



UPPSALA
UNIVERSITET

Projektrapport från utbildningen i

EKOTOXIKOLOGI

Ekotoxikologiska avdelningen

Nr 130

**Nedbrytning och rörlighet av bensen,
toluen, etylbensen och xylener i mark
– en jämförelse mellan simulerade spill
av bensin och E85**

Sofia Blanck

Innehåll

FÖRORD	4
SAMMANFATTNING	5
SUMMARY	6
1 INTRODUKTION	8
1.1 SYRESATT BENSIN	9
1.1.1 <i>Etanol</i>	10
1.1.1.1 Toxikologiska data	10
1.1.2 <i>E85 – etanolblandad bensin</i>	11
1.2 BENSEN, TOLUEN, ETYLBENSEN OCH XYLENER (BTEX)	11
1.2.1 <i>Löslighet i vatten</i>	12
1.2.2 <i>Fördelningskoefficient oktanol/vatten, bioackumulering, rörlighet och biologisk nedbrytbarhet</i>	12
1.2.3 <i>Toxikologiska data och riktvärden</i>	13
1.3 ETANOLBLANDAD BENSIN OCH VATTEN	14
1.4 ETANOLS EFFEKT PÅ MASSTRANSPORT AV BTEX FRÅN BENSIN TILL GRUNDVATTEN	15
1.4.1 <i>Masstransport och fasfördelning</i>	15
1.4.2 <i>Kooperativ lösningseffekt</i>	16
1.4.3 <i>Begränsning av masstransport</i>	17
1.5 ETANOL OCH BTEX LÖST I VATTENFASEN	17
1.5.1 <i>Sorption av BTEX i närvaro av etanol</i>	17
1.5.2 <i>Etanols effekt på den biologiska nedbrytningen av BTEX</i>	17
1.6 UPPDRAG OCH FRÅGESTÄLLNING	20
1.7 SYFTE	20
2 MATERIAL OCH METODER	21
2.1 PROVTAGNING OCH GRUNDLÄGGANDE JORDDATA	21
2.1.1 <i>Vattenhalt, glödförlust och vattenhållande kapacitet</i>	21
2.1.2 <i>Bestämning av pH-värde</i>	22
2.1.3 <i>Basrespiration och substratinducerad respiration</i>	22
2.2 LÖSLIGHET AV BTEX I VATTEN	23
2.2.1 <i>Försöksuppställning</i>	23
2.2.2 <i>Provtagning</i>	23
2.3 UTLAKNINGSFÖRSÖK	23
2.3.1 <i>Försöksuppställning</i>	24
2.3.2 <i>Provtagning</i>	25
2.4 NEDBRYTNING OCH PÅVERKAN PÅ RESPIRATION	26
2.4.1 <i>Försöksuppställning</i>	26
2.4.2 <i>Respirationsmätning</i>	26
2.4.3 <i>Nedbrytning av BTEX</i>	27
2.5 ANALYS AV BTEX	27
2.5.1 <i>Analys utförda vid Institutionen för mikrobiologi, SLU</i>	27
2.5.1.1 <i>Löslighet av BTEX i vatten</i>	27
2.5.1.2 <i>Utlakningsförsök</i>	27
2.5.2 <i>Analys utförda av ALcontrol AB</i>	28
2.6 STATISTIK OCH BERÄKNINGAR	28
2.6.1 <i>Respirationsmätning</i>	28
2.6.2 <i>Nedbrytning av BTEX</i>	28
3 RESULTAT	29
3.1 GRUNDLÄGGANDE JORDDATA	29
3.2 FÖRLUST AV DATA	29
3.3 UTLAKNINGSFÖRSÖK	29
3.3.1 <i>Markvatten</i>	29
3.3.2 <i>Lakvatten</i>	30
3.3.3 <i>Jordprover</i>	31
3.4 NEDBRYTNING OCH PÅVERKAN PÅ RESPIRATION	33

3.4.1	Respirationsmätning.....	33
3.4.2	Nedbrytning av BTEX.....	35
4	DISKUSSION	38
4.1	UTLAKNINGSFÖRSÖK	38
4.2	NEDBRYTNING OCH PÅVERKAN PÅ RESPIRATION	39
4.3	SAMMANFATTANDE KOMMENTARER	41
	REFERENSER.....	42

Förord

Denna rapport utgör den skriftliga delen av ett examensarbete på 20 poäng, vilket leder till en magisterexamen i biologi med inriktning mot ekotoxikologi vid Uppsala universitet. Arbetet utfördes på uppdrag av Golder Associates AB. Den praktiska delen av examensarbetet är utförd vid Institutionen för mikrobiologi vid Sveriges Lantbruksuniversitet.

Först vill jag tacka min handledare Nils Rahm, Golder Associates AB för handledning och för att jag fick möjlighet att göra detta examensarbete. Vidare vill jag tacka Preem Petroleum AB för material till försöken samt ekonomiskt bidrag till analyser av prover. Jag vill även rikta ett stort tack till min handledare Harald Cederlund och hans hjälpsamma kollegor på Institutionen för mikrobiologi vid Sveriges Lantbruksuniversitet samt Jan Örberg, avdelningen för ekotoxikologi vid Uppsala universitet för all hjälp med metodutvecklingen och utförandet av försöken, all uppmuntran under arbetets gång samt korrekturläsning av rapporten.

Till sist vill jag tacka Lave Persson och Nicholas Jarvis, Institutionen för markvetenskap vid Sveriges Lantbruksuniversitet samt Jean Petterson, Institutionen för analytisk kemi vid Uppsala universitet för hjälp med metodutveckling och praktiskt hjälp vid kolonnbygget.

Sammanfattning

Examensarbetet gjordes på uppdrag av konsultföretaget Golder Associates AB för att ta fram underlag till bättre riskbedömning av läckage av etanolbränslet E85 från underjordiska förvaringstankar. Syftet var att studera nedbrytning och rörlighet av bensen, toluen, etylbensen och xylener (BTEX) i jord under markytan genom simulerade spill av 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol eller etanolbränslet E85. BTEX används som tillsatskomponenter i bensin. E85 är avsedd för bränsleflexibla etanolbilar och består av en blandning av cirka 85 % bioetanol och cirka 15 % 95-oktanig bensin.

Inom ramen för examensarbetet utfördes tre olika försök i vilka E85 med 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol användes. Det första försöket var en studie av löslighet av BTEX i vatten. E85 och bensin blandades i olika förhållanden med två olika typer av vatten. Det andra försöket var ett utlakningsförsök som simulerade ett enstaka utsläpp i mineraljord av E85 respektive bensin. Försöket syftade till att jämföra rörlighet och utlakning av BTEX vid tillsats av vatten till en kolonn fylld med jord som tillförts E85 respektive bensin. Det tredje försöket var en kombinerad nedbrytnings- och respirationsstudie i jord förorenad med olika mängder av E85 respektive bensin. På grund av förlust av data från den kemiska analysen kunde inget resultat redovisas från studien av lösligheten av BTEX i vatten. Detta gjorde även att endast ett begränsat antal analysresultat för vattenproverna från utlakningsförsöket kunde redovisas.

Från erhållna analysresultat förefaller det som om halterna av toluen, etylbensen och xylener (TEX) i lakvattnet från E85-kolonnen till en början i stort sett var lika höga som halterna i lakvattnet från bensinkolonnen, trots att E85-kolonnen innehöll betydligt mindre TEX än bensinkolonnen. Det förefaller även som om den utlakade mängden BTEX från E85-kolonnen minskade med tiden. Utlakningen av BTEX från bensinkolonnen fluktuerade och följde inte samma mönster. Förmodade förluster i provtagningsystemet som användes för att pumpa ut markvatten från kolonnerna gör att resultaten från dessa prov är osäkra.

Vid försökets slut återfanns TEX längre ned och i högre koncentrationer i jorden i bensinkolonnen jämfört med E85-kolonnen. Bensenhalten var mycket låg i båda kolonnerna.

Resultaten från respirationsstudien tyder på att respirationshastigheten stimulerades av tillsats av E85. Respirationshastigheten ökade med ökad tillsats av E85 men något tydligt samband mellan tillsatt volym bensin och respirationshastighet kunde inte påvisas. Generellt var respirationshastigheten lägre vid tillsats av 95-oktanig bensin jämfört med tillsats av E85. Det skedde en snabb nedbrytning av BTEX både vid tillsats av bensin och E85 ($t_{1/2} < 1,5$ dagar i samtliga fall). Resultaten tyder på att nedbrytningen generellt gick något fortare vid tillsats av E85 jämfört med tillsats av bensin. Dessutom påverkades nedbrytningstakten av mängden tillsatt bränsle. Vid volymer över 1,5 ml, oberoende av bränsletyp, minskade nedbrytningstakten.

På grund av det begränsade datamaterialet är det svårt att dra några säkra övergripande slutsatser utifrån de utförda försöken. Det förefaller dock som om närvaron av etanol ökar såväl lakningen av TEX som jordens respirationshastighet. Ytterligare forskning kring etanols effekter på mobilitet och nedbrytning av komponenter i bensin i jord under markytan behövs för att möjliggöra bättre riskbedömningar av läckage av E85. Framförallt behövs fler studier på bränslen med högt etanolinnehåll.

Summary

This degree project has been performed at the request of the consultant company Golder Associates AB. The project was meant to result in data that could be used for better risk assessments of leakage of the ethanol fuel E85 from underground storage tanks. The aim of this project was to study degradation and migration of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes (BTEX) in subsurface soil through simulation of spills of gasoline with an octane rating of 95 % without addition of ethanol or of the ethanol fuel E85. BTEX are common additives in gasoline. E85 is used in flexi fuel cars and consists of ca 85 % bioethanol and ca 15 % of gasoline

The degree project consisted of three different studies in which E85 and gasoline without addition of ethanol were used. The first study focused on the solubility of BTEX in water. E85 was mixed in different ratios with two different types of water. The second study was a leaching study with the intention to simulate single-event spills of E85 or gasoline in mineral soil. The aim was to compare the leaching pattern of BTEX when water was added to soil columns previously spiked with E85 or gasoline. In the third study the degradation of BTEX and the respiration in soils spiked with different volumes of E85 or gasoline were measured.

Due to loss of data, no results from the solubility study could be presented. This also meant that only a limited number of results from the chemical analyses of the water samples from the leaching experiment could be presented.

According to the obtained results it seems like the concentrations of toluene, ethylbenzene and xylenes (TEX) in the leach water from the column spiked with E85 in the beginning was almost as high as the concentrations of TEX in the leach water from the column spiked with gasoline, although the column with E85 contained considerably less TEX than the column with gasoline. The amount of BTEX that leached from the column with E85 decreased with time. The amount of BTEX that leached from the column with gasoline fluctuated over time and did not follow the same pattern. Due to presumed losses in the sampling system that was used to pump soil water from the columns, the results from these samples are uncertain.

At the end of the leaching experiment TEX were found further down and in larger concentrations in the soil in the column spiked with gasoline than in the column spiked with E85. The concentration of benzene was very low in both of the columns.

The results indicate that the soil respiration rate was stimulated by addition of E85. The respiration rate increased with increased volume of E85, but when different amounts of gasoline were added no obvious effect on respiration rate could be observed. In general the respiration rate was lower when gasoline was added to the soil compared to when E85 was added. The degradation of BTEX was fast both with addition of gasoline and E85 ($t_{1/2} < 1.5$ days in every case). The results indicate that the degradation in general was faster after addition of E85 than after addition of gasoline. The degradation rate was also affected by the amount of fuel added to the soil. Volumes > 1.5 ml of E85 or gasoline caused a reduced degradation rate.

Due to the limited amount of data it is difficult to make any reliable overall conclusions from the studies. It appears that the presence of ethanol increases the leachage of TEX and the soil respiration rate. Further research is needed on the effects of ethanol on mobility and degradation of fuel components in subsurface soil to provide a better basis for risk

assessments of leachage of E85. Above all more studies on fuels with high ethanol content is needed.

1 Introduktion

Vid försäljningsställen av drivmedel sker lagring av drivmedel för fordon till största delen i förvaringstankar under jord. Det händer relativt ofta att drivmedlen av olika skäl läcker ut i den omgivande marken vilket kan orsaka olika typer av miljö- och hälsoskador.

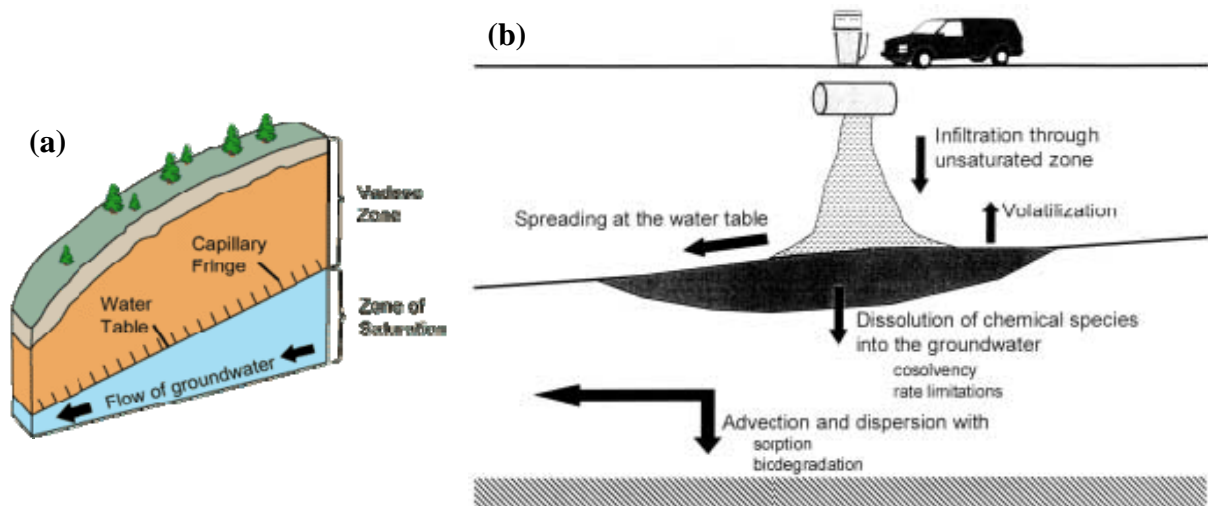
Förorening av grundvatten på grund av utsläpp av petroleumprodukter är ett problem över hela världen. Det finns en oro för folkhälsan i samband med förekomst av bensin i jorden under markytan (Powers *et al.* 2001a). Ett stort bekymmer är förekomsten av toxiska och vattenlösliga bensinkomponenter såsom bensen, toluen, etylbensen och tre de isomererna *m*-, *o*-, *p*-xylen (BTEX) i grundvatten, speciellt i områden där dricksvattnet hämtas från akviferer (Corseuil *et al.* 1998).

Bensin är en mycket komplex blandning av olika kolväteföreningar med olika molekylvikter och kemiska strukturer (Duncan 2002). Bensin består av alkaner (C5-C10) med låg molekylvikt och aromater, varav en mycket liten andel är polyaromatiska kolväten (Adam *et al.* 2002).

Bensin kan förorena mark genom spill eller läckage från till exempel pumpstationer, underjordiska förvaringstankar och underjordiska rörledningar. På grund av bensins hydrofoba karaktär förväntas inte bränslet röra sig långt i en markprofil (Adam *et al.* 2002). Dock beror detta mycket på jordens egenskaper och på om det är ett spill vid markytan eller ett läckage från en underjordisk tank. Skillnader i egenskaper hos ytjord och jord under markytan gör att bensin inte beter sig på samma sätt i dessa olika jordtyper. I ytjorden finns oftast stor mängd organiskt material medan det i jorden under markytan endast finns en liten mängd. Bensinkolväten från en källa ovan jord förväntas inte röra sig långt i markprofilen på grund av att de adsorberas till organiskt material (Adam *et al.* 2002). Bensinkolväten som istället kommer från en källa under markytan förväntas röra sig betydligt längre i markprofilen. Adam *et al.* (2002) visade att mängden organiskt material i jorden hade stor inverkan på jordens förmåga att hålla kvar kolväten och minska deras rörelse i jorden.

Ett antal processer påverkar koncentrationen och spridningen av bensinkomponenter i akviferer (figur 1). Bensin från exempelvis en läckande tank under markytan eller från ett spill vid markytan infiltrerar genom den s.k. omättade zonen främst på grund av påverkan från gravitationskrafter. En del av bensinen hålls kvar i markporerna i den omättade zonen på grund av gränsyttskrafter, vilket skapar områden som är mättade av bensin. Generellt tar denna kvarvarande bensin upp ca 1-7 % av porutrymmet i den omättade zonen. (Powers & McDowell 2001)

Bensin som rör sig ned till den s.k. kapillära zonen och grundvattenytan sprids horisontellt genom att den flyter på vattenytan (Powers & McDowell 2001, Powers *et al.* 2001a). En del av bensinen kommer att fortsätta röra sig såväl vertikalt som horisontellt in i luftfyllda tomrum inom den kapillära zonen (Powers & McDowell 2001). Ett spill resulterar oftast i att den större delen av bensinvolymen ackumuleras inom ett begränsat område inom den kapillära zonen (Powers & McDowell 2001). Från detta område kan svagt vattenlösliga komponenter i bensinen lösas i det omgivande grundvattnet. Dessa ämnen kan sedan transporteras med grundvattnet och på så sätt till exempel nå en grundvattenbrunn (Powers *et al.* 2001a). Olika processer under markytan kan påverka storleken och formen på det begränsade området av ackumulerad bensin samt flödet av ämnen från bensinen till grundvattnet (Powers *et al.* 2001b).



Figur 1. (a) Schematiskt bild av ett tvärsnitt av mark. Vadose zone = omättad zon, zone of saturation = mättad zon, water table = grundvattenyta, capillary fringe = kapillär zon. Den kapillära zonen är den del av jorden ovanför grundvattenytan där markens porer drar upp vatten genom kapillärkraft. Den är en del av den omättade zonen och kan sägas vara en övergångszon mellan mättad och omättad zon. (U.S. Geological Survey, hemsida.) (b) Schematisk bild som beskriver spridningen av bensin under markytan efter ett spill från en underjordisk förvaringstank. (Powers *et al.* 2001a)

Längden av ett ämnes s.k. föroreningsplym i grundvatten påverkas av bland annat hydrogeologiska förhållanden, kemiska interaktioner, föroreningskällans storlek och koncentration, biologisk nedbrytning samt inneboende egenskaper hos ämnet i fråga (Shih *et al.* 2004).

Bensinkomponenter har generellt låg vattenlöslighet och hög sorptionsbenägenhet till fasta material i akviferen. De bromsas därför i allmänhet upp i jämförelse med grundvattenflödet eller bryts till stor del ner biologiskt under markytan innan de når grundvattenbrunnar. (Arey & Gschwend 2005).

1.1 Syresatt bensin

Oxygenater tillsätts bensin för att öka bränslets oktantal och för att förbättra förbränningens effektivitet. Dessutom kan tillsats av oxygenater minska utsläppen av kolmonoxid och andra föroreningar från bilar. Metyltertbutyleter (MTBE) och etanol är exempel på två kemiska oxygenater som är vanliga tillsatser. (Heermann & Powers 1998)

Tidigare var tillsats av MTBE vanligare än tillsats av etanol. På senare år har det skett en förändring och nu tillsätts etanol i större utsträckning än MTBE (Heermann & Powers 1998). Detta har skett på grund av potentiella negativa effekter på miljön och vattenkvaliteten, möjliga negativa hälsoeffekter som associeras med MTBE samt på grund av marknadskrafter (Heermann & Powers 1998, Williams *et al.* 2003). MTBE är persistent i system under markytan och påverkar grundvattnets smak och lukt (Adam *et al.* 2002). Det är en av de mest frekvent detekterade flyktiga organiska ämnen i obehandlat grundvatten och dricksvattentillgångar i USA (Williams *et al.* 2003).

Merparten av den 95-oktaniga bensin som sedan 2001 distribueras i östra Sverige innehåller upp till 5 % etanol. Under 2003 utökades omfattningen av etanol i bensin och omfattar nu i

stort sett hela landet. Etanolinblandning upp till 5 % är helt enligt gällande bensinstandard. (Svenska Petroleum Institutets hemsida a)

1.1.1 Etanol

Etanol är lösligt i vatten. Fördelningskoefficienten mellan oktanol och vatten ($\text{Log } K_{OW}$) för etanol är -0,31 och den beräknade biokoncentrationsfaktorn (BCF, kvoten mellan koncentrationen av ett ämne i en organism och koncentrationen i omgivande medium) är 3, vilket inte tyder på potential för bioackumulering (Hazardous Substances Data Banks hemsida).

Etanol förväntas ha en mycket hög rörlighet i jord (K_{OC} uppskattat till 1) och adsorberar troligen inte till suspenderade partiklar eller sediment (Hazardous Substances Data Banks hemsida). Oberoende av vilka elektronacceptorer som finns tillgängliga kan etanol förväntas brytas ned relativt snabbt genom biologisk nedbrytning under markytan under vanligt förekommande pH-, närings- och temperaturförhållanden (Powers *et al.* 2001a). Den biologiska nedbrytningen av etanol under olika redoxförhållanden undersöktes i akvifera mikrokosmos (sandig jord med lågt organiskt innehåll och grundvatten) vid 20 till 25 °C av Corseuil *et al.* (1998). I denna studie bröts etanol ned snabbt både vid aeroba och anaeroba förhållanden. Vid en utgångskoncentration av 100 mg/l hade etanol en halveringstid på ca tre dagar under aeroba förhållanden, 1,5 dagar vid denitrifierande förhållanden och ca 5 dagar vid järnreducerande förhållanden (Corseuil *et al.* 1998).

1.1.1.1 Toxikologiska data

Endast ett fåtal studier har utvärderat etanols effekt på mikrobiologiska population under markytan. En studie med mikrokosmer visade att etanolkoncentrationer över 40 g/l var toxiska mot mikroorganismer, vilket yttrade sig genom markant sänkt syrgaskonsumtion. Andra studier har visat att viss mikrobiell aktivitet i jord kan förekomma vid etanolkoncentrationer på 100 g/l, men inte vid 200 g/l. (Powers *et al.* 2001a).

Relativt höga koncentrationer behövs för att orsaka dödliga effekter på biologiska system. Sönderfall av den cellulära permeabilitetsbarriären tros vara grunden till bakteriedöd vid höga koncentrationer av etanol. Etanolkoncentrationer över 100 g/l, som kan uppstå efter ett stort spill av etanol, anses inte vara biologiskt nedbrytbara och tros vara toxiska mot de flesta organismer (Powers *et al.* 2001a, Williams *et al.* 2003). Så pass höga koncentrationer resulterar i direkt inaktivering av de flesta vegetativa organismer, men inte av sporformande organismer som är mindre känsliga (Powers *et al.* 2001a). De flesta bakterier uppvisar en dosrelaterad inhibering av tillväxt vid etanolkoncentrationer mellan 10 till 100 g/l och en mycket liten andel arter kan växa vid etanolkoncentrationer högre än 100 g/l. (Powers *et al.* 2001a).

Bakterien *Pseudomonas putida* är en ofta isolerad nedbrytare av BTEX i miljöer under markytan (Powers *et al.* 2001a). I jorden naturligt förekommande mikroorganismer är mer resistent mot höga etanolkoncentrationer än mot höga koncentrationer av BTEX och andra beståndsdelar i bränslen (Powers *et al.* 2001a). Vid försök på *Pseudomonas putida* har toxicitetsgränsvärdet, det vill säga den koncentration som ger en signifikant påverkan på den studerade variabeln, (effektvariabel: inhibering av tillväxt, exponeringstid: 16 timmar) uppmätts till 6,5 g/l (Hazardous Substances Data Banks hemsida). För *Eisenia fetida* (daggmask) har LC_{50} (48 timmar) uppmätts till 100-1000 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (mängd per ytenhet på ett filterpapper) (ECOTOX, databas).

Etanol har en toxisk effekt mot akvatiska organismer först vid mycket höga koncentrationer. LC₅₀ för fisk (96 timmar) har uppmätts till 13 g/l (*Salmo gairdnerii*) respektive 15,3 g/l (*Pimephales promelas*). LC₅₀ för *Daphnia magna* (48 timmar) har i olika studier uppmätts till 9,3-14,2 g/l. EC₅₀ (tillväxtinhibering) för alg (*Chlorella pyrenoidosa*, 48 timmar) har uppmätts till 9,3 g/l. Toxicitetsgränsvärde för alg (effektvariabel: inhibering av tillväxt, exponeringstid: ej angiven) har uppmätts till 1,5 g/l (*Microcystis aeruginosa*) respektive 5 g/l (*Scenedesmus quadricauda*). (Hazardous Substances Data Banks hemsida).

1.1.2 E85 – etanolblandad bensin

E85 är namnet på en produkt som sommartid består av en blandning av cirka 85 % etanol och cirka 15 % 95-oktanig bensin (Svenska Petroleum Institutets hemsida b). E85 är avsedd för bränsleflexibla etanolbilar, så kallade Flexifuelbilar, som kan köras både på E85 och på vanlig blyfri bensin.

På grund av att E85 innehåller stor andel etanol kan startproblem uppstå vid låga utomhustemperaturer och avgasutsläppen bli då höga när motorn startar. Vintertid innehåller därför E85 mer bensin för att förbättra kallstartsegenskaperna och för att minska emissionerna från fordonet. Kraven på vinterkvalitén av E85 enligt svensk standard för E85, SS 15 54 8, innebär jämfört med sommarkvalitén en högre andel bensin samt en högre flyktighet. (Svenska Petroleum Institutets hemsida b)

Användningen av E85 ökar. Därför är det troligt att frekvensen av spill och läckage från underjordiska tankar av bränsleblandningar med högt etanolinnehåll kommer att öka (Lee 2008). Det kan leda till ökande miljöproblem (Lee 2007).

Det finns relativt få publicerade studier gällande förorening av mark med etanolblandade bränslen. Det saknas speciellt studier om bränslen med högt etanolinnehåll. Mekanismerna vid förorening under markytan av bränsleblandningar med högt etanolinnehåll skiljer sig märkbart från mekanismerna vid förorening av vanlig bensin (Lee 2007). Det beror bland annat på att etanol tillhör en grupp ämnen som är så kallade kooperativa lösningsmedel (se 1.4.2) (Lee 2007). Alltför lite är känt om E85:s påverkan på grundvattnet och system under markytan för att kunna dra några definitiva slutsatser angående effekter vid förorening av mark med E85. Baserat på dess löslighet och biologiska nedbrytbarhet spekulerar Niven (2005) om att E85 kan förväntas skapa en signifikant men lokal föroreningsplym som påverkar den biologiska syreförbrukningen (BOD) och surhetsgraden, men som troligen ger färre indirekta problem än bensin med 10 % etanolblandning (E10).

1.2 Bensen, Toluén, Etylbensen och Xylener (BTEX)

BTEX används som tillsatskomponenter i bensin. De är flyktiga enkla aromatiska kolväten. BTEX är hydrofoba, men de räknas till de mest vattenlösliga aromaterna.

Bensin innehåller väsentligt högre koncentrationer av BTEX än vad E85 gör eftersom E85 endast innehåller cirka 15 % bensin. 95-oktanig bensin innehåller cirka 1 volymprocent bensen (Preems hemsida a) och sommarkvalitén av E85 innehåller < 0,2 och vinterkvalitén < 0,3 volymprocent bensen (Preems hemsida b).

Mikrobiella populationer som är involverade i nedbrytning av BTEX är komplexa och heterogena. BTEX bryts ned av aeroba mikroorganismer. Studier har också visat att BTEX

bryts ned av många olika typer av anaeroba mikroorganismer såsom nitratreducerande, sulfatreducerande, järnreducerande och metanogena mikroorganismer. (Takahata *et al.* 2006)

1.2.1 Löslighet i vatten

Vattenlöslighet är en viktig faktor att känna till vid uppskattning av rörelse och utbredning av en kemikalie i mark. Tabell 1 innehåller en sammanställning av resultat från olika löslighetsstudier av BTEX i vatten. De flesta löslighetsangivelserna som finns tabellerade för BTEX i litteraturen gäller för rumstemperatur eller 25 °C.

Tabell 1. Resultat från olika löslighetsstudier av bensen, toluen, etylbensen och xylener i vatten vid 25 °C.

Ämne	Löslighet i vatten vid 25 °C (mg/l)				
	Heermann & Powers 1998	Reckhorn <i>et al.</i> 2001	Corseuil <i>et al.</i> 2004	Lee 2007	HSDB ¹
Bensen	1780	1780,0	1757	2480	1790
Toluen	515	534,8	567	775	526
Etylbensen	152	161,2	*	270	169
Xylener (isomerer ej angiven)	~180	*	*	*	I princip olösliga i vatten
<i>m</i> -xylen	*	*	*	268	*
<i>o</i> -xylen	*	170,5	202	320	*
<i>p</i> -xylen	*	156,0	*	248	*

¹ Hazardous Substances Data Banks hemsida.

* Ej analyserat

1.2.2 Fördelningskoefficient oktanol/vatten, bioackumulering, rörlighet och biologisk nedbrytbarhet

Bensen har låg potential för bioackumulering och förväntas ha en hög rörlighet i jord (tabell 2) (Hazardous Substances Data Banks hemsida). Vid förhållanden som simulerade aerobt grundvatten vid 20 °C uppmättes fullständig biologisk nedbrytning av bensen efter 16 dagar (Hazardous Substances Data Banks hemsida). Halveringstider för bensen vid aerob biologisk nedbrytning i prover från grundvatten och flodvatten har rapporterats vara 28 respektive 16 dagar i mikrokosmstudier av nedbrytning med en exponeringsnivå på upp till 3,2 µl bensen/l (Hazardous Substances Data Banks hemsida). Studier har visat att bensen bryts ned mycket långsamt under anaeroba förhållanden (Corseuil *et al.* 1998, Hazardous Substances Data Banks hemsida).

Tabell 2. Fördelningskoefficient oktanol/vatten (log K_{ow}), biokoncentrationsfaktor (BCF, kvoten mellan koncentrationen av ett ämne i en organism och koncentrationen i omgivande medium) och K_{oc} (mått på ett ämnes fördelning mellan vatten och jord (adsorption) baserat på jordens innehåll av organiskt kol) för bensen, toluen, etylbensen och xylener. (Hazardous Substances Data Banks hemsida)

Ämne	log K_{ow}	BCF	K_{oc}
Bensen	2,13	1,1-20 (studerad art ej angiven) 13 (<i>Anguilla spp.</i>)	79-85
Toluen	2,73	90 (<i>Leuciscus idus</i>)	37-178
Etylbensen	3,15	15 (studerad art ej angiven)	520 (uppskattat värde)
Xylener (isomerer ej angiven)	3,12-3,20	20 (<i>Anguilla spp.</i>)	39-365

Toluen har låg till medelhög potential för bioackumulering och förväntas ha en medelhög till hög rörlighet i jord beroende på jordart (tabell 2). Toluen är lättnedbrytbart enligt en rad olika

standardtester av biologisk nedbrytning där avloppsvatten eller avloppsslam används som inokulat. Nedbrytning har observerats i ett antal ”die-away tester” där havsvatten eller flodvatten använts. Halveringstiden för toluen i aerobt och anaerobt vatten har rapporterats vara 4 respektive 56 dagar. Halveringstiden för biologisk nedbrytning i ett antal olika typer av jord har rapporterats vara från flera timmar till 71 dagar. (Hazardous Substances Data Banks hemsida)

Etylbensen har låg potential för bioackumulering och förväntas ha en låg rörlighet i jord och adsorbera till suspenderade partiklar och sediment i vatten (tabell 2). Vid en studie av biologisk nedbrytning i en bensinförorenad akvifer uppmättes tiden för fullständig nedbrytning av etylbensen under aeroba förhållanden till mellan 10 och 16 dagar. Vid förhållanden med initialt låg syretillgång var nedbrytningshastigheten hög under 21 dagar, innan det tillgängliga syret tog slut. (Hazardous Substances Data Banks hemsida)

Xylener har en låg potential för bioackumulering och förväntas ha en medelhög till hög rörlighet i jord, beroende på pH och organiskt innehåll i jorden (tabell 2). I vatten förväntas xylener adsorbera i ringa grad till sediment och partikulärt material. Xylener bryts ned av mikroorganismer i olika förekommande inokulat, exempelvis avloppsvatten, aktiverat slam och havsvatten. Olika studier har funnit att xylener generellt bryts ned biologiskt i jord och i grundvattenprover under aeroba förhållanden samt att de kan brytas ned under anaeroba denitrifierande förhållanden. (Hazardous Substances Data Banks hemsida)

1.2.3 Toxikologiska data och riktvärden

Bensen är en human carcinogen (Hazardous Substances Data Banks hemsida). Enligt Kemikalieinspektionens föreskrifter - KIFS 2005:5 (Kemikalieinspektionens hemsida) klassificeras bensen som carcinogen (kategori 1) och mutagen (kategori 2) och toluen som reproduktionstoxiskt (kategori 3). Tabell 3 innehåller en sammanställning av bensens, toluens, etylbensens och xyleners toxicitet mot några akvatiska och landlevande organismer. Det finns ingen tillgänglig information angående kronisk toxicitet mot akvatiska organismer.

Riktvärden för BTEX i grundvatten och mark vid förorenade bensinstationer har föreslagits av Naturvårdsverket i samarbete med Svenska Petroleum Institutet (Naturvårdsverket/Svenska Petroleum Institutet 1998). Riktvärden för förorenade områden markerar en nivå som bör underskridas för att undvika risk för negativa hälso- och miljöeffekter. Riktvärdet i grundvatten är för bensen 0,01 mg/l, toluen 0,06 mg/l, etylbensen 0,02 mg/l och för xylener 0,2 mg/l (Naturvårdsverket/Svenska Petroleum Institutet 1998). Riktvärdet för mindre känslig markanvändning utan grundvattenskydd, normaltäta jordarter på 0,7-2 meters djup är för bensen 0,4 mg/kg torrs substans och för summan av toluen, etylbensen och xylener 60 mg/kg torrs substans (Naturvårdsverket/Svenska Petroleum Institutet 1998).

Tabell 3. Sammanställning av bensens, toluens, etylbensens och xyleners toxicitet mot några akvatiska och landlevande organismer.

Ämne	<i>Daphnia magna</i>	Alg	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Eisenia fetida</i>
		<i>Selanastrum capricornutum</i>	EC ₅₀ 72h (tillväxt) = 29 mg/l ^b	
Bensen	EC ₅₀ 48h (mobilitet) = 10 mg/l ^b	<i>Pseudo-kirchneriella subcapitata</i>	EC ₅₀ 72h (tillväxt) = 29 mg/l ^b	IC ₅₀ 16h (tillväxt) = 92 mg/l ^c LC ₅₀ 48h = 98 µg/cm ² ^b
Toluen	LC ₅₀ 24h = 313 mg/l ^a	<i>Pseudo-kirchneriella subcapitata</i>	EC ₅₀ 72h (tillväxt) = 12,5 mg/l ^b	NOEC 16h (tillväxt) = 29 mg/l ^d LC ₅₀ 48h = 75 µg/cm ² ^b
		<i>Pseudo-kirchneriella subcapitata</i>	EC ₅₀ 72h (tillväxt) = 4,6 mg/l ^b	
		<i>Microcystis aeruginosa</i>	EC ₅₀ (tillväxt, exponeringstid: ej angiven) = 33 mg/l ^a	
Etylbensen	EC ₅₀ 24h (mobilitet) = 1,8 mg/l ^b	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	EC ₅₀ (tillväxt, exponeringstid: ej angiven) = >160 mg/l ^a	EC ₅₀ 16h (tillväxt) = 12 mg/l ^a LC ₅₀ 48h = 47 µg/cm ² ^b
Xylener (isomerer ej angiven)	EC ₅₀ 24h (mobilitet) = 150 mg/l ^b			

^a Hazardous Substances Data Banks hemsida

^b ECOTOX, databas

^c European chemical Substances Information System (ESIS) – IUCLID Chemical Data Sheets 2000

^d European Union Risk Assessment Report, Toluene, vol 30, 2003

1.3 Etanolblandad bensin och vatten

Jämfört med bensin är etanol en enkel kemisk förening. Etanolmolekylen är polär vilket gör att etanol har andra egenskaper än bensin, som är opolär. På grund av skillnad i polaritet mellan etanol och bensin är blandningar av dessa instabila, speciellt om vatten är närvarande och vid låga temperaturer (Duncan 2002). Detta resulterar i att blandningen lätt separerar i två faser; en fas med hög etanolkoncentration och en fas med hög kolvätekoncentration (Duncan 2002, Niven 2005, Lee 2007).

I en blandning av etanolblandad bensin och vatten övergår etanolen som finns i bränslet företrädesvis till vattenfasen och ökar dess volym (Heermann & Powers 1998, Corseuil *et al.* 2004, Niven 2005, Lee 2007). Det förhållandet att etanol har en stark preferens för att fördelas i vattenfasen gör att fasbeteendet modifieras överlag (McDowell *et al.* 2003). Etanolen reducerar inverkan av vätebindningar mellan vattenmolekyler, vilket gör att vatten blir mer lösligt i bensin och bensinkomponenter bli mer lösliga i vatten (McDowell *et al.* 2003) (se 1.4.2). Dessutom minskar yt- och gränssytspänningen mellan vattenfasen och bensinfasen med ökad etanolkoncentration i vattenfasen (McDowell *et al.* 2003). Studier har visat att spänningen i gränsskiktet mellan bensin och vatten är 71 mNm⁻¹ för ren bensin, 46 mNm⁻¹ för bensin med 10 % etanolinblandning (E10) och 40 mNm⁻¹ vid 20 % etanolinblandning (E20) (McDowell & Powers 2003, McDowell *et al.* 2003). Den minskade spänningen vid närvaro av etanol leder till en ökad mobilitet i mark av bensinfasen

(McDowell *et al.* 2003). Bensinfasen kan då lättare gå in i små porutrymmen och kan lättare infiltrera genom den omättade zonen ner till grundvattenytan (Niven 2005). Denna effekt kompliceras dock av att etanol har en stark tendens att fördelas i vattnet i den omättade zonen. Detta leder till att etanoltransporten till grundvattenytan reduceras signifikant (Niven 2005). Vid spill av stora volymer av etanolblandad bensin eller ren etanol har denna effekt däremot inte lika stor betydelse eftersom en stor del av etanolen ändå når grundvattenytan och kan öka spridningen av bensinfasen (Niven 2005).

Om vatten tillsätts bränsleblandningar med mycket högt etanolinnehåll, såsom E85, är det möjligt att närvaron av etanol helt tar bort gränstytspänningen mellan bensinfasen och vattenfasen (Lee 2007). Det resulterar i en blandning som består av endast en fas. En annan studie av Lee (2008) fann att blandningen av E85 och vatten separerades i två faser när volymfraktionen av vatten var större än 15,6 %.

Lee (2008) visade även att viskositeten i en blandning av E85 och vatten ökar ju mer vatten som tillsätts. Detta trots att vatten har lägre viskositet jämfört med etanol. Den ökade viskositeten kan påverka transport under markytan av E85-föreningar. När E85 påträffar vatten kan den ökade viskositeten orsaka en minskning i den hastigheten med vilken E85 rör sig nedåt genom den omättade zonen (Lee 2008).

1.4 Etanols effekt på masstransport av BTEX från bensin till grundvatten

I grundvattensystem är det viktigt att förstå fördelningen av lösliga och svagt lösliga ämnen mellan ett begränsat område med ackumulerad bensin i den kapillära zonen och vattenfasen. Fördelningen bestämmer koncentrationen av etanol och BTEX i grundvattnet som finns i närheten av området med ackumulerad bensin. Förutom denna process bestäms koncentrationen av löst etanol och BTEX av masstransport via advektion och dispersion (se 1.4.3) samt avgång från grundvattnet av ämnena genom sorption och biologisk nedbrytning (se 1.5). (Powers *et al.* 2001a)

1.4.1 Masstransport och fasfördelning

Masstransportsprocesser beror av hydrodynamiska förhållanden, kemisk sammansättning av de ingående faserna, jämviktskoncentrationerna och storleken på gränssytan mellan faserna. Nettoutbytet av kemiska ämnen över en gränssyta mellan två faser kommer att fortsätta tills ett jämviktsförhållande har uppnåtts. Det finns två sätt att se på detta jämviktsförhållande. Antingen ser man på fördelningen av hela den organiska fasen (bensinfasen i detta fall) eller på jämviktsfördelningen mellan faserna av enskilda ämnen (se 1.4.2 Kooperativ lösningseffekt). (Powers *et al.* 2001a)

För att kunna förutse masstransporten av hydrofoba organiska föreningar via gränssytan från bensin till vatten behöver jämviktskoncentrationer mellan angränsande faser bestämmas. Detta beror på att den drivande kraften som gör att masstransport sker uppkommer av en avvikelse från termodynamisk jämvikt (Heermann & Powers 1998).

Heermann & Powers (1998) studerade jämviktsfördelningen av etanol och BTEX mellan etanolblandad bensin och vatten. Studien visade att etanol har en stark preferens för att fördelas i vattenfasen. Exempelvis fördelades mer än 99 % av etanolen i vattenfasen när lika volymer av vatten och bensin som innehöll 10 volymprocent etanol jämviktades. Vid höga

volymfraktioner av etanol fanns ett ungefärligt linjärt samband mellan den uppmätta fördelningskoefficienten och volymfraktionen etanol.

1.4.2 Kooperativ lösningseffekt

Kooperativ lösningseffekt kallas den effekt när ämne 1 (till exempel etanol) som är löst i vatten ökar vattenlösligheten av ämne 2 (till exempel kolväten). Detta bero på att ämne 1 underlättar överföringen av ämne 2 till vattenfasen (Corseuil *et al.* 2004). Den ökade vattenlösligheten av ämne 2 är beroende av koncentrationen av ämne 1 (Heermann & Powers 1998). Oxygenater, speciellt alkoholer, kan på detta sätt verka som kooperativa lösningsmedel och signifikant öka vattenlösligheten av potentiellt farliga kolväten (Heermann & Powers 1998). BTEX är exempel på ämnen som tenderar att vara mer lösliga i vattenlösningar med hög koncentration av etanol än i enbart vatten.

Studier indikerar att E10 (dvs. bensin med 10 % etanolinblandning) ökar lösligheten av BTEX i vatten med mellan 30 och 210 % (Reckhorn *et al.* 2001, Corseuil *et al.* 2004). Corseuil *et al.* (2004) observerade att vid ökad etanolfraktion i vattenfasen ökade vattenlösligheten av bensen, toluen, *o*-xylene och polycykliska aromatiska kolväteföreningar (PAH:er). Vid närvaro av 10 volymprocent etanol ökade vattenlösligheten av bensen 20 %, toluen 40 % och *o*-xylene 50 % (Corseuil *et al.* 2004). En studie utförd av Groves (1988) visade att bensens löslighet i vatten var 1755 ± 30 mg/l. I närvaro av etanol ökade lösligheten till 2070 ± 4 mg/l. Reckhorn *et al.* (2001) och Corseuil *et al.* (2004) fann ett linjärt samband mellan styrkan av den kooperativa lösningseffekten och K_{ow} , det vill säga den kooperativa lösningseffekten var större ju högre hydrofobicitet kolvätet hade. Detta samband gör att man kan förutse den ökade lösligheten av aromatiska kolväten vid närