), kan det skønnes, at det samlede abiotiske tab fra beholderne ved prøvetagning ligger på mellem ca. 3 og 13 mg kulbrinter. Dette svarer til mindre end 1 ‰ af det samlede kulbrinteindhold tilsat beholderne ved forsøgets start, og kan ikke umiddelbart forklare det forholdsvist store fald i kulbrintekonzentrationen der er observeret for kontrol-behandlingen, jf. afsnit 2.4.

Samlet set vurderes det, at der må have fundet et fordampningstab sted fra forsøgsbeholderne imellem prøvetagningstidspunkterne.

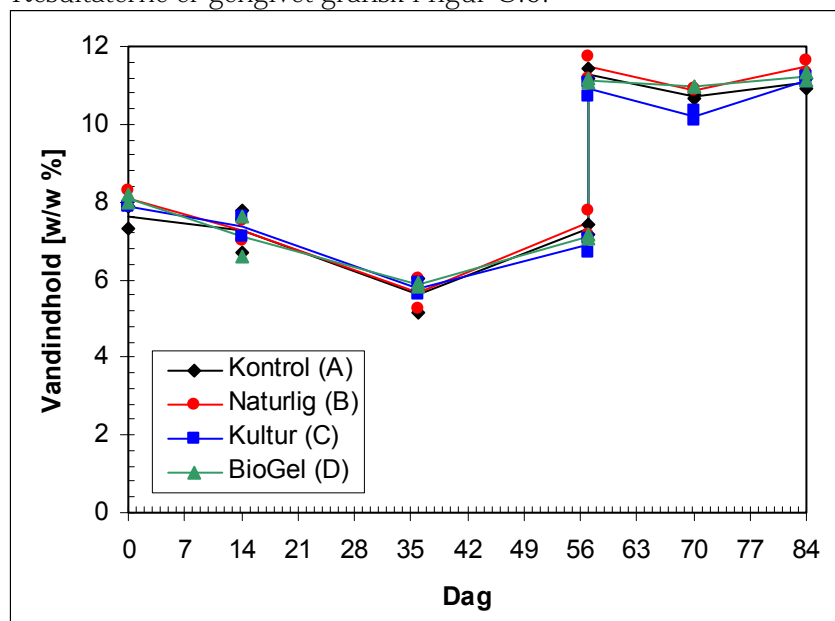
### A.5: Vandindhold

Resultaterne for vandindholdet fremgår af tabel C.8. Der er foretaget en væsketilsætning svarende til ca. 4 w/w % på dag 57, jf. beskrivelse i bilag B.2.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde 1	B1	B2	Midde 1	C1	C2	Midde 1	D1	D2	Midde 1
0	7,9	7,3	7,6	7,9	8,3	8,1	7,9	7,9	7,9	8,0	8,2	8,1
14	7,8	6,7	7,3	7,5	7,0	7,3	7,6	7,1	7,4	7,6	6,6	7,1
36	5,2	6,0	5,6	5,3	6,0	5,7	5,9	5,6	5,8	5,9	5,8	5,9
57	7,2	7,4	7,3	7,8	7,2	7,5	7,1	6,7	6,9	7,1	7,2	7,1
	~11,2	~11,4	~11,3	~11,8	~11,2	~11,5	~11,1	~10,7	~10,9	~11,1	~11,2	~11,1
70	10,8	10,7	10,7	10,9	10,9	10,9	10,3	10,1	10,2	11,0	11,0	11,0
84	11,2	10,9	11,1	11,7	11,3	11,5	11,1	11,2	11,2	11,1	11,3	11,2

**Tabel C.8:** Resultater for vandindholdet i forsøgsjordene [w/w %].

Resultaterne er gengivet grafisk i figur C.5.





**Figur C.5:** Resultater for vandindhold i forsøgsjordene.

Som der fremgår af figur C.5 er der tilsyneladende tale om et betydeligt fald i jordens vandindhold fra dag 14 til dag 36, hvilket på daværende tidspunkt formodedes at kunne forklares ved, at der fandt en betydelig kondensation sted på indersiderne af forsøgsbeholderne.

*Ændret analysemetode efter dag 36*

Efterfølgende er det dog konstateret, at analyseusikkerheden ved TS-analysen medfører en usikkerhed på  $\pm 4$  w/w %, hvorfor det ikke kunne afvises, at det tilsyneladende fald i vandindholdet fra dag 14 til dag 36 kunne tilskrives denne usikkerhed. Efterfølgende er vandindholdet bestemt efter DS204 på Aalborg Universitet.

