

Nedbrydning af miljøfremmede stoffer i biogasreaktorer

Pia Mai og Gert Jungersen
Teknologisk Institut

Lars Elsgaard og Finn P. Vinter
Danmarks Jordbrugsforskning

Jens Tørslev
Forskningscenter Foulum

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.

Forord

Denne rapport omhandler et større forsknings- og udredningsprojekt vedrørende nedbrydning af miljøfremmede stoffer i biogasreaktorer.

Projektet er udført med støtte fra Rådet vedr. genanvendelse og mindre forurenende teknologi. I styregruppen var Miljøstyrelsen, Danmarks Jordbrugsforskning Forskningscenter Foulum, Teknologisk Institut og Forskningscentret for Skov & Landskab (FSL) repræsenteret, og formandskabet blev varetaget af Miljøstyrelsen.

Projektet blev udført som et samarbejde mellem Teknologisk Institut (Sektionerne for Bioteknik, Kemiteknik og LCA/Miljøstyring) og Danmarks Jordbrugsforskning Forskningscenter Foulum. Rapporten er udarbejdet af: Pia Mai og Gert Jungersen (Teknologisk Institut), Lars Elsgaard og Finn P. Vinther (Danmarks Jordbrugsforskning Forskningscenter Foulum) samt Jens Tørslev.

Sammendrag

Denne rapport består af en litteraturundersøgelse og en laboratorieundersøgelse af den anaerobe nedbrydelighed af udvalgte miljøfremmede stoffer. Der er fokuseret på indholdet af miljøfremmede stoffer i spildevandsslam og kildesorteret organisk dagrenovation, og muligheden for at få fjernet stofferne under den anaerobe udrådning. De praktiske perspektiver i denne undersøgelse er at undersøge muligheden for om en anaerob behandling i biogasanlæg af ovennævnte affaldsfraktioner kan øge den andel, der kan anvendes til jordbrugsformål ved at reducere indholdet af miljøfremmede stoffer.

Der er i undersøgelsen rettet opmærksomhed mod de miljøfremmede stoffer, der er omfattet af Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 823 af 16. september 1996 om anvendelse af affaldsprodukter til jordbrugsformål, men også andre fremmedstoffer er inkluderet. De stoffer der er omfattet af bekendtgørelsen er blandt tensiderne lineære alkybenzen-sulfonater (LAS) og nonylphenolethoxylater med hhv. en og to ethoxylat-grupper samt nonylphenol. Blandt phthalaterne er DEHP omfattet af bekendtgørelsen, og blandt de polyaromatiske hydrocarboner (PAH'er) er acenaphthen, phenanthren, fluoren, fluoranthen, pyren, benzfluor-anthener (b+j+k), benzo(a)pyren, benzo(ghi)perylene, og indeno(1,2,3-cd)pyren omfattet.

Litteraturundersøgelsen omhandler anaerob nedbrydning af følgende stofgrupper:

- Lineære alkybenzen sulfonater (LAS)
- Nonylphenol og nonylphenolethoxylater (NPE)
- Polycykliske aromatiske hydrocarboner (PAH)
- Phthalater
- Chlorerede phenoler og benzener

Nedenstående refereres kort resultatet fra litteraturundersøgelsen:

Tensider

Der er i litteraturen ikke data som tyder på, at lineære alkybenzen sulfonater (LAS) kan nedbrydes under anaerobe og metanogene betingelser.

Nonylphenolethoxylater er observeret omsat mikrobiologisk under metanogene forhold under dannelse af forbindelser med et lavere antal ethoxylatgrupper (1-2) samt 4-nonylphenol. Disse forbindelser synes ikke at blive nedbrudt videre under anaerobe forhold.

PAH-forbindelser

Ikke substituerede og homocycliske PAH-forbindelser med høj molekylvægt kan ifølge litteraturen i praksis betragtes som persistente under anaerobe forhold, mens der er fundet anaerob nedbrydning af substituerede aromater og PAH'er med en eller to ringe.

Der er ikke rapporteret anaerob nedbrydning af PAH-forbindelser med fire eller flere ringe.

DEHP Ifølge litteraturen kan DEHP ikke forventes nedbrudt under metanogene forhold, mens phthalsyreestere med mindre alkylkædelængde kan omdannes under dannelse af metan.

Chlorphenoler Chlorerede forbindelser er rapporteret nedbrudt under dannelse af metan. Mekanismen ved anaerob nedbrydning af chlorphenoler involverer en reduktiv dechlorering, hvor chlorphenoler omdannes til forbindelser med lavere chloreringsgrad for ultimativt at blive mineraliseret.

Chlorbenzener Der er ligeledes rapporteret reduktiv dechlorering af chlorbenzener under metanogene forhold, hvorved der dannes chlorerede benzener med færre chloratomer. Reduktiv dechlorering er påvist for chlorbenzen med 2-6 chloratomer, mens monochlorbenzen tilsyneladende er et stabilt slutprodukt under metanogene forhold.

Den generelle slutning, der kan drages fra litteraturundersøgelsen er, at de stoffer, der primært fokuseres på i forbindelse med anvendelse af affaldsprodukter i jordbruget generelt er svært nedbrydelige under anaerobe forhold.

Nedenstående refereres kort resultater fra laboratorieundersøgelsen:

Screeningstest ISO 11734 Med udgangspunkt i standardtesten ISO 11734 blev den anaerobe bionedbrydelighed for 15 fremmedstoffer testet. Princippet i testen er, at bestemme fremmedstofnedbrydning under anaerobe forhold ved at måle trykudvikling i lukkede beholdere. Formålet var at undersøge om testen kunne erstatte de mere omkostningskrævende kemiske analyser. Screeningstesten viste, at der var en ringe anaerob omsætning af de testede PAH'er, LAS, nonylphenol og 2,4-dichlorphenol. Der blev konstateret nogen anaerob omsætning af de testede nonylphenolethoxylater samt phthalater.

Det blev konkluderet, at screeningstesten ikke umiddelbart kan erstatte de kemiske analyser, men er anvendelig som et supplement til disse, da der herved opnås en bedre information om fremmedstoffernes anaerobe bionedbrydelighed.

Temperatur Temperaturen indflydelse på den anaerobe bionedbrydelighed blev testet under hhv. mesofile og termofile forhold ved hhv 35 og 55°C. Resultaterne tydede på, at flere stoffer blev nedbrudt under termofile forhold, dog blev DEHP bedst fjernet under mesofile forhold. Denne konklusion skal dog tages med forbehold, da den er på baggrund af enkeltanalyser.

Elektronacceptorer Nedbrydning af seks fremmedstoffer stoffer (acenaphthen, phenanthren, 4-nonylphenol, natrium dodecylbensulfonat (LAS), di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP), og 1,2,4-trichlorbenzen (TCB).blev testet under jern-, sulfat- og nitrat-reducerende forhold med hhv. Fe^{3+} , SO_4^{2-} og NO_3^- som elektronacceptor.

Der blev kun i få tilfælde konstateret en nedbrydning af stofferne. En begyndende nedbrydning af acenaphthen og 4-nonylphenol blev antydnet under nitrat-reducerende forhold. Endvidere blev der konstateret nedbrydning af phenanthren under sulfat-reducerende forhold, og en begyndende nedbrydning under nitrat-reducerende forhold. Konklusionen var, at

der ved tilsætning af alternative elektronacceptorer (jern, sulfat eller nitrat) ikke blev opnået en betydelig stimulerende af den mikrobiologiske nedbrydning af de testede fremmedstoffer, sammenlignet med nedbrydning under metanogene forhold.

Visse af stofferne udviste toksiske effekter på de mikrobiologiske processer. Acenaphthen, 4-nonylphenol og LAS hæmmede jern-, og sulfat-reduktionen, mens 1,2,4-trichlorbenzen hæmmede både jern-, sulfat-, og nitrat-reduktionen. Generelt var de mikrobiologiske processer under nitrat-reducerende forhold mindst påvirkede af de toksiske effekter fra fremmedstofferne, og sulfatreduktionen var mest hæmmet ved tilstedeværelse af miljøfremmede stoffer.

Substrat/ inokulum

Effekten af forskelligt inokulum og substrat i forhold til nedbrydning af miljøfremmede stoffer blev undersøgt. Der blev anvendt inokulum fra Herning, Boserup og Lundtofte renseanlæg, gylle samt kildesorteret organisk dagrenovation. Som substrater blev der dels tilsat fremmedstoffer fra stamopløsninger (2-methylnaphthalen, phenanthren, DEHP, 1,2,4-trichlorbenzen, NPE 1EO og NPE 2EO) og dels fra det aktuelle indhold i primærslam og kildesorteret organisk dagrenovation. Effekten af samrådning på nedbrydningen af miljøfremmede stoffer blev undersøgt i kombinationer af slam/organisk dagrenovation og gylle/slam.

Resultaterne viste, at når fremmedstofferne blev tilsat fra stamopløsninger (spiket) blev 2-methylnaphthalen og 1,2,4-trichlorbenzen nedbrudt både med slam og kildesorteret organisk dagrenovation som inokulum. Spiket phenanthren blev ikke nedbrudt med slam som inokulum, men med organisk dagrenovation var der en fjernelse på ca. 45%. DEHP blev ikke væsentligt fjernet når det var spiket i slam eller organisk dagrenovation. Spiket NPE 2EO blev fuldstændigt fjernet med slam som inokulum men kun ca. 25% fjernet med organisk dagrenovation som inokulum.

Når fremmedstofferne blev tilsat som det aktuelle indhold i slam eller organisk dagrenovation blev der observeret væsentlige reduktioner i nedbrydningen af 2-methylnaphthalen. Der blev derimod ikke observeret væsentlig nedbrydning af DEHP. Nonylphenol, NPE 1EO og NPE 2EO blev generelt ikke nedbrudt, dog var der en nedbrydning ved anvendelse af mesofil gylle som inokulum. For NPE 1EO og NPE 2EO blev der i flere tilfælde observeret højere koncentrationer efter udrådning, hvilket kan skyldes, at stofferne er blevet dannet som følge af nedbrydning af nonylphenolethoxylater med flere ethoxylatgrupper.

Adaptation

Der kunne ikke konstateres en forbedret nedbrydning i slam, der havde været udsat for stigende koncentrationer af fremmedstoffer.

Aerob efterbehandling

Der blev udført forsøg med aerob efterbehandling af udrådnet slam. Resultaterne viste, at den aerobe efterbehandling af substraterne primærslam og organisk dagrenovation var en fordel for nedbrydningen af især phenanthren, nonylphenol, NPE 1EO og LAS. Generelt kan det konstateres, at en aerob efterbehandling medfører, at der er potentiale for at fjerne flere fremmedstoffer end ved den anaerobe behandling alene. Det skal bemærkes, at den aerobe efterbehandling ikke var en fordel mht. fjernelse af DEHP.

Den praktiske implikation af resultaterne er, at med hensyn til fjernelse af miljøfremmede stoffer kan det være fordelagtigt at kombinations-behandle affald først anaerobt dernæst aerobt. Det udrådnede materiale kan efterbehandles aerobt ved enten en aktiv beluftning eller ved at samkompostere med f.eks have/parkaffald.

CSTR-forsøg

Der blev udført forsøg i CSTR-reaktorer, der simulerer forholdene i biogasreaktorer. Fremmedstofreduktionens afhængighed af den organiske belastning samt opholdstiden blev undersøgt. Det blev konstateret, at der skete en nedbrydning af 2-methylnaphthalen i reaktorerne. Der var en tendens til, at den procentvise nedbrydning blev mindre med stigende organisk belastning, hvilket kan skyldes, at opholdstiden i reaktoren blev kortere (fra ca. 30 dage til ca 10 dage). DEHP, NPE 1EO, NPE 2EO og nonylphenol blev ikke reduceret i reaktorerne.

1	NEDBRYDNING AF ORGANISKE FREMMEDSTOFFER I BIOGASREAKTORER – EN LITTERATURUNDERSØGELSE.....	3
1.1	Nedbrydning af tensider under anaerobe og metanogene betingelser.....	5
1.1.1	Forekomst i organiske affaldsstrømme	5
1.1.2	Nedbrydning under anaerobe og metanogene forhold	5
1.2	Nedbrydning af PAH under anaerobe forhold	7
1.2.1	Forekomst i organiske affaldsstrømme	7
1.2.2	Nedbrydning under anaerobe forhold	10
1.3	Nedbrydning af phthalater under anaerobe forhold	11
1.3.1	Forekomst i organiske affaldsstrømme	11
1.3.2	Nedbrydning under anaerobe forhold	12
1.4	Anaerob nedbrydning af chlorerede phenoler og benzener.....	13
1.4.1	Forekomst i organiske affaldsstrømme	13
1.4.2	Nedbrydning under anaerobe og metanogene forhold	14
1.5	Sammenfatning.....	16
2	LABORATORIEUNDERSØGELSE.....	23
2.1	Screening af anaerob bionedbrydelighed.....	23
2.1.1	Fremgangsmåde	24
2.1.2	Resultater.....	25
2.1.3	Diskussion.....	26
2.2	Specifikke parametres indflydelse på bionedbrydning	29
2.2.1	Temperatur	30
2.2.2	Elektronacceptorer.....	33
2.2.3	Substrat, inokulum og samudrødning.....	42
2.2.4	Adaptation af inokulum.....	47
2.3	Aerob efterbehandling	48
2.3.1	Fremgangsmåde	48
2.3.2	Resultater.....	48
2.3.3	Diskussion.....	56
2.4	Aerob stabilisering af udrådnnet slam.....	58
2.4.1	Fremgangsmåde	59
2.4.2	Resultater.....	60
2.4.3	65	
2.5	CSTR-reaktorforsøg.....	65
2.5.1	Fremgangsmåde	65
2.5.2	Resultater.....	66
2.5.3	Diskussion.....	70
2.6	Sammenfatning.....	70
2.6.1	Standardtest ISO 11734.....	71
2.6.2	Procesparametre	71
3	LITTERATUR.....	74

Formål

Det er projektets formål at kortlægge den anaerobe nedbrydelighed af udvalgte miljøfremmede stoffer i affaldsprodukter med henblik på behandling i biogasreaktorer. Der fokuseres på spildevandsslam og organisk dagrenovation, der er velegnet til behandling i biogasanlæg. Effekten af en anaerob behandling i biogasanlæg eller rådnetanke på restprodukternes kvalitet med henblik på anvendelse til jordbrugsformål undersøges.

Projektets målgruppe er primært beslutningstagere og rådgivere på affaldsbehandlingsområdet, landbrugsorganisationer, samt administratorer af biogasfællesanlæg og renseanlæg.

Indledning

Baggrund

Inden for affaldsområdet er der i stigende grad fokus på genanvendelse af organiske affaldsfraktioner som spildevandsslam, kildesorteret organisk dagrenovation og andre organiske affaldsprodukter. Disse affaldstyper kan efter behandling i komposteringsanlæg eller biogasanlæg føres tilbage til dyrkningsjorden og erstatte en del af gødningstilførslen. Herved opnås en økologisk set mere fornuftig balance i de stofstrømme, der relaterer sig til fødevareproduktion og forbrug.

Anvendelse af affaldet til produktion af biogas er energiøkonomisk set mere favorabelt end kompostering, idet behandling i biogasanlæg genererer en netto energigevinst i form af metangas, mens behandling af affald på komposteringsanlæg kræver en netto energitilførsel ved optimal behandling. I begge tilfælde kan restproduktet udbringes på landbrugsjord, under forudsætning af at indholdet af miljø- og sundhedsmæssigt set problematiske stoffer er tilstrækkeligt lavt.

Den samlede årlige produktion af spildevandsslam er i dag ca. 1.175.000 ton. Der anvendes på nuværende tidspunkt ca. 25.000 ton spildevandsslam i biogasanlæg, hvilket svarer til ca. 2% af den samlede mængde spildevandsslam. For kildesorteret organisk dagrenovation er det opgjort, at der i Danmark er potentiale for at indsamle 575.000 ton årligt. Der behandles årligt ca. 2000 ton kildesorteret organisk dagrenovation på biogasanlæg svarende til ca. 0,3% af potentialet (Energistyrelsen, pers. komm.)

Når affaldsstrømme recirkuleres er der en potentiel risiko for, at der samtidigt sker er recirkulering af miljø- og sundhedsmæssigt set problematiske stoffer og patogene mikroorganismer. Risikoen for smittespredning via biogasanlæg og metoder til at reducere og kontrollere denne er beskrevet i rapporten "Smitstoffreduktion i Biomasse" (Veterinærdirektoratet, 1995). Rapporten beskriver håndteringen af affaldstyper med potentielt højt indhold af smitstoffer, og krav til driften for at opnå en tilstrækkelig hygiejnisering. Desuden omtales eventuelle skærpede krav til særligt problematiske affaldstyper som spildevandsslam og organisk dagrenovation.

Danske undersøgelser udført i 1994-1998 har i enkelte tilfælde vist, at spildevandsslam, komposteret organisk dagrenovation, og gylle kan indeholde visse miljøfremmede stoffer i koncentrationer, der kan gøre disse affaldsfraktioner uegnede til anvendelse i jordbrug.

Mulige metoder til at nedbringe mængden af disse miljøfremmede stoffer i affaldet er i prioriteret rækkefølge: regulering eller udfasning fra produktions- og forbrugsleddet, opsporing og frasortering af affaldstyper, der indeholder de problematiske stoffer, samt anvendelse af behandlingsmetoder, der kan reducere eller fjerne stofferne fra affaldet.

Der foreligger en lang række videnskabelige undersøgelser, der påviser nedbrydning af organiske miljøfremmede stoffer under anaerobe betingelser. Det er f.eks. påvist, at mange aromatiske og chloroaromatiske forbindelser, phthalater, chlorerede alifater samt visse pesticider kan nedbrydes anaerobt. Der er således indikationer for, at anaerob behandling kan være en relevant metode til at reducere indholdet af visse miljø- og sundhedsfarlige stoffer i affaldsprodukter.

Den eksisterende viden om stoffers anaerobe nedbrydelighed er dog utilstrækkelig til at vurdere potentialet ved denne behandlingsform. Dette skyldes især, at de undersøgelsesbetingelser, som anvendes i studier af anaerob nedbrydelighed ofte ikke er sammenlignelige med forholdene i en biogasreaktor. Generelt må forholdene i en biogasreaktor anses for at være gunstige for en biologisk omsætning: stor mikrobiel aktivitet, tilstedeværelse af fordøjelsesenzymer fra gylle, adgang til let omsætteligt kulstof og mulighed for adaptation af mikrofloraen. Det er derfor sandsynligt, at nedbrydningspotentialet i en biogasreaktor er større end i almindelig anvendte undersøgelsesmetoder for anaerob nedbrydelighed.

Der er på denne baggrund et behov for mere viden om miljøfremmede stoffers nedbrydelighed under anaerobe betingelser i biogasanlæg. Det aktuelle projekt fokuserer på omsætningen i biogasanlæg og råddetanke af en række stoffer, som kan udgøre et miljø- og sundhedsmæssigt problem ved recirkulering af organisk affald.

Projektet omfatter:

- 1) Litteraturundersøgelse**- En sammenfatning af den eksisterende viden vedrørende anaerob nedbrydelighed af miljøfremmede stoffer.
- 2) Screening**- En undersøgelse af egnetheden af standardiserede testmetoder for anaerob nedbrydelighed til forudsigelse af nedbrydeligheden af stoffer i biogasanlæg. Formålet med at anvende en screeningsmetode er, at minimere de økonomiske omkostninger, idet konventionelle kemiske analyser er omkostningskrævende.
- 3) Specifikke parametre**- Undersøgelse af nedbrydningen af udvalgte problemstoffer. Dette omfatter såvel undersøgelser i batch som kontinuerte forsøg i CSTR-reaktorer (Continuous Stirred Tank Reactors). Formålet er at søge at belyse om der er faktorer af særlig betydning for nedbrydning af de miljøfremmede stoffer, hvilket i så fald kan udnyttes i driften af biogasanlæg.
- 4) Aerob behandling**- Det undersøges om en aerob efterbehandling af slam udrådnet i et laboratorieskala biogasanlæg (CSTR-reaktor) stimulerer en efterfølgende nedbrydning af problematiske stoffer i affaldet.
- 5) Retningslinier**- De opnåede resultater og erfaringer anvendes til at opstille nogle generelle retningslinier for drift af biogasanlæg med henblik på optimal nedbrydning af organiske problemstoffer.

1 Nedbrydning af organiske fremmedstoffer i biogasreaktorer – en litteraturundersøgelse

Anaerob behandling af organiske restprodukter er en metode, der ud over at sikre et energimæssigt udbytte i form af metangas, ofte også har potentiale til at nedbringe indholdet af miljøfarlige organiske fremmedstoffer.

Anaerob mikrobiel omsætning har stor økologisk betydning under naturlige betingelser bl.a. i jordmiljøer og sedimenter, hvor omsætning af organisk materiale ofte foregår under betingelser med begrænset ilttilførsel. I jord forekommer således mikromiljøer, der er anaerobe eller skiftevis er anaerobe og aerobe afhængig af vandmætning og diffusion af ilt gennem jordens porer. De skiftende betingelser i miljøet stimulerer en divers mikroflora og dermed et potentiale for nedbrydning af forskellige typer organiske stoffer.

Der er foretaget en lang række undersøgelser af anaerob nedbrydning af almindeligt forekommende aromatiske forbindelser f.eks. phenol forbindelser (Boyd et al., 1983; Young & Rivera, 1985; Smolenski and Suflita, 1987; Sembiringer og Winter, 1989; Battersby og Wilson, 1989; Chang et al., 1995) og aromatiske opløsningsmidler (Zeyer et al., 1986; Grbic-Galic og Vogel, 1987; Kirk et al., 1989; Battersby og Wilson, 1989; Ramanand et al., 1993; Nielsen et al., 1996).

Det er veldokumenteret, at chlorerede organiske forbindelser som alifatiske chlorerede opløsningsmidler, der kan være meget langsomt nedbrydelige under aerobe forhold, kan undergå en såkaldt reaktiv dechlorering under metanogene betingelser under dannelse af nedbrydningsprodukter, der er relativt lettere omsættelige under aerobe forhold. Således er der rapporteret reaktiv dechlorering af chlorerede ethaner og etener under metanogene forhold (Bouwer og McCarty, 1983; Fogel et al., 1986; Fathepure and Boyd, 1988a; Gälli and McCarty, 1989; Freedman og Gosset, 1989; Nielsen et al., 1995, Ejlertsson et al. 1996).

Også aromatiske forbindelser er påvist at undergå reaktiv dechlorering under metanogene betingelser, f.eks. chlorphenoler (Boyd et al. 1983; Mikesell og Boyd 1986; Dietrich og Winter, 1990; Madsen og Aamand, 1992; Liu og Jones, 1995).

Der er således et eksperimentelt grundlag for at antage, at udrådning under anaerobe betingelser er en behandlingsmetode med potentiale for nedbrydning af mange forskellige typer organiske fremmedstoffer.

Vigtige faktorer vedrørende nedbrydelighed af organiske forbindelser er adaptation og toksicitet:

- Mikrofloraens tilvænning (adaptation) til stofferne har stor betydning for nedbrydning under metanogene forhold. Shelton et al. (1984) undersøgte metanproduktionen ved nedbrydning af en række modelstoffer ved inkubering med inokulum fra rådnetanke fra 9 forskellige renseanlæg og observerede meget stor forskel på nedbrydningen af en række modelstoffer. Desuden sås for stoffer, der var langsomt omsættelige under anaerobe betingelser, stor forskel på nedbrydningen i slam fra samme renseanlæg udtaget på forskellige tidspunkter. Resultaterne viste, at selv lange inkuberingstider (her 8 uger) ikke nødvendigvis sikrer adaptation af mikrofloraen til omsætning af stoffer, der potentielt er nedbrydelige under metanogene forhold.
- Toksiciteten af almindeligt forekommende organiske fremmedstoffer, f.eks. i spildevandsslam, kan være en afgørende faktor for nedbrydningen under metanogene forhold. Battersby og Wilson (1989) undersøgte nedbrydeligheden og metandannelsen ved individuel tilstedeværelse af 77 organiske forbindelser. Alifatiske forbindelser indeholdende carboxyl-, ester- eller hydroxylgrupper var generelt lettere omsættelige uden adaptation end stoffer uden disse funktionelle grupper. For mindre let omsættelige stoffer sås varierende adaptationstider på op til >90 dage. For mange stoffer, der er potentielt toksiske ved de anvendte koncentrationer, sås adaptation, målt som en stigning af gasproduktionen i løbet af inkuberingsperioden, der var på mindst 60 dage. Undersøgelsen understreger således adaptationens vigtighed for nedbrydning under metanogene forhold.

Den eksisterende viden om organiske stoffers nedbrydning under anaerobe forhold er fortrinsvis opnået i laboratorieforsøg, hvor de fysiske/kemiske betingelser som pH og temperatur er optimerede, og kan være meget forskellige fra betingelserne i en biogasreaktor. Der anvendes ofte inokulum, der er adapteret til de pågældende stoffer i meget lang tid (halve til hele år) ligesom stofferne ofte tilsættes som eneste kulstofkilde og dermed udelukker konkurrence fra andre lettere tilgængelige kulstofforbindelser. Resultaterne fra disse forsøg kan derfor ikke anvendes direkte til at vurdere stoffernes omsætning i biogasreaktorer, men derimod til at indikere et potentiale for nedbrydning.

Der er på baggrund af eksisterende viden foretaget en vurdering af udvalgte fremmedstoffer med hensyn til nedbrydning under metanogene forhold. Litteratursøgning er foretaget på databaserne "Biosis" og "Chemical Abstracts". Der er i søgningen fokuseret på stofgrupperne:

- Liniære alkylbenzen sulfonater (LAS)
- Nonylphenol og nonylphenoethoxylater (NPE)
- Polycykliske aromatiske hydrocarboner (PAH), med angivelse af specifikke stofnavne for en række udvalgte stoffer
- Phthalsyre estre, phthaler, med angivelse af DEHP som specifikt søgeord
- Chlorerede phenoler og benzener

Søgningen blev foretaget af Danmarks Natur- og Lægevidenskabelige Bibliotek og Danmarks Tekniske Videncenter (april - maj 1997).

En sammenfatning fremgår af side 19-20 samt tabel 1-2 (side 21-22)

1.1 Nedbrydning af tensider under anaerobe og metanogene betingelser

1.1.1 Forekomst i organiske affaldsstrømme

Tensider er en fællesbetegnelse for stoffer, der har overfladeaktive egenskaber, og som anvendes i bl.a. vaske- og rengøringsmidler. På grund af den udbredte anvendelse og høje grad af frigivelse til miljøet, findes stofferne i høje koncentrationer i spildevand og spildevandsslam. Lineære alkybenzen sulfonater (LAS) tilhører de anioniske tensider, og er almindelig anvendt i vaske- og rengøringsmidler. På grund af manglende nedbrydning ved anaerob omsætning findes LAS i høje koncentrationer i anaerobt stabiliseret spildevandsslam. Der er desuden konstateret LAS og nonylphenolethoxylater i kompost og i enkelte tilfælde i kvæggylle i koncentrationer, der er sammenlignelige med indholdet i lavt belastet spildevandsslam i Danmark (Miljøstyrelsen 1996).

Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 823 af 16. september 1996 om anvendelse af affaldsprodukter i landbruget omfatter to typer af tensider: LAS og nonylphenolethoxylater med en til to ethoxylatgrupper (NPE_{1-2}). Parameteren NPE omfatter ifølge bekendtgørelsen nonylphenolethoxylater med en til to ethoxylatgrupper (NPE_{1-2}) samt nedbrydningsproduktet 4-nonylphenol. NPE_{1-2} og 4-nonylphenol er relativt langsomt omsættelige nedbrydningsprodukter af NPE-forbindelser med et større antal ethoxylatgrupper, typisk fra 6-8 og op til 30, som anvendes som nonioniske tensider i bl.a. vaskemidler. Nonylphenol og NPE_{1-2} ses ofte ophobet i slamfasen i renseanlæg, da de ikke nedbrydes let, og adsorberer til slam i højere grad end udgangsstofferne.

Både danske, svenske og amerikanske undersøgelser viser, at LAS forekommer i slam fra biologiske renseanlæg i koncentrationer på 1000-10.000 mg/kg slamtørstof, og i enkelte tilfælde endda højere (højeste koncentration observeret i Danmark er på 16000 mg LAS/kg TS). I aerobt stabiliseret slam (anlæg uden rådnetank) er koncentrationerne væsentligt lavere og er for 8 danske anlæg fundet at være omkring 13-28 mg/kg. Denne store forskel indikerer ingen eller langsom omsætning af LAS i rådnetanke.

1.1.2 Nedbrydning under anaerobe og metanogene forhold

Nedbrydeligheden af LAS-forbindelser under aerobe forhold er velundersøgt. LAS nedbrydes relativt hurtigt under aerobe betingelser (Swischer 1987; Miljøstyrelsen 1991) og anses ofte for at overholde OECD's kriterier for let nedbrydelighed.

Det er desuden veldokumenteret, at LAS i praksis ikke nedbrydes under anaerobe forhold. Swischer (1987) refererer undersøgelser, hvor der er observeret ingen eller meget lille *primær nedbrydning* (dvs. at udgangsstoffet metaboliseres under dannelse af et nedbrydningsprodukt) under anaerobe forhold. Nedbrydningen af LAS initieres normalt ved nedbrydning af alkylkæden, hvorefter ringstrukturen oxideres samtidig med omdannelse af sulfonatgruppen til uorganisk sulfat (Swischer 1987). Nedbrydning kan dog også initieres ved desulfonering, hvor sulfonatgruppen først fraspaltees (Cook et al. 1999).

Battersby og Wilson (1989) undersøgte nedbrydeligheden af en lang række stoffer, bl.a. LAS under metanogene betingelser i 60 dages batch

tests. For LAS sås fuldstændig inhibering af gasudviklingen ved koncentrationer svarende til 75-80 mg LAS/l.

Nedbrydning af LAS under metanogene betingelser i batchtest er også blevet undersøgt ved anvendelse af et adapteret inokulum fra et sediment, der kontinuerligt, og i mange år, var blevet belastet med høje koncentrationer af LAS (Federle og Schwab 1992). Mineraliseringen blev målt som $^{14}\text{C-CO}_2$ og CH_4 og var ikke signifikant for LAS, mens der for referencestofferne glukose og benzoat var en genfinding for ^{14}C på henholdsvis 38-46% og 30-43%. Undersøgelsen viste, at den mikroflora, som må forventes at være tilvænnet LAS gennem lang tid, ikke var i stand til at nedbryde LAS under metanogene forhold.

Larson et al. (1993) undersøgte mineraliseringen af $^{14}\text{C-LAS}$ under aerobe og anaerobe (metanogene) betingelser i batch med adapteret aktivt slam eller flodvand som inokulum. Under aerobe forhold var der en nedbrydning på ca. 60% i løbet af 14 dage målt som $^{14}\text{C-CO}_2$ i procent af tilsat $^{14}\text{C-LAS}$. Nedbrydningen var langsommere, men dog sammenlignelig med nedbrydningen af de strukturelt beslægtede referencestoffer benzoat og palmitat. Ved inkubering under metanogene forhold i 21 dage sås, efter en forudgående 6 timers aerob inkubering, en overraskende høj nedbrydning af LAS svarende til en mineralisering på omkring 80% i løbet af testperioden. Den opnåede nedbrydning af benzoat og palmitat var tæt på 100%. Resultaterne viste, at en indledende aerob behandling af LAS tillader initial oxidation af alkylgruppen af LAS (ved ω -oxidation) under dannelse af en carboxylgruppe, hvorefter fuldstændig nedbrydning kan ske under metanogene forhold (ved β -oxidation og hydroxylering af benzenringen).

Nonylphenol og NPE

Nonylphenoethoxylater (NPE) nedbrydes under aerobe forhold ved trinvis afkortning af ethoxylatkæden under dannelse af nonylphenoethoxylater med få ethoxylatgrupper (NPE_{1-2}) og 4-nonylphenol. Den videre nedbrydning af 4-nonylphenol og NPE_{1-2} , er en langsom proces, der medfører ophobningen i slamfasen i biologiske renselanlæg (Swischer 1987). Dette er i overensstemmelse med, at stofferne har en stigende tendens til at adsorbere til slamfasen i renselanlæg, jo kortere ethoxylatkæden er (stigende octanol/vand fordelingskoefficient, $\log K_{ow}$).

Fuldstændig mineralisering af NPE er observeret i mere aktive aerobe systemer, f.eks. gennemløbssystemer som OECD-CAS testen (Continuous Activated Sludge). Der sker således under aerobe forhold en relativ hurtig primær nedbrydning af forbindelserne til nonylphenoethoxylater med få ethoxylatgrupper eller til 4-nonylphenol under forudsætning af tilstedeværelse af en adapteret mikroflora. Battersby og Wilson (1989) har dog fundet, at 60 mg/l 4-nonylphenol inhiberede gasproduktionen fuldstændigt i en 60 dages batch tests uden indikationer på adaptation.

Nedbrydning af NPE til nonylphenol er ligeledes observeret under metanogene betingelser ud fra undersøgelser af massebalancer for udvalgte stoffer i renselanlæg (Brunner et al. 1986). Der blev fundet en netto nedbrydning af NPE_1 og samtidig nettoforøgelse af mængden af 4-nonylphenol i de anaerobe behandlingstrin. Dette indikerer, at NPE kan nedbrydes delvist under metanogene betingelser med 4-nonylphenol som stabilt nedbrydningsprodukt, sandsynligvis ved ω -oxidation af ethoxylatkæden (Swischer 1987).

Tanaka og Ichikawa (1993) undersøgte nedbrydeligheden af NPE-9 (9 ethoxylatgrupper) under metanogene betingelser ved inkubering i batch med anaerobt slam som inokulum ved 37°C. Undersøgelsen viste en primær nedbrydning af NPE på 38% i løbet af 30 dage. Efter fotolytisk forbehandling (belysning med kviksølvlampe i 4 timer) var den anaerobe nedbrydning 100%. Der sås lille eller ingen hæmning af metandannelsen ved NPE koncentrationer på 80 mg/l, men kraftig hæmning ved 100 mg/l.

Salanito og Diaz (1995) undersøgte nedbrydeligheden af NPE-9 under metanogene forhold i batch inkuberet med anaerobt slam i 40-50 dage ved 35°C. I lighed med ovenstående undersøgelse blev der påvist tæt på 100% primær nedbrydning ved koncentrationer svarende til 10 og 50 mg C/l.

De ovenstående to undersøgelser bekræfter den antagelse, at NPE undergår primær nedbrydning under metanogene betingelser antageligt under dannelse af det stabile nedbrydningsprodukt 4-nonylphenol og evt. NPE med 1-2 ethoxylatgrupper. Bestemmelse af fuldstændig nedbrydning er dog ikke medtaget i de sidstnævnte undersøgelser.

1.2 Nedbrydning af PAH under anaerobe forhold

1.2.1 Forekomst i organiske affaldsstrømme

PAH-forbindelser forekommer ofte i høje koncentrationer i spildevandsslam, og en række af de mest almindelige forbindelser er desuden fundet i kompost fra kildesorteret organisk dagrenovation og kvæggylle i koncentrationer, der er sammenlignelige med indholdet i lavt belastet spildevandsslam.

Koncentrationer af individuelle PAH-forbindelser i spildevandsslam er eksempelvis for phenanthren fra <20 - 1800 µg/kg tørstof (TS), mens der i komposteret kildesorteret organisk dagrenovation i Danmark er fundet en phenanthren koncentration på 37 µg/kg TS. Phenanthren er desuden fundet i koncentrationer på 1-2 µg/kg TS i kvæggylle (Miljøstyrelsen 1996). I tabel 1-1 er angivet niveauer for koncentrationer af udvalgte PAH-forbindelser i slam, kvæggylle og kompost.

Forekomsten af PAH-forbindelser i omgivelserne stammer hovedsageligt fra anvendelse af fossile brændstoffer. Det er dokumenteret, at PAH-forbindelser kan transporteres over store afstande i atmosfæren og afsættes som våd og tør deposition. Baggrundskoncentrationer, der her skal opfattes som koncentrationer, som primært skyldes den diffuse forurening med PAH, ligger i størrelsesorden µg/kg for overfladejord og ng/m³ for luft (Miljøstyrelsen 1993). De aktuelle koncentrationer varierer betydeligt på forskellige lokaliteter, og luftens indhold af PAH'er varierer desuden med årstiden.

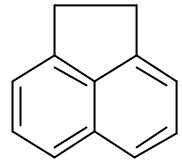
Tabel 1-1. Koncentrationsniveauer for PAH forbindelser i spildevandsslam, kompost (af organisk dagrenovation) og kvæggylle. Målinger af slam er baseret på 20 prøver fra forskellige anlæg. Målinger af kompost og gylle baseret på hhv. 1 og 2 stikprøver. De anførte forbindelser er reguleret ved bekendtgørelsen om anvendelse affaldsprodukter til jordbrugsformål (Miljøstyrelsen 1996).

PAH forbindelse	Koncentrationsniveau (mg/kg tørstof)		
	Spildevandsslam	Kompost	Kvæggylle
Acenaphthen	<10-110	<10	<0,4
Fluoren	<10-310	<10	<0,4
Phenanthren	<10-1800	37	1-2
Fluoanthen	<10-3300	19	<0,4
Pyren	<10-3800	<10	<0,4
Benzfluoanthener (b,j,k)	<10-2400	<10	<0,4
Benzo(a)pyren	<10-1400	<10	7,5-13
Benzo(ghi)perylene	<10-1400	<10	<0,4
Indeno(1,2,3-cd)pyren	<10-630	<10	<0,4

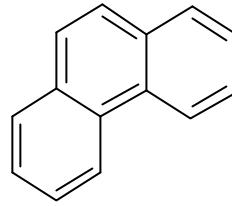
I overensstemmelse med den udbredte forekomst af PAH-forbindelser i miljøet er der i undersøgelser af spildevandsslam fra 20 danske renseanlæg ikke identificeret enkelte kilder, der kan forklare PAH-indholdet i de indsamlede slamprøver. Tilsvarende er det ikke muligt at pege på enkeltkilder til forekomst af PAH i kompost og kvæggylle, og indholdet kan stamme fra den generelle baggrundsbelastning med stofferne i ellers uforurenede miljøer og/eller spild af olieholdige produkter (Miljøstyrelsen 1996).

Miljø- og Energiministeriets bekendtgørelse nr. 823 af 16. september 1996 (Miljø- og Energiministeriet 1996) om anvendelse af affaldsprodukter til jordbrugsformål omfatter udelukkende ikke-substituerede og ikke-heterocykliske forbindelser med 3 til 6 ringe. De individuelle forbindelser er angivet med strukturformel i figur 1-1. Der er ifølge bekendtgørelsen fastsat en grænse på 3 mg/kg TS for summen af nede nævnte PAH-forbindelser i affaldsprodukter, der anvendes i jordbrug.

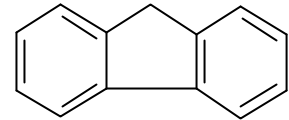
ACENAPHTHEN



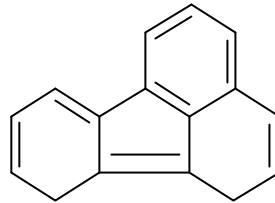
PHENANTHREN



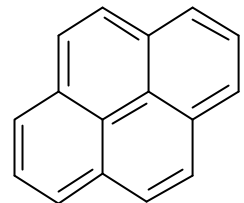
FLUOREN



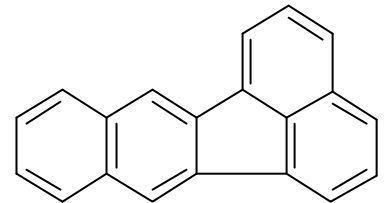
FLUORANTHENE



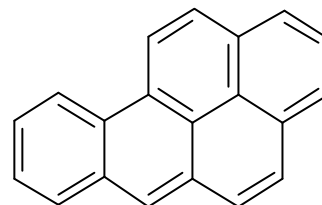
PYREN



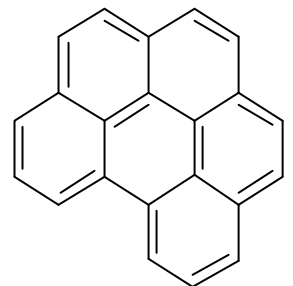
BENZO(b,j,k)FLUORANTHEN



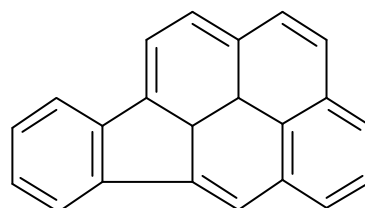
BENZO(a)PYREN



BENZO(ghi)PERYLEN



INDENO(1,2,3-cd)PYREN



Figur 1-1. Molekylstrukturer for en række PAH'er.

1.2.2 Nedbrydning under anaerobe forhold

Den aerobe mikrobielle nedbrydning af monocykliske og ikke substituerede PAH-forbindelser er veldokumenteret (Cerniglia 1984), og sker under tilstedeværelse af ilt oftest ved oxidation til en dihydroxy-forbindelse med en efterfølgende ringåbning (catechol pathway). Denne form for ringåbning er der ikke mulighed for under anaerobe betingelser.

Nedbrydningshastigheden af PAH-forbindelser afhænger bl.a. af stoffernes tilgængelighed i miljøet. Således ses ofte meget langsom biologiske nedbrydning af stoffer, der bindes hårdt til organisk materiale (høj $\log K_{ow}$). For PAH-forbindelser kan der således observeres en faldende nedbrydningshastighed med stigende molekylvægt f.eks.: naphthalen > phenanthren > pyren > benzo(a)pyren. Dette er i overensstemmelse med stoffernes stigende $\log K_{ow}$ og faldende vandopløselighed, der resulterer i en stadig stærkere binding til den organiske fraktion i jorden (Heitkamp og Cerniglia 1987). Benzo(a)pyren ($\log K_{ow} = 6$) anses for at være meget langsomt nedbrydelig under aerobe betingelser, og i praksis persistent i anaerobe miljøer.

Mihelsic og Luthy (1988) undersøgte nedbrydning af acenaphthen og naphthalen under denitrificerende forhold i batchforsøg med jord som inokulum. Acenaphthen blev nedbrudt til ikke detekterbare koncentrationer i løbet af 80 dage, mens nedbrydning uden tilstedeværelse af nitrat ikke var signifikant. Naphthalen blev nedbrudt af en i forvejen adapteret mikroflora til ikke detekterbare koncentrationer i løbet af 16 dage. Som for acenaphthen sås ingen nedbrydning ved nitratbegrænsning. Forsøget viser, at nedbrydning af disse PAH-forbindelser under de aktuelle betingelser afhænger af bakteriel nitratreduktion.

Grbic-Galic (1989) diskuterer i en oversigtsartikel en række undersøgelser, hvor der er observeret nedbrydning af benzen, indén og naphthalen foruden en række heteroaromatiske og substituerede PAH'er under metanogene forhold.

Benzen og toluen blev konstateret fuldstændig nedbrudt under metanogene betingelser i batch uden tilstedeværelse af andre kulstofkilder i løbet af hhv. 64 og 34 dage. Nedbrydningen begyndte med en ringoxidation under dannelse af phenol. Oxygendonoren til denne proces antages at være vand. Den videre anaerobe nedbrydning forløb på samme måde som for andre oxiderede aromatiske forbindelser (Grbic-Galic 1989).

Nedbrydning af naphthalen i batchkulturer blev observeret efter akklimatisering i en måned. Der var fuldstændig mineralisering af stoffet til CO_2 og CH_4 efter 30 ugers inkubering ved $35^\circ C$. Nedbrydningsforløbet fulgte som for benzen en initial oxidation af ringstrukturen under dannelse af 2-ethylphenol og benzofuran. Tilsvarende sås for PAH-forbindelsen indén en fuldstændig nedbrydning til CO_2 og CH_4 i løbet af to måneders inkubering ved $25^\circ C$. Det mikrobiologiske konsortium i denne test var også i stand til at nedbryde naphthalen (Grbic-Galic 1989).

Leduc et al. (1992) undersøgte nedbrydningen af acenaphthen, acenaphthylen, fluoren og anthracen under forskellige redoxbetingelser (aerobe, denitrificerende, sulfat-reducerende og metanogene betingelser). Batchinkubatorer blev tilsat PAH-forbindelser (100 mg/l), inokulum (jord) og mineralmedium. Testbeholderne blev inkuberet under omrøring i 120

dage ved 25 °C. Der var en betydelig biologisk primær nedbrydning af alle PAH-forbindelser under aerobe og denitrificerende forhold, mens der ikke var signifikant nedbrydning under sulfat-reducerende og metanogene betingelser.

Genthner et al. (1997) undersøgte nedbrydningen af en række forskellige PAH-forbindelser med 2, 3, 4 og 5 ringe, heriblandt naphthalen, acenaphthen, phenanthren, fluoren, flouranthen, pyren og benzo(a)pyren under denitrificerende og metanogene forhold. Stofferne blev inkuberet med inokulum fra et anaerobt og creosotforurenset sediment i batch i et år. Der var ingen nedbrydning af PAH-forbindelser med 4 og 5 ringe, og kun begrænset nedbrydning af bicykliske PAH'er (herunder naphthalen) og en enkelt tricyklisk forbindelse (anthraquinon). Nedbrydningen blev vist ved kemisk analyse.

Den manglende mikrobiologiske omsætning af PAH-forbindelser under metanogene forhold underbygges af termodynamiske overvejelser af McFarland og Sims (1992), som viser, at nedbrydning af PAH'er med 2, 3, og 4 aromatiske ringe giver anledning til så lille energifrigivelse under sulfat-reducerende og metanogene forhold, at det ikke vil være tilstrækkeligt til at understøtte mikrobiel vækst.

Heterocykliske aromatiske forbindelser (forbindelser med et eller flere heteroatomer, f.eks. ilt eller svovl) er kemisk set mere ustabile end de tilsvarende homocykliske forbindelser, og biologisk omsætning sker betydeligt nemmere selv under anaerobe forhold. Metanogen omsætning af heterocykliske forbindelser er observeret for bl.a. indol og tryptophan (Berry, Francis og Bolag 1987) og indol, quinolin, acridin m.fl. (Grbif-Galic 1989).

Nitrogensubstituerede naphthalener (1-NH₂ naphthalen, 2-NH₂ naphthalen, 1-NH₂-2-CH₃ naphthalen, 1-NO₂ naphthalen, 2-NO₂ naphthalen, 1-NO₂-2-CH₃ naphthalen) var nedbrydelige under aerobe, men ikke denitrificerende, sulfat-reducerende og metanogene forhold (Al-Bashir et al. 1994). 50 µg/g testblanding af stofferne blev inkuberet under omrøring i op til 250 dage med anaerobt spildevandsslam ved 25°C. Mineraliseringen blev bestemt ved opsamling af ¹⁴C-CO₂ i KOH-fælder.

Battersby og Wilson (1989) observerede begyndende hæmning af metandannelsen ved nedbrydning af 53 mg/l naphthalen i batchforsøg. Der var endvidere kraftig hæmning ved nedbrydning af 62 mg/l anthraquinon.

1.3 Nedbrydning af phthalater under anaerobe forhold

1.3.1 Forekomst i organiske affaldsstrømme

Den primære anvendelse af di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) og andre phthalat estere er som blødgørere i bl.a. PVC og andre polymerer samt i visse trykfarver og maling. Frigivelse til omgivelserne sker i forbindelse med produktion, anvendelse og bortskaffelse af affald. Der er fundet meget høje koncentrationer af DEHP i spildevandsslam fra danske anlæg: 3,9 til 170 mg/kg TS (Miljøstyrelsen 1996). Andre phthalater er i samme undersøgelse fundet i koncentrationer omkring en størrelsesorden lavere, og indholdet i kompost lå på niveau med slam fra lavt belastede anlæg

(15 mg/kg TS). Også i kvæggylle fra økologiske og konventionelle brug blev der konstateret DEHP i koncentrationer omkring 5 mg/kg TS. De meget høje koncentrationer i slam kan bekræftes af andre undersøgelser (Miljøstyrelsen 1995).

Disse undersøgelser tyder på, at DEHP er almindeligt forekommende i affaldsstrømme antageligt på grund af den udbredte anvendelse af PVC, trykfarver mv., hvorfra der sker frigivelse til organisk affald.

DEHP er fundet i koncentrationer på ppm niveau i spildevand, i industri-belastet sediment og i jord. Der er rapporteret om koncentrationer i ppb niveau i overfladevand (VKI 1995, Howard 1990). Undersøgelserne indikerer, at frigivelsen af DEHP til miljøet er betydelig, og at stoffet i praksis nedbrydes langsomt i naturen.

1.3.2 Nedbrydning under anaerobe forhold

Biologisk nedbrydning er den væsentligste fjernelsesmekanisme for DEHP og andre phthalatestre i miljøet, idet hydrolyse og fotonebrydning kan anses for uden betydning (Howard 1989). Nedbrydningen af DEHP i testsystemer for let (aerob) nedbrydelighed, hvor der anvendes ikke adapteret inokulum, er generelt for langsom til, at forbindelsen kan betegnes let bionedbrydelig. Der er i flere undersøgelser fundet fra ingen og op til 29% nedbrydning efter 2-3 ugers inkubering. Ved anvendelse af akklimatiseret inokulum er der derimod observeret op til over 90% nedbrydning i løbet af 4 uger (Miljøstyrelsen 1996c).

Ejlertsson et al. (1996) fandt ingen nedbrydning af DEHP under metanogene forhold efter inkubering af 68 mg DEHP/l i 100 dage ved 37°C. Der sås derimod nedbrydning af dimethylphthalat, diethylphthalat, dibutylphthalat og dibenzylbutylphthalat under dannelse af metan (henholdsvis 90, 10, 19 og 11 % af det teoretisk opnåelige). Nedbrydningsprodukterne var de tilsvarende monoalkyl (eller benzyl) phthater.

Shelton et al. (1984) undersøgte nedbrydningen af phthalatestre i koncentrationer på 20 mg/l under metanogene forhold i batchreaktorer, som blev inkuberet ved 35°C i 10 uger med 10% primært anaerobt slam fra et renseanlæg som inokulum. Der blev observeret omkring 80% mineralisering i løbet af 40 dage af dimethyl-, diethyl- og dibutylphthalat, mens butylbenzylphthalat blev mineraliseret 100% (i forhold til teoretisk metandannelse). Mineraliseringen af DEHP og dioctylphthalat var ikke signifikant.

Battersby og Wilson (1989) undersøgte metandannelsen af bl.a. phthalatestre under metanogene forhold i batch inokuleret med anaerobt slam fra et renseanlæg, inkuberet ved 35°C i 60 dage. For dimethyl- og di-n-butylphthalat sås, efter en adaptationsfase på 16-23 dage, en netto gasproduktion på henholdsvis 41 og 24% (af teoretisk mulig gasproduktion). Der sås ingen nedbrydning af DEHP.

Metandannelsespotentialer og toksiciteten over for metanogenesen af phthasyre, dimethyl, diethyl-, dibutyl- og di(2ethylhexyl) phthalat blev undersøgt af O'Connor et al. (1989) i testsystemer, hvor 20, 100 og 200 mg C/l (for DEHP svarende til 27-270 mg/l) blev inkuberet med 10% anaerobt slam ved 37°C i 140 dage. For alle koncentrationer af phthasyre og dibutylphthalat samt for laveste koncentration af dimethyl og diethylphthalat sås 75-100% metandannelse i forhold til det teoretisk mulige,

mens høje koncentrationer dimethyl- og diethylphthalat hæmmede metandannelsen (henholdsvis 161-324 og 154-308 mg/l). Der sås ingen signifikant metandannelse fra DEHP som kulkstoffkilde. Desuden sås ingen signifikant hæmning af metanogenesen ved tilsætning af DEHP.

I en undersøgelse af fjernelsen af bl.a. dibutylphthalat i et anaerobt "expanded bed granular activated carbon" (GAC) system til spildevandsbehandling sås en 100% tilbageholdelse af stoffet og en gradvis tilvæning af mikrofloraen således, at den beregnede nedbrydning i løbet af en periode på 286 dage nåede 78% af den tilsatte mængde, mens adsorption til bærematerialet udgjorde 22% (Narayanan et al., 1993).

Ziogou et al. (1989) undersøgte nedbrydningen af phthalatestre i koncentrationer på 0,5, 1 og 10 mg/l under anaerobe forhold i et batch testsystem inokuleret med slam fra en anaerob rådnetank og inkuberet i 32 dage ved 37°C. Dimethyl-, diethyl-, di-n-butyl- og butylbenzyl phthalat blev hurtigt nedbrudt (primær nedbrydning), mens der ikke sås signifikant nedbrydning af DEHP og di-n-octylphthalat.

Det kan således konstateres, at DEHP ikke nedbrydes under metanogene eller anaerobe forhold, mens andre phthalatestre synes at være lette at omsætte. Shelton et al. (1984) angiver, at nedbrydeligheden af phthalatestre er relateret til alkylkædens længde i overensstemmelse med ovenstående resultater, hvor forbindelser som dimethylphthalat, diethylphthalat, dibutylphthalat og dibenzylbutylphthalat i flere undersøgelser er påvist at blive nedbrudt under dannelse af metan, mens forbindelser med alkylkæder på 8 kulfatomer, som DEHP og di-n-octylphthalat, ikke omsættes.

De indledende nedbrydningstrin for phthalsyre diestre synes at være de samme under aerobe og anaerobe forhold (Shelton et al. 1984), idet der dannes en monoesterforbindelse ved fraspaltning af den ene alkylkæde, og en videre nedbrydning af monoesteren til phthalsyre, som er påvist at blive mineraliseret under metanogene forhold (O'Connor et al., 1989).

O'Connor et al. (1989) viste endvidere, at følgende koncentrationer af phthalsyreestre hæmmer metandannelsen: dimethylphthalat 161-324 mg/l; diethylphthalat 154-308 mg/l og dibutylphthalat >290 mg/l.

Den manglende nedbrydning af DEHP og di-n-octylphthalat under anaerobe forhold, og den langsomme aerobe nedbrydning, der er konstateret i en række undersøgelser under laboratoriebetingelser, er i overensstemmelse med, at stoffet er almindeligt forekommende i ppb niveau i overfladevand og i ppm niveau i sediment og jordmiljøet (Howard 1990). Den langsomme nedbrydning kan til dels skyldes stoffernes lave biotilgængelighed i miljøer med et højt indhold af organiske partikler, f.eks. spildevand og jordmiljøet, da stoffernes meget høje oktanol-vand fordelingskoefficient ($\log K_{OW}$ omkring 7,5) medfører en stærk adsorption til jord.

1.4 Anaerob nedbrydning af chlorerede phenoler og benzener

1.4.1 Forekomst i organiske affaldsstrømme

Chlorphenoler og chlorbenzener har bred anvendelse som kemiske intermediære stoffer ved fremstilling af f.eks. biocider, pesticider, farvestoffer

foruden en anvendelse som opløsnings- og affedningsmiddel (chlorbenzener), biocid og imprægneringsmiddel (chlorphenoler). På grund af den megen fokusering på chlorerede forbindelser i de seneste år er omfanget af anvendelsen antageligt faldende.

Der er i undersøgelser af spildevandsslam fundet koncentrationer af 2,4-dichlorphenol på op til 13 µg/kg TS (Miljøstyrelsen 1996) og 170 µg/kg TS (Miljøstyrelsen 1995). Koncentrationen af andre chlorphenoler ligger i de nyeste undersøgelser generelt under detektionsgrænsen på 1-5 µg/kg TS bortset fra enkeltstående fund (130 µg/kg TS 2,4,6-trichlorphenol). Der er desuden fundet spor af chlorphenoler i vandige ekstrakter af slam, hvor detektionsgrænsen er lavere. De hyppigst fundne forbindelser i undersøgelser af 20 slamprøver er 2,4-dichlorphenol og 2,4,6-trichlorphenol, (Miljøstyrelsen 1996).

Chlorbenzener er i samme undersøgelse fundet i koncentrationer på op til 420 µg/kg TS for 1,2,4-trichlorbenzen, som var den hyppigst forekommende chlorbenzen.

Der blev i den nævnte undersøgelse ikke fundet chlorphenoler eller chlorbenzener i koncentrationer over detektionsgrænsen i kompost og kvæggylle (1-5 µg/kg TS).

1.4.2 Nedbrydning under anaerobe og metanogene forhold

Di- og trichlorphenoler kan under aerobe forhold forventes at blive hurtigt nedbrudt, mens f.eks. 1,4-di- og 1,2,4-trichlorbenzen nedbrydes langsomt. En væsentlig fjernelse vil ske ved fordampning (Howard 1989).

Chlorphenoler

En lang række undersøgelser har påvist nedbrydning af chlorerede phenoler under anaerobe og metanogene forhold. Nedbrydningen sker ved en såkaldt reaktiv dechlorering, hvor der sker en sekventiel fjernelse af chloratomer fra molekylet under dannelse af lavere chlorerede forbindelser, der ultimativt mineraliseres under dannelse af CO₂ og CH₄.

Boyd et al. (1983) fandt, at o-chlorphenol under anaerobe betingelser blev omdannet til phenol og nedbrudt videre under dannelse af CO₂ og CH₄. Nedbrydning ved reaktiv dechlorering blev siden observeret også for højere chlorerede forbindelser. Kohring et al. (1989b) observerede dechlorering af 2,4-dichlorphenol under dannelse af 4-chlorphenol under metanogene og sulfat-reducerende forhold, idet adaptationsfasen var noget længere (3-4 uger) under tilstedeværelse af sulfat. Der sås ingen dechlorering under 18°C og over 40°C.

Häggbloom og Young (1990) rapporterede nedbrydning af mono- og dichlorphenoler under anaerobe og sulfat-reducerende forhold i batch inkuleret med ferskvandssediment og inkuberet ved 30°C i 260 dage. 16 mg dichlorphenol blev omdannet fuldstændigt i løbet af 150-200 dage, og der sås en betydelig højere nedbrydningsrate efter adaptation af mikrofloraen.

Mikesell og Boyd (1986) undersøgte nedbrydningen af pentachlorphenol (PCP) under metanogene forhold i batch kulturer inkuleret med anaerobt spildevandsslam og inkuberet i 40 dage med tilsætning af PCP, svarende til koncentrationer på ca. 10 mg/l, fire gange i løbet af de første 30 dage.

Der sås en mineralisering af PCP svarende til at 66% af den tilsatte ^{14}C aktivitet, som blev genfundet som $^{14}\text{C-CO}_2$ og $^{14}\text{C-CH}_4$. PCP blev nedbrudt under dannelse af 3,4,5-trichlorphenol, 3,5-dichlorphenol og 3-monochlorphenol, som blev mineraliseret i løbet af forsøgsperioden. Forsøget viser, at PCP samt mono- di-, og trichlorphenoler som eneste kulstofkilde nedbrydes via reduktiv dechlorering og under dannelse af metan og kuldioxid.

Tilsvarende resultater er rapporteret af Madsen og Aamand (1992), som påviste dechlorering af 2,4,5- og 2,4,6-trichlorphenol i koncentrationer på 20 - 200 mg/l under metanogene forhold i batch kulturer inokuleret med en adapteret bakteriekultur. Trichlorphenol blev nedbrudt under dannelse af støchiometrisk set lavere koncentrationer af di- og monochlorphenoler, som ligeledes blev mineraliseret. Der blev endvidere fundet forskellige nedbrydningsrater ved forskellige tilsatte kulstofkilder. Således var nedbrydningen ved anvendelse af gærekstrakt som co-substrat hurtigere end ved anvendelse af f.eks. glukose.

Kohring et al. (1989a) undersøgte temperaturafhængigheden af nedbrydningen af 2,4-dichlorphenol under metanogene forhold i batch reaktorer ved 20 mg/l. Inokulum var sø-sediment og inkuberingstemperaturene var fra 5-72°C. 2,4-dichlorphenol blev nedbrudt til 4-chlorphenol ved temperaturer fra 5-50°C, mens den videre nedbrydning af 4-chlorphenol sås efter en yderligere adaptationsfase ved 15-40°C. Optimal metandannelse sås ved omkring 30°C og omkring 55°C. Dette indikerer, at mindst to forskellige organismer (med forskelligt temperaturoptimum) var involveret i omdannelsen af 2,4-dichlorphenol.

Armenante (1993) undersøgte betydningen af pH for dechlorering af 2,4,6-trichlorphenol (20 mg/l) i batch inokuleret med adapteret anaerobt slam inkuberet ved 30°C. Der blev fundet en stærk pH afhængighed, idet der kun sås dechlorering til 2,4-dichlorphenol og 4-chlorphenol ved pH værdier mellem 8 - 8,8, men ikke ved pH 7-8 og 9-10.

I forsøg med kontinuerte anaerobe reaktorer fandt Parker et al. (1994) en fjernelse af di- og trichlorphenol på mellem 86 og 99% efter en adaptationsperiode på omkring 100 dage. Reaktoren var stabil i en periode på 197 dage før undersøgelsen. Stofferne blev tilsat i koncentrationer på omkring 0,5 mg/l i en periode på 80 dage. Efter doseringen ophørte sås et kraftigt fald i koncentrationerne af chlorphenolforbindelser, hvilket blev fortolket som en anaerob nedbrydning.

Der sås hæmning af metandannelsen ved 88 mg/l monochlorphenol, 111 mg/l dichlorphenol og 135 mg/l trichlorphenol. Disse oplysninger betyder dog ikke, at stofferne ikke hæmmer metandannelsen ved lavere koncentrationer. 50% hæmning af metandannelsen sås for pentachlorphenol ved 9,2 mg/l (Battersby og Wilson, 1989).

Chlorbenzener

Nedbrydning af trichlorbenzener (TCB) til di- og monochlorbenzener blev observeret i et gennemløbssystem inokuleret med anaerobt sediment fra Rhinen, som over 300 dage var tilvænet stofferne. Trichlorbenzen blev tilsat som eneste kulstofkilde, og der sås en omdannelse af 1,2,3-, 1,2,4-, og 1,3,5-TCB ved koncentrationer på 0,05-0,09 mg/l til 1,3-, 1,4-, og 1,2-dichlorbenzen. Tilsvarende sås en omdannelse af dichlorbenzen (0,4-0,7 mg/l) til monochlorbenzen (Bosma et al., 1988).

Fathepure et al. (1988) undersøgte den reductive dechlorering af hexachlorbenzen (HCB) under anaerobe betingelser i batch kulturer inokuleret med frisk anaerobt slam adapteret til HCB. I løbet af 14 ugers inkubering ved 37°C sås omdannelse af HCB til tetra- og trichlorbenzen, mens videre dechlorering til di- og monochlorbenzener ikke blev observeret.

Ramanand et al. (1993) undersøgte nedbrydningen af chlorerede benzener under metanogene forhold med mikrokosmossystemer, hvor inokulum adapteret til nedbrydning af trichlorbenzen blev inkuberet i 150 dage med en blanding af hexa-, penta- og trichlorbenzen i en total koncentration på 64 mg/l. Der var en næsten fuldstændig omdannelse af de tilsatte chlorbenzener under dannelse af lavere chlorerede forbindelser. Dette viser, i modsætning til Fathepure et al. (1988), at trichlorbenzener kan undergå reaktiv dechlorering under dannelse af monochlorbenzen.

Chlorphenoler og chlorbenzener kan således undergå en reaktiv dechlorering til henholdsvis monochlorphenol og monochlorbenzen. Monochlorphenol kan mineraliseres til CO₂ og CH₄ under metanogene forhold, mens monochlorbenzen tilsyneladende ikke nedbrydes under metanogene forhold (Battersby og Wilson, 1989).

1.5 Sammenfatning

Det kan på baggrund af den ovenstående gennemgang af eksperimentelle undersøgelser af nedbrydning under metanogene forhold konkluderes, at de stoffer, der primært fokuseres på i forbindelse med anvendelse af affaldsprodukter i jordbruget generelt er svært nedbrydelige under anaerobe forhold. Hovedresultaterne kan sammenfattes således:

Tensider

Der er ikke fundet eksperimentelle data som tyder på, at liniære alkylbenzen sulfonater (LAS) kan nedbrydes under anaerobe og metanogene betingelser. I en enkelt undersøgelse er der dog fundet mineralisering under metanogene forhold, men dette skete efter en aerob forbehandling, hvor alkyliden af LAS-molekylet antageligt blev oxideret til en carboxylforbindelse, som herefter blev omsat uden indvirkning af ilt. Det kan derfor konkluderes, at LAS ikke kan forventes omsat under metanogene forhold uden forudgående primær nedbrydning af alkyliden.

LAS er fundet at hæmme metandannelsen ved koncentrationer svarende til 75-80 mg/l.

Nonylphenoletoxylater er observeret omsat mikrobiologisk under metanogene forhold under dannelse af forbindelser med et lavere antal ethoxylatgrupper samt 4-nonylphenol. Disse forbindelser synes ikke at blive nedbrudt videre under anaerobe forhold, hvilket er i overensstemmelse med, at der forekommer meget høje koncentrationer af disse forbindelser i spildevandsslam. NPE-9EO (dvs. med ni ethoxylatgrupper) er fundet at hæmme metandannelsen ved 80-100 mg/l og 4-nonylphenol hæmmer ved 60 mg/l.

PAH-forbindelser

Nedbrydeligheden af PAH-forbindelser, der generelt har en lav vandopløselighed, er stærkt afhængig af stoffernes adsorption til organisk materiale, idet forbindelser, der bindes stærkt til organiske partikler, har lav

biotilgængelighed og mikrobiologisk nedbrydelighed. Ikke substituerede og homocycliske PAH-forbindelser med høj molekylvægt (f.eks. benzo(a)pyren) kan derfor i praksis betragtes som persistente, mens substituerede aromater og PAH'er med en eller to ringe (f.eks. benzen og naphthalen) nedbrydes relativt hurtigere.

Under metanogene forhold er der således observeret nedbrydning af naphthalen og acenaphthen, foruden der er set omdannelser af heterocycliske forbindelser som indol, quinolin og substituerede forbindelser som methylnaphthalener og anthraquinon. Der er endvidere set nedbrydning af acenaphthen, fluoren og anthracen under nitratreducerende forhold.

Der er ikke rapporteret anaerob nedbrydning af PAH-forbindelser med 4 ringe eller derover. Ud fra en termodynamisk betragtning er nedbrydning af PAH-forbindelser med >2 ringe meget lidt favorabelt for mikroorganismer, og antageligt ikke i stand til at understøtte mikrobiel vækst.

Naphthalen er fundet at hæmme metandannelsen ved 53 mg/l, mens anthraquinon inhiberede ved 62 mg/l.

DEHP

Nedbrydeligheden af phthalsyreestre afhænger som for andre stoffer med lille vandopløselighed bl.a. af deres biotilgængelighed. Der ses således for nedbrydningen af phthalatestre en tydelig afhængighed af stoffernes alkylkædelængde/molekylvægt og dermed vandopløselighed. Der er set nedbrydning af phthalatforbindelserne dimethylphthalat, diethylphthalat, dibutylphthalat under metanogene betingelser i flere undersøgelser, men ikke af DEHP og di-n-octylphthalat. DEHP kan således ikke forventes nedbrudt under metanogene forhold, mens phthalsyreestre med mindre alkylkædelængde kan omdannes under dannelse af metan.

Forskellige phthalsyreestre er fundet at hæmme metandannelsen ved koncentrationer fra omkring 135 mg/l (se endvidere tabel 1-2).

Chlorphenoler

Der foreligger en del eksperimentelle undersøgelser vedrørende nedbrydning af chlorerede phenoler under metanogene forhold. Såvel højt som lavt chlorerede forbindelser er påvist nedbrudt under dannelse af metan. Det er påvist, at mekanismen ved anaerob nedbrydning af chlorphenoler involverer en reaktiv dechlorering, hvor chlorphenoler omdannes til forbindelser med lavere chloreringsgrad for ultimativt at blive mineraliseret under dannelse af CO₂ og CH₄.

Chlorbenzener

Chlorbenzener undergår ligeledes reaktiv dechlorering under metanogene forhold under dannelse af lavere chlorerede benzener. Reduktiv dechlorering er påvist for chlorbenzen med 2-6 chloratomer, mens monochlorbenzen tilsyneladende er et stabilt slutprodukt under metanogene forhold.

Det kan på baggrund af denne litteraturgennemgang konstateres, at der blandt de stoffer, der er fokuseret på i Miljøstyrelsens bekendtgørelse nr. 823 af 16. september 1996, er stor forskel på nedbrydeligheden under metanogene forhold og dermed mulighed for reduktion af indholdet ved anaerob behandling..

Tabel 1-1. Nedbrydning af organiske fremmedstoffer i slam. Sammenfatning af litteraturgennemgang

Stofgruppe/ stof	Nedbrydning (+/-)			Toksicitet metanog. ^c mg/l	Reference
	Deni. ^a	Sulfatr. ^b	Metanog. ^c		
Tensider incl. nedbrydningsprodukter					
LAS			lille/ingen - - (+)	75-80	Swischer (1987) Battersby og Wilson (1989) Federle og Schwab (1992) Larson <i>et al.</i> (1993)
NPE			delvis omsætning (primær nedbrydn.)	80-100	Swischer (1987) Tanaka og Ichikawa (1993) Salanitro og Diaz (1995)
4-nonylphenol			-	60	Battersby og Wilson (1989) Swischer (1987)
PAH-forbindelser, homocykliske					
Naphathlen	+		+ +	53	Mihelsic og Luthy (1988) Grbic-Galic (1989) Genthner <i>et al.</i> (1997) Battersby og Wilson (1989)
Indén	+				Grbic-Galic (1989)
Acenaphthen	+		+		Mihelsic og Luthy (1988) Genthner <i>et al.</i> (1997)
	+	-	-		Leduc <i>et al.</i> (1992)
Fluoren	+	-	-		Leduc <i>et al.</i> (1992)
Anthracen	+	-	-		Leduc <i>et al.</i> (1992)
4-5 cykliske PAH'er	-		-		Genthner <i>et al.</i> (1997)
PAH-forbindelser, heterocykliske og substituerede					
Indol			+		Berry <i>et al.</i> (1987) Grbic-Galic (1989)
N-substituerede naphthalener	-	-	-		Al-Bashir <i>et al.</i> (1994)
Quinolin			+		Grbic-Galic (1989)
Anthraquinon			+	62	Genthner <i>et al.</i> (1997) Battersby og Wilson (1989)

Stofgruppe/ stof	Nedbrydning (+/-)			Toksicitet metanog. ^c mg/l	Reference
	Deni. ^a	Sulfatr. ^b	Metanog. ^c		
Phthalatestre					
Dimethylphthalat			+	161-324	Ejlertsson <i>et al.</i> (1996) Battersby og Wilson (1989) Shelton <i>et al.</i> (1984) O'Connor <i>et al.</i> (1989) Ziogou <i>et al.</i> (1989)
Diethylphthalat			+	154-308	Ejlertsson <i>et al.</i> (1996) Shelton <i>et al.</i> (1984) O'Connor <i>et al.</i> (1989) Ziogou <i>et al.</i> (1989)
Dibutylphthalat			+	>290	Ejlertsson <i>et al.</i> (1996) Battersby og Wilson (1989) Shelton <i>et al.</i> (1984) O'Connor <i>et al.</i> (1989) Ziogou <i>et al.</i> (1989)
Dibenzylbutylphthalat			+		Ejlertsson <i>et al.</i> (1996) Shelton <i>et al.</i> (1984) Ziogou <i>et al.</i> (1989)
DEHP			-		Ejlertsson <i>et al.</i> (1996) Shelton <i>et al.</i> (1984) Battersby og Wilson (1989) O'Connor <i>et al.</i> (1989) Ziogou <i>et al.</i> (1989)
Diethylphthalat			-		Shelton <i>et al.</i> (1984) Ziogou <i>et al.</i> (1989)
Chlorerede phenoler og benzener					
Monochlorphenol		+	+	88	Boyd <i>et al.</i> (1983) Haggblom og Young (1990) Battersby og Wilson (1989)
Dichlorphenol		+	+	111	Kohring <i>et al.</i> (1989a) Haggblom og Young (1990) Battersby og Wilson (1989)
Trichlorphenol			+	135	Madsen og Aamand (1992) Armenante (1993) Battersby og Wilson (1989)
Pentachlorphenol			+	EC ₅₀ = 9,2 ^d	Mikesell og Boyd (1986) Battersby og Wilson (1989)
Monochlorbenzen			-	>78	Battersby og Wilson (1989) Ramanand <i>et al.</i> (1993)
Trichlorbenzen	+		+		Bosma <i>et al.</i> (1988) Ramanand <i>et al.</i> (1993)
Pentachlorbenzen			+		Ramanand <i>et al.</i> (1993)
Hexachlorbenzen			+		Fathepure <i>et al.</i> (1988) Ramanand <i>et al.</i> (1993)

a: Denitrificerende forhold

b: Sulfatreducerende forhold

c: Metanogene forhold

d: EC₅₀: 50% Effect Concentration (den koncentration, hvor processen er hæmmet med 50% i forhold til den ikke hæmmede kontrol)

2 Laboratorieundersøgelse

Laboratorieundersøgelserne omfattede følgende punkter:

- Indledende screening, baseret på en ISO standard metode for anaerob nedbrydelighed (ISO 11734). Formålet med denne screening var at vurdere om standardtesten kan anvendes til vurdering af bionedbrydeligheden af miljøfremmede stoffer i biogasanlæg og rådnetanke. Årsagen til, at det er interessant at finde en screeningsmetode til at vurdere fremmedstoffers bionedbrydelighed er, at de konventionelle kemiske analyser er meget omkostningskrævende.
- Specifikke procesparametres betydning for den anaerobe stofomsætning samt driften af rådnetanke og biogasfællesanlæg blev undersøgt. Disse procesparametre var temperatur, elektronacceptorer, substrat, inokulum og samudrødning. Formålet med denne del af undersøgelsen er at belyse under hvilke driftsforhold på biogasanlæg, der er optimale betingelser for at få fjernet de miljøfremmede stoffer.
- Undersøgelse af hvorvidt en aerob efterbehandling af udrådnet slam kan fjerne fremmedstoffer, der eventuelt ikke fjernes anaerobt. Endvidere belyses det om anaerob behandling af slam eller organisk dagrenovation kan resultere i en hurtigere og mere fuldstændig omsætning af de miljøfremmede indholdsstoffer efter overgang til aerobe forhold. I praksis kan denne kombination af anaerob/aerob affaldsbehandling forgå ved, at det udrådnede slam udbringes på marken, aktivt efterbeluftes eller samkomposteres med f.eks have/parkaffald.
- Tests af slam i kontinuerlig omrørte modelreaktor systemer (CSTR-reaktorer), der simulerer den faktiske situation i en biogasreaktor. Disse eksperimenter søgte primært at afdække betydningen af driften af biogasanlæg med hensyn til den organiske belastning.

De kemiske analyser foretaget i denne undersøgelse er udført af Teknologisk Institut, Kemiteknik, og de anvendte metoder er beskrevet i bilag 5.

2.1 Screening af anaerob bionedbrydelighed

Den indledende screening havde til formål at undersøge udvalgte modelstoffers anaerobe nedbrydelighed. Den anvendte standardtest var ISO 11734 (Evaluation of the “ultimate” anaerobic biodegradability of organic compounds in digested sludge. Method by measurement of the biogas production). Det vurderes om standardtesten, eventuelt med modifikationer, kan anvendes til evaluering af fremmedstoffers nedbrydelighed i rådnetanke og biogasfællesanlæg.

2.1.1 Fremgangsmåde

Princippet i standardtesten er, at måle nedbrydningen af fremmedstoffer ved trykudvikling. Nedbrydningen kvantificeres ud fra trykudvikling i flasker med inokulum tilsat fremmedstof fratrukket trykudvikling i flasker med inokulum uden fremmedstof.

Den anaerobe bionedbrydning blev testet for 15 fremmedstoffer, se tabel 2-1.

Udrådnet vasket slam med et meget lavt indhold af uorganisk kulstof blev fortyndet til et totalt tørstofindhold på 1-3 g/l og inkuberet ved 35°C i forseglede beholdere med fremmedstoffer i en koncentration på ca. 100 mg C/l (3.333-10.000 mgC/kg TS) i op til 60 dage. For visse af stofferne blev der observeret en toksisk effekt, og forsøget blev derfor gentaget ved en koncentration på 20 mg C/l (666,6-2000 mgC/kg TS). I forsøgsopsætningen blev der medtaget blindprøver (inokulum uden fremmedstof), et referencestof (forventet bionedbrydning over 60%), samt hæmningskontroller, hvor samme koncentration af både test- og referencestof blev tilsat (til påvisning af en eventuel hæmmende effekt fra fremmedstofferne). Øgningen i headspace trykket i testflaskerne grundet produktionen af CO₂ og CH₄ blev målt ugentligt. En betragtelig mængde CO₂/karbonat vil opløses i væskefasen; denne mængde blev bestemt ved forsøgets afslutning ved forsuring af mediet.

Den procentvise bionedbrydning af fremmedstofferne blev beregnet ud fra den totale mængde kulstof dannet under testen relativt til hhv. den analyserede og den beregnede mængde kulstof tilsat som fremmedstof. Som supplement blev den primære nedbrydning bestemt ved specifikke kemiske analyser ved start og afslutning af testen.

Formlerne for beregning af den totale mængde kulstof i headspace og i væsken er angivet i standardbeskrivelsen. Ligeledes er formlerne for beregning af den procentvise bionedbrydning målt i headspace (D_h) og den totale bionedbrydning (D_t) angivet (ISO 11734).

Fremmedstofferne blev tilsat som beskrevet i bilag 7. Inokulum (100 ml) blev overført under anaerobe betingelser og flaskerne påsat butylgummi-prop og aluminiumskapsel. Flaskerne blev inkuberet i 69 dage i mørke ved 33,5°C på rystebord i varmeskab. Den forlængede testperiode på 69 dage i forhold til standardtestens anbefalede 60 dage skyldes, at der var en forsinket gasproduktion i referenceflaskerne.

Som inokulum blev der anvendt udrådnet tyndslam fra Lundtofte renseanlæg, udtaget efter retningslinierne i Plantedirektoratets notat af juni 1996 "Plantedirektoratets minimumskrav til akkrediteret prøvetagningsforskrift for kommunalt spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald". Slammet blev stabiliseret i 5 dage ved 33°C, derefter vasket to gange og fortyndet en faktor 5 med mineralmedium (ISO 11734) til et tørstof indhold på 2,6 g/l (1,2 g organisk tørstof/l) og en koncentration af opløst kulstof på 9,9 mg/l.

For alle fremmedstoffer blev der fremstillet 6 ens serumflasker. En blev anvendt til pH bestemmelse (pH for alle testforbindelser var 6,9) og

analyse af startkoncentration, 2 blev tilsat natriumbenzoat (100 mg C/l). De to flasker der blev tilsat natriumbenzoat fungerede som hæmningskontroller, dvs. kontroller på om det tilsatte fremmedstof hæmmede omsætningen af det let-omsættelige natriumbenzoat. De tre sidste flasker blev inkubet.

Koncentrationen af fremmedstofferne blev bestemt ved start og slut af testperioden. Da fremmedstofferne forventes at adsorbere til slampartiklerne, blev hele flaskens indhold anvendt ved analysen, og der blev ekstraheret direkte i flaskerne. Trykstigningen (mbar) på grund af produktion af CO₂ og CH₄ blev bestemt ugentligt, og der blev suppleret med gaskromatografiske målinger af koncentrationen af CO₂ og CH₄. Opløst kuldioxid i væsken blev bestemt som trykstigning efter uddrivning fra væskefasen med koncentreret svovlsyre (Miljøstyrelsen 1996b). Indholdet af kulstof i headspace blev bestemt som et gennemsnit fra tre testflasker, kulstof i væskefasen blev bestemt som et gennemsnit af to testflasker, mens de kemiske analyser var enkeltbestemmelser.

2.1.2 Resultater

Resultaterne fra standardtesten ses i tabel 2-1. Ved afslutning af forsøgene var pH i alle flasker 6,9.

Nedbrydningen blev vurderet ud fra den udviklede gasmængde fra fremmedstoffernes mineralisering, dvs. den fuldstændige nedbrydning til CO₂ og CH₄. Der blev som et supplement foretaget kemiske analyser for stofferne før og efter inkubering.

Der var en god overensstemmelse mellem triplikaterne på den akkumulerede trykstigning. Standardafvigelsen (triplikater) for de fremmedstoffer, der blev nedbrudt var i gennemsnit 12%.

For de fremmedstoffer, hvor den mikrobielle aktivitet blev hæmmet var værdierne for den akkumulerede trykstigning negativ (trykstigningen i blindprøverne var større end i prøverne tilsat fremmedstof).

Over 90% af den udviklede gas var metan. Metanindholdet i headspace var 5-20 gange højere end kuldioxidindholdet, men til gengæld fandtes en relativt stor fraktion som opløst CO₂ i væskefasen. Totalt set var gassammensætningen som forventet.

Supplerende nedbrydningstests ved anvendelse af standardtesten, men med lavere fremmedstofkoncentrationer (20 mg/l) blev udført efterfølgende for de stoffer, der var hæmmende på metanproduktionen. Trykudviklingen for referencestoffet natriumbenzoat tilsat i samme koncentration var dog i dette tilfælde utilstrækkelig i forhold til gasudviklingen fra inokulum, og resultaterne er derfor ikke medtaget.

Tabel 2-1. Resultater fra screeningstesten af anaerobnedbrydning af fremmedstoffer. Nedbrydningen blev bestemt som mikrobielt dannet kulstof i forhold til den tilsatte mængde kulstof. Fremmedstoffernes hæmning af den mikrobielle aktivitet blev påvist ved en lavere trykudvikling i flasker med fremmedstof+referencestof end i flasker med kun referencestof. Resultater fra kemiske analyser ved start og slut af forsøget er vist som en %-vis reduktion.

Fremmedstof	Testresultat fra ISO 11734		Nedbrydning fra kemisk analyse (%)
	Nedbrydning (%)	Hæmning	
Acenapthen	0	+	10
Flouranthen	17,5		-10
Naphthalen	0	++	-55
2-methylnaphthalen	0	++	25
Phenanthren	0		-10
Pyren	3,9	+	19
Benzo(a)pyren	19,8		2
LAS	0	++	i.a.
4-nonylphenol	0	+	-99
NPE 1EO	35,1		5
NPE 2EO	29,5		25
DBP	47,6		30
DEHP	55,5		17
DOP	46,1		-3
2,4-dichlorphenol	0	++	45

i.a.: ikke analyseret

2.1.3 Diskussion

Fremmedstofferne blev tilsat i koncentrationer svarende til 100 mg C/l, hvilket var tilstrækkeligt til at skelne mellem gasudvikling fra omsætning af fremmedstoffet og inokulum (blindprøven). Blindprøven havde et organisk indhold svarende til 1,2 g tørstof/ liter. Der blev udført forsøg med lavere koncentrationer af de tilsatte fremmedstoffer, men dette reducerede testens følsomhed.

Referencestoffet natriumbenzoat blev 100% nedbrudt ved en koncentration på 100 mg C/l, hvilket indikerer, at inokulum har været aktivt, og at testen derfor er gyldig. Der var dog en relativ lang indledende fase på 35 dage uden signifikant gasudvikling, hvilket kan skyldes, at inokulum ikke var akklimatiseret.

Det anioniske tensid LAS (dodecylbenzensulfonat) og det nonioniske tensid 4-nonylphenol blev ikke fundet signifikant nedbrudt ved standardtesten. LAS havde en stærkt hæmmende effekt på den mikrobielle aktivitet (metandannelsen) ved den testede koncentration på 148 mg/l. Dette er i overensstemmelse med, at der tidligere er rapporteret om hæmning af mikrobiologisk aktivitet ved koncentrationer af LAS på 75-80 mg/l, se tabel 1-2. 4-nonylphenol hæmmede ligeledes metandannelsen ved den testede koncentration på 122 mg/l. Fra litteraturen er der rapporteret om hæmning af den mikrobielle aktivitet ved 60 mg/l (tabel 1-2). De kemiske analyser viste en stærkt forøget koncentration af 4-nonylphenol efter udrådningen, dette kan muligvis skyldes, at der dannes 4-nonylphenol ved nedbrydning af andre fremmedstoffer som f.eks NPE 1EO og NPE 2EO.

Tensider

Ud fra litteraturen kan det forventes, at hverken LAS eller 4-nonylphenol nedbrydes under metanogene betingelser, men på grund af de observerede toksiske effekter kan dette ikke underbygges af den aktuelle undersøgelse.

Der blev konstateret gasudvikling ved test af de nonioniske tensider nonylphenolmono- og nonylphenoldiethoxylat (NPE 1EO og NPE 2EO) svarende til 35,1 og 29,5% af den teoretisk mulige. Standardafvigelsen på triplikaterne var 7% for NPE 1EO og 13% for NPE 2EO. Nedbrydningen skete uden forudgående adaptationsfase i løbet af de første 28 dage af testen. Der blev ud fra de kemiske analyser målt reduktioner af NPE 1EO og NPE 2EO på hhv. 5 og 25%. Årsagen til den lavere reduktion af NPE 1EO målt kemisk i forhold til trykdata kan være, at der var sket en delvis nedbrydning af nonylphenolethoxylater med flere ethoxylatgrupper under dannelse af NPE 1EO.

Flere undersøgelser har påvist primær anaerob nedbrydning af nonylphenolethoxylater med flere (>2) ethoxylatgrupper. F.eks. fandt Tanaka og Ichikawa (1993) 38%, og Salanitro og Diaz (1995) 40-50% nedbrydning af NPE 9EO (i forhold til teoretisk gasdannelse) under metanogene forhold. Disse observationer underbygges af rapporter om nedbrydning under metanogene forhold af NPE forbindelser med højere ethoxyleringsgrad. Anaerob nedbrydning af NPE 1EO og NPE 2EO kan medføre 4-nonylphenol som stabilt nedbrydningsprodukt (Swischer 1987).

Hæmningskontrollen for stofferne NPE 1EO og NPE 2EO havde et meget ens forløb, og der var ingen hæmning. For NPE 9EO er der beskrevet hæmmende effekter ved koncentrationer på 80-100 mg/l (tabel 1-2). De aktuelt testede koncentrationer for NPE 1EO og NPE 2EO var hhv. 104 og 84 mg/l, og kunne således potentielt være hæmmende; der er dog forskelle mellem både inokuli og toksiciteten af NPE med forskelligt antal ethoxylatgrupper.

PAH-forbindelser

Der blev ikke fundet tydelig nedbrydning af nogle af de testede PAH-forbindelser ud fra standardtesten. Der blev for stofferne flouranthen og benzo(a)pyren beregnet nedbrydning på hhv. 17,5 og 19,8% baseret på trykudvikling. Benzo(a)pyren og andre PAH'er med over 2-3 ringe anses for ikke at være anaerobt nedbrydelige under metanogene forhold. Nedbrydningen vurderes til at ligge inden for metodens usikkerhedsmargin (standardafvigelsen på gasudvikling i blindprøven var ca. 10%). Den tilsyneladende nedbrydning af disse to stoffer vurderes derfor som værende ikke signifikant.

Acenaphthen, naphthalen, methylnaphthalen og pyren hæmmede den metanogene gasudvikling (hæmningskontrol) i de testede koncentrationer. Battersby og Wilson (1989) har ligeledes fundet, at naphthalen har en hæmmende effekt på metandannelsen (53 mg/l). Der blev ikke observeret hæmning for flouranthen, phenanthren og benzo(a)pyren.

De kemiske analyser viste koncentrationsfald for stofferne acenaphthen (10%), 2-methylnaphthalen (25%) og pyren (19%). Det er muligt, at forskellen mellem trykdata og de kemiske analyser skyldes, at stofferne undergår en delvis nedbrydning, der medfører, at de ikke genfindes ved analysen. En anden mulighed er, at flygtige stoffer fordamper under de anvendte analysebetingelser. For naphthalen viste de kemiske analyser en

forøget koncentration efter udrådningen, hvilket sandsynligvis skyldes analyseusikkerhed.

De ovennævnte testresultater fra standardtesten er i overensstemmelse med, at der kun i ganske få undersøgelser er set nedbrydning af PAH'er under metanogene forhold (Genthner et al. 1997; Grbic-Galic 1989; Genthner 1997).

Phthalater

Der blev observeret gasudvikling i test for samtlige de undersøgte phthalatestre svarende til 46%-56% af den teoretisk mulige gasudvikling ved fuldstændig nedbrydning af stofferne. I overensstemmelse med tidligere rapporteringer blev der således fundet en betydelig nedbrydning (mineralisering) fra trykdata af phthalaterne. Den observerede mineralisering af DEHP og DOP på op til 56% er dog ikke set i den gennemgængede litteratur (Ejlertsson et al., 1996; Battersby og Wilson, 1989; Shelton et al., 1984; O'Connor et al., 1989; Ziogou et al., 1989).

De kemiske analyser viste 30% fjernelse for di-n-butylphthalat (DBP), 17% fjernelse for di-(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP) og ingen fjernelse for di-n-octylphthalat (DOP). De kemiske analyser viste således en lavere fjernelse af phthalater end nedbrydning baseret på gasdannelse. Den mulige forklaring er, at phthalater er vanskelige at analysere, og der er tidligere fundet store variationer på bestemmelser af disse stoffer. Phthalater adsorberer kraftigt til bl.a. organiske materiale og kan med tiden inkorporeres i den organiske fase, således at ekstraktion vanskeliggøres.

Der var ingen hæmning af den metanogene omsætning ved de testede koncentrationer (DBP = 103 mg/l; DEHP = 113 mg/l; DOP = 106 mg/l). I litteraturen er der tilsvarende ikke fundet toksiske effekter af DEHP ved koncentrationer på ca. 100 mg/l (O'Connor et al. 1989).

2,4-dichlorphenol

Den testede koncentration af 2,4-dichlorphenol (124 mg/l) hæmmede den metanogene omsætning i overensstemmelse med, at der tidligere er rapporteret om hæmning af metandannelse ved en dichlorphenolkoncentration på 111 mg/l (Battersby og Wilson 1989). Tilsvarende blev der ikke observeret mineralisering af stoffet. Battersby og Wilson (1989) fandt dog nedbrydning af 2,4-dichlorphenol i lavere koncentrationer under metanogene betingelser.

Ved kemisk analyse var der et fald på 45% af den tilsatte mængde i løbet af testperioden, som til dels kan skyldes en ringe genfinding af stoffet på grund af indbygning i organisk materiale. Alternativt kan der være sket en reduktiv dechlorering af 2,4-dichlorphenol således, at det oprindelige stof ikke kunne genfindes. På grund af den kraftige hæmning af metandannelsen, der blev observeret i standardtesten vurderes nedbrydning at være usandsynlig.

Standardtestens værdi

Resultaterne fra standardtesten (trykdata) i denne undersøgelse har god overensstemmelse med de udfra litteraturen forventede resultater. Dette tyder umiddelbart på, at standardtesten kan anvendes som et skøn over stoffernes anaerobe bionedbrydelighed, og dermed potentialet for omsætning af stofferne i rådnetanke og biogasreaktorer. Det er dog på grund af de forskellige forhold under standardtesten og i fuldskala anlæg ikke muligt at anbefale denne som en endegyldig metode til at vurdere fremmedstoffernes anaerobe bionedbrydelighed i biogasreaktorer.

Der var for flere af stofferne en ringe sammenlignelighed mellem standardtestens trykdata og de kemiske analyser fra start og slut af forsøget. De kemiske analyser blev fortaget som enkeltbestemmelser, og forklaringen kan derfor være analyseusikkerhed. Stoffernes adsorberende egenskaber og/eller flygtighed kan være en anden forklaring, og årsagen til den ringe overensstemmelse bør undersøges nærmere.

Det skal nævnes, at forskellen mellem mængden af primært nedbrudt stof og mineraliseret stof er forskellige omdannelsesprodukter. Derfor vil den primære nedbrydning teoretisk være større end eller lig med mineraliseringen, dvs. at de kemiske analyser kan vise en større nedbrydning end trykdatamålinger, hvis nedbrydningen er delvis.

Det må konstateres, at standardtesten ikke umiddelbart kan erstatte de omkostningskrævende kemiske analyser. I praksis er det ikke pålideligt nok at vurdere et fremmedstofs anaerobe bionedbrydelighed ud fra denne test alene. Standardtesten kan derimod bruges i kombination med kemiske analyser, hvorved et bedre datamateriale om stoffernes bionedbrydelighed opnås.

Fordele/ulemper

Der er flere fordele ved testen i sammenligning med en nedbrydningstest med kemiske analyser. For det første er testen hurtig og billig; derudover giver testen information om eventuelle toksiske effekter fra stofferne. Endvidere er det kun det stof, der mineraliseres fuldstændigt til CO₂ og CH₄, som måles som en nedbrydning. Herved undgås det, at en delvis nedbrydning, ofte kun med få ændringer i molekylet, måles som nedbrydning, hvilket er risikoen ved de kemiske analyser.

En ulempe ved testen er, at det er nødvendigt at arbejde med relativt høje stofkoncentrationer for at detektere stofomsætning. Dette har vist sig problematisk i denne undersøgelse, hvor der blev observeret toksiske effekter af mange af stofferne i de pågældende koncentrationer. En anden ulempe ved metoden er, at den giver et indirekte mål for stoffjernelsen; dette indebærer en vis risiko for fejlkonklusioner.

Modifikationer af testen

Testens følsomhed kan måske øges, så der kan testes lavere fremmedstofkoncentrationer, ved at optimere udrådningen af slammet således, at "baggrundsomsætningen" minimeres. Dette må dog ikke influere på lagfase og udstrækning af testperioden. Det er også muligt, at de toksiske effekter af en del af stofferne kan undgås, hvis slammet adapteres til gradvist stigende koncentrationer af stofferne.

2.2 Specifikke parametres indflydelse på bionedbrydning

Der er en række forhold, der potentielt har indflydelse på et givent modelstofs potentiale for anaerob nedbrydning i rådnetanke/biogasanlæg, men som der ikke tages højde for i standardtesten. Disse faktorer søges belyst i batchtest. Screeningsforsøgene var primært baseret på gasanalyser som indirekte mål for bionedbrydning af de miljøfremmede stoffer. Derimod er batchtestene udført med kemiske analyser som den primære målemetode, hvilket først og fremmest giver den fordel, at omsætning af stofferne kan konstateres ved langt lavere koncentrationer. Forsøgene udføres med aktuelle kombinationer af miljøfremmede stoffer i slam og

kildesorteret organisk dagrenovation (KOD). Følgende inokuli er anvendt: udrådnings slam fra Lundtofte, Herning og Boserup renseanlæg, udrådnings mesofilt og termofilt gylle, samt udrådnings organisk dagrenovation.

De undersøgte faktorer er procestemperatur, substrater, samudrådning med andre substrater, inokulum, elektronacceptorer samt aerob efterbehandling af udrådnings materiale.

2.2.1 Temperatur

Procestemperatur og temperaturstabilitet er af stor betydning for de biologiske processer og dermed også for omsætningen af miljøfremmede stoffer i anaerobe procesanlæg. Effekten af mesofil (37°C) kontra termofil (55°C) udrådning af gylle i relation til nedbrydning af miljøfremmede stoffer er søgt belyst.

Biogasfællesanlæg opererer i det mesofile (33-37°C) eller det termofile (50-56°C) temperaturområde. Generelt er omsætningshastigheden af det organiske materiale højest for termofile anlæg, hvilket kan formodes at have en positiv effekt på nedbrydningen af miljøfremmede stoffer. Anaerobe rådnetanke opereres derimod ofte ved en mere varieret temperatur, afhængigt af renseanlæggets slamproduktion samt udetemperaturen.

Forsøgene blev udført i 57,5 ml serumflasker med 30 ml substrat + inokulum.

Fremgangsmåde

Adapteret inokulum af hhv. mesofilt udrådnings gylle (tørstofindhold 39 g/l) og termofilt udrådnings gylle (tørstofindhold 19 g/l) blev blandet med et såkaldt BA medie (indeholder næringssalte, sporstoffer og vitaminer) til et tørstofindhold på 10 g/l. Dette resulterede i et mesofilt inokulum med et indhold af organisk tørstof på 4,1 g/l og pH på 7,7 og et termofilt inokulum med et indhold af organisk tørstof på 6,2 g/l og en pH på 7,8.

På baggrund af screeningstesten, der viste, at nedenstående stoffer var vanskeligt nedbrydelige under anaerobe forhold, blev disse valgt som fremmedstoffer (substrater), da de tillige ofte forekommer i spildevands-slam. Det blev valgt at spike med følgende procesrealistiske koncentrationer i henhold til data fra Miljøstyrelsen (1996):

2-methylnaphthalen	5	mg/kg TS
Flouranthen	3	mg/kg TS
Nonylphenol	5	mg/kg TS
Nonylphenoldiethoxylat	50	mg/kg TS
LAS	1000	mg/kg TS
LAS	10.000	mg/kg TS
DEHP	40	mg/kg TS
1,2,4-trichlorbenzen	5	mg/kg TS

Bortset fra LAS forbindelsen i den høje koncentration var testkoncentrationerne altså væsentlig lavere end i standardtesten.

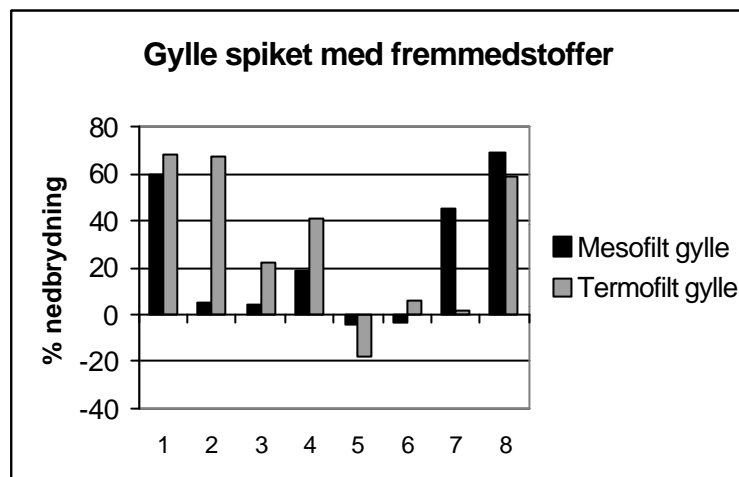
For hvert fremmedstof og blind blev der fremstillet 6 replikater med 30 ml inokulum. Fremmedstofferne blev tilsat fra stamopløsning (100 µl) som beskrevet i bilag 7. For hvert inokulum og testtemperatur blev der

fremstillet tre ens flasker, hvoraf en blev anvendt til bestemmelse af startkoncentrationen og de andre to inkuberet i mørke ved hhv. 35 og 55°C.

Gasproduktionen og metankoncentrationen blev kvantificeret gennem forsøget, og koncentrationen af de aktuelle fremmedstoffer blev målt med kemisk analyse på GC-MS og HPLC ved start og afslutning af forsøget.

Resultater

På figur 2-1 er vist den procentvise reduktion af stofferne ud fra kemiske analyser. Figuren er en opsummering af bilag 1a og b (kemiske analyser). Det ses af bilag 1a og 1b, at koncentrationen af 4-nonylphenol (hhv. 72 og 63 mg/kg prøve) og DEHP (hhv. 326 og 603 mg/kg prøve) i inokulum var betydelig inden tilsætning af fremmedstofferne.



Figur 2-1. Den procentvise nedbrydning af hhv. 1: 2-Methylnaphthalen, 2: Flouranthen, 3: 4-Nonylphenol, 4: NPE 2EO, 5: LAS (lav), 6: LAS (høj), 7: DEHP, 8: 1,2,4-Trichlorobenzen ved mesofil og termofil udrådning.

Med mesofilt udrådet gylle som inokulum og udrådning af fremmedstoffer ved 35°C blev der observeret en væsentlig reduktion af stofferne 2-methylnaphthalen, DEHP og 1,2,4-trichlorobenzen, en vis nedbrydning af nonylphenoldiethoxylat og ingen nedbrydning af flouranthen, LAS og nonylphenol. Sammenlignes med standardtesten var der en øget nedbrydning af 2-methylnaphthalen.

Med termofil udrådet gylle som inokulum og udrådning af fremmedstofferne ved 55°C var der en større reduktion af flouranthen, nonylphenol og nonylphenoldiethoxylat end ved den mesofile udrådning. Derimod var der ingen nedbrydning af DEHP under den termofile udrådning. Det skal pointeres, at de beregnede procentvise nedbrydninger af fremmedstofferne er baseret på enkeltanalyser.

Alle fremmedstofferne ved den mesofile udrådning i de anvendte koncentrationer virkede hæmmende på den samlede mikrobielle gasproduktion (den akkumulerede trykstigning forårsaget af CO₂ og CH₄ var 14-96% af blind), se tabel 2-2. Ved den tilsvarende termofile udrådning ved 55°C var den hæmmende effekt generelt lavere, og de anvendte koncentrationer af DEHP og 1,2,4-trichlorobenzen virkede kun lidt hæmmende. Dette stemmer overens med resultaterne af den metanogene aktivitet, den akkumulerede metanproduktion, dog var den procentvise hæmning af den me-

tanogene aktivitet lidt lavere. Den høje koncentration af LAS (10.000 mg/kg TS) virkede totalt hæmmende på metanproduktionen, mens metanproduktionen ved den lavere koncentration LAS (1.000 mg/kg TS) både mesofilt og termofilt var hæmmet ca. 79%.

Tabel 2-1. Stoffernes hæmning af gasdannelse og metanproduktion ved mesofil og termofil udrådning. Tabellen er en opsummering af bilag 2 (akkumuleret trykstigning) samt bilag 3 (akkumuleret metanproduktion).

Fremmedstof	Akkumuleret trykstigning i % af blind		Akkumuleret metanproduktion i % af blind	
	mesofilt	termofilt	mesofilt	termofilt
2-methylnaphthalen	34	42	28	23
Flouranthen	30	45	24	27
4-nonylphenol	36	38	31	0
NPE 2EO	36	50	28	51
LAS (lav)	33	49	21	21
LAS (høj)	14	33	0	0
DEHP	48	88	15	72
1,2,4-trichlorbenzen	80	96	39	74

De mindst hæmmende stoffer var 1,2,4-trichlorbenzen og nonylphenoldiethoxylat. For 1,2,4-trichlorbenzen skyldes dette dog sandsynligvis den lave startkoncentration som følge af afdampning.

Diskussion

Resultaterne fra meso- og termofil udrådning af de testede miljøfremmede stoffer tyder på, at der er større mulighed for at få stofferne nedbrudt under den termofile udrådning; dette gælder dog ikke for DEHP. Årsagen til den større stofnedbrydning under den termofile udrådning kan være, at den generelle mikrobielle aktivitet er større end under mesofile forhold. Dette tyder på, at en længere opholdstid under mesofile forhold vil medføre den samme nedbrydning som en kortere opholdstid under termofile forhold. Resultaterne peger på, at det muligvis er fordelagtigt med en termofil drift af biogasfællesanlæg mht. til fjernelse af visse miljøfremmede stoffer.

LAS blev ikke nedbrudt under hverken meso- og termofil udrådning, hvilket er i overensstemmelse med de undersøgelser, der er omtalt i litteraturundersøgelsen. DEHP blev kun nedbrudt under den mesofile udrådning. Det vil derfor være relevant at fokusere specielt på disse to stoffer ved overvågning af det udrådnede materiales indhold af miljøfremmede stoffer.

Alle stofferne havde en hæmmende effekt på gas- og metandannelsen. LAS havde en betydelig toksisk effekt på den mikrobielle aktivitet, idet gasdannelse og metanproduktion blev hæmmet. Ved en LAS koncentration på 10.000 mg/kg TS var der total hæmning af den mikrobielle gas- og metandannelse. Resultaterne viser således, at det er vigtigt ikke at overbelaste biogasfællesanlæg med miljøfremmede stoffer, idet gasproduktionen derved kan hæmmes. Det skal bemærkes, at de maksimale fremmedstofkoncentrationer, der kan forventes i biogasfællesanlæg, der tilsætter 10% spildevandsslam er lavere end de her testede koncentrationer, og at risikoen for at der opstår hæmmende effekter på gasdannelsen sandsynligvis er lille. Hvis fremmedstofkoncentrationerne er på

niveau med afskæringsværdierne vil der således forventes maksimale koncentrationer på 260 mg/kg TS for LAS; 0,6 mg/kg TS for PAH; 5 mg/kg TS for NPE og 10 mg/kg TS for DEHP.

2.2.2 Elektronacceptorer

Under anaerobe forhold nedbrydes organiske stoffer gennem en successiv udnyttelse af anaerobe elektronacceptorer i overensstemmelse med deres faldende redox potentiale: $\text{NO}_3^- > \text{Mn}_4^+ > \text{Fe}^{3+} > \text{SO}_4^{2-} > \text{CO}_2$ (Thauer et al., 1977; Froelich et al., 1979; Achtnich et al., 1995). De anaerobe respirationsprocesser udføres generelt af forskellige grupper af specialiserede bakterier. Spektret af organiske forbindelser, der kan nedbrydes gennem anaerobe processer, er meget stort. Alene de kendte arter af sulfat-reducerende bakterier kan nedbryde mere end 100 specifikke stoffer, herunder mange aromatiske forbindelser (Hansen, 1993; Elsgaard, 1995).

I det følgende belyses effekten af anaerobe elektronacceptorer på omsætningen af miljøfremmede stoffer i primært spildevandsslam. Undersøgelserne omfattede en screening af nedbrydning og potentiel giftighed af seks miljøfremmede stoffer (acenaphthen, phenanthren, 4-nonylphenol, natrium dodecylbensulfonat (LAS), di(2-ethylhexyl)phthalat (DEHP), og 1,2,4-trichlorbenzen (TCB)). Disse fremmedstoffer blev inkuberet under jern-, sulfat- og nitrat-reducerende forhold. Kriteriet for udvælgelsen af de seks fremmedstoffer var, at de forekommer i spildevandsslam (Tørslev et al., 1996), og at deres nedbrydning med en eller flere af de anaerobe elektronacceptorer (Fe^{3+} , SO_4^{2-} og NO_3^-) ikke tidligere var dokumenteret.

Fremgangsmåde

Stamopløsninger med de miljøfremmede stoffer blev fremstillet i dichlor-metan (DCM). For hvert stof svarede den resulterende koncentration til ca. 10 mg C ml⁻¹.

Primært spildevandsslam fra Lundtofte renselanlæg blev vasket 2 gange ved centrifugering og genopløst i et iltfrit, basalt mineral medium (BS medium, pH = 7). Indholdet af tørstof i den resulterende slamopløsning blev justeret til 43 gram per liter. Slamopløsningen blev ækvillibreret anaerobt ved 30°C i 5 dage og blev herefter anvendt som inokulum.

Tre forskellige testmedier med hhv. Fe^{3+} , SO_4^{2-} og NO_3^- blev fremstillet (se bilag 8). Hvert af de tre medier blev tilsat 100 ml af det fremstillede inokulum. Dette gav et resulterende tørstofindhold på 1 gram per liter.

Testbetingelser

Flaskerne med fremmedstof + inokulum (bilag 9) blev inkuberet ved 30°C i et termostateret rysteapparat (100 rpm). De inkuberede prøver blev testet for omsætning af tilsatte elektronacceptorer efter 0, 1, 2, 4, 10 og 15 ugers inkubation (prøverne til tiden 0 blev udtaget efter ca. 2 timers inkubation). Efter den sidste prøvetagning (uge 15) blev pH målt og prøverne analyseret for fremmedstoffer.

Delprøver fra de inkuberede serumflasker blev analyseret for elektron-acceptorer (se bilag 6).

For hver elektronacceptor blev forskellen mellem reduktions raterne i kontrolprøver (med kun silikagel) og de øvrige prøver testet ved brug af

Dunnett's test (Zar, 1996). Data analysen blev udført ved PROC ANOVA i SAS 6.11. Signifikansniveauet var 5%.

Resultater

Jern-reduktion: Tidsserier over forløbet af jern-reduktionen i kontrol- og testprøver er vist på figur 2-2. I kontrolprøverne (med kun silikagel) steg koncentrationen af Fe^{2+} fra en startværdi på få mM til et maksimalt niveau på ca. 24 mM gennem inkubationsforløbet på 15 uger. Akkumuleringen af Fe^{2+} var tilnærmelsesvis lineær ($0,78 < r^2 < 0,91$). Den gennemsnitlige rate \pm sd for de tre kontrolprøver var $0,92 \pm 0,18 \text{ mM Fe}^{2+} \text{ uge}^{-1}$, hvilket blev bestemt ved lineær regression af data fra hele inkubationsperioden. Resultater fra tilsvarende regressionsanalyse af data fra de jernholdige prøver (figur 2-2) er vist i tabel 2-5. Disse data viste, at jern-reduktionen var signifikant hæmmet i prøverne, hvor der var tilsat LAS, 4-nonylphenol og TCB (tabel 2-5).

Den maksimale Fe^{2+} koncentration i testprøverne (31,8 mM) forekom i en af gentagelserne med tilsat DEHP. Data for denne behandling var dog bemærkelsesværdige, idet denne ene gentagelse udviste en jern-reduktionsrate ($1,78 \text{ mM Fe}^{2+} \text{ uge}^{-1}$), der var dobbelt så høj som fundet for de to øvrige gentagelser ($0,85$ og $0,83 \text{ mM Fe}^{2+} \text{ uge}^{-1}$). Totalt set var der således ingen signifikant stimulering af jern-reduktionsraterne som respons på tilsætningerne af hverken miljøfremmede stoffer eller laktat/acetat (tabel 2-5).

Sulfat-reduktion: Tidsserier over forløbet af sulfat-reduktionen i kontrol- og testprøver er vist på figur 2-3. Forekomsten af sulfat-reduktion i kontrolprøverne blev vist ved akkumulering af frit svovlbrinte, der startede efter ca. 2 ugers inkubation. I den efterfølgende periode steg svovlbrinte koncentrationen tilnærmelsesvis lineært ($0,96 < r^2 < 0,99$) til et maksimalt niveau på 9-11 mM $\Sigma\text{H}_2\text{S}$. Dataanalyse ved lineær regression af resultaterne fra uge 2 til 15 indikerede en sulfat-reduktions rate på $0,84 \pm 0,10 \text{ mM SO}_4^{2-} \text{ uge}^{-1}$. Svovlbrinte akkumulering (sulfat-reduktion) i prøverne med tilsatte fremmedstoffer og laktat/acetat foregik efter et tilsvarende tidsforløb som observeret for kontrolprøverne (figur 2-3). I alle prøver hvor der blev observeret en akkumulering af svovlbrinte skete det således efter en lag-fase på ca. 2 uger. Estimer af sulfat-reduktionsraten, beregnet ved lineær regression af data fra uge 2 til 15 for alle de sulfatholdige prøver, er vist i tabel 2-5. Tabellen viser, at sulfat-reduktionen var signifikant hæmmet af de tilstedeværende koncentrationer af acenaphthen, LAS og TCB. En delvis hæmning af sulfat-reduktionen efter tilsætning af 4-nonylphenol var antydnet i (figur 2-3), men denne tendens var ikke statistisk signifikant (tabel 2-5).

Den maksimale svovlbrinte koncentration i testprøverne (11,2 mM) forekom i en af gentagelserne med tilsat laktat/acetat (figur 2-3). Dette til trods kunne der ikke påvises nogen signifikant stimulering af sulfat-reduktionsraten som respons på tilsætningerne af hverken miljøfremmede stoffer eller laktat/acetat (tabel 2-5).

Nitrat-reduktion: Den tidsmæssige udvikling i nitratindholdet i kontrol og testprøver med tilsat NaNO_3 er vist på figur 2-4. I kontrolprøverne startede NO_3^- forbruget straks og i løbet af to uger var nitrat koncentrationen faldet fra ca. 30 mM til 9-11 mM. Herefter faldt NO_3^- koncentration relativt langsomt gennem resten af inkubationsforløbet til niveauer

på 5-8 mM NO₃⁻ efter 15 uger. Den initiale nitrat reduktionsrate blev beregnet ved lineær regression af data fra de første to ugers inkubation (0,92 < r² < 0,99). Disse resultater viste en nitrat-reduktionsrate på 9,25 ± 0,56 mM NO₃⁻ uge⁻¹. Resultater fra tilsvarende data analyse fra alle de nitrat-tilsatte prøver (tabel 2-5) viste, at TCB var det eneste af de tilsatte fremmedstoffer, der hæmmede nitrat-reduktionen. Dog var der tendenser til hæmning i nogle af gentagelserne med acenaphthen, 4-nonylphenol og phenanthren (figur 2-4). Dette resulterede i relativt store variationskoefficienter (CV, 34 to 46%) for nitrat-reduktionsraterne for prøver med disse miljøfremmede stoffer.

Det maksimale NO₃⁻ forbrug blev konstateret i prøverne inkuberet med laktat/acetat (figur 2-4). I disse prøver var der for to replikaters vedkommende en total omsætning af den tilsatte nitrat (30 mM) i løbet af 2 ugers inkubation. Samlet set var nitrat-reduktionsraten i prøverne med laktat/-acetat signifikant stimuleret i forhold til raterne i kontrolprøverne (tabel 2-5).

Nitrit (NO₂⁻) akkumulerede i alle prøver, hvor nitrat-reduktionen forløb (figur 2-5). Generelt var der for de enkelte replikater en god overensstemmelse mellem tidsforløbet af nitrat-omsætningen og akkumuleringen af nitrit.

pH: Målinger af pH ved inkubationsperiodens afslutning er vist i tabel 2-3. For inkubationerne med Fe(OH)₃ var der en ensartet og meget beskedent pH udvikling i alle prøver med undtagelse af TCB-prøverne, hvor et fald på ca. 0,7 pH enheder blev observeret. Stofomsætningen under sulfat-reducerende forhold gav generelt kun små ændringer i pH; den største ændring (et fald på ca. 0,7 pH enheder) blev fundet for inkubationerne med acenaphthen. Under nitrat-reducerende forhold forekom de største og mest varierende pH ændringer. I prøverne med acetat/laktat var der en generel pH stigning på 1,2-2,1 enheder (gennemsnit, 1,6 enheder), mens kontrolprøverne havde en stigning, der varierede fra 0,3 til 1,8 pH enheder (gennemsnit, 0,9 pH enheder).

Tabel 2-1. *pH i prøver efter inkubation med anaerobe elektron acceptorer i 100 dage.*

Behandling	Fe ³⁺	SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻
Kontrol	7,1 ± 0,1	7,2 ± 0,1	7,9 ± 0,8
Dichlormetan ^a	7,1 ± 0,2	6,9 ± 0,2	7,7 ± 0,1
Laktat-acetat	7,0 ± 0,0	7,1 ± 0,0	8,6 ± 0,5
Acenaphthen	7,1 ± 0,2	6,3 ± 0,1	6,6 ± 0,0
Phenanthren	7,1 ± 0,1	7,2 ± 0,0	6,8 ± 0,4
4-Nonylphenol	7,1 ± 0,0	7,2 ± 0,1	7,2 ± 0,0
LAS	7,1 ± 0,1	6,7 ± 0,0	7,4 ± 0,3
DEHP	7,1 ± 0,2	7,1 ± 0,1	7,6 ± 0,4
Trichlorbenzen	6,3 ± 0,1	6,7 ± 0,0	6,7 ± 0,0

^aDichlormetan blev afdampet fra prøven inden inkubering.

Omsætning af miljøfremmede stoffer: De miljøfremmede stoffers skæbne er vist i tabel 2-4. Acenaphthen og 4-nonylphenol var persistente (i.e.,

beregnet nedbrydning <10%) under jern- og sulfat-reducerende forhold, mens en begyndende nedbrydning under nitrat-reducerende forhold blev indikeret (13% for acenaphthen og 18% for 4-nonylphenol). Phenanthren viste tegn på nedbrydning under jern-reducerende (21%) og sulfat-reducerende forhold (100%), men var persistent under nitrat-reducerende forhold. LAS, DEHP og TCB var alle persistente under de testede anaerobe forhold.

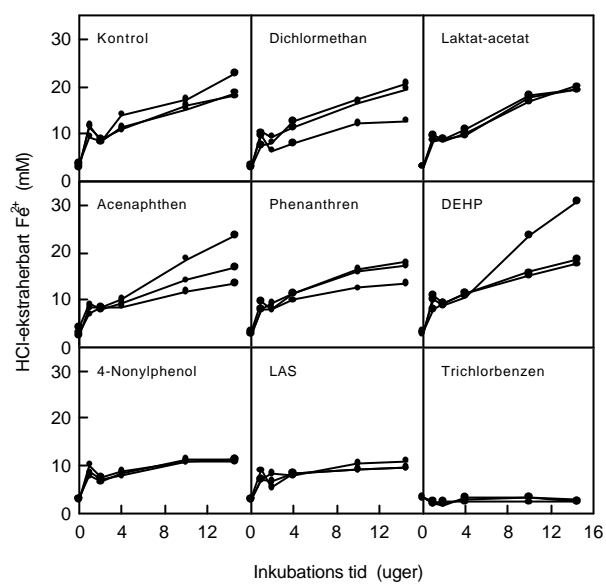
Tabel 2-2. Indhold af fremmedstoffer (mg kg⁻¹ våd vægt) i prøver inkuberet under anaerobe forhold i 100 dage. Den procentvise nedbrydning af fremmedstoffer (Nb %) er angivet. En nedbrydning på mindre end 10% blev opfattet som ingen nedbrydning (in).

Fremmedstof	Jern-reduktion			Sulfat-reduktion			Nitrat-reduktion		
	Start	Slut	Nb %	Start	Slut	Nb %	Start	Slut	Nb %
Acenaphthen	45	41	in	49	48	in	46	32	13
Phenanthren	92	73	21	96	0	100	99	93	in
4-Nonylphenol	90	89	in	99	92	in	94	77	18
LAS	86	106	in	121	119	in	119	119	in
DEHP	98	110	in	98	105	in	75	100	in
1,2,4-Trichlorbenzen	54	53	in	54	54	in	53	58	in

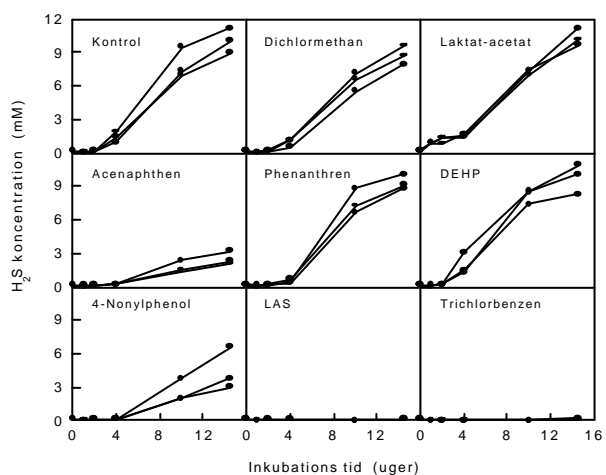
Tabel 2-1. Reduktionsrater for anaerobe processer i kontrol behandlinger og i behandlinger med miljøfremmede stoffer. Rater signifikant forskellige fra den naturlige kontrol er angivet med stjerne (). Alle angivelser repræsenterer gennemsnit ± standardafvigelse for tre gentagelser.*

Behandling	Jern-reduktion	Sulfat-reduktion	Nitrat-reduktion
	mM Fe ²⁺ uge ⁻¹	mM H ₂ S uge ⁻¹	mM NO ₃ ⁻ uge ⁻¹
Kontrol	0,92 ± 0,18	0,84 ± 0,10	9,25 ± 0,56
Dichlormetan ^a	0,85 ± 0,30	0,73 ± 0,07	10,14 ± 1,08
Laktat/acetat	1,01 ± 0,02	0,78 ± 0,05	14,32 ± 0,92 *
Acenaphthen	0,89 ± 0,38	0,20 ± 0,05 *	7,91 ± 2,66
Phenanthren	0,77 ± 0,17	0,81 ± 0,07	6,00 ± 2,39
DEHP	1,15 ± 0,54	0,80 ± 0,11	10,58 ± 0,98
4-Nonylphenol	0,41 ± 0,04	0,36 ± 0,16 *	7,70 ± 3,54
LAS	0,35 ± 0,06 *	0,00 ± 0,01 *	9,85 ± 0,58
Trichlorbenzen	0,00 ± 0,02 *	0,01 ± 0,00 *	0,15 ± 0,07 *

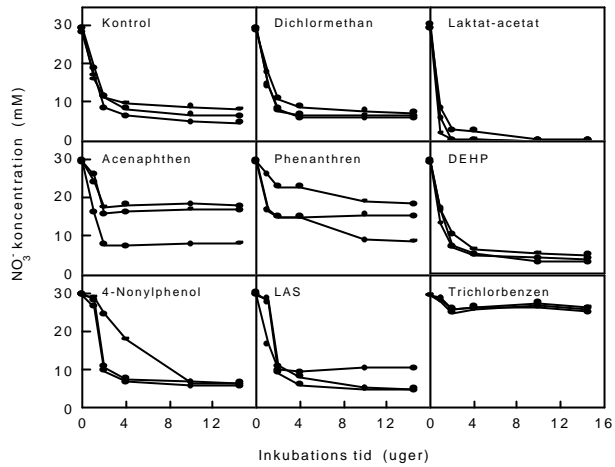
^aDichlormetan blev afdampet fra prøven inden inkubering.



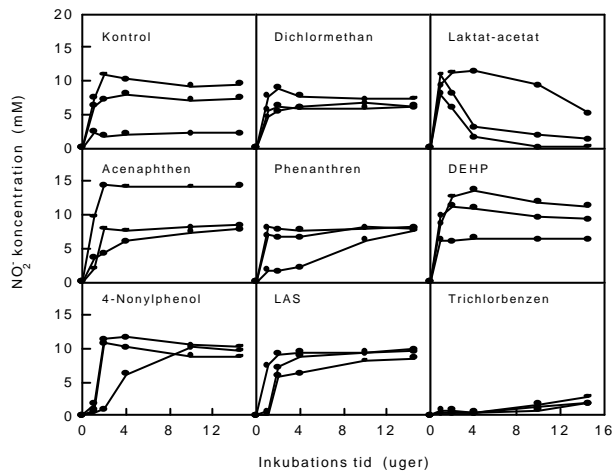
Figur 2-1. Tidsforløb af jern-reduktion i kontrolprøver (øverste række) og i prøver med tilsatte fremmedstoffer (nederste to rækker).



Figur 2-2. Tidsforløb af sulfat-reduktion i kontrolprøver (øverste række) og i prøver med tilsatte fremmedstoffer (nederste to rækker).



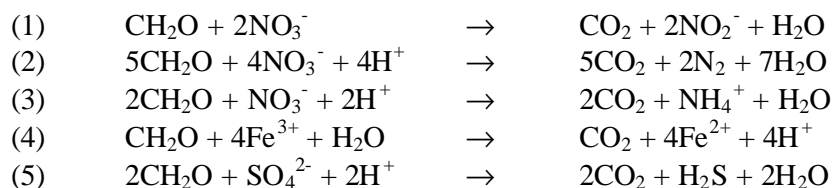
Figur 2-3. Tidsforløb af nitrat-reduktion i kontrolprøver (øverste række) og i prøver med tilsatte fremmedstoffer (nederste to rækker).



Figur 2-4. Tidsforløb af nitrit-reduktion i kontrolprøver (øverste række) og i prøver med tilsatte fremmedstoffer (nederste rækker).

Anaerobe elektronacceptorer. For alle elektronacceptorer blev det statistisk eftervist, at reduktionsaktiviteten i kontrolprøverne svarede til aktiviteten i prøverne med afdampet DCM (tabel 2-5). Dette viste, at toksiske effekter af eventuelt tilbageværende DCM ikke påvirkede testresultaterne.

Omregnet til potentiel oxidation af organisk stof (CH_2O), jf. ligning 1-5, svarede de beregnede reduktionsrater for de tre elektronacceptorer i kontrolprøverne til: nitrat, 4,6 - (11,6) - 18,5 mM CH_2O uge⁻¹ (9,25 mM NO_3^- uge⁻¹); sulfat, 1,68 mM CH_2O uge⁻¹ (0,84 mM SO_4^{2-} uge⁻¹) og jern, 0,2 mM CH_2O uge⁻¹ (0,92 mM Fe^{3+} uge⁻¹).



Dette viser, at nitrat-reduktionen var den af de tre reduktionsprocesser, der havde det største potentiale for omsætning af organisk stof i primært spildevandsslam. I modsætning til reduktionen af Fe^{3+} til Fe^{2+} og SO_4^{2-} til H_2S , kan mikrobiel reduktion af NO_3^- resultere i forskellige slut- eller mellemprodukter, så som NO_2^- , N_2O , N_2 og NH_4^+ (se ligning 1-3). I de aktuelle forsøg blev det direkte påvist, at en del af nitrat-reduktionen kun forløb til nitrit, der akkumulerede som et mellemprodukt i forsøgsperioden. Dermed blev kun en del af nitrats elektronacceptor kapacitet udnyttet. I kontrolforsøgene var det 10-40% af den reducerede nitrat, der akkumulerede som nitrit (ligning 1), hvilket betyder at 60-90% af nitraten blev videre omdannet jf. ligning 2-3.

Forskelle i reaktionsveje for nitrat i de enkelte inkubationer var medvirkende til at nitrat prøverne havde en varierende pH udvikling.

Toksicitet og nedbrydning af miljøfremmede stoffer. Indholdet af specifikke miljøfremmede stoffer i primær slam (2% TS) fra Lundtofte er tidligere målt til følgende koncentrationer (i $\mu\text{g kg}^{-1}$): acenaphthen, 2,4; phenanthren, 262; DEHP, 120145; nonylphenol, 8015; LAS, 2116486 og 1,2,4-trichlorbenzen, 3,5 (tabel 2-6). I de her beskrevne forsøg blev fremmedstofferne tilsat i koncentrationer på ca. 100 mg C liter⁻¹ hvilket svarede til følgende nominelle koncentrationer i mg kg⁻¹ våd vægt: acenaphthen, 107; phenanthren, 107; DEHP, 141; nonylphenol, 121; LAS, 145 og 1,2,4-trichlorbenzen, 264. For alle fremmedstoffer, med undtagelse af LAS, var der således tale om en markant forhøjet koncentration af miljøfremmede stoffer i de spikede prøver. Proceduren for tilsætning af fremmedstoffer via DCM (der efterfølgende blev afdampet) bevirkede dog, at start koncentrationerne for de mest flygtige forbindelser, acenaphthen og TCB, var reduceret til hhv. halvdelen og en fjerdedel af de nominelle koncentrationer (tabel 2-4).

I forsøgene med PAH'er (acenaphthen og phenanthren) blev det fundet, at der ikke var signifikante hæmninger af de anaerobe respirationsprocesser med undtagelse af sulfatreduktionen, der blev inhiberet (76%) ved tilsætning af acenaphthen. Litteratursøgningen i denne rapport gav ikke

oplysninger om toksicitet af acenaphthen og phenanthren overfor anaerobe processer. Dog er der i batchforsøg med andre PAH'er (Battersby og Wilson, 1989) dokumenteret en begyndende hæmning af metandannelsen ved 53 mg L⁻¹ naphthalen (bicyclisk PAH) og en kraftig hæmning ved 62 mg L⁻¹ anthraquinon (tricyclisk PAH).

I de her beskrevne forsøg med primært spildevandsslam blev bionedbrydning af acenaphthen ikke observeret i løbet af ca. 100 dages inkubation under hverken jern- eller sulfat-reducerende forhold. Under nitrat-reducerende forhold blev en begyndende acenaphthen omsætning antydet. Disse resultater er i overensstemmelse med tidligere undersøgelser af mikrobiel nedbrydning af PAH'er (acenaphthen og naphthalen) under forskellige redox betingelser i jord/vand systemer (Mihelcic og Luthy, 1988a,b). Leduc et al. (1992) fandt ligeledes, at der ikke var signifikant nedbrydning af acenaphthen under sulfat reducerende forhold i vandmættet jord, hvorimod nitrat-reducerende forhold førte til en nedbrydning, der var sammenlignelig med nedbrydningen under aerobe forhold.

For phenanthren var der en begyndende nedbrydning under jern-reducerende forhold, en komplet nedbrydning under sulfat-reducerende forhold, men ingen nedbrydning under nitrat-reducerende forhold (tabel 2-4). Dette var uventet i forhold til tidligere undersøgelser af anaerob PAH nedbrydning og i forhold til teoretiske beregninger af energiudbyttet ved PAH omsætning med de forskellige elektronacceptorer (McFarland og Sims, 1991). Da de kemiske analyser af fremmedstoffer i denne undersøgelse var enkeltbestemmelser, bør resultaterne fra phenanthren nedbrydningen verificeres før stoffets bionedbrydelighed under sulfat-reducerende forhold kan endeligt konkluderes.

4-Nonylphenol hæmmede både jern-reduktionen og sulfat-reduktionen til ca. 43% af niveauet i den naturlige kontrol. For nitrat-reduktion blev der fundet en gennemsnitlig hæmning til 83% af niveauet i den uhæmmede kontrol. Dette resultat skyldtes dog en betydelig hæmning i et replikat, mens der ingen hæmning var i de to øvrige replikater (figur 2-4). Tidligere er det dokumenteret at 4-nonylphenol (60 mg liter⁻¹) var hæmmende for gasproduktionen i medier inokuleret med primært spildevandsslam (Battersby og Wilson, 1984).

Nedbrydning af 4-nonylphenol forekom ikke under jern- og sulfat-reducerende forhold. Under nitrat-reducerende forhold, derimod, var der tilsyneladende en begyndende nedbrydning på 18%. En sikker konklusion kan dog ikke underbygges af udførte kemiske enkeltanalyser.

LAS hæmmede jern-reduktionen og sulfat-reduktionen til hhv. 38% og 0% af niveauet i den uhæmmede kontrol. Bemærkelsesværdigt blev nitrat-reduktionen ikke hæmmet af LAS. Disse resultater viste, at LAS havde en mere toksisk effekt overfor de sulfat reducerende mikroorganismer end overfor de jern- og nitrat-reducerende. Den præcise virkningsmekanisme for LAS i disse forsøg er ikke kendt, men for detergenter er det generelt dokumenteret, at interaktioner med bakteriernes cellemembraner er afgørende (Schwunger og Bartnik, 1980).

I tidligere forsøg er det påvist, at LAS (50 mg C liter⁻¹), tilsat som natrium dodecylbensulfonat, var hæmmende for gasproduktionen (metandannelse) i prøver med primært spildevandsslam (Battersby og

Wilson, 1989). Ligeledes er det vist, at LAS var hæmmende for den potentielle jernreduktion i forskellige jordtyper (Welp, 1987; Elsgaard et al., 1999a,b).

Nedbrydning af LAS under anaerobe forhold blev ikke observeret i de gennemførte undersøgelser. Dette er i overensstemmelse med den generelle observation, at LAS er persistent under anaerobe forhold (de Wolf og Feijtel, 1998).

DEHP udviste ingen toksicitet overfor de tre anaerobe respirationsprocesser (tabel 2-5). Tidligere er det ligeledes rapporteret, at DEHP ikke er hæmmende for metandannelsen i slam-inokulerede medier ved DEHP koncentrationer på 20, 50 og 100 mg C liter⁻¹ (Battersby og Wilson, 1989; O'Connor et al., 1989; Ejlertsson et al., 1996). Dette er også i overensstemmelse med resultaterne fra screeningstesten i denne rapport.

Nedbrydning af DEHP blev ikke indikeret under hverken jern-, sulfat- eller nitrat-reducerende forhold. Dette er i overensstemmelse med tidligere studier, der har vist, at bionedbrydning af DEHP er langsommelig selv under aerobe forhold (Fairbanks et al., 1985) og kun foregår i begrænset omfang under metanogene forhold (e.g. Ejlertsson et al., 1996).

1,2,4-Trichlorbenzen blev ikke nedbrudt under de testede anaerobe forhold. Derimod var stoffet stærkt inhiberende for både jern-, sulfat- og nitrat-reduktion. I tidligere undersøgelser er det vist, at anaerobe forhold havde en negativ effekt på nedbrydning af 1,2,4-TCB i jord (Marinucci og Bartha, 1979). Under metanogene forhold kan trichlorbenzener nedbrydes gennem reaktiv dechlorering (Ramanand et al., 1993). Toksicitet af trichlorbenzen overfor anaerobe respirationsprocesser blev ikke dokumenteret gennem litteratursøgningen i denne rapport.

Konklusion

De her beskrevne undersøgelser repræsenterer et konservativt estimat for bionedbrydningen af miljøfremmede stoffer i spildevandsslam, idet forsøgene blev udført med ikke-adapteret primært spildevandsslam. Det vil sige, at det benyttede spildevandsslam ikke havde en mikroflora, der forudgående var tilpasset til de tilsatte elektronacceptorer og miljøfremmede stoffer. Det er velkendt at både størrelsen og forhistorien af det benyttede inokulum har stor betydning for bionedbrydningen af miljøfremmede stoffer i batchforsøg (van Ginkel et al., 1995). Valget af primært spildevandsslam (og ikke udrådnings slam) til de beskrevne undersøgelser var dog tilsigtet da forsøgene netop skulle belyse betydningen af andre anaerobe processer end metandannelsen, der er den dominerende proces ved anaerob udrådning af slam.

For en del af de testede kombinationer af fremmedstoffer og elektronacceptorer blev der observeret en toksisk effekt af de tilsatte fremmedstoffer. Da forsøgene blev udført med relativt høje koncentrationer af fremmedstoffer er det muligt, at disse hæmninger ikke vil forekomme under naturlige betingelser. Hvorvidt de toksiske fremmedstoffer evt. kan nedbrydes ved lavere (ikke toksiske) koncentrationer kan ikke konkluderes.

Sammenfattende blev det vist, at nitrat-reducerende forhold var de mest robuste med hensyn til tolerance overfor toksiske effekter af miljøfremmede stoffer. Sulfatreduktion var den af de tre anaerobe processer, der

var mest hæmmet ved tilstedeværelse af miljøfremmede stoffer. Nedbrydning af miljøfremmede stoffer under de testede anaerobe forhold forekom kun undtagelsesvis, hvilket er i overensstemmelse med tidligere undersøgelser. En begyndende nedbrydning af acenaphthen og 4-nonylphenol blev antydnet under nitrat-reducerende forhold. Det må derfor konkluderes, at der ved tilsætning af alternative elektronacceptorer (jern, sulfat eller nitrat) ikke opnås en betydelig stimuleret bionedbrydning af de testede fremmedstoffer, sammenlignet med den nedbrydning, der foregår under metanogene forhold.

2.2.3 Substrat, inokulum og samudrødning

Effekten af forskelligt inokulum og substrat i forhold til nedbrydning af miljøfremmede stoffer blev undersøgt. Endvidere blev det belyst om tilstedeværelse af komplekse substrater, som gylle og organisk dagrenovation har en positiv effekt på nedbrydningen af miljøfremmede stoffer. Effekten af samudrødning på nedbrydningen af miljøfremmede stoffer blev undersøgt i kombinationer af slam/organisk dagrenovation og gylle/slam.

Fremgangsmåde

Der blev anvendt primær slam og rådnetanksindhold fra Lundtofte, Herning og Boserup renseanlæg. Slammet blev justeret til 1% TS med berigelesmedie. Der blev lavet en aktivitetstest på inokulum overfor glucose, acetat og propionsyre.

Rådnetanksindhold fra Lundtofte var på forsøgstidspunktet det mest belastede mht. LAS, DEHP, 2,4-dichlorphenol og PAH'er (tabel 2-6), og den mikrobielle sammensætning heri må derfor forventes at være mest adapteret til miljøfremmede stoffer. Slam fra Boserup var mindst belastet med miljøfremmede stoffer. Slammet fra Herning var specielt belastet med nonylphenoler, især nonylphenoldiethoxylat. Enkelte målinger har vist, at koncentrationen i primær slam er mindre end i rådnetanken, hvilket må tilskrives tidsmæssige variationer.

Tabel 2-1. Indhold af udvalgte miljøfremmede stoffer i primær og udrådnet slam (ng/kg TS) fra Lundtofte, Boserup og Herning.

Miljøfremmed stof	Lundtofte		Boserup		Herning	
	primær slam	rådnet-tank	primær slam	rådnet-tank	primær slam	rådnet-tank
Trichlorbenzen	3,5	0,2	0,0	0,0	2,0	1,7
Naphthalen	2046,9	708,9	0,4	23,9	37,5	5,2
2-methylnaphthalen	2498,5	670,1	1,1	76,1	106,3	42,3
Acenaphthen	2,4	2,4	0,0	3,5	1,1	58,6
Phenanthren	261,6	92,4	1,7	50,1	45,3	5,4
Fluoranthren	18,7	42,7	4,6	40,3	27,1	7,8
Pyren	122,8	35,4	4,1	24,3	56,8	1,3
Benzo(a)pyren	4,1	6,9	2,8	4,1	31,0	1,5
Di-n-butylphthalat	735,6	353,8	122,8	336,7	540,1	464,6
DEHP	12014,5	3671,6	565,7	6215,4	4449,2	1577,0
Di-octylphthalat	8,0	18,2	3,0	28,2	38,8	15,6
Nonylphenol	8015,0	3552,7	119,3	9012,8	4600,7	10696,3
2,4-dichlorphenol	482,9	79,0	0,2	15,0	1,7	3,5
NPE 1EO	4163,6	542,7	61,6	0,0	3789,2	173,8
NPE 2EO	0,0	0,0	0,0	0,0	2015,0	659,9
LAS	2116486	1828633	1888937	142733	885466	21258

Udrådning af primær slam som substrat foregik i 117 ml serumflasker fyldt med 60 ml inokulum + substrat

I samudrædningsforsøgene blev Lundtofte primærslam, der forventes at være adapteret til nedbrydning af fremmedstoffet, samudrædnet med ikke adapteret slam fra Boserup (udrædnet) som inokulum ved 32°C. Den organiske belastning svarede til en hydraulisk opholdstid på 12 dage (VS indhold i primær slam var 8,3% af indholdet af organisk tørstof i udrædnet inokulum).

Udrådning af spikede fremmedstoffer blev udført på tilsvarende måde i 57,5 ml serumflasker fyldt med 30 ml inokulum + substrat. Der blev ikke tilsat LAS og nonylphenol, da det var til stede i stor mængde.

Flaskerne blev påsat butylgummiprop og aluminiumskapsel og inkuberet i 35 dage i mørke på rystebord i varmeskab.

Følgende stoffer blev tilsat (se bilag 7) i viste koncentrationer:

2-methylnaphthen	5	mg/kg TS
Phenanthren	5	mg/kg TS
Nonylphenoldiethoxylat	800	mg/kg TS
DEHP	500	mg/kg TS
1,2,4-trichlorbenzen	5	mg/kg TS

pH blev målt og justeret til 7,5-8. TS og VS blev bestemt.

Resultater

Resultaterne er vist som procent fremmedstoffereduktion beregnet ud fra start- og slutmålinger. I tabel 2-7 er vist den procentvise nedbrydning af de spikede stoffer. Resultaterne fra reduktionen af fremmedstoffer ved udrådning af de aktuelle ("naturlige") koncentrationer i slam og organisk dagrenovation er afbildet grafisk for de stoffer, der ved forsøgsstart var tilstede i størst mængde.

Tabel 2-2. Den procentvise nedbrydning af spikede koncentrationer af de viste fremmedstoffer ved udrådning med hhv. Lundtofte, Boserup og Herning slam samt termofilt udrædnet kildesorteret organisk dagrenovation (KOD).

% Nedbrydning	Inokulum			
	Lundtofte	Boserup	Herning	KOD
Tilsat Fremmedstof				
2-methylnaphthalen	99,4	i.a.	>50	76,2
Phenanthren	-8,6	i.a.	-62,5	44,9
DEHP	i.a.	26,5	11,6	5,8
1,2,4-trichlorbenzen	i.a.	>67	i.a.	93,8
NPE 1EO	i.a.	22,6	i.a.	i.a.
NPE 2EO	i.a.	i.a.	99,9	24,7

i.a.: ikke analyseret

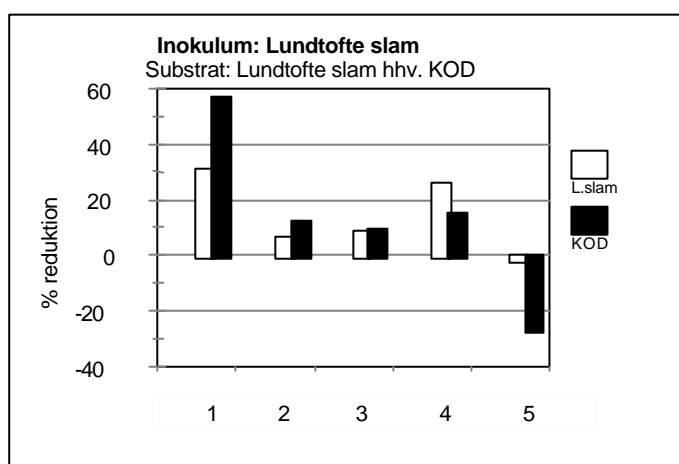
Inokulum:
Lundtofte udrædnet slam

Med Lundtofte udrædnet slam som inokulum blev spikede koncentrationer af 2-methylnaphthalen og phenanthren inkuberet. Startkoncentrationerne var hhv. 6024 µg/kg prøve (60,24 mg/kg TS) og 70 µg/kg prøve (1,2 mg/kg TS). De procentvise reduktioner er vist i tabel 2-7. Som det ses

blev den spikede koncentration af 2-methylnaphthalen fuldstændigt nedbrudt, men den spikede koncentration af phenanthren blev ikke nedbrudt.

Desuden blev Lundtofte udrådnet slam inkuberet med hhv. primær Lundtofte slam og organisk dagrenovation. Resultaterne for disse ikke-spikede tests er vist på figur 2-6. Det er valgt at afbilde reduktionen for de stoffer, der ved forsøgsstart var tilstede i højeste koncentrationer. Reduktionen af 2-methylnaphthalen samt DEHP er væsentlig større med organisk dagrenovation som substrat end med primær slam som substrat. For 2-methylnaphthalen kan det muligvis skyldes, at startkoncentrationen i den organiske dagrenovation var mindre end i det primære slam (42 og 115 µg/kg prøve). Startkoncentrationerne for DEHP var det samme i det organiske dagrenovation og det primære slam (844 og 834 µg/kg prøve), og forklaringen på den større reduktion i den organiske dagrenovation kan derfor skyldes, at der er sket en adaptation af mikroorganismene eller, at DEHP i den organiske dagrenovation er mere biotilgængeligt end i det primære slam. Reduktionen af DEHP er dog lav både med organisk dagrenovation og primær slam som substrat (12,6 og 6,5%).

Koncentrationen af NPE 1EO blev mere reduceret, når substratet var primær slam selvom startkoncentrationerne i hhv. organisk dagrenovation og primær slam var sammenlignelige (631 og 765 µg/kg prøve). Nonylphenol blev kun reduceret ca. 10% i de to substrater, og NPE 2EO blev ikke reduceret. Den højere koncentration af NPE 2EO efter udrådningen kan skyldes, at der er sket en delvis nedbrydning af nonylphenoethoxylater med flere ethoxylatgrupper.



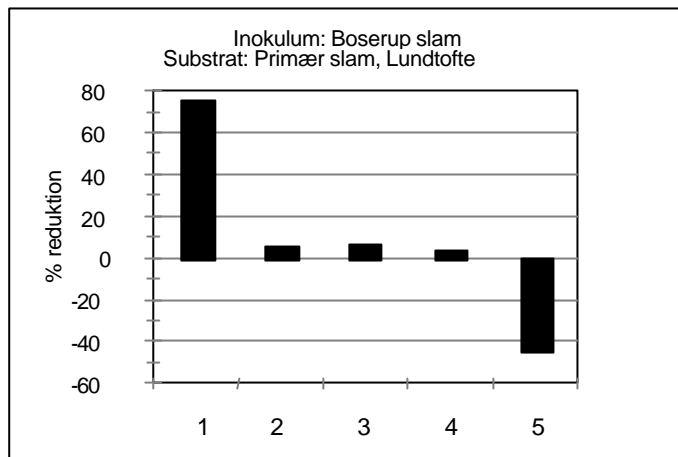
Figur 2-1. Procentvis reduktion af (1): 2-methylnaphthalen, (2): DEHP, (3): Nonylphenol, (4): NPE 1EO, (5): NPE 2EO. Udrådning af Lundtofte primær slam og kildesorteret organisk dagrenovation (KOD) med Lundtofte slam som inokulum.

Med Boserup udrådnet slam som inokulum blev spikede koncentrationer af DEHP, 1,2,4-trichlorbenzen og NPE 1EO inkuberet. Startkoncentrationerne var hhv. 6024 µg/kg prøve, 3 µg/kg prøve og 6767 µg/kg prøve. De procentvise reduktioner var hhv. 26,5, >67 og 22,6 for DEHP, 1,2,4-trichlorbenzen og NPE 1EO (tabel 2-7).

Inokulum:
Boserup udrådnet slam

Boserup udrådnet slam blev også inkuberet med Lundtofte primær slam, og den procentvise reduktion af udvalgte stoffer er vist på figur 2-7. 2-methylnaphthalen koncentrationen blev reduceret med > 70%, men der

var ingen betydelig reduktion af DEHP, nonylphenol, NPE1EO og NPE 2EO. Koncentrationen af NPE 2EO var ca. 40% højere efter udrådningen hvilket kan skyldes, at der blev dannet NPE 2EO ved, at nonylphenol-ethoxylater med flere ethoxylatgrupper blev nedbrudt. Dette kan dog ikke bekræftes, da analysemetoden ikke kan identificere nonylphenolethoxylater med > 2 ethoxylatgrupper.



Figur 2-2. Procentvis reduktion af (1): 2-methylnaphthalen, (2): DEHP, (3): Nonylphenol, (4): NPE 1EO, (5): NPE 2EO. Udrådning af Lundtofte primær slam med Boserup slam som inokulum.

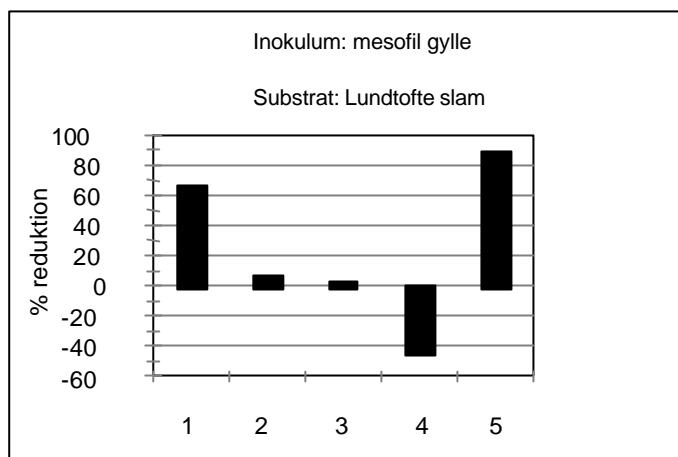
Inokulum:
Herning udrådnat slam

Med Herning udrådnat slam som inokulum blev spikedede prøver med hhv. DEHP, 2-methylnaphthalen, NPE 2EO og phenanthren udrådnat. Resultaterne er vist i tabel 2-7. 3-metylnaphthalen blev reduceret med over 50%, men phenanthren blev ikke reduceret. Tilsvarende skete der ingen betydelig reduktion af DEHP (11,6%). NPE 2EO blev derimod fuldstændig fjernet (99,9%). Dette er i modstrid med resultaterne fra de øvrige forsøg med Lundtofte og Boserup slam som inokulum og Lundtofte primær slam som substrat, hvor der sås en øget koncentration af NPE 2EO efter udrådning. Det er muligt, at spiket (tilsat) NPE 2EO er mere biotilgængeligt end NPE 2EO i slam, hvor det kan være adsorberet til organisk materiale.

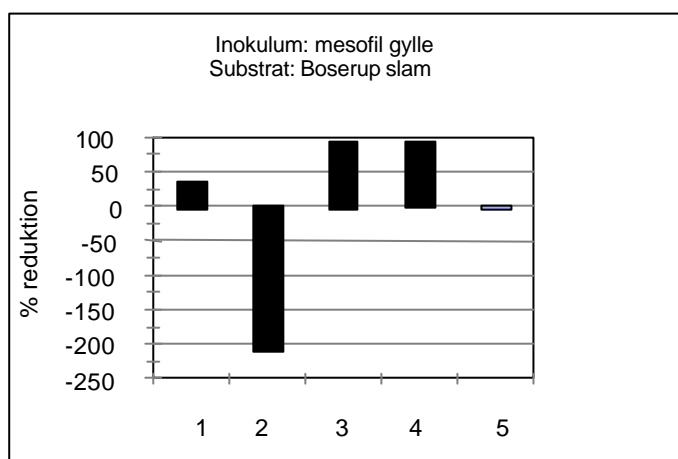
Inokulum:
Mesofilt gylle

Lundtofte og Boserup primær slam blev udrådnat med mesofilt gylle som inokulum. Resultaterne er vist på figur 2-8 og 2-9. 2-methylnaphthalen blev reduceret 67% med Lundtofte som substrat og 35% med Boserup som substrat. Dette kan skyldes, at startkoncentrationen var lavere i Lundtofte slammet (3 µg/kg prøve) end i Boserup slammet (34 µg/kg prøve). DEHP reduktionen var lav (7%) med Lundtofte substrat, og der observeredes en stor stigning i koncentrationen efter udrådning med Boserup substrat. Nonylphenolkoncentrationen blev ikke reduceret med Lundtofte slam som substrat (2%), men med Boserup som substrat blev nonylphenolkoncentrationen fuldstændigt fjernet (92%). Startkoncentrationerne af nonylphenol ved udrådning af Lundtofte og Boserup primær slam var på samme niveau (116 og 133 µg/kg prøve), så forsøget illustrerer, at substratet har betydning for nedbrydningen. Ligeledes sås en fuldstændig nedbrydning af NPE 1EO med Boserup substratet (93%), mens der ingen nedbrydning skete med Lundtofte som substrat. Omvendt forholdt det sig med NPE 2EO, hvor der var en fjernelse på 89% med

Lundtofte slam som substrat og ingen fjernelse med Boserup slam som substrat.



Figur 2-3. Procentvis reduktion af (1): 2-methylnaphthalen, (2): DEHP, (3): Nonylphenol, (4): NPE 1EO, (5): NPE 2EO ved udrådning af Lundtofte primær slam med mesofil gylle som inokulum.

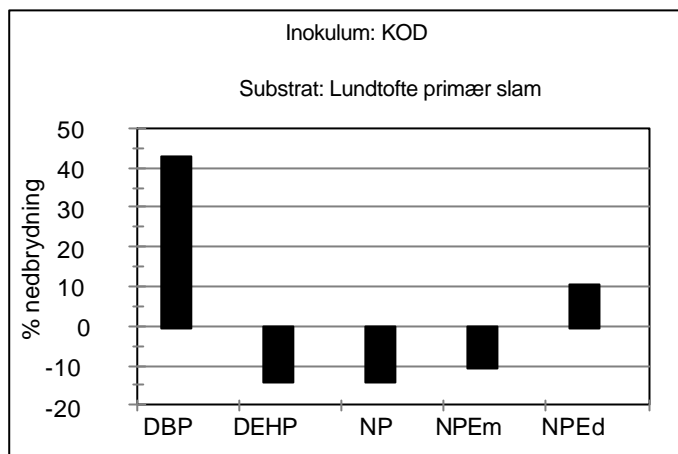


Figur 2-4. Procentvis reduktion af (1): 2-methylnaphthalen, (2): DEHP, (3): Nonylphenol, (4): NPE 1EO, (5): NPE 2EO. Udrådning af Boserup primær slam med mesofil gylle som inokulum.

Inokulum:
Termofilt udrådnat KOD

Termofilt udrådnat kildesorteret organisk dagrenovation blev brugt som inokulum, og spikede prøver af hhv. 2-methylnaphthalen, phenanthren, NPE 2EO, DEHP, og trichlorbenzen blev udrådnat, og reduktionen af stofferne er vist i tabel 2-7. 2-methylnaphthalen og 1,2,4-trichlorbenzen blev fjernet med hhv. 76 og 94%. En lidt lavere reduktion blev observeret for phenanthren (45%) og NPE 2EO (25%). Der blev ikke fjernet DEHP af betydning (6%).

Primær slam fra Lundtofte blev udrådnat med organisk dagrenovation som inokulum. Reduktionen af udvalgte stoffer er vist på figur 2-10.



Figur 2-5. Procentvis reduktion af DBP, DEHP, NP (nonylphenol), NPEm (nonylphenolmonoethoxylat), og NPEd (nonylphenoldiethoxylat). Udrådning af Lundtofte primær slam med KOD (kildesorteret organisk dagrenovation) som inokulum

Ved samudrådning af mesofilt gylle og Boserup primærslam var der tilsyneladende en stimulerende effekt på nedbrydningen af nonylphenol og NPE 1EO. Dette blev dog ikke konstateret med Lundtofte primær slam som inokulum. Heller ikke samudrådning af organisk dagrenovation og Lundtofte primær slam viste en stimulerende effekt på nedbrydningen af de miljøfremmede stoffer.

Sammenfatning

Sammenfattende kan det konstateres, at nedbrydning af fremmedstofferne var afhængig af både det anvendte substrat og inokulum. Der var ingen entydig effekt af samudrådning af forskellige substrater.

Den generelle konklusion er, at stofferne er svært nedbrydelige under anaerobe forhold uanset hvilken kombination af substrat og inokulum, der anvendes.

2.2.4 Adaptation af inokulum

Det blev testet om inokulum udrådnet ved forskellige koncentrationer af miljøfremmede stoffer havde forskelligt nedbrydningskapacitet.

Fremgangsmåde

Forsøgene blev udført med Herning og Boserup udrådnet slam som inokulum. Slammet var forud udrådnet i CSTR-reaktorer (32°C), og belastningen med fremmedstoffer var analyseret gennem forløbet, og der havde været størst belastning med fremmedstoffer i den reaktor, der udrådnede Boserup slam. Inokulum var i begge tilfælde fra perioden 19/5-26/6 '98.

Som substrat blev der anvendt en blanding af DEHP og nonylphenol tilsat så den resulterende koncentration var 50 mg/kg. Substratet blev tilsat fra en stamopløsning i metanol på 0,5 g silicagel i 57 ml serumflasker. Metanolen blev afdampet i 1 time, og der blev derefter tilsat 30 ml inokulum (TS 1,2-2,7).

Flaskerne blev lukket med butylgummiprop og aluminiumskapsel og inkuberet ved 32°C i termostateret varmeskab. Der blev udtaget prøver til kemi efter 0 og 15 dage.

Resultater Resultaterne for reduktionen af de spikede stoffer var i Herning slam på – 1,6% og –10,7%, og i Boserup slam på 4,7% -6,7%. for hhv. nonylphenol og DEHP. De negative reduktioner tilskrives analyseusikkerhed.

Konklusion Der kunne således ikke dokumenteres en effekt af adaptering af inokulum til nedbrydning af nonylphenol og DEHP. Det er dog muligt, at adaptering af inokulum er en fordel for nedbrydning af andre stoffer .

2.3 Aerob efterbehandling

Det blev undersøgt om aerob efterbehandling af anaerobt udrådnet materiale har en positiv effekt på nedbrydningen af miljøfremmede stoffer.

2.3.1 Fremgangsmåde

Der blev udført anaerob udrådning i batchforsøg af følgende kombinationer af fremmedstoffer: phenanthren + DOP, pyren + 1,2,4-trichlorbenzen og benzo(a)pyren.

Endvidere blev der udført anaerob udrådning i forsøg af hhv. primær Lundtofte slam, primær Herning slam og organisk dagrenovation.

Udrådningen foregik i 57,5 ml serumflasker tilsat 30 ml udrådnet slam fra Boserup som inokulum samt substrat bestående af 0,05 mg/kg af ovennævnte fremmedstoffer eller 2,5 ml primær slam/organisk dagrenovation.

Der blev analyseret kemi for hver substratkombination. Efter 32 dages udrådning ved 32°C, udført på samme måde som beskrevet i 2.2.2, blev der atter målt kemi på hver substratkombination. De resterende 8 flasker for hver substratkombination blev blandet sammen, og fra disse batch blev der udtaget materiale til aerob efterbehandling.

Aerob efterbehandling

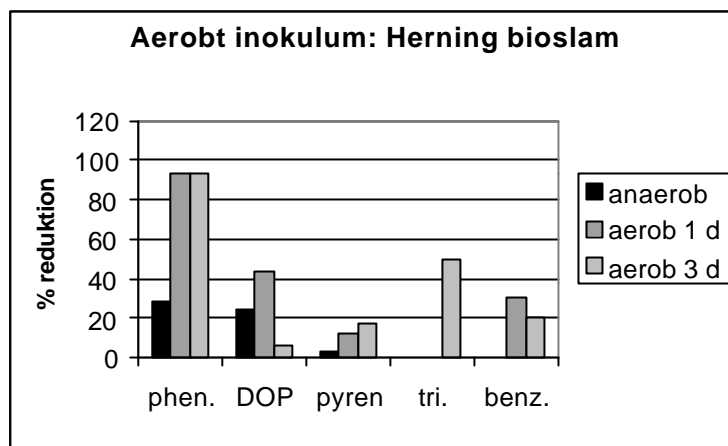
Der blev tilsat 15 ml af det udrådnede materiale fra hver batch til 10 hætteglas á 100 ml. Som inokulum blev der tilsat 30 ml (ca. 1% TS) aerobt behandlet slam (bioslam) fra hhv. Herning, Boserup og Lundtofte til tre flasker, og den sidste flaske blev ikke tilsat bioslam. Flaskerne blev lukket med butylgummiprop, og der blev med kanyle tilsat 15 ml ren ilt til headspace. Der blev inkuberet under aerobe forhold med kraftig omrøring ved 10-15°C for at opnå en feltrealistisk temperatur. Der blev taget prøver ud til kemisk analyse efter 0, 1 og 3 dage. Det blev kontrolleret, at der var aerobt miljø i flaskerne ved GC målinger af headspace, og der blev om nødvendigt tilsat ilt.

2.3.2 Resultater

Den aerobe efterbehandling af det udrådnede substrat medførte for flere af de miljøfremmede stoffer en forøget reduktion i stofkoncentrationen. Nedenfor beskrives resultaterne med anaerob/aerob behandling af de forskellige substrater.

*Inokulum:
Herning bioslam*

Herning bioslam blev inkuberet med spikede koncentrationer af fremmedstofferne phenanthren + DOP, Pyren + 1,2,4-trichlorbenzen og benzo(a)pyren. Resultaterne for stofreduktionerne under hhv. den anaerobe og de aerobe testperioder er vist på figur 2-11.

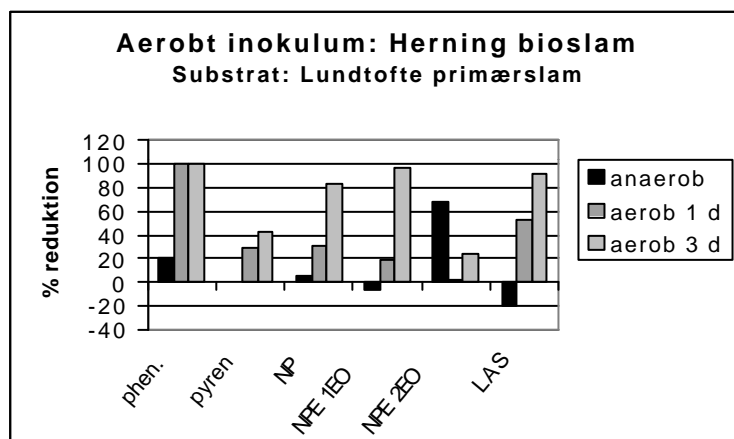


Figur 2-1. Procentvise reduktioner af fremmedstoffer spiket i kombinationerne phenanthren (phen.)+DOP, pyren+1,2,4-trichlorbenzen (tri.), og benzo(a)pyren (benz.) ved anaerob udrådning efterfulgt af aerob behandling i 1-3 dage.

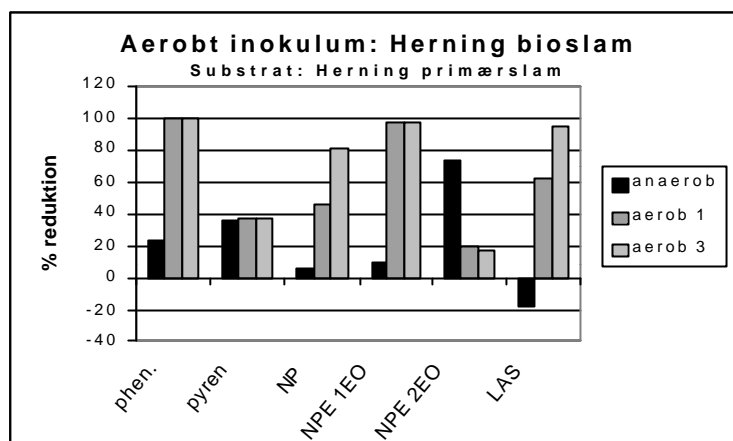
Ved udrådning af phenanthren og DOP, var der en fjernelse af stofferne på 28 og 24%. Den aerobe efterbehandling medførte en reduktion af phenanthren på 93% af startkoncentrationen ved den aerobe behandling. Der blev konstateret en reduktion af DOP på 44% efter 1 dags aerob efterbehandling, men denne kunne ikke eftervises ved analysen efter 3 dages aerob behandling hvor reduktionen af DOP var ubetydelig (6%).

Pyren og trichlorbenzen blev ikke reduceret under den anaerobe udrådning, men efter 3 dages aerob behandling var der en fjernelse af trichlorbenzen på 50%. Der blev observeret en lavere reduktion af pyren på 17% efter 3 dage. Benzo(a)pyren blev ikke reduceret under den anaerobe udrådning, og efter 3 dages aerob behandling var en reduktion på 20%.

Resultaterne for Herning bioslam inkuberet med med primærslam samt organisk dagrenovation som substrat er vist på figur 2-12 og 2-13.



Figur 2-2. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage af Lundtofte primærslam.

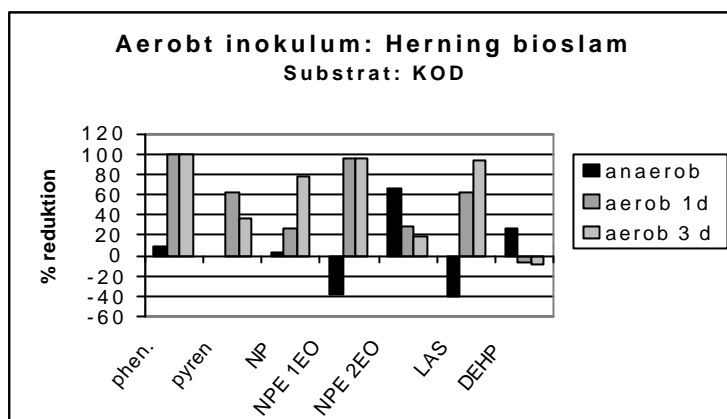


Figur 2-3. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning, og aerob efterbehandling i 1-3 dage af Hering primærslam.

Som figur 2-12 og 2-13 viser, blev phenanthren reduceret med ca. 20% under den anaerobe udrådning, og dernæst fuldstændig fjernet under den aerobe efterbehandling. Pyren blev ikke fjernet anaerobt med Lundtofte primærslam som substrat, men med Hering primærslam som substrat blev der fjernet 36%. Den aerobe efterbehandling medførte stofreduktioner på hhv. 43 og 38% med de to substrater.

Nonylphenol blev ikke reduceret signifikant ved den anaerobe udrådning. Den aerobe efterbehandling medførte en reduktion af nonylphenol på ca. 80% efter 3 dage. NPE 1EO blev kun reduceret med 9% ved den anaerobe udrådning af Hering primærslam, men den aerobe efterbehandling medførte 96% fjernelse med både Hering og Lundtofte primærslam som substrater. NPE 2EO blev derimod fjernet i betydelig mængde under den anaerobe udrådning (73 og 63%), og den aerobe efterbehandling kun medførte reduktioner på ca. 20%.

LAS blev ikke fjernet under den anaerobe udrådning, men blev fjernet med 94% under den aerobe efterbehandling.

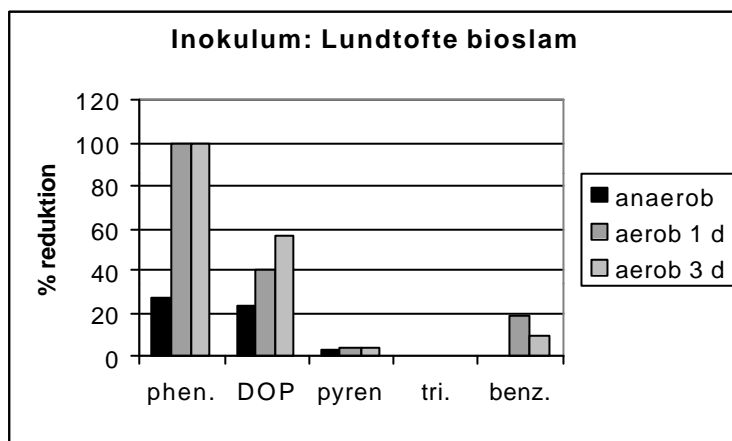


Figur 2-4. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage af kildesorteret organisk dagrenovation (KOD).

Med organisk dagrenovation som substrat blev phenanthren, pyren, nonylphenol, NPE 1EO og LAS i betydelig grad fjernet under den aerobe efterbehandling (figur 2-14). Der var en væsentlig reduktion (66%) af NPE 2EO under den anaerobe udrådning, mens den aerobe efterbehandling medførte en stoffjernelse efter 3 dage på ca. 20%. Der var ikke fjernelse af DEHP under den aerobe efterbehandling.

Inokulum:
Lundtofte bioslam

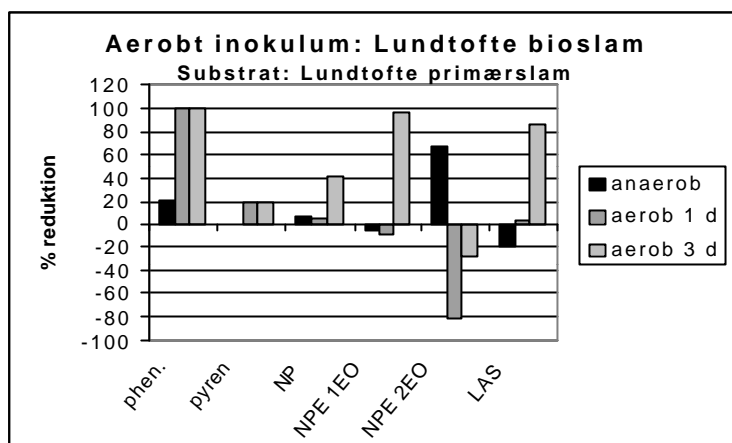
Lundtofte bioslam blev inkuberet med spikede koncentrationer af phenanthren + DOP, pyren + 1,2,4-trichlorbenzen og benzo(a)pyren. Resultaterne for stofreduktionerne er vist på figur 2-15.



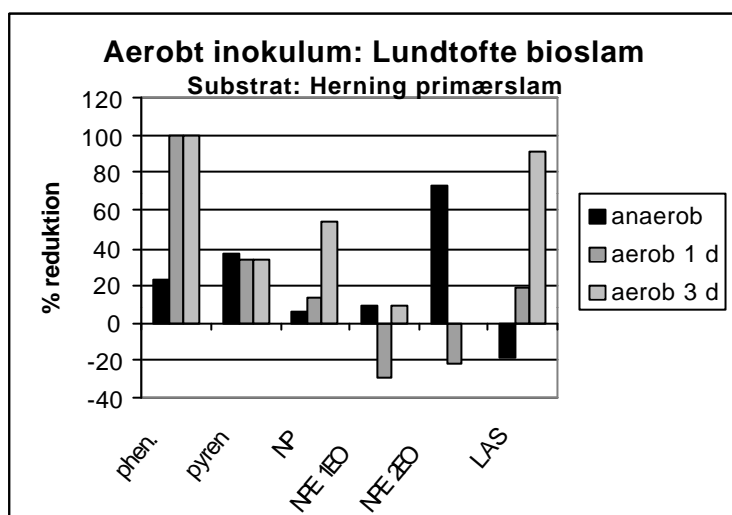
Figur 2-5. Procentvise reduktioner af fremmedstoffer spiket i kombinationerne phenanthren (phen.)+DOP, pyren+1,2,4-trichlorbenzen (tri.), og benzo(a)pyren (benz.) ved anaerob udrådning efterfulgt af aerob behandling i 1-3 dage.

Phenanthren blev reduceret 28% under den anaerobe udrådning, og den aerobe efterbehandling medførte en fuldstændig fjernelse. DOP blev fjernet 24% under den anaerobe udrådning, og den aerobe efterbehandling medførte en yderligere stoffjernelse til ialt 56%. Pyren, 1,2,4-trichlorbenzen og benzo(a)pyren blev ikke signifikant reduceret under den anaerobe udrådning, og den aerobe efterbehandling medførte ikke væsentlige reduktioner (figur 2-15).

Lundtofte bioslam blev inkuberet med primærslam (Lundtofte og Herning) som substrater. Resultaterne er vist på figur 2-16 og 2-17.



Figur 2-6. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage af Lundtofte primærslam.



Figur 2-7. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage af Herning primærslam.

Som figur 2-16 og 2-17 viser, var der både med Lundtofte og Herning primærslam som substrater en reduktion på ca. 20% af phenanthren under den anaerobe udrådning, og den aerobe efterbehandling medførte fuldstændig fjernelse af stoffet. Pyren blev fjernet med 36% under den anaerobe udrådning af Herning primærslam, mens den anaerobe udrådning af Lundtofte slam ikke medførte reduktion af pyren. Den aerobe efterbehandling medførte hhv. 20 og 33% fjernelse i Lundtofte og Herning primærslam.

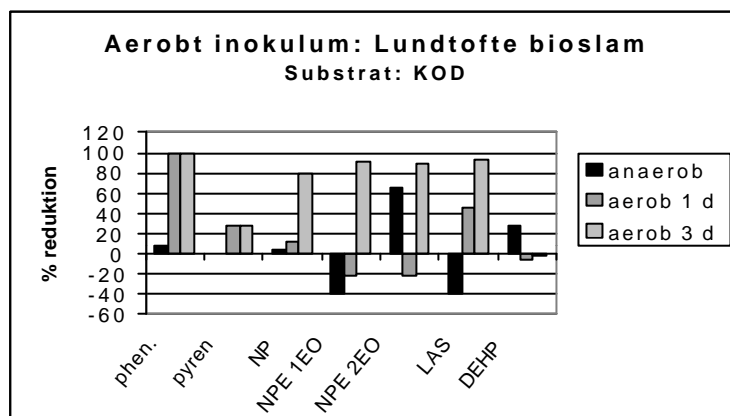
Nonylphenol blev ikke væsentligt reduceret under den anaerobe udrådning, men den aerobe efterbehandling medførte reduktioner på hhv. 41 og 54% i Lundtofte og Herning slam. NPE 1EO blev reduceret 9% under anaerobe forhold med Herning primærslam som substrat, mens der ikke blev konstateret nedbrydning med Lundtofte primærslam (-6% reduktion). Den aerobe efterbehandling medførte 97% reduktion efter 3 dage i Lundtofte slammet, mens der var en reduktion på 9% i Herning slammet. NPE 2EO blev reduceret 68 og 73% i Lundtofte og Herning slammet

under anaerobe forhold. Den aerobe efterbehandling medførte større NPE 2EO koncentrationer i begge slamtyper.

LAS blev ikke nedbrudt under den anaerobe udrådning, men blev reduceret med 87 og 91% i Lundtofte og Herning primæslam.

Reduktionen af fremmedstofferne ved organisk dagrenovation som substrat er vist på figur 2-18. Det ses, at phenanthren kun blev reduceret 8% under anaerobe forhold, mens den aerobe efterbehandling medførte en fuldstændig fjernelse. Pyren blev ikke fjernet anaerobt, men blev fjernet ca. 27% aerobt. Nonylphenol blev ikke i betydelig grad fjernet anaerobt, men var efter 3 dages aerob behandling reduceret med 80%. I den organiske dagrenovation blev NPE 1EO ikke reduceret under anaerobe forhold, og der blev målt væsentligt større koncentrationer efter anaerob udrådning samt efter 1 dags aerob behandling. Efter 3 dages aerob behandling blev der til gengæld observeret en reduktion af NPE 1EO på 90%. NPE 2EO blev reduceret med 66% under den anaerobe udrådning, efter 3 dages aerob behandling blev stoffet reduceret 90%.

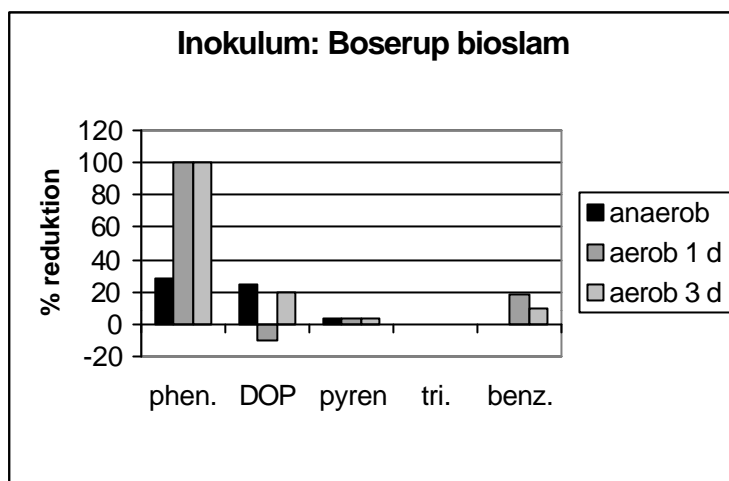
I den organiske dagrenovation blev LAS ikke fjernet under den anaerobe udrådning, idet der blev målt 40% mere LAS efter udrådningen. Den aerobe efterbehandling medførte en LAS reduktion på 92%. Aerob efterbehandling medførte ikke fjernelse af DEHP.



Figur 2-8. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning, og aerob efterbehandling i 1-3 dage af kildesorterede organisk dagrenovation (KOD).

Inokulum:
Boserup bioslam

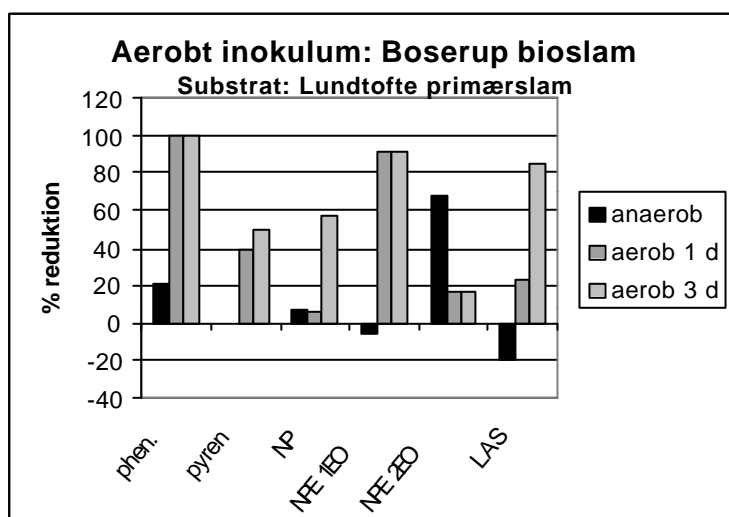
Boserup bioslam blev inkuberet med spikede koncentrationer af fremmedstofferne phenanthren + DOP, pyren + 1,2,4-trichlorbenzen og benzo(a)pyren. Resultaterne for stofreduktionerne under hhv. den anaerobe og de aerobe testperioder er vist på figur 2-19.



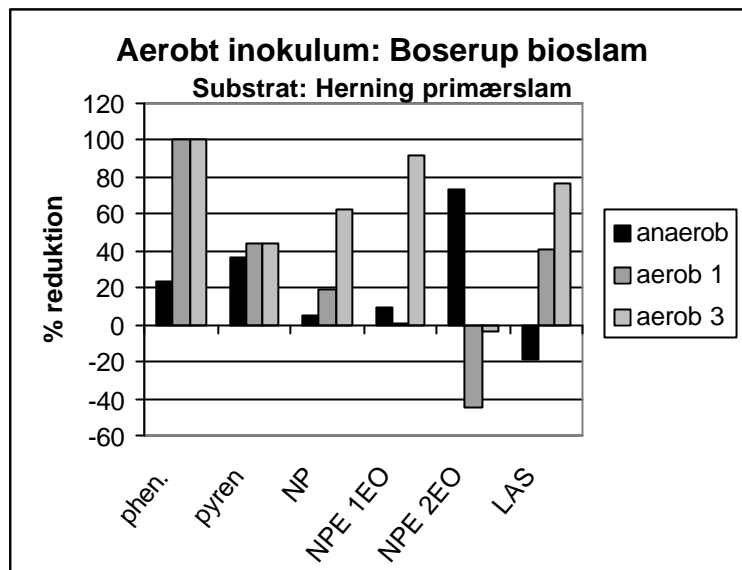
Figur 2-9. Procentvise reduktioner af fremmedstoffer spiket i kombinationerne phenanthren (phen.)+DOP, pyren+1,2,4-trichlorbenzen (tri.) og benzo(a)pyren (benz.) ved anaerob udrådning efterfulgt af aerob behandling i 1-3 dage.

Phenanthren blev reduceret med 28% under den anaerobe udrådning, og den aerobe efterbehandling medførte en fuldstændig fjernelse af stoffet. Der blev observeret en fjernelse af DOP på 20% efter 3 dage, men det bemærkes, at der var en svagt forøget koncentration efter 1 dags aerob behandling. Pyren og 1,2,4-trichlorbenzen blev ikke signifikant reduceret under anaerobe eller aerobe forhold. Benzo(a)pyren blev ikke fjernet under anaerobe forhold, og blev kun fjernet med ca. 9% under den aerobe efterbehandling.

Resultaterne for Boserup bioslam inkuberet med primærslam (Lundtofte og Herning) er vist på figur 2-20 og 2-21.



Figur 2-10. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage af Lundtofte primærslam.



Figur 2-11. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage af Herning primærslam.

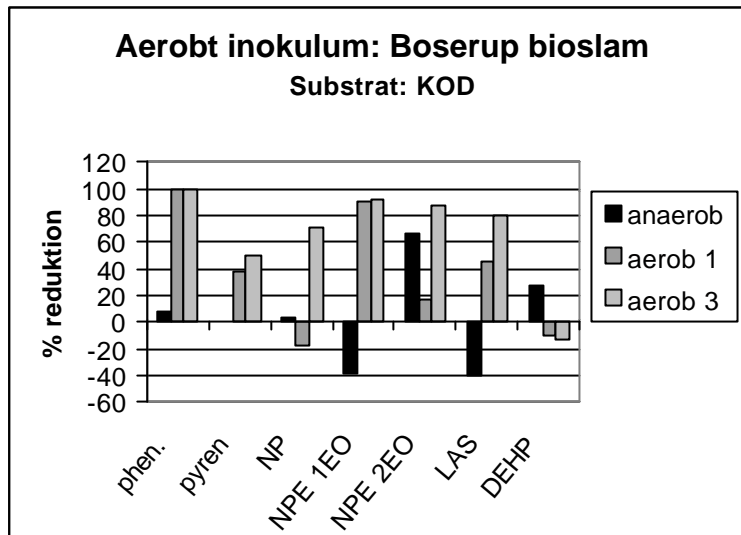
Ved anaerob udrådning af primær slam var der en reduktion af phenanthren på ca. 20%, og den aerobe efterbehandling medførte en fuldstændig fjernelse. Pyren blev ikke reduceret under anaerobe forhold med Lundtofte primærslam som substrat, men der var en fjernelse på 36% med Herning primærslam som substrat. Under den aerobe efterbehandling blev pyren fjernet med hhv. 50 og 44% i Lundtofte og Herning primærslam.

Nonylphenol blev ikke væsentligt reduceret under den anaerobe udrådning af primærslammet, men den aerobe efterbehandling medførte reduktioner på 57-63% efter 3 dage. NPE 1EO blev ikke reduceret under anaerob udrådning af Lundtofte primærslam, men der var en lille reduktion (9%) under udrådning af Herning slam. Under den aerobe efterbehandling blev NPE 1EO fjernet med hhv. 91 og 92%. I modsætning hertil blev NPE 2EO væsentligt fjernet under den anaerobe udrådning (68 og 73%). Den aerobe efterbehandling viste en reduktion på 16% i Lundtofte slammet, mens der ingen reduktion var i Herning slammet. Der var en stærkt forøget NPE 2EO koncentration i Herning slammet efter 1 dags aerob efterbehandling.

LAS koncentrationen blev målt til en ca. 20% højere værdi efter den anaerobe udrådning. Den aerobe efterbehandling medførte efter 3 dage reduktion på hhv. 85 og 76% i Lundtofte og Herning primærslam.

Resultaterne med organisk dagrenovation som substrat er vist på figur 2-22. Phenanthren blev reduceret med 8% under den anaerobe udrådning og blev fuldstændig fjernet under den aerobe efterbehandling. Pyren blev ikke reduceret anaerobt, men den aerobe behandling medførte en reduktion på 50% efter 3 dage. Nonylphenol og NPE 1EO blev ikke fjernet under den anaerobe udrådning, og der blev observeret en markant øget koncentration af NPE 1EO. Den aerobe efterbehandling af organisk dagrenovation medførte reduktioner af nonylphenol og NPE 1EO på hhv. 71 og 92%.

NPE 2EO blev reduceret med 66% under den anaerobe udrådning, og den aerobe efterbehandling medførte en reduktion på 87% efter 3 dage. LAS koncentrationen blev målt til at være væsentligt forøget under den anaerobe udrådning, men den aerobe efterbehandling medførte en reduktion på 80%. DEHP blev ikke fjernet under den aerobe efterbehandling.



Figur 2-12. Reduktion af udvalgte fremmedstoffer ved hhv. anaerob udrådning og aerob efterbehandling i 1-3 dage afkildesorteret organisk dagrenovation (KOD).

2.3.3 Diskussion

Phenanthren

Under den anaerobe udrådning blev phenanthren kun i mindre omfang fjernet (5-30%), men den aerobe efterbehandling medførte en fuldstændig fjernelse i alle kombinationerne af substans og inokulum. Der var ikke forskel på om stoffet var spiket i prøven, eller om det kom fra det eksisterende indhold i primærslam eller organisk dagrenovation. Dette tyder på, at phenanthren er lige biotilgængeligt som spiket og iboende stof.

Den ringe fjernelse under de anaerobe forhold kan skyldes, at PAH'er generelt er lettere at nedbryde under aerobe forhold da der bruges ilt til at bryde ringstrukturen. Resultaterne viser, at det er muligt at fjerne phenanthren ved en aerob efterbehandling af udrådnet materiale.

Pyren

Pyren blev ikke fjernet anaerobt, når det var tilsat som spiket stof eller indeholdt i substraterne Lundtofte primærslam og organisk dagrenovation. I modsætning hertil var der en betydelig reduktion af pyren under anaerob udrådning af Herning primærslam. Der er ikke nogen umiddelbar forklaring på denne forskel, idet indholdet af pyren var på samme niveau i både Lundtofte primærslam, Herning primærslam og organisk dagrenovation. Det er muligt, at der i Herning primærslammet var mikroorganismer tilstede med enzymer til anaerob omsætning af pyren. Da pyren er en PAH-forbindelse med fire benzenringe, er det ud fra litteraturen svært nedbrydeligt under anaerobe forhold, hvilket bekræftes af ovenstående.

Under aerobe forhold må der ifølge litteraturen forventes en større nedbrydelighed af pyren end under anaerobe forhold. Der blev også i denne undersøgelse observeret større reduktioner i pyrenkoncentrationen ved de aerobe efterbehandlinger. De aerobe efterbehandlinger af Lundtofte primærslam, Herning primærslam og organisk dagrenovation medførte reduktioner på 27-50%, og de aerobe efterbehandlinger af spiket pyren medførte lidt lavere reduktioner (5-18%). Dette tyder på, at pyren er langsommere at nedbryde, når det er tilsat som spiket stof, end når det er tilsat som det "naturlige" indhold i de testede substrater. Dette er umiddelbart det modsatte af det forventede, idet biotilgængeligheden må formodes at være større for det spikede stof. Forklaringen er sandsynligvis, at pyren blev spiket i blanding med 1,2,4-trichlorbenzen, og at der hermed er opstået en toksisk effekt på mikroorganismene.

Nonylphenol

Den aerobe efterbehandling af substraterne medførte betydelig reduktion af nonylphenolkoncentrationerne. Der var deimod ingen væsentlig reduktioner under anaerobe forhold. Ifølge litteraturen er nonylphenol svært nedbrydelig under såvel anaerobe som aerobe forhold (Miljøstyrelsen, 1996b).

Resultaterne i denne undersøgelse tyder på, at kombinationen af en anaerob forbehandling og en aerob efterbehandling er favorabelt for mikrobiel omsætning af nonylphenol, og at kombinationen anaerob/aerob medfører en bedre nonylphenol nedbrydning end hhv. den anaerobe og den aerobe behandling alene.

NPE 1EO/NPE 2EO

NPE 1EO og NPE 2EO er de to eneste nonylphenoethoxylater, som det er muligt at analysere med gaskromatograf. De nonylphenoethoxylater, der produceres og anvendes kommercielt, har dog oftest flere ethoxylatgrupper. Dette betyder, at der i substraterne kan være ukendte mængder af nonylphenoethoxylater med > 2 ethoxylatgrupper. Nedbrydningen af disse stoffer sker ved en trinvis afkortning af ethoxylatkæden, således at NPE XEO bliver til NPE (X-1)EO, hvor X er antallet af ethoxylatgrupper. Hvis disse nedbrydes under den biologiske behandling, kan der derfor dannes NPE 1EO og NPE 2EO.

NPE 1EO blev ikke væsentligt reduceret under anaerobe forhold. Ved udrådning af organisk dagrenovation var der sågar en øget NPE 1EO koncentration efter udrådningen. Startkoncentrationerne af NPE 1EO og NPE 2EO ved udrådning af den organiske dagrenovation var hhv. 2,6 og 0,3 mg/kg, så den observerede stigning i NPE 1EO koncentrationen på 40% kan ikke alene skyldes, at den oprindelige NPE 2EO koncentration blev nedbrudt til NPE 1EO. Forklaringen kan være, at NPE med mere end 2 ethoxylatgrupper blev nedbrudt til NPE 2EO og NPE 1EO, og at nedbrydningen af NPE 1EO var langsommere end nedbrydningen af NPE 2EO, idet denne blev reduceret i koncentration ved udrådning af den organiske dagrenovation.

Den aerobe efterbehandling medførte stort set fuldstændig reduktion af NPE 1EO efter 3 dage. Den markante reduktion af NPE 1EO ved aerob efterbehandling i tre dage tyder på, at for dette stof er kombinationsbehandlingen anaerob/aerob fremmende for en mikrobiel omsætning.

Eneste undtagelse var ved aerob efterbehandling af Herning primærslam med Lundtofte bioslam som inokulum, hvor reduktionen kun var ca.

10%. Det kan dog ikke udelukkes, at der er foregået en større nedbrydning af NPE 1EO, samtidig med en dannelse af stoffet ved omsætning af nonylphenoethoxylater med flere ethoxylatgrupper.

I modsætning til NPE 1EO var der væsentlige reduktioner af NPE 2EO under den anaerobe udrådning. Forklaringen på denne forskel er muligvis, at NPE 2EO generelt må anses som værende lettere nedbrydelig end NPE 1EO, idet nonylphenoethoxylater med faldende ethoxyleringsgrad i højere grad adsorberer til det organiske materiale, hvorved biotilgængeligheden reduceres.

Den aerobe efterbehandling medførte ikke væsentlige reduktioner i koncentrationen af NPE 2EO. Startkoncentrationerne af NPE 1EO og NPE 2EO ved den aerobe behandling var lidt lavere for NPE 2EO (71-113 µg/kg) end for NPE 1EO (101-404 µg/kg), men denne forskel er dog sandsynligvis ikke forklaringen på, at den aerobe efterbehandling var mere effektiv til at reducere NPE 1EO end NPE 2EO. En mulig forklaring kan være, at der er en pulje af nonylphenoethoxylater, der nedbrydes til NPE 2EO, og at den videre nedbrydning til NPE 1EO er langsom.

LAS

LAS blev ikke nedbrudt under den anaerobe behandling, hvilket er i overensstemmelse med det forventede. Den aerobe efterbehandling var meget effektiv til at reducere LAS koncentrationen, hvilket er i overensstemmelse med det forventede, idet LAS er rapporteret let nedbrydelig under aerobe forhold.

DEHP

Med kildesorteret organisk dagrenovation som inokulum blev DEHP fjernet i nogen grad under den anaerobe udrådning (27%), hvilket umiddelbart er i modsætning til andres undersøgelser der ikke har påvist nedbrydning af DEHP under metanogene forhold. Den aerobe efterbehandling medførte derimod ikke yderligere fjernelse af DEHP, hvilket er i overensstemmelse med, at DEHP i andre undersøgelser er fundet langsomt nedbrydelig under aerobe forhold.

Sammenfatning

Resultaterne viste, at den aerobe efterbehandling af substraterne primærslam og organisk dagrenovation var en fordel for nedbrydningen af især phenanthren, nonylphenol, NPE 1EO og LAS. Kombinationen af en anaerob/aerob biologisk behandling optimerer mulighederne for at få fjernet et bredt spektrum af fremmedstoffer, idet resultaterne viser, at visse stoffer fjernes bedst anaerobt (NPE 2EO), mens andre fjernes bedst aerobt.

Den praktiske implikation af dette er, at det med hensyn til fjernelse af miljøfremmede stoffer kan være fordelagtigt at kombinations-behandle affald først anaerobt dernæst aerobt. Det udrådnede materiale kan efterbehandles aerobt ved enten en aktiv beluftning eller ved at samkompostere med f.eks have/parkaffald.

2.4 Aerob stabilisering af udrådnet slam

Aerob efterbehandling blev udført under mere feltrealistiske forhold med det formål at undersøge hvorvidt en aerob behandling af udrådnet slam resulterer i en hurtigere og mere fuldstændig omsætning af de miljøfremmede stoffer i markjord.

Nedbrydning af miljøfremmede stoffer under anaerobe og aerobe forhold foregår ofte via forskellige reaktionsveje, der kan komplimentere hinanden. Visse svært nedbrydelige organiske forbindelser kan under anaerobe forhold, og ikke under aerobe forhold, omdannes til nedbrydningsprodukter, der siden kan omsættes aerobt. En kombination af anaerobe og aerobe betingelser kan derfor medvirke til en mere fuldstændig nedbrydning af ellers svært nedbrydelige forbindelser.

2.4.1 Fremgangsmåde

Der blev anvendt slam fra Herning, Boserup og Lundtofte renselanlæg og tre jordtyper fra henholdsvis Flakkebjerg, Foulum og Fladernebæk. Kemiske og fysiske karakteristika for de tre jorde er vist i tabel 2-8.

Tabel 2-1. Fysiske og kemiske karakteristika for de anvendte jorde.

	Lokalitet		
	Flakkebjerg	Foulum	Fladernebæk
% grovsand (> 200 µm)	22	36	77
% finsand (20 - 200 µm)	43	45	13
% silt (2 - 20 µm)	18	9	5
% ler (< 2 µm)	12	8	2
pH (CaCl ₂)	6,1	5,6	5,3
NH ₄ -N (mg kg ⁻¹)	1,9	3,0	1,2
NO ₃ -N (mg kg ⁻¹)	1,1	10,5	3,7
total N (%)	0,14	0,15	0,12
total C (%)	1,3	1,6	2,2

Inkubationen af jord med iblandet slam blev foretaget i kasser, der kunne rumme ca. 10 kg jord. Det var ønskeligt at iblande slam svarende til et tørstofindhold på ca. 10 tons tørstof /ha, men på grund det forholdsvis lave tørstofindhold og de forskellige tørstofindhold i de tre slamtyper, blev der iblandet slam svarende til de mængder, der er vist i tabel 2-9.

Tabel 2-2. Mængden af slam blandet i jorden (ca. tons tørstof pr. ha).

	Primærslam	Udrådet slam
Lundtofte	8	5
Boserup	1	7
Herning	7	3

Kasserne med jord og slam blev inkuberet ved 10°C, og prøver blev udtaget med intervaller á ca. 3 uger over en periode på 4 måneder. Delprøver (6-10 stk) blev udtaget med et lille jordbor, og derefter ”poolet” til en prøve på ca. 50 g. Ved hver prøveudtagning blev der udtaget to prøver á 50 g, som blev opbevaret i udglødede glas i dybfryser indtil analyse for miljøfremmede stoffer.

For at følge den mikrobielle omsætning og om muligt at relatere denne til nedbrydning af det iblandede slam, blev der opstillet et parallel-forsøg. Jord (500 g) og slam blandet i det samme forhold, som beskrevet ovenfor, blev inkuberet i glas, der kunne lukkes med et tætslutende låg forsynet med et septum. Med ca. en uges mellemrum blev raten af den mikrobielle respiration (CO₂-produktion), CH₄- og N₂O-produktion, samt denitrifikationen bestemt gaskromatografisk (se bilag 10). CO₂-, CH₄- og

N₂O-produktion blev målt på de samme glas i 3 gentagelser, og denitrifikation på separate glas ligeledes med 3 gentagelser.

Miljøfremmede stoffer

2.4.2 Resultater

Indledningsvis skal der gøres opmærksom på, at koncentrationsniveauerne fra inkubationsforsøgene var betydeligt lavere end niveauerne målt direkte i slammet, hvilket hænger sammen med, at enheden $\mu\text{g kg}^{-1}$ tørstof i inkubationsforsøgene omfatter både slam- og jordtørstof. Med et tørstofindhold i jorden på ca. 80% og i slammet på 1-4%, kan indholdet af de miljøfremmede stoffer i jord-slam blandingen forventes at være fra 250 til 1000 gange lavere alene som følge af fortyndingen. Det er valgt at vise resultaterne fra de stoffer, der forekom i størst koncentration (tabel 2-10). Angivelser af en faldende eller stigende tendens i koncentration af de miljøfremmede stoffer, som vist med ”-” eller ”+” i tabel 2-10 er anført for de fremmedstoffer, hvor den procentuelle ændring var $> 30\%$ (initiel stofkoncentration $< 50 \mu\text{g/kg TS}$) eller $> 20\%$ (initiel stofkoncentration $> 50 \mu\text{g/kg TS}$).

Sammenlignes indholdet af miljøfremmede stoffer i primær slam og udrådnat slam, bemærkes det, at for flere stoffers vedkommende er koncentrationen højere i det udrådnede slam end i primærslam. Dette gælder specielt for nonylphenol-forbindelserne, der er fundet i 10-100 gange større koncentration i udrådnat slam end i primærslam.

I tabel 2-11 er en oversigt over tendenserne i det samlede datamateriale i tabel 2-10 vist. Det fremgår heraf, at hvis man betragter alle analyser under ét udviser henholdsvis 20, 56 og 24% af de miljøfremmede stoffer i primærslam en faldende, uforandret og stigende koncentration i løbet af inkubationsperioden. For udrådnat slam udgør antallet af miljøfremmede stoffer med en faldende, uforandret og stigende koncentration henholdsvis 44, 53 og 4%.

Indholdet af LAS var meget lavt både ved start og ved slutningen af inkubations-perioden (tabel 2-10). Analyser af primærslam viste, at indholdet af LAS var henholdsvis 2117, 885 og 1889 mg/kg TS i slam fra Lundtofte, Herning og Boserup. Efter fortynding i jord, som angivet ovenfor, svarer disse LAS-koncentrationer til 8, 3 og 2 mg/kg TS, hvilket er i god overensstemmelse med koncentrationerne vist i tabel 2-10.

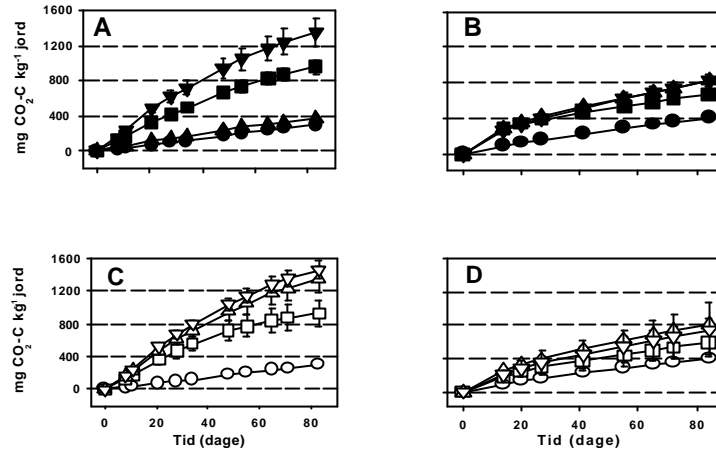
Tabel 2-1. Indhold af miljøfremmede stoffer ($\mu\text{g kg}^{-1}$ tørstof) ved start og ved slut af inkubations-perioden efter iblanding af henholdsvis primærslam (P) og udrådnetslam (U), samt angivelse af en stigende (+), faldende (-) eller uændret tendens fra start til slut. For stoffer $< 50 \text{ mg/kg TS}$ er der markeret +/- hvis den %-vise ændring var $> 30\%$, og for stoffer $> 50 \text{ mg/kg TS}$ er der markeret +/- hvis den %-vise ændring var $> 20\%$. LAS koncentrationen er angivet i mg kg^{-1} tørstof. Detektionsgrænsen for LAS er 50 mg kg^{-1} tørstof. i.m. = ikke målt.

		Herning-slam Foulum-jord			Boserup-slam Foulum-jord			Lundt.-slam Foulum-jord			Lundt.-slam Flakkebj.-jord			Lundt.-slam Fladerne-jord		
		start	slut	+/-	start	slut	+/-	start	slut	+/-	start	slut	+/-	start	slut	+/-
Flouranthen	P	20	25		12	13		10	16	+	11	7	-	7	5	-
	U	10	5	-	13	7	-	8	4	-	28	27		9	7	
Pyren	P	15	21	+	8	10		11	6	-	7	2	-	3	1	-
	U	9	4	-	11	5	-	7	4	-	25	23		17	16	
Benz-flourantherner	P	11	18	+	6	7		5	2	-	4	4		4	4	
	U	14	7	-	11	9		10	7	-	27	23		17	16	
Benz(a)pyren	P	5	15	+	3	6	+	4	1	-	2	1	-	1	2	+
	U	8	5	-	8	5	-	6	5		18	15		6	5	
Indol(1.2.3.c.d.)pyren	P	19	20		15	15		12	15		15	13		15	13	
	U	9	9		15	8	-	8	10		18	15		18	10	-
Benz(ghi)perylene	P	15	8	-	11	11		9	10		11	11		10	10	
	U	9	13	+	13	7	-	9	8		15	14		10	10	
Di-n-butylphthalat	P	33	43	+	21	26		15	42	+	12	15		17	18	
	U	29	6	-	57	24	-	26	15	-	49	9	-	23	32	+
DEHP	P	92	123	+	10	14	+	13	31	+	24	19		97	79	
	U	33	22	-	44	45		23	28		39	44		142	106	-
Nonylphenol	P	40	68	+	<10	<10		<10	<10		<10	<10		<10	<10	
	U	40	20	-	30	20	-	20	20		20	20		200	80	-
NPE 1EOt	P	66	94	+	<10	<10		<10	<10		<10	<10		51	<10	-
	U	120	130		14	12		120	130		130	120		230	180	-
NPE 2EO	P	39	32		<10	<10		<10	<10		<10	<10		42	<10	-
	U	390	390		410	370		380	390		470	390		470	460	
LAS	P	5,7	5,8		2,2	0,0	-	8,6	9,5		11,8	9,1		7,4	0,0	-
	U	i.m.	i.m.		i.m.	i.m.		i.m.	i.m.		i.m.	i.m.		i.m.	i.m.	

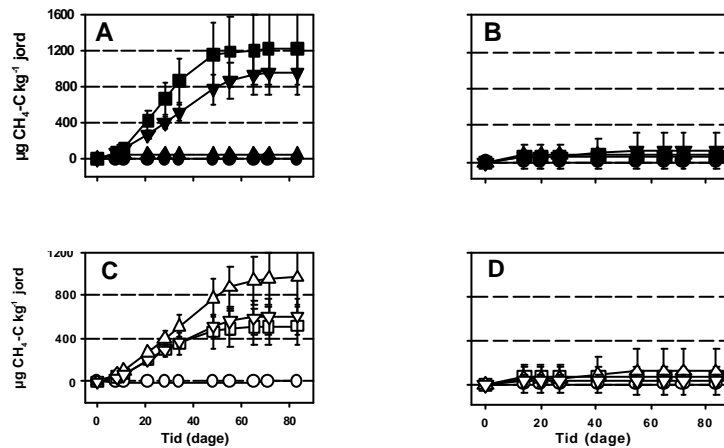
Tabel 2-2. Antallet af miljøfremmede stoffer med tendens til faldende, uforandret eller stigende koncentration i løbet af inkubationsperioden ved inkubation af henholdsvis primærslam og udrådnetslam.

Slamtype	Tendens	Herning-slam Foulum-jord	Boserup-slam Foulum-jord	Lundt.-slam Foulum-jord	Lundt.-slam Flakkebj.-jord	Lundt.-slam Fladerne-jord	I alt (%)
Primær	Faldende	1	0	3	3	4	11 (20)
	Uforandret	3	9	5	8	6	31 (56)
	Stigende	7	2	3	0	1	13 (24)
Udrådnetslam	Faldende	7	7	4	1	5	24 (44)
	Uforandret	3	4	7	10	5	29 (53)
	Stigende	1	0	0	0	1	2 (4)

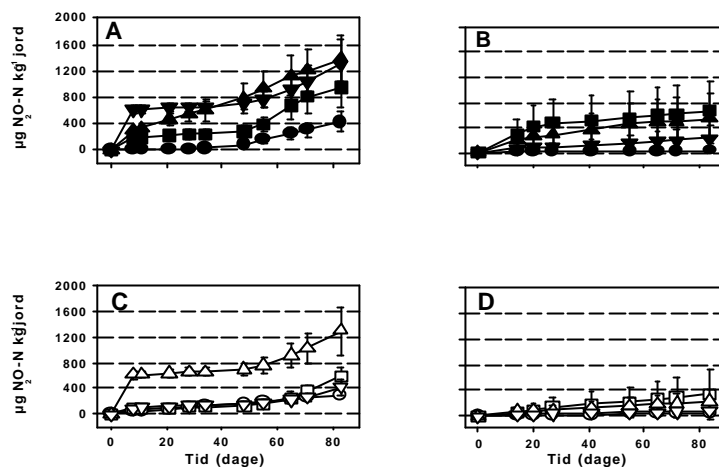
Udvikling af CO₂, CH₄, N₂O og denitrifikationsaktivitet igennem inkubationsperioden er vist i Fig. 2-23-2-26.



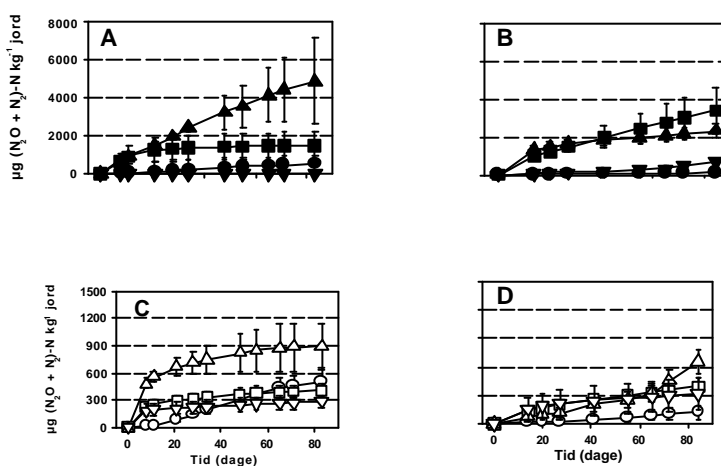
Figur 2-1. Udvikling af CO₂ fra Foulum-jord iblandet primærslam (A) eller udrådnat slam (B) fra Herning (€), Boserup (▲) eller Lundtofte (▼), samt udvikling af CO₂ fra Fladernebæk- (JB1; □), Foulum- (JB3; D) eller Flakkebjerg-jord (JB5; N̄) iblandet primærslam (C) eller udrådnat slam (D) fra Lundtofte. ● og ○ = kontrol (vand).



Figur 2-2. Udvikling af CH₄ fra Foulum-jord iblandet primærslam (A) eller udrådnat slam (B) fra Herning (€), Boserup (▲) eller Lundtofte (▼), samt udvikling af CH₄ fra Fladernebæk- (JB1; □), Foulum- (JB3; D) eller Flakkebjerg-jord (JB5; N̄) iblandet primærslam (C) eller udrådnat slam (D) fra Lundtofte. ● og ○ = kontrol (vand).



Figur 2-3. Udvikling af N_2O fra Foulum-jord iblandet primærslam (A) eller udrådnnet slam (B) fra Herning (◻), Boserup (▲) eller Lundtofte (▼), samt udvikling af N_2O fra Fladernebæk- (JB1; ◻), Foulum- (JB3; ◻) eller Flakkebjerg-jord (JB5; ◻) iblandet primærslam (C) eller udrådnnet slam (D) fra Lundtofte. ● og ○ = kontrol (vand).



Figur 2-4. Denitrifikation fra Foulum-jord iblandet primærslam (A) eller udrådnnet slam (B) fra Herning (◻), Boserup (▲) eller Lundtofte (▼), samt denitrifikation fra Fladernebæk- (JB1; ◻), Foulum- (JB3; ◻) eller Flakkebjerg-jord (JB5; ◻) iblandet primærslam (C) eller udrådnnet slam (D) fra Lundtofte. ● og ○ = kontrol (vand).

Den mikrobielle respiration udtrykt som CO₂-udvikling (figur 2-23) var tilnærmelsesvis lineær igennem inkubationsperioden på 84 dage. En sammenligning af respirationsrater (tabel 2-12) viser, at den mikrobielle aktivitet fra jord iblandet primærslam varierede mellem 4,5 og 18,1 mg CO₂-C/kg jord/dag. Iblanding af Boserup primærslam medførte kun en lille stigning i den mikrobielle respiration i forhold til kontrolbehandlingen. Der syntes at være en tendens til stigende aktivitet med stigende lerindhold. Endvidere var respirationsraterne generelt lavere efter iblanding af udrådnet slam end efter iblanding af primærslam.

Tabel 2-3. Respirationsrater (mg CO₂-C kg⁻¹ jord dag⁻¹) i de undersøgte kombinationer af slam og jordtyper.

Slamtype	Jordtype	Primærslam		Udrådnet slam	
		CO ₂ -rate	r ²	CO ₂ -rate	r ²
Herning	JB3	11,7	0,98	6,8	0,9
Boserup	JB3	4,5	0,99	8,9	0,95
Lundtofte	JB3	16,6	0,98	9,0	0,96
Lundtofte	JB1	11,6	0,96	6,5	0,96
Lundtofte	JB3	16,6	0,98	9,0	0,96
Lundtofte	JB5	18,1	0,98	8,3	0,98
Kontrol	JB3	3,7	0,99	4,7	0,99

Dannelsen af metan (figur 2-24) fulgte et lignende mønster, som respirations-raterne. Dog var metan-dannelsen ikke lineær, man havde en nøle-fase på 10 - 15 dage efterfulgt af en lineær stigning, hvorefter metanproduktionen var minimal i løbet af de sidste 20 - 30 dage af inkubationsperioden. Ligesom det var tilfældet for den mikrobielle respiration, så blev der ikke dannet metan efter iblanding af primærslam fra Boserup (figur 2-24 (A)). Metandannelsen var minimal efter iblanding af udrådnet slam (figur 2-24 (B, D)).

M.h.t. N₂O-dannelsen (figur 2-25) og denitrifikationen (figur 2-26) var det tilsyneladende det omvendte, der gjorde sig gældende, idet jord iblandet primærslam fra Boserup havde de største rater. Efter iblanding af primærslam fra Lundtofte kunne der ikke registreres forhøjet denitrifikationsaktivitet i forhold til kontrolprøverne. Endvidere kunne der ikke påvises signifikante forskelle mellem jordtyper.

Under iltede forhold lever hovedparten af jordens mikroorganismer af at nedbryde organisk stof til CO₂, som derfor er et bredt mål for den mikrobielle aktivitet i jorden. Tilførsel af slam, som i reglen indeholder store mængder organisk stof, forventes derfor at øge CO₂-produktionen. Omvendt er størrelsen af CO₂-produktionen en afspejling af mængden og tilgængeligheden af det tilførte organisk stof. Dette blev bl. a. observeret efter tilførsel af Boserup primærslam med et lavt tørstofindhold, hvor der samtidig blev målt en meget lav mikrobiel respiration. Ved en anaerob behandling af slam sker der en mikrobiel nedbrydning af organisk stof under dannelse af metan, og man kan således forvente en lavere mikrobiel respiration efter iblanding af udrådnet slam. Dette dels som følge af et lavere tørstofindhold i det udrådnede slam, og dels som følge af at det organiske stof, der er tilbage efter en anaerob udrådning, sandsynligvis er sværere nedbrydeligt. Ved nedbrydning af organiske stof i jorden forbruges ilt, og hvis tilførslen af ilt samtidig er begrænset, opstår der anaerobe områder i jorden, hvor en metandannelse kan finde sted.

En stor gruppe af jordens mikroorganismer – de denitrificerende og nitrat-reducerende bakterier - er fakultativt aerobe, og kan under iltfrie forhold ånde vha. nitrat i stedet for ilt. Bakterierne kræver, udover nitrat og iltfrie forhold, en letomsættelig kulstofkilde. Denitrifikationsprocessen er således en biologisk proces, hvorved nitrat reduceres til de gasformige kvælstofforbindelser lattergas (N_2O) og frit kvælstof (N_2). Resultaterne fra inkubationsforsøgene viste, at efter iblanding af primærslam fra Boserup, blev der målt en betydelig højere denitrifikationsaktivitet end efter iblanding af slam fra Herning og Lundtofte, hvilket antyder at Boserupslam var mere kvælstofholdigt end Herning- og Lundtofte-slam.

Resultaterne tyder på, at en anaerob behandling af slam medvirker til en hurtigere og mere fuldstændig omsætning af de miljøfremmede stoffer efter overgang til aerobe forhold i markjord. Der var dog for visse stoffer større koncentrationer efter udrådningen, hvilket sandsynligvis skyldes, at der under den anaerobe udrådning er sket en nedbrydning af organisk materiale uden en tilsvarende nedbrydning af de pågældende stoffer, og dermed en opkoncentrering når indholdet angives på tørstofbasis.

2.5 CSTR-reaktorforsøg

CSTR-reaktorer (Continuous Stirred Tank Reactors) blev anvendt til at simulere forholdene i et fuldskala biogasanlæg.

Den organiske belastning af testsystemet har stor betydning for forløbet af de anaerobe processer. Den organiske belastning udtrykkes i g VS/l-dag; VS bestemmes som vægttab efter afbrænding ved $575^{\circ}C$ i 2 timer, og er et udtryk for det organiske indhold. Belastningen af CSTR-reaktorerne var på realistiske belastningsniveauer, svarende til hydrauliske opholdstider på 12 til 30 dage. Den hydrauliske opholdstid blev beregnet ud fra flowet gennem reaktoren og reaktorens volumen. For enkelte udvalgte stoffer blev belastningsafhængigheden undersøgt.

2.5.1 Fremgangsmåde

Der blev hjemtaget primærslam fra Lundtofte, Boserup og Herning renseanlæg, og slam fra hvert anlæg blev efter grundig opblanding opbevaret i glødede glasbeholdere (2 l) ved $4^{\circ}C$. CSTR-reaktorerne havde et effektivt volumen på 2 l. Føden blev tilført via en PC-styret slangepumpe, og der var omrøring på fødebeholderen. Reaktorerne var termostaterede og kørte ved en temperatur på $32^{\circ}C$ med primærslam fra henholdsvis Lundtofte, Boserup og Herning renseanlæg. Udløbet fra reaktorerne blev opsamlet i en glasbeholder.

Gasdannelsen fra reaktorerne blev opsamlet i gastætte poser, og der blev ugentligt målt metandannelse fra reaktorerne på GC. Gasudbyttet fra reaktorerne blev beregnet som ml metan/g VS (bilag 4).

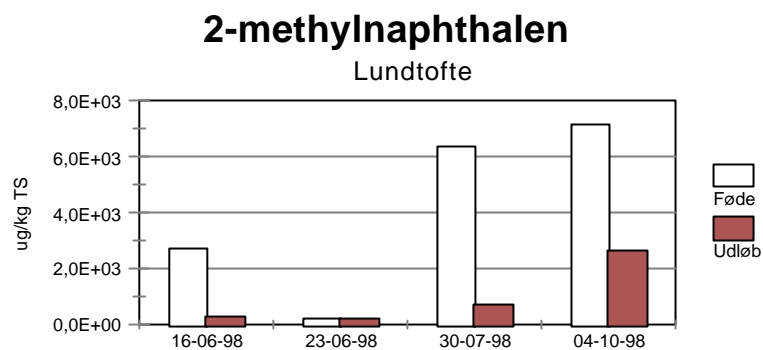
Reaktorerne blev gennem et forløb på ca. 4 måneder belastet i stigende grad med organisk stof (g VS/l-dag) ved at fødevolumen gradvist blev øget, se bilag 4.

Der blev udtaget prøver til kemi fra føden (primærslam) og udløbet med intervaller der repræsenterede ændringer i den organiske belastning.

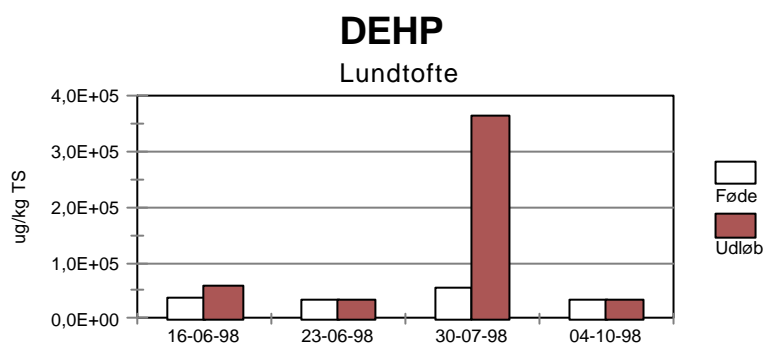
2.5.2 Resultater

Koncentrationer af udvalgte fremmedstoffer i ind og udløb fra reaktorerne, der havde kørt med primærslam fra Lundtofte, Boserup og Herning er vist på figur 2-27-2-41.

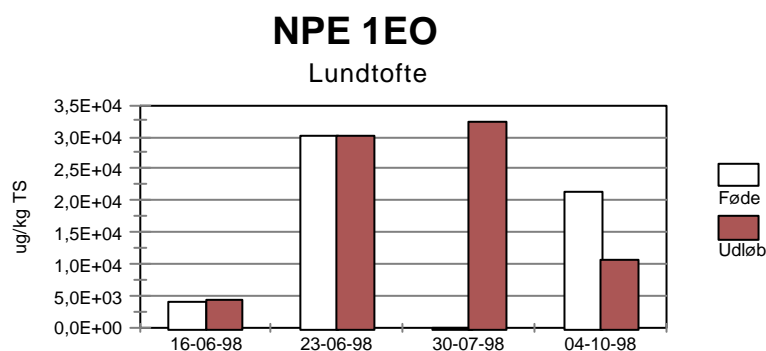
Lundtofte primærslam



Figur 2-1. Koncentration af 2-methylnaphthalen i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Lundtofte primærslam.



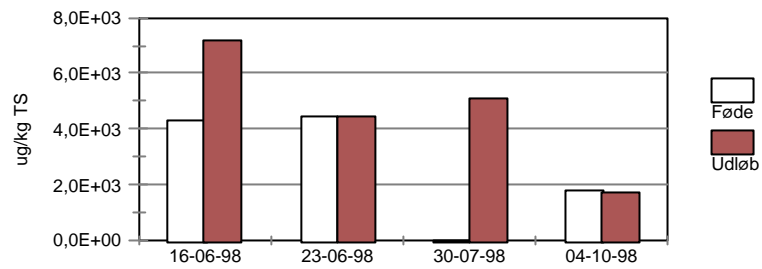
Figur 2-2. Koncentration af DEHP i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Lundtofte primærslam.



Figur 2-3. Koncentration af NPE 1EO i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Lundtofte primærslam.

NPE 2EO

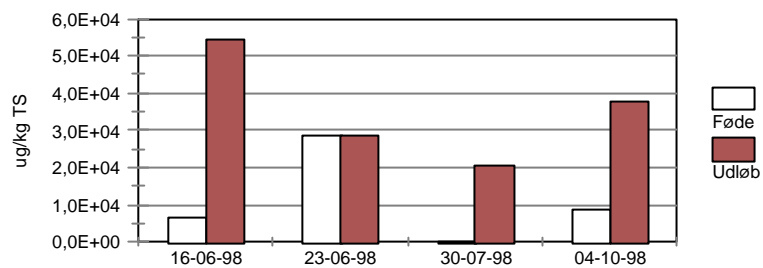
Lundtofte



Figur 2-4. Koncentration af NPE 2EO i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Lundtofte primærslam.

Nonylphenol

Lundtofte

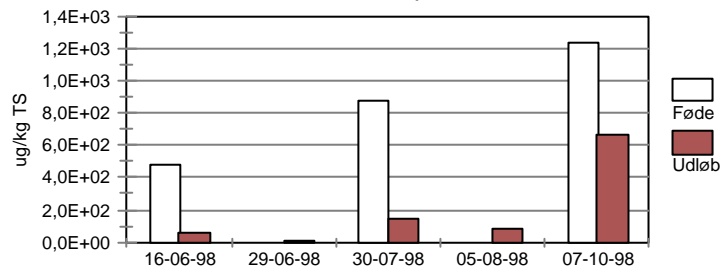


Figur 2-5. Koncentration af nonylphenol i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Lundtofte primærslam.

Boserup primærslam

2-methylnaphthalen

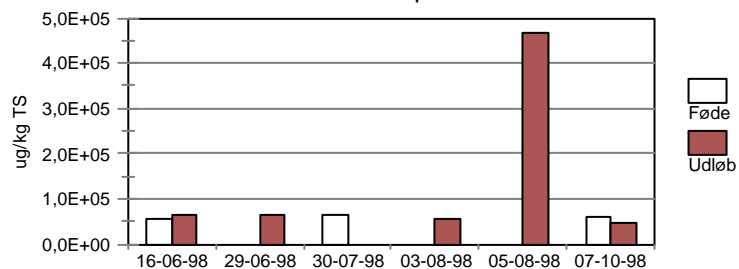
Boserup



Figur 2-6. Koncentration af 2-methylnaphthalen i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Boserup primærslam

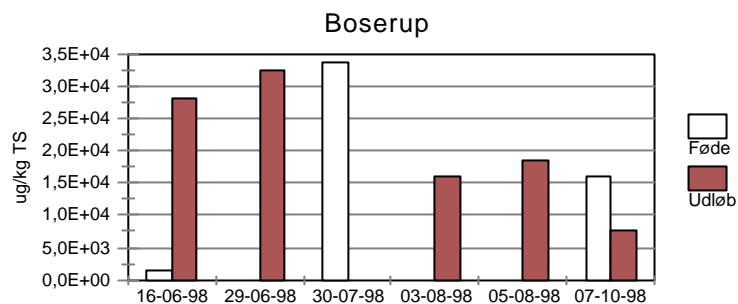
DEHP

Boserup



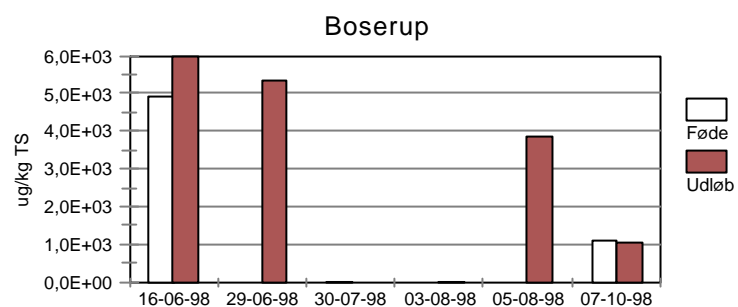
Figur 2-7. Koncentration af DEHP i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Boserup primærslam.

NPE 1EO



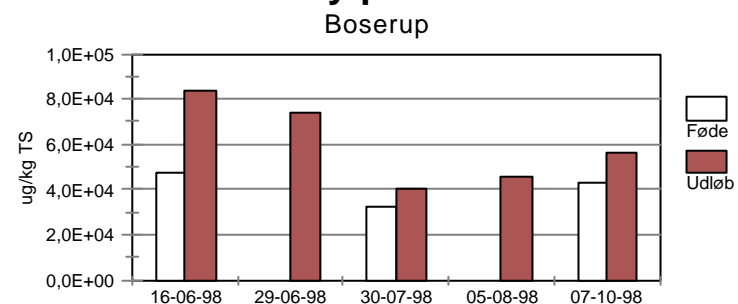
Figur 2-8. Koncentration af NPE 1EO i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Boserup primærslam.

NPE 2EO



Figur 2-9. Koncentration af NPE 2EO i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Boserup primærslam.

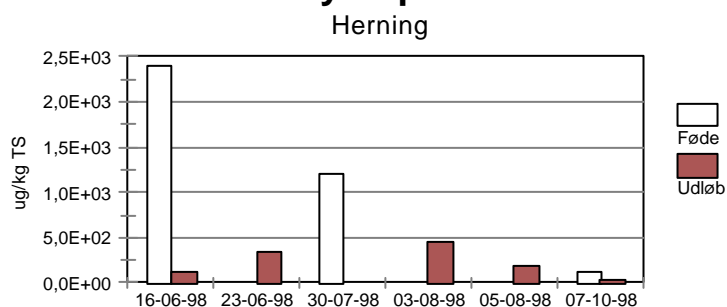
Nonylphenol



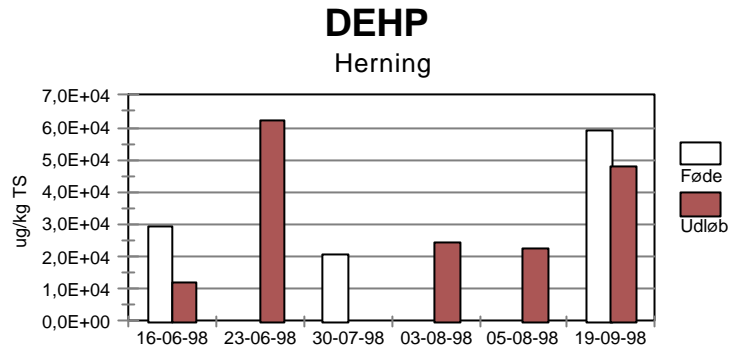
Figur 2-10. Koncentration af nonylphenol i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Boserup primærslam.

Herning primærslam

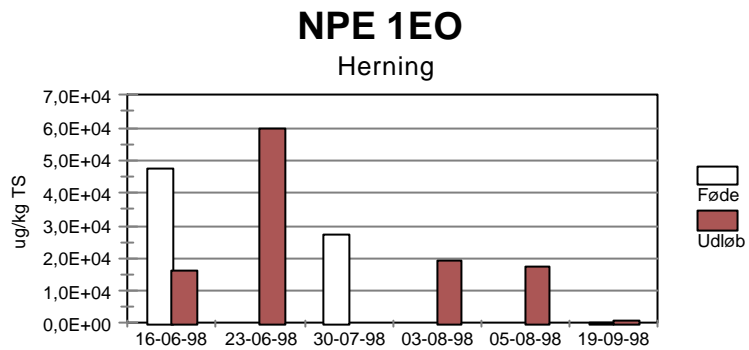
2-methylnaphthalen



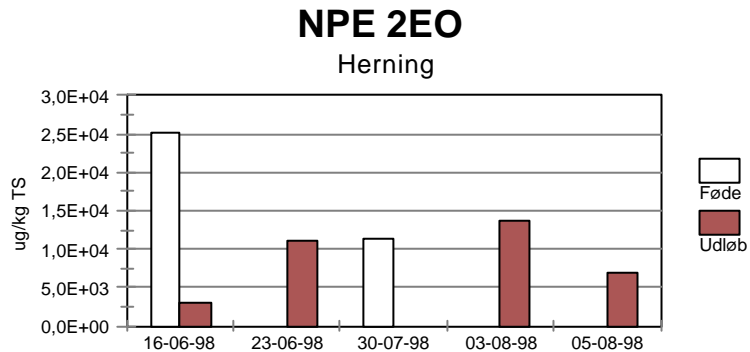
Figur 2-11. Koncentration af 2-methylnaphthalen i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Herning primærslam.



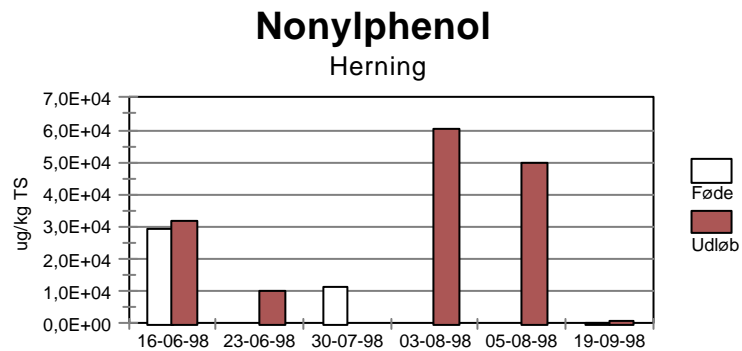
Figur 2-12. Koncentration af DEHP i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Herning primærslam.



Figur 2-13. Koncentration af NPE 1EO i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Herning primærslam.



Figur 2-14. Koncentration af NPE 2EO i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Herning primærslam.



Figur 2-15. Koncentration af nonylphenol i føde og udløb fra CSTR-reaktor kørt med Herning primærslam.

2.5.3 Diskussion

2-methylnaphthalen

Som figur 2-27, 2-32 og 2-37 viser, skete der en nedbrydning af 2-methylnaphthalen i reaktorerne med hhv. Lundtofte, Boserup, og Herning slam. For Lundtofte og Boserup var der en tendens til at den procentvise nedbrydning blev mindre med stigende organisk belastning (bilag 4), hvilket kan skyldes, at opholdstiden i reaktoren blev kortere (fra ca. 30 dage til ca 10 dage). En anden forklaring på den lavere procentvise nedbrydning kan være, at i forsøgsperioden steg fødens indhold af 2-methylnaphthalen i Lundtofte og Boserup slam. Omvendt forholdt det sig med Herning slam, hvor fødens indhold af 2-methylnaphthalen faldt gennem forsøgsperioden. Der var ingen sammenhæng mellem udløbets indhold af 2-methylnaphthalen og den organiske belastning for denne reaktor, hvilket muligvis kan skyldes at de lavere indgangskoncentrationer har kompenseret for den kortere opholdstid i reaktoren.

DEHP

Der kunne ikke konstateres lavere DEHP koncentrationer i udløbet fra Lundtofte og Boserup end i føden, hvilket tyder på, at stoffet ikke blev nedbrudt (figur 2-28 og 2-33). Der blev ved enkelte målinger konstateret stærkt forhøjede DEHP koncentrationer i udløbet i reaktorerne (Lundtofte: d. 30-07-98; Boserup: d. 05-08-98 og Herning: d. 23-06-98). Disse målinger kan skyldes utilstrækkelig omrøring, hvorved der er risiko for at udtage en prøve der ikke er repræsentativ. Men da der ikke på de nævnte datoer havde været stop i omrøringen, er det muligt, at forklaringen er usikkerhed ved de kemiske analyser.

I Herning reaktoren tyder data på, at der var en DEHP nedbrydning i starten af forsøgsperioden, hvor den organiske belastning var lavest (figur 2-38)

NPE 1EO/NPE 2EO

Den generelle tendens var, at der ikke blev fjernet NPE 1EO og NPE 2EO i de tre reaktorer. I Lundtofte og Boserup reaktorerne var der dog i den sidste del af forsøgsperioden et fald i koncentrationen af NPE 1EO (figur 2-29 og 2-34). Endvidere var der en reduktion af NPE 1EO og NPE 2EO koncentrationen i udløbet fra Herning reaktoren i den første del af forsøgsperioden (figur 2-39 og 2-40). Det er muligt at nedbrydning af NPE 1EO og NPE 2EO i disse forsøg ikke bliver registreret på grund af, at der er en samtidig dannelse af disse stoffer ved nedbrydning af nonylphenolethoxylater med flere ethoxylatgrupper. Dette forhold er muligvis også forklaringen på, at der blev observeret NPE 1EO og NPE 2EO i reaktorerens udløb, selv når der ikke var betydelige koncentrationer i føden.

Nonylphenol

Nonylphenol blev ikke reduceret i de tre reaktorer, og i flere tilfælde var der højere koncentrationer i udløbet end i føden (Lundtofte d. 16-06-98 og d. 04-10-98; Boserup d. 29-06-98 og d. 05-08-98 og Herning d. 03-08-98 og d. 05-08-98). Forklaringen på dette forhold kan være, at der dannes nonylphenol ved nedbrydning af andre fremmedstoffer, bl.a. nonylphenolethoxylater.

2.6 Sammenfatning

Denne undersøgelse har vist, at de fleste af de testede miljøfremmede stoffer er problematiske at få nedbrudt under anaerobe forhold. Den

overordnede konklusion er, at bioforgasning af affaldsfraktioner indeholdende miljøfremmede stoffer ikke alene kan anbefales som en metode til effektivt at nedbringe indholdet af disse. Der er dog mulighed for, at koncentrationen af visse miljøfremmede stoffer kan reduceres under den anaerobe udrådning i biogasreaktorer, og hvis den anaerobe behandling kobineres med en aerob efterbehandling øges sandsynligheden for at få et bredt spektrum af de miljøfremmede stoffer nedbrudt. Nedenstående opsummeres resultaterne opnået i denne undersøgelse, og relateres til betydning for driften af biogasanlæg.

2.6.1 Standardtest ISO 11734

Standardtesten ISO 11734 blev anvendt som en screeningsmetode til bestemmelse af de miljøfremmede stoffers anaerobe bionedbrydelighed. Formålet var at vurdere om standardtesten kan erstatte de meget omkostningskrævende kemiske analyser. Fordelene ved testen er, at den er hurtig, billig og informativ. Udover at en nedbrydning kan konstateres opnås der information om eventuelle toksiske effekter fra det testede fremmedstof. Endvidere er det kun stof, der mineraliseres fuldstændigt til CO₂ og CH₄, som måles som en nedbrydning. Herved undgås det, at få ændringer i molekylet måles som nedbrydning.

En ulempe ved testen er, at det er nødvendigt at arbejde med relativt høje stofkoncentrationer for at detektere fremmedstofomsætning, hvilket kan medføre toksiske effekter. I denne undersøgelse blev der observeret toksiske effekter af mange af stofferne i de pågældende koncentrationer (100 mg C/l).

Det konkluderes, at testen i højere grad er anvendelig som et supplement til de kemiske analyser end som en erstatning. Ved at anvende begge typer test (trykdata og kemiske analyser) af bionedbrydeligheden opnås der information om mængden af primært nedbrudt stof og mineraliseret stof, som kan være forskellige hvis nedbrydningen ikke er fuldstændig.

2.6.2 Procesparametre

Specifikke procesparametres indflydelse på anaerobe bionedbrydelighed blev undersøgt.

Temperatur

Temperaturens indflydelse blev belyst ved at inkubere under hhv. mesofile og termofile forhold. Under mesofil udrådning blev der observeret væsentlig reduktion af 2-methylnaphthalen, DEHP og 1,2,4-trichlorbenzen, en vis nedbrydning af nonylphenoldiethoxylat og ingen nedbrydning af flouranthen, LAS og nonylphenol.

Den termofile udrådning medførte større reduktioner af flouranthen, nonylphenol og nonylphenoldiethoxylat end ved den mesofile udrådning. Derimod var der ingen nedbrydning af DEHP under den termofile udrådning. Det skal pointeres, at de beregnede procentvise nedbrydninger af fremmedstofferne er baseret på enkeltanalyser, så konklusionen er, at der blev antydnet en bedre nedbrydning af de miljøfremmede stoffer under termofile forhold undtagen for DEHP.

Elektronacceptorer

Forskellige elektronacceptorer effekt på den anaerobe bionedbrydelighed blev undersøgt. Nedbrydning af acenaphthen, phenanthren, 4-nonylphenol, LAS, DEHP og 1,2,4-trichlorbenzen blev testet under jern-, sulfat- og nitrat-reducerende forhold. Det blev fundet, at det ikke væsentligt

optimerede nedbrydningen af fremmedstofferne at inkubere under andre redox forhold end metanogene. Nedbrydning forekom kun undtagelsesvis. Der blev konstateret en begyndende nedbrydning under af acenaphthen og 4-nonylphenol under nitrat-reducerende forhold, og de nitrat-reducerende forhold blev mindst påvirket af de toksiske effekter fra de miljøfremmede stoffer. Det vil være meget bekosteligt at tilsætte alternative elektronacceptorer (NO_3^- , SO_4^{2-} og Fe^{3+}) til biogasanlæg, så resultaterne kan bruges til at fraråde, at det forsøges.

Temperatur

Resultaterne fra udrådning under mesofile og termofile forhold tyder på, at der er et større nedbrydningspotentiale under termofile forhold end under mesofile forhold. Det kræver dog en nærmere undersøgelse at fastslå betydningen af disse resultater, men det er sandsynligt, at valget af driftstemperatur på biogasanlæg kan være afgørende for processens potentiale til nedbrydning af miljøfremmede stoffer.

Redoxforhold

Ved anaerob omsætning af miljøfremmede stoffer under forhold med forskellige elektronacceptorer (Fe^{3+} , SO_4^{2-} , og NO_3^-), blev der ikke opnået en stimulering af nedbrydningspotentialet i forhold til nedbrydning under metanogene forhold. Da det ville være u hensigtsmæssigt at skabe andre redoxforhold end metanogene i en biogasreaktor, er det et positivt resultat m.h.t. driften af biogasanlæg.

Aerob efterbehandling

Den aerobe efterbehandling af det udrådnede materiale var en fordel m.h.t. fjernelse af især phenanthren, nonylphenol, NPE 1EO og LAS. Kombinationen af en anaerob og en aerob behandling optimerer ifølge resultaterne mulighederne for at få fjernet de miljøfremmede stoffer fra affaldet. Det skal dog bemærkes, at DEHP ikke blev reduceret under den aerobe efterbehandling af udrådnet materiale.

Substrat/inokulum

Det blev påvist, at de fleste af fremmedstofferne var svært nedbrydelige under metanogene forhold. Der kunne ikke påvises en stimulerende effekt på nedbrydning af fremmedstofferne ved samudrådning af forskellige substrater og inokuli.

Der blev anvendt inokulum fra Herning, Boserup og Lundtofte renseanlæg, gylle samt kildesorteret organisk dagrenovation. Som substrater blev der dels tilsat fremmedstoffer fra stamopløsninger (2-methylnaphthalen, phenanthren, DEHP, 1,2,4-trichlorbenzen, NPE 1EO og NPE 2EO) og fremmedstoffer fra det aktuelle indhold i primærslam og kildesorteret organisk dagrenovation.

2-methylnaphthalen og 1,2,4-trichlorbenzen spiket i prøverne blev nedbrudt både med slam og kildesorteret organisk dagrenovation som inokulum. Spiket phenanthren blev ikke nedbrudt med slam som inokulum, men med organisk dagrenovation var der en fjernelse på ca. 45%. Der var ikke væsentlig fjernelse af DEHP når det var spiket i slam eller organisk dagrenovation. Spiket NPE 2EO blev fuldstændig nedbrudt med slam som inokulum men kun ca. 25% blev fjernet med organisk dagrenovation som inokulum.

Det aktuelle indhold af fremmedstoffer i slam eller organisk dagrenovation blev med hensyn til 2-methylnaphthalen væsentligt reduceret. Der blev derimod ikke observeret væsentlig nedbrydning af DEHP,

nonylphenol, NPE 1EO og NPE 2EO. Dog var der en nedbrydning af nonylphenol, NPE 1EO og NPE 2EO ved anvendelse af mesofil gylle som inokulum. For NPE 1EO og NPE 2EO blev der i flere tilfælde observeret højere koncentrationer efter udrådning, hvilket kan skyldes, at stofferne er blevet dannet som følge af nedbrydning af nonylphenolethoxylater med flere ethoxylatgrupper.

CSTR-reaktorer

CSTR-forsøg viste, at den organiske belastning og opholdstiden havde indflydelse på nedbrydning af miljøfremmede stoffer. Ved drift af biogasanlæg skal det tages i betragtning, at opholdstiden er lang nok til at en nedbrydning af fremmedstofferne kan foregå.

Det blev konstateret, at der skete en nedbrydning af 2-methylnaphthalen i reaktorerne. Der var en tendens til, at den procentvise nedbrydning blev mindre med stigende organisk belastning, hvilket kan skyldes, at opholdstiden i reaktoren blev kortere (fra ca. 30 dage til ca 10 dage). DEHP, NPE 1EO, NPE 2EO og nonylphenol blev ikke reduceret i reaktorerne.

Det skal nævnes, at der i flere forsøg blev konstateret en hæmning af metandannelsen fra de miljøfremmede stoffer. I screeningsforsøget hæmmede stofferne naphthalen, 2-methylnaphthalen, LAS og 2,4-dichlorphenol ved koncentrationer på ca. 100 mg/l. Ved udrådning under hhv. mesofile og termofile forhold med mere procesrealistiske koncentrationer blev der yderligere konstateret en hæmning af metandannelsen af stofferne 2-methylnaphthalen (5 mg/kg TS), flouranthen (3 mg/kg TS), 4-nonylphenol (5 mg/kg TS), NPE 2EO (50 mg/kg TS), LAS (1000/10.000 mg/kg TS), DEHP (40 mg/kg TS) og 1,2,4-trichlorbenzen (5 mg/kg TS).

De nævnte koncentrationer er dog meget højere end det umiddelbart vil forventes ved tilsætning af slam til et biogasanlæg, men resultaterne viser, at der er en potentiel risiko for at hæmme metandannelsen ved drift af biogasanlæg, hvis fremmedstofkoncentrationerne i slammet er ekstremt høje.

3 Litteratur

Achtnich, C., F. Bak and R. Conrad. (1995). Competition for electron donors among nitrate reducers, ferric iron reducers, sulfate reducers, and methanogens in anoxic paddy soil. *Biol. Fertil. Soils* 19:65-72.

Alexander, M. (1985). Biodegradation of organic chemicals. *Environ.Sci.Technol.*, Vo. 18, No2, s. 106-111.

Armenante, P.M. (1993). Effect of pH on the anaerobic dechlorination of chlorophenols in a defined medium. *Applied Microbiol. Biotechnol.*, Vol 39, s. 772-777.

Battersby, N.S., and Wilson, V. (1989). Survey of the Anaerobic Biodegradation Potential of Organic Chemicals in Digesting Sludge. *Appl. Environ. Microb.*, Vol 55, No 2, s. 433-439.

Bauer, J.E., and Capone, D.G. (1985). Degradation and Mineralization of the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Anthracene and Naphthalene in Intertidal Marine Sediments. *Appl. Environ. Microb.*, Vol 50, No 1, s. 81-90.

Bauer, J.E., and Capone, D.G. (1988). Effects of Co-Occurring Aromatic Hydrocarbons on degradation of Individual Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Marine Sediment Slurries. *Appl. Environ. Microb.*, Vol 54, s. 1649-1655.

Behechti, A., Ballhorn, L., and Freitag, D. (1988). Verhalten von 2,4-dichlorphenol, 2,4,6-trichlorphenol und pentachlorphenol bei der Kompostierung in einer standardisierten Laboranlage. *Chemosphere*, Vo. 17, No. 12, s. 2433-2440.

Berry, D.F., Framcos, A.J., and Bollag, J.-M. (1987). Microbial Metabolism of Homocyclic and Heterocyclic Aromatic Compounds under Anaerobic Conditions. *Microb. Reviews*, Vo. 51, No. 1, s. 43-59.

Bollag, J.-M., and Kaiser, J.-P. (1991). The Transformation of Heterocyclic Aromatic Compounds and Their Derivatives under Anaerobic Conditions. *Critical Reviews in Environmental Control*, Vo. 21, No 3, s. 297-329.

Bosma, T.N.P., Roelof van der Meer, J., Schraa, G., Tros, M.E., and Zehnder, A.J.B. (1988). Reductive dechlorination of all trichloro- and dichlorobenzene isomers. *Microb. Ecology*, Vo. 53, s. 223-229.

Bouwer, E.J., and McCarthy, P.L. (1983). Transformations of 1- and 2-Carbon Halogenated Aliphatic Organic Compounds Under Methanogenic Conditions. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 45, No 4, s. 1286-1294.

Boyd, S.A., Shelton, D.R., Berry, D., and Tiedje, J.M. (1983). Anaerobic Biodegradation of Phenolic Compounds in Digested Sludge. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 46, No 1, s. 50-54.

Brunner, P.H., and Ernest, W.R. (1986). Alternative Methods for the Analysis of Municipal Solid Waste. *Was. Manag. Res.*, Vol 4, s.147-160.

Cerniglia, C.E. (1981). Aromatic Hydrocarbons: Metabolism by Bacteria, Fungi and Algae. I: Hodgson, E. et al.: *Reviews in Biochemical Toxicology*, s. 321-361, Elsevier.

Cerniglia, C.E., (1984). Microbial transformation of aromatic hydrocarbons. I: Atlas, R. M.: *Petroleum Microbiology*, s. 99-128, Macmillian Publishing Company, New York, USA.

- Chang, B.-V., Chen, K.-S., and Yuan, S.-Y. (1995). Dechlorination of 2,4,6-TCP by anaerobic mixed cultures. *Chemosphere*, Vo. 31, No. 8, s. 3803-3811.
- Cline, J..D. (1969). Spectrophotometric determination of hydrogen sulfide in natural waters. *Limnol. Oceanogr.* 14:454-458.
- Cook, A.M., Lave, H., and Junker, F. (1999). *Microbial desulfonation*. *FEMS microbiology Reviews*, Vo. 22, s. 399-419.
- Crawford, S.L., Johnson, G.E., and Goetz, F.E. (1993). The Potential for Bioremediation of Soils Containing PAHs by Composting. *Com. Sci .Util.*, s. 41-47.
- De Wolf, W. and T. Feijtel. (1998). Terrestrial risk assessment for linear alkylbenzene sulfonate (LAS) in sludge-amended soils. *Chemosphere* 36:1319-1343.
- Dietrich, G., and Winter, J. (1990). Anaerobic degradation of chlorophenol by an enrichment culture. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vo. 34, s. 253-258.
- Durant, N.D., Wilson, L.P., and Bouwer, E.J. (1995). Microcosm studies of subsurface PAH-degrading bacteria from a former manufactured gas plant. *J .Contam.Hydrol.*, Vo. 17, s. 213-237.
- Ejlertsson, J., Johansson, E., Karlsson, A., Meyerson, U., and Svensson, B.H. (1996). Anaerobic degradation of xenobiotics by organisms from municipal solid waste under landfilling conditions. *Antoine van Leeuwenhoek*, Vo. 69, s. 67-74.
- Elsgaard, L., S.O. Petersen and K. Deboz (1999) Short-term effects of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on microbial processes in agricultural soil. In preparation.
- Fathepure, B.Z., and Boyd, S.A. (1988a). Reductive dechlorination of perchloroethylene and the role of methanogens. *Microb. Let.*, Vo. 49, s. 149-156.
- Fathepure, B.Z., and Boyd, S.A. (1988b). Dependence of tetrachloroethylene dechlorination on methanogenic substrate consumption by *Methanosarcina* sp. Strain DCM. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 54, No. 12, s. 2976-2980.
- Fathepure, B.Z., Tiedje, J.M., and Boyd, S.A. (1988). Reductive dechlorination of hexachlorobenzene to tri- and dichlorobenzenes in anaerobic sewage sludge. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 54, No. 2, s. 327-300.
- Federle, T.W., and Schwab, B.S. (1992). Mineralization of surfactants in anaerobic sediments of a laundromat wastewater pond. *Water Res.*, Vo. 26, No. 1, s. 123-127.
- Figge, K. and P. Schöberl. (1989). LAS and the application of sewage sludge in agriculture. *Tenside Surfactants Detergents* 26:122-128.
- Fogel, M.M., Taddeo, A.R., and Fogel, S. (1986). Biodegradation of chlorinated ethenes by a methane-utilizing mixed culture. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 51, No. 4, s. 720-724.
- Frassinetti, S., Isoppo, A., Corti, A., and Vallini, G. (1996). Bacterial attack of non-ionic aromatic surfactants: Comparison of degradative capabilities of new isolates from nonylphenol polyethoxylate polluted wastewaters. *Environ.Tech.*, Vo. 17, s. 199-213.
- Freedman, D.L., and Gossett, J.M. (1989). Biological Reductive Dechlorination of Tetrachloroethylene and Trichloroethylene to Ethylene under Methanogenic Conditions. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 55, No. 9, s. 2144-2151.

- Gälli, R., and McCarty, P.L. (1989). Biotransformation of 1,1,1-trichloroethane, trichloromethane, and tetrachloromethane by a *Clostridium* sp. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 55, No. 4, s. 837-844.
- Genthner, B.R.S., Townsend, G.T., Lantz, S.E., Mueller, J.G. (1997). Persistence of polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote under anaerobic enrichment conditions. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, Vo. 32, s. 99-105.
- van Ginkel, C.G., A. Haan, M.L.G. C. Luijten and C.A. Stroo. (1995). Influence of the size and source of the inoculum on biodegradation curves in closed-bottle tests. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 31, 218-223.
- Grbic-Galic, D. (1989). Microbial degradation of homocyclic and heterocyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions. *Develop. Industr. Microb.*, Vo. 30, s. 237-253.
- Grbic-Galic, D., and Vogel, T.M. (1987). Transformation of toluene and benzene by mixed methanogenic cultures. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 53 No. 2, s. 254-260.
- Hägglom, M.M., and Young, L.Y. (1990). Chlorophenol degradation coupled to sulfate reduction. *Appl. Environ. Microb.*, Vo. 56, No. 11, s. 3255-3260.
- Heitkamp, M.A., and Cerniglia, C.E. (1987). Effects of chemicals structure and exposure on the microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in freshwater and estuarine ecosystems. *Envir. Tox. Chem.*, Vo.6, s. 535-546.
- Higgins, I.J. and R.G. Burns. (1975). The chemistry and microbiology of pollution. *Academic Press, London, UK, Chapter 5*, pp. 141-170.
- Holmstrup, M. and P.H. Krogh. (1996). Effects of an anionic surfactant, linear alkylbenzene sulfonate, on the survival, reproduction and growth of the soil-living collembolan *Folsomia fimetaria*. *Environ. Toxicol. Chem.* 15:1745-1748.
- Holt, M.S., and Bernstein, S.L. (1992). Linear alkylbenzenes in sewage sludges and sludge amended soils. *Water Res.*, Vo.26, No. 5, s. 613-624.
- Howard, P.H. (1989). 1,2,4-trichlorobenzene. I: Syracuse Research Corporation's Chemical Hazard Assessment Division: *Handbook of Environmental Fate and Exposure Data for Organic Chemicals*, s. 518-534, Lewis Publishers, Chelsea, Michigan 48118.
- Hungate, R.E. (1969). A roll tube method for cultivation of strict anaerobes. *Methods in Microbiology* 3B:117-132.
- ISO. (1995). Water quality – Guidance for the preparation and treatment of poorly water-soluble organic compounds for the subsequent evaluation of their biodegradability in an aqueous medium. *International Standard*, ISO 10634.
- Jain, V., Bhattacharya, S.K., and Uberoi, V. (1994). Degradation of 2,4-dichlorophenol in methanogenic systems. *Environ. Techn.*, Vo.15, s. 577-584.
- Jensen, J. (1999) Fate and effects of linear alkylbenzene sulphonates (LAS) in the terrestrial environment. *Sci. Tot. Environ.* In press.
- Kästner, M., and Mahro, B. (1996). Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils affected by the organic matrix of compost. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vo. 44, s. 668-675.
- Kirk, P.W.W., Rogers, H.R., and Lester, J.N. (1989). The fate of chlorobenzenes and permethrins during anaerobic sewage sludge digestion. *Chemosphere*, Vo.18, Nos. 9/10, s. 1771-1784.
- Kohler-Staub, D., F. Simone and T. Leisinger. (1995). Dichloromethane as the sole

- carbon source for *Hyphomicrobium* sp. strain DM2 under denitrification conditions. *Biodegradation* 6:229-235
- Kohring, G.-W., Rogers, J.E., and Wiegel, J. (1989a). Anaerobic biodegradation of 2,4-dichlorophenol in freshwater lake sediments at different temperatures. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.55, No. 2, s. 348-353.
- Kohring, G.-W., Zhang, X., and Wiegel, J. (1989b). Anaerobic dechlorination of 2,4-dichlorophenol in freshwater sediments in the presence of sulfate. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.55, No. 10, s. 2735-2737.
- Kowalczyk, T. (1992). Auswirkungen verschiedener synthetischen Tenside auf die mikrobielle Aktivität von Böden. Dissertation, Technischen Universität Berlin, Germany.
- Krogh, P.H., M. Holmstrup, S.O. Petersen and J. Jensen. (1987). Ecotoxicological assessment of sewage sludge in agricultural soil. Danish Environmental Protection Agency, *Working Report* No. 69, 53 pp.
- Larson, R.J., Rothgeb, T.M., Shimp, R.J., Ward, T.E., and Ventullo, R.M. (1993). Kinetics and practical significance of biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate in the environment. *Journal of American Oil Chemist Society*, Vo.70, No. 7, s. 645-657.
- Leduc, R., R. Samson, B. Al-Bashir, J. Al-Hawari and T. Cseh. (1992). Biotic and abiotic disappearance of four PAH compounds from flooded soil under various redox conditions. *Water Sci. Tech.* 26:51-60.
- Leduc, R., Samson, R., Al-Basir, B., Al-Hawari, J., Cseh, T. (1992). Biotic and abiotic disappearance of four PAH compounds from flooded soil under various redox conditions, *Wat. Sci. Tech.*, Vo. 26, No. 1-2, s. 51-60.
- Lichtenberg, D., R.J. Robson and E.A. Dennis. (1983). Solubilisation of phospholipids by detergents – structural and kinetic aspects. *Biochim. Biophys. Acta* 737:285-384.
- Liu, S.M., and Jones, W.J. (1995). Biotransformation of dichloroaromatic compounds in nonadapted and adapted freshwater sediment slurries. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vo.43, s. 725-732.
- Lovley, D.R. and E.J.P. Phillips. (1986). Availability of ferric iron for microbial reduction in bottom sediments of the freshwater tidal Potomac River. *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 751-757.
- Madsen, T., and Aamand, J. (1991). Effects of sulfuroxy anions on degradation of pentachlorophenol by a methanogenic enrichment culture. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.57, No. 9, s. 2453-2458.
- Madsen, T., and Aamand, J. (1992). Anaerobic transformation and toxicity of trichlorophenols in a stable enrichment culture. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.58, No. 2, s. 557-561.
- Madsen, T., H.B. Rasmussen and L. Nilsson. (1995). Anaerobic biodegradation potentials in digested sludge, a freshwater swamp and a marine sediment. *Chemosphere* 31:4243-4258.
- Madsen, T., Winther-Nielsen, M. and Samsøe-Petersen, L. (1998). Effects of Organic Chemicals in sludge applied to soil. Danish Environmental Protection Agency, *Environmental Project* No. 432, 36 pp.
- Marinucci, A.C. and R. Bartha. (1979). Biodegradation of 1,2,3- and 1,2,4 trichlorobenzene in soil and in liquid enrichment culture. *Appl. Environ. Microbiol.* 38:811-817.

- McAvoy, D.C., Eckhoff, W.S., and Rapaport, R.A. (1993). Fate of linear alkylbenzene sulfonate in the environment. *Envir. Tox. Chem.*, Vo.12, s. 977-987.
- McEvoy, J. and W. Giger. (1985). Accumulation of linear alkylbenzenesulphonate surfactants in sewage sludge. *Naturwiss.* 72:429-431.
- McFarland, M., and Sims, R.C. (1992). Thermodynamic framework for evaluating PAH degradation in the subsurface. *Ground Water*, Vo.29, No.6, s. 885-896. *Microbiol.* 54:1182-1187.
- Mihelsic, J.R., and Luthy, R.G. (1988). Microbioal degradation of acenaphthene and naphthalene under denitrification conditions in soil-water systems. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.54, No. 5, s. 1188-1198.
- Mihelcic J. R. and R. G. Luthy. (1988b). Degradation of polyaromatic hydrocarbon compounds under various redox conditions in soil-water systems, *Appl. Environ. Microb.*
- Mikesell, M.D., and Boyd, S.A. (1986). Complete reductive dechlorination and mineralization of pentachlorophenol by anaerobic microorganisms. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.52, No. 4, s. 861-865.
- Miljøstyrelsen (1991). Overfladeaktive stoffer- spredning og effekter i miljøet. *Miljøprojekt nr. 166.*
- Miljøstyrelsen (1993). Acceptkriterier for termisk rensed og ekstraktionsrensed jord. *Arbejdsrapport nr.9.*
- Miljøstyrelsen (1995). Forekomst og effekter af miljøfremmede organiske stoffer i spildevandsslam. *Arbejdsrapport nr 15*, 1995 fra Miljøstyrelsen.
- Miljøstyrelsen (1996a). Anvendelse af affaldsprodukter til jordbrugsformål. *Arbejdsrapport nr. 47.*
- Miljøstyrelsen (1996b). Methods for Screening Anaerobic Biogradability and Toxicity of Organic Chemicals. *Miljøprojekt nr. 336.*
- Miljøstyrelsen (1996c). Anvendelse af affaldsprodukter til jordbrugsformål. *Miljøprojekt nr. 328*, 165 p.
- Miljøstyrelsen (1996b). Anvendelse af affaldsprodukter til jordbrugsformål. *Miljøprojekt nr. 328.*
- Miljøstyrelsen (1996c). Review of environmental fate and effects of di(2-ethylhexyl)phthalate. *Arbejdsrapport nr. 54.*
- Narayanan, B., Suidan, M.T., Gelderlos, A.B., and Brenner, R.C. (1993). Treatment of semivolatle compounds in high strength waste using an anaerobic expanded-bed gac reactor. *Water Res.*, Vo.27, No 1, s. 171-180.
- Neilson, A.H., Allard, A.-S., Hynning, P.-Å., and Bemberger, M. (1988). Tranformations of halogenated aromatic aldehydes by metabolically stable anaerobic enrichment cultures. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.54, No. 9, s. 2226-2236.
- Nielsen, P.H., Albrechtsen, H.-J., Heron, G., and Christensen, T.H. (1995). In situ and laboratory studies on the fate of specific organic compounds in an anaerobic landfill leachate plume, 1. Experimental conditions and fate of phenolic compounds. *J. Contam. Hydrol.*, Vo. 20, s. 27-50.
- Nielsen, P.H., B. Frølund, S. Spring and F. Caccavo, Jr. (1997). Microbial Fe(III) reduction in activated sludge, *System. Appl. Microbiol.* 20:645-651.

- Nielsen, P.H., Bjerg, P.L., Nielsen, P., Smith, P., and Christensen, T.H. (1996). In situ and laboratory determined first-order degradation rate constants of specific organic compounds in an aerobic aquifer. *Environ. Sci. Technol.*, Vo. 30, s. 31-37.
- Nozawa, T., and Maruyama, Y. (1988). Anaerobic metabolism of phthalate and other aromatic compounds by a denitrifying bacterium. *J. of Bacter.*, Vo.170, No. 12, s. 5778-5784.
- O'Connor, O.A., Rivera, M.D., and Young, L.Y. (1989). Toxicity and biodegradation of phthalic acid esters under methanogenic conditions. *Envir. Tox. Chem.*, Vo.8, s.569-576.
- Parker, W.J., Monteith, H.D., and Melcer, H. (1994). Estimation of anaerobic biodegradation rates for toxic organic compounds in municipal sludge digestion. *Water Res.*, Vo. 28, No. 8, s. 1779-1789.
- Peters, V. and R. Conrad. (1996). Sequential reduction processes and initiation of CH₄ production upon flooding of oxic upland soils. *Soil Biol. Biochem.* 28:371-382.
- Petersen, S.O., K. Deboz, L. Elsgaard and P.H. Krogh. (1999). Effects of organic wastes on microbiological aspects of soil quality. In J. Petersen, ed., *Use of Municipal Organic Waste*. Danish Institute of Agricultural Sciences, Report no. Xx, pp. Xx.
- Ramanand, K., Balba, M.T., and Duffy, J. (1993). Reductive dehalogenation of chlorinated benzenes and toluenes under methanogenic conditions. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.59, No. 10, s. 3266-3272.
- Roelof van der Meer, J., Roelofsen, W., Schraa, G., and Zehnder, A.J.B. (1987). Degradation of low concentrations of dichlorobenzenes and 1,2,4-trichlorobenzene by *Pseudomonas* sp. strain P51 in nonsterile soil columns. *FEMS Microbiology Ecology*, Vo.45, s. 333-341.
- Ryding, J.M., Puhakka, J.A., Strand, S.E., and Ferguson, J.F. (1994). Degradation of chlorinated phenols by a toluene enriched microbial culture. *Water Res.*, Vo.28, No. 9, s. 1897-1906.
- Salanitro, J. P., and Diaz, L.A. (1995). Anaerobic biodegradability testing on surfactants. *Chemosphere*, Vo. 30, No.5, s. 813-830.
- SAS Institute. (1988). *SAS/STAT User's Guide*. Cary, NC, USA.
- Schmitzer, J.L., Scheunert, I., and Korte, F. (1988). Fate of Bis(2-ethylhexyl) [14C]Phthalate in laboratory and outdoor soil-plant systems. *J. Agric. Food Chem.*, Vo.36, No.1, s. 210-215.
- Schwunger, M.J. and F.G. Bartnik. (1980). Interaction of anionic surfactants with proteins, enzymes and membranes. In C. Gloxhuber, ed., *Anionic surfactants – biochemistry, toxicology, dermatology*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 1-49.
- Sembiring, T., and Winter, J. (1989). Anaerobic degradation of phenylacetic acid by mixed and pure cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vo. 31, s. 84-88.
- Sembiring, T., and Winter, J. (1989). Anaerobic degradation of o-phenylphenol by mixed and pure cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vo. 31, s. 89-92.
- Shelton, D.R., Boyd, S.A., and Tiedje, J.M. (1984). Anaerobic biodegradation of phthalic acid ester in sludge. *Environ. Sci. Technol.*, Vo.18, s. 93-97.
- Smolenski, W.J., and Suflita, J.M. (1987). Biodegradation of cresol isomers in anoxic aquifers. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.53, No. 4, s. 710-716.

- Soto, M., Méndez, R., and Lema, J.M., (1993). Methanogenic and non-methanogenic activity tests, theoretical basis and experimental set up. *Water Res.*, Vo.27, No. 8, s. 1361-1376.
- Stookey, L.L. (1970). Ferrozine - a new spectrophotometric reagent for iron. *Anal. Chem.* 42:779-781.
- Swisher, R.D. (1987). Surfactant degradation. *Marcel Dekker Inc.*, New York.
- Sørensen, J. (1982). Reduction of ferric iron in anaerobic, marine sediment and interaction with reduction of nitrate and sulfate. *Appl. Environ. Microbiol.* 43:319-324.
- Tanaka, S., and Ichikawa, T. (1993). Effects of photolytic pretreatment on biodegradation and detoxification of surfactants in anaerobic digestion. *Wat. Sci. Tech.*, Vo.28, No.7, s. 103-110.
- Thauer, R.K., K. Jungermann and K. Decker. (1977). Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41:100-180.
- Trocme, M., Tarradellas, J., and Védy, J.-C. (1988). Biototoxicity and persistence of nonylphenol during incubation in a compost-sandstone mixture. *Biol. Fertil. Soils*, Vo.5, s. 299-303.
- Trzesicka-Mlynarz, D., and Ward, O.P. (1995). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by a mixed culture and its component pure cultures, obtained from PAH-contaminated soil. *Can. J. Microbiol.*, Vo. 41, s. 470-476.
- Weissenfels, W.D., Beyer, M., and Klein, J. (1990). Degradation of phenanthrene, fluorene and flouranthene by pure bacterial cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, Vo.32, s. 479-484.
- Welp, G. (1987). Einfluss des Stoffbestandes von Böden auf die mikrobielle Toxizität. Dissertation, Christian-Albrechts-Universität Kiel, Germany.
- Widdel, F. and F. Bak. (1992). Gram-negative mesophilic sulfate-reducing bacteria. In A. Balows, H.G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder and K.H. Schleifer, ed., *The Prokaryotes*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York, pp. 3352-3378.
- Wilke, B.M. (1997). Effects of non-pesticide organic pollutants on soil microbial activity. *Adv. GeoEcol.* 30:117-132.
- Young, L.Y., and Rivera, M.D. (1985). Methanogenic degradation of four phenolic compounds. *Water Res.* Vo.19, No.10, s. 1325-1332.
- Zeyer, J., Kuhn, E.P., and Schwarzenbach, R.P. (1986). Rapid Microbial Mineralization of Toluene and 1,3-Dimethylbenzene in the Absence of Molecular Oxygen. *Appl. Environ. Microb.*, Vo.52, No. 4, s. 944-947.
- Zhang, G., and Reardon, K.F. (1990). Parametric study of diethyl phthalate biodegradation. *Biotech Letters*, Vo.12, No. 9, s. 639-704.
- Ziougou, K., Kirk, P.W.W., and Lester, J.N. (1989). Behaviour of phthalic acid esters during batch anaerobic digestion of sludge. *Water Res.*, Vo.23, No.6, s. 743-748.