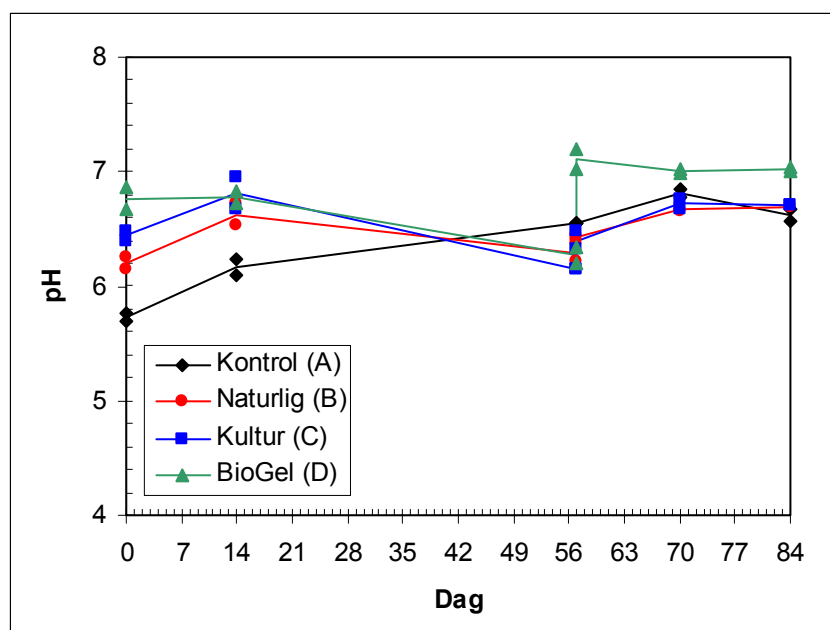
## A.6: Jord-pH

Resultaterne for jordens pH fremgår af tabel C.9. I forbindelse med den supplerende behandling er der foretaget væsketilsætning på dag 57. Ved en fejl er der ikke foretaget pH-analyse for dag 36.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	5,70	5,77	5,74	6,15	6,25	6,20	6,40	6,48	6,44	6,67	6,86	6,77
14	6,10	6,23	6,17	6,53	6,72	6,63	6,96	6,67	6,82	6,73	6,83	6,78
57	6,55	6,55	6,55	6,38 6,41	6,21 6,45	6,30 6,43	6,14 6,32	6,15 6,48	6,15 6,40	6,20 7,02	6,34 7,19	6,27 7,11
70	6,85	6,77	6,81	6,67	6,66	6,67	6,68	6,76	6,72	7,02	6,98	7,00
84	6,56	6,68	6,62	6,69	6,70	6,70	6,70	6,70	6,70	7,04	7,01	7,03

**Tabel C.9:** Resultater for pH i forsøgsjordene.

Resultaterne for pH i forsøgsjordene er vist grafisk i figur C.6.



**Figur C.6:** Resultater for pH i forsøgsjordene.

Som det fremgår af tabel C.9 er den naturlige pH-værdi i forsøgsjorden ca. 5,7 – 5,8, og som det ses af figur C.6 er der ikke konstateret pH-værdier

udenfor et område beliggende imellem det naturlige niveau og et niveau på omkring pH = 7.

De konstaterede pH-værdier vurderes ikke at kunne give anledning til hæmning af den biologiske nedbrydning af fyringsolien.

### A.7: Kvælstof

Resultaterne for jordens indhold af nitrat og ammonium fremgår hhv. af tabel C.10 og C.11. I forbindelse med den supplerende behandling er der foretaget tilsætning af næringssalte til behandling B, C og D på dag 57.

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	2,6	3,2	2,9	21,0	25,5	23,2	29,8	34,3	32,0	27,9	27,4	27,7
14	1,6	1,7	1,7	14,0	17,0	15,5	18,5	28,1	23,3	20,8	19,8	20,3
36	0,0	0,0	0,0	8,7	10,3	9,5	13,1	9,1	11,1	11,0	11,5	11,3
57	0,0	0,0	0,0	7,2 33,0	9,0 40,5	8,1 36,7	12,8 42,4	12,0 46,9	12,4 44,6	11,4 42,0	11,3 40,7	11,4 41,4
70	0,3	0,3	0,3	31,5	35,0	33,3	39,4	43,2	41,3	36,4	38,5	37,4
84	0,2	0,2	0,2	31,0	34,5	32,7	40,2	43,3	41,7	38,0	37,7	37,9

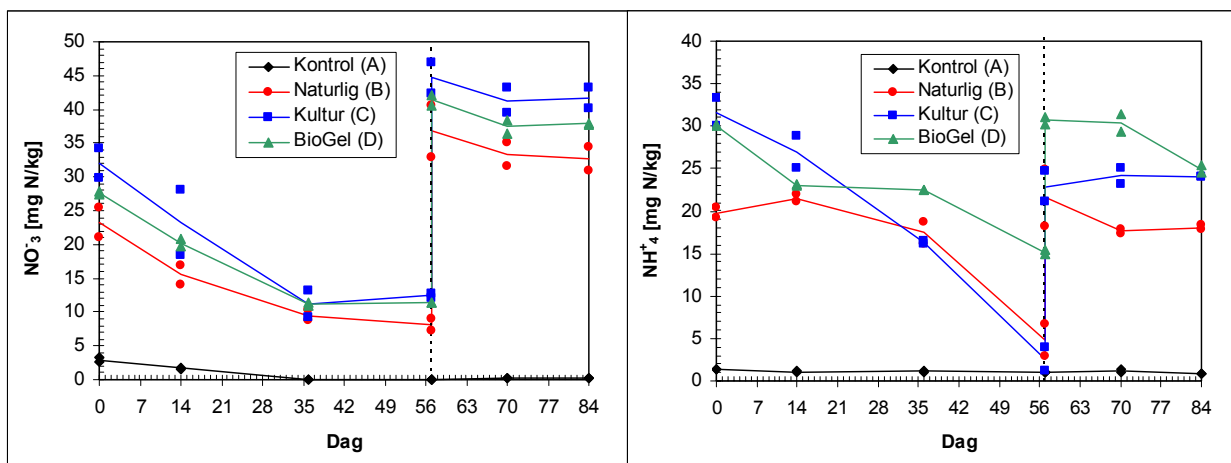
Tabel C.10: Resultater for nitrat i forsøgsjordene [mg N/kg].

Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	1,3	1,4	1,3	19,2	20,5	19,8	30,0	33,3	31,7	30,3	30,0	30,1
14	1,0	1,2	1,1	21,1	21,9	21,5	28,8	25,2	27,0	23,1	23,1	23,1
36	1,3	1,1	1,2	18,8	16,2	17,5	16,2	16,5	16,3	22,5	22,5	22,5
57	1,1	1,0	1,0	3,0 18,2	6,8 24,9	4,9 21,6	1,3 21,1	4,0 24,7	2,6 22,9	15,4 31,2	15,0 30,2	15,2 30,7
70	1,3	1,0	1,2	17,8	17,4	17,6	23,2	25,1	24,1	29,4	31,5	30,5
84	0,9	0,9	0,9	17,8	18,4	18,1	24,1	24,1	24,1	25,4	24,6	25,0

Tabel C.11: Resultater for ammonium i forsøgsjordene [mg N/kg].

Som det fremgår af tabel C.10 er der på dag 57 foretaget en kvælstoftilsætning svarende til ca. 48 mg N/kg (ca. 30 mg nitrat-N/kg og 18 mg ammonium-N/kg), hvilket stemmer godt overens med den påtænkte tilsætning, jf. bilag B.2.

Resultaterne fra tabel C.10 og C.11 er gengivet i figur C.7.



Figur C.7 Resultater for nitrat og ammonium i forsøgsjordene.

Med hensyn til de overordnede tendenser, er der tilsyneladende ikke markant forskel på nitrat-resultaterne for de enkelte behandlinger, mens ammoniumresultaterne synes at indikere to tendenser:

1. Der er tilsyneladende tale om en lag-periode på minimum 14 dage i ammoniumforbruget for behandling B, mens der for behandling C og D tilsyneladende foregår et forbrug fra starten af forsøget (eller evt. er tale om en lag-periode på mindre end 14 dage).
2. Behandling D, der er tilsat BioGel, er tilsyneladende den eneste behandling hvor der er tale om et netto-forbrug af ammonium efter dag 70, en tendens der dog ikke i nævneværdig grad kan aflæses i kulbrintenedbrydningen, jf. afsnit 2.4.

På baggrund af resultaterne i tabel C.10 og C.11 er der opstillet et kvælstofbudget for de enkelte behandlinger i tabel C.12.

	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
Tilsat*	3,9	4,6	4,2	81,2	95,6	88,3	109,2	123,2	116,2	104,6	102,0	103,3
Tilbage	1,1	1,1	1,1	48,8	52,9	50,8	64,3	67,4	65,8	63,4	62,3	62,9
Forbrugt	2,8	3,5	3,1	32,4	42,7	37,5	44,9	55,8	50,4	40,6	39,7	40,4

Tabel C.12: Kvælstofbudget (nitrat og ammonium) for behandlingerne [mg N/kg]. \* = Inklusiv det naturlige indhold i forsøgsjorden.

Overordnet set har kvælstofforbruget været størst for behandling C, mens middel-forbruget ligger nogenlunde ens for behandling B og D. umiddelbart tyder dette på, at der har været størst netto biomassetilvækst for behandling C. Der er dog tilsyneladende forholdsvis stor forskel på replikaterne for behandling B, således, at kvælstofforbruget for behandling B2 ligger på niveau med (eller måske lidt over) begge BioGel-behandlingerne, mens forbruget for behandling B1 ligger en del lavere. Disse resultater indikerer en større netto biomassetilvækst i behandling B2 end i behandling B1, hvilket muligvis kan forklare den tilsyneladende store forskel i nedbrydningsforløbet for disse replikater.

## A.8: Kimal

Der er udført kimalanalyser på de kulturer af olienedbrydende mikroorganismer der er tilsat behandling C og D på dag 0 og dag 57. Resultaterne fremgår af tabel C.13.

Tid	Kultur		BioGel	
Dag	Kimal [kim/mL]	Tilsat [mL]	Kimal [kim/mL]	Tilsat [mL]
0	$3,6 \cdot 10^7$	300	$2,4 \cdot 10^8$	300
57	$7,9 \cdot 10^6$	185	$>3,0 \cdot 10^7$	185

**Tabel C.13:** Kimal for tilsatte kulturer og tilsat volumen podekultur.

Analyseresultaterne for kimal i forsøgsjordene fremgår af tabel C.14.

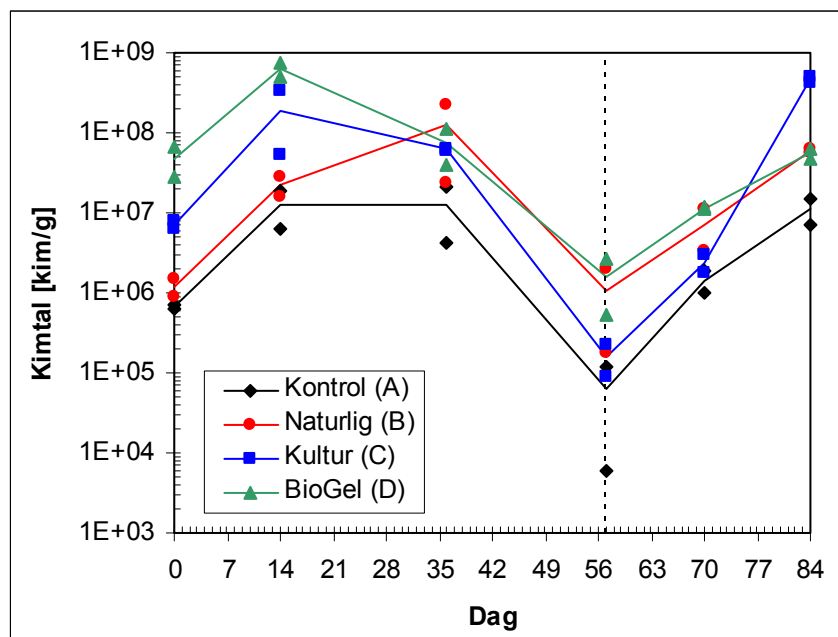
Tid	Kontrol			Naturlig			Kultur			BioGel		
Dag	A1	A2	Midde l	B1	B2	Midde l	C1	C2	Midde l	D1	D2	Midde l
0	$6,2 \cdot 10^5$	$7,1 \cdot 10^5$	$6,7 \cdot 10^5$	$8,8 \cdot 10^5$	$1,5 \cdot 10^6$	$1,2 \cdot 10^6$	$6,4 \cdot 10^6$	$7,9 \cdot 10^6$	$7,2 \cdot 10^6$	$2,9 \cdot 10^7$	$6,7 \cdot 10^7$	$4,8 \cdot 10^7$
14	$6,4 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^7$	$2,8 \cdot 10^7$	$1,6 \cdot 10^7$	$2,2 \cdot 10^7$	$5,2 \cdot 10^7$	$3,3 \cdot 10^8$	$1,9 \cdot 10^8$	$5,0 \cdot 10^8$	$7,4 \cdot 10^8$	$6,2 \cdot 10^8$
36	$4,2 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^7$	$2,4 \cdot 10^7$	$2,3 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^8$	$6,0 \cdot 10^7$	$6,4 \cdot 10^7$	$6,2 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^8$	$3,9 \cdot 10^7$	$7,5 \cdot 10^7$
57	$6,0 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^5$	$6,3 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^5$	$2,0 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^6$	$2,2 \cdot 10^5$	$8,8 \cdot 10^4$	$1,5 \cdot 10^5$	$5,3 \cdot 10^5$	$2,7 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^6$
70	$1,0 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^7$	$7,2 \cdot 10^6$	$1,8 \cdot 10^6$	$3,0 \cdot 10^6$	$2,4 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$	$1,2 \cdot 10^7$
84	$6,9 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^7$	$5,5 \cdot 10^7$	$6,3 \cdot 10^7$	$5,9 \cdot 10^7$	$5,1 \cdot 10^8$	$4,2 \cdot 10^8$	$4,7 \cdot 10^8$	$4,8 \cdot 10^7$	$6,4 \cdot 10^7$	$5,6 \cdot 10^7$

**Tabel C.14:** Forsøgsresultater for kimal i forsøgsjordene [kim/g].

Af tabel C.14 fremgår det, at det naturlige kimal for forsøgsjorden er beliggende omkring  $0,6 - 1,5 \cdot 10^6$  kim/g, mens kimtallet for behandling C ligger omkring  $7 \cdot 10^6$  kim/g og kimtallet for behandling D ligger omkring  $5 \cdot 10^7$  kim/g.

Kimtallene for behandling C og D svarer til, at der tilsyneladende genfindes hhv. 250 og 350 % af de tilsatte kim i forsøgsjordene på dag 0, hvilket sætter analysesikkerheden ved disse analyser i relief.

Resultaterne fra tabel C.13 fremgår af figur C.8.



Figur C.8: Resultater for kimtal i forsøgsjordene.

Af figur C.8 fremgår det, at der tilsyneladende er overensstemmelse imellem det overordnede kurveforløb for samtlige behandlinger i størstedelen af forsøgsperioden, hvilket ikke umiddelbart var forventet på baggrund af kvælstof-resultaterne i bilag C.5. I særdeleshed var det forventet, at kimtallet for kontrolbehandlingen ville skille sig mærkbart ud fra de øvrige behandlinger.

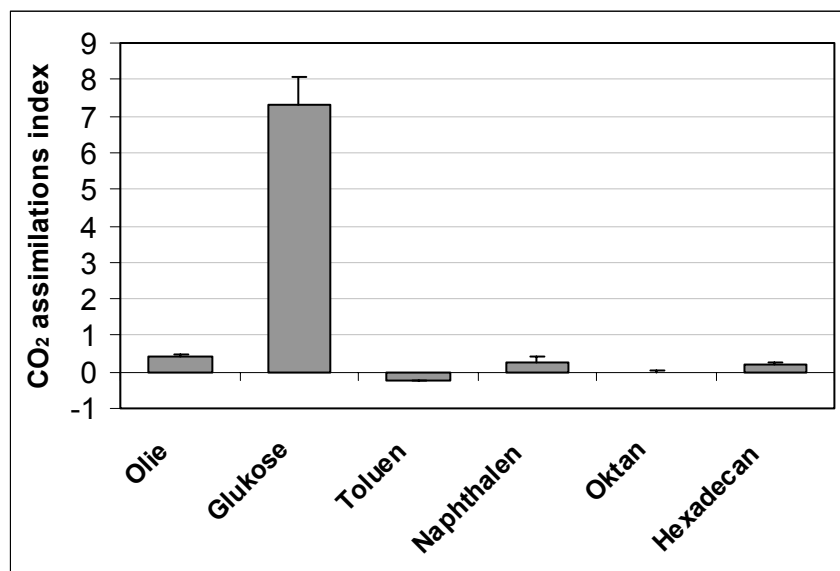
Sammenholdes endvidere med ovenstående beregnede genfindelsesprocenter for de tilsatte kulturer på langt over 100 %, vurderes det umiddelbart ikke, at kimtalsanalyserne ikke bør tillægges for stor vægt i de samlede vurderinger af olienedbrydningen.

### A.9: Mikrobiologisk aktivitetsniveau

Som et forsøg blev det aftalt, at udføre et "CO<sub>2</sub> assimilations index (5 t)", som er en ny metode, der er udviklet ved Sektion for Miljøteknologi på Aalborg Universitet [Hesselsoe et al., 2005]. Testen, kan benyttes for rene mikrobielle kulturer og blandingskulturer i væskesuspension og giver et relativt mål for bakterievæksten indenfor en periode på 5 timer, når den vokser på givne substrater. Dermed gives et kvantitativt mål for kulturens relative evne til at nedbryde og vokse på de undersøgte substrater.

En værdi på 0 indikerer, at kulturen har samme vækst på det undersøgte substrat (tilsat i overskud), som en kultur der ikke har fået noget substrat, mens en høj værdi udtrykker relativ stor vækst på det givne substrat.

Ved den udførte test er der bestemt CO<sub>2</sub> assimilations index (5 t) for kulturen tilsat behandling C ved forsøgets start, og det biologiske aktivitetsniveau er bestemt i forhold til vækst på hhv. fyringsolie, glukose, toluen, naphtalen, oktan og hexadecan. Resultaterne for kulturen tilsat behandling C1 og C2 ved forsøgets start fremgår af figur C.9.



**Figur C.8:** CO<sub>2</sub>-assimilations index (5 timer) for kultur (BS03) tilsat behandling C ved forsøgets start.

Som det fremgår af figur C.8 har kulturen langt det største substratrespons overfor glukose, mens den tilsyneladende kun har et mindre respons overfor fyringsolie, naphthalen og hexadecan. Det er ved testen ikke sandsynliggjort, at kulturen har noget respons overfor toluen og oktan, hvilket er højst overraskende.

Umiddelbart vurderes det, at substratresponsen i figur C.8 muligvis kan tilskrives de substratbetingelser kulturen er blevet opformeret under, inden tilsætning, jf. bilag B.1. Biorem har således oplyst, at kulturen ved opformering, og frem til tidspunktet for tilsætning, vedligeholdes under tilsætning af glukose og olie som substrater.

Set i lyset af testens resultat er det muligvis ikke hensigtsmæssigt, at opformere kulturen under tilstedeværelse af glukose. Denne strategi kan således medføre opformering af en biomasse som foretrækker glukose frem for fyringsolie og/eller specifikke komponenter i denne.

## Bilag D: Geologi på feltsagerne

Tabel D.1 giver en oversigtsmæssig beskrivelse af de geologiske forhold på feltlokaliteterne. Beskrivelserne er taget fra det fremsendte sagsmateriale.

Sag nr.	Geologiske forhold
1	Grus, muld, sand (til 0,5-1,0); sand (til 2,5-3,0); sandet moræner (til >4,5)
2	Fyld, muld (til 0,5-1,0); sandet silt/siltet sand (til 2,0-3,0); sandet moræner (til >4,5)
3	Fyld, bl.a. knuste fliser/mursten (til 0,5-1,0); sand (til 2,0-2,5); derunder moræner
4	Fyldjord under bygning
5	Sandfyld omkring tank (0,0-3,0); moræner derunder
6	ML med sandede lag; omgravet jord langs fundamenter
7	Finsand, siltet (til 1,7); herunder fedt ler
8	Finsand, siltet (til 9,5); sandet ler (9,5-10), herunder finsand
9	20 cm grus/sten, leret sandet grus (til 0,75); ler (til 1,7); sand (til 2,0)
10	Ler, sandet (til 3,5); derunder siltet fedt ler
11	Gruset sand (til 4,0); derunder fedt ler
12	Fin-mellemkornet sand
13	Moræner (til 1,5)
14	Fyld, muld (til 0,5-1,0); derunder moræner med sandlommer (til 3,0-10,0)
15	Overvejende ler (til 1,5-4,0); områder med vekslende lag af ler og sand (fra 1,5)

Tabel D.1: Geologiske forhold for de foreliggende feltsager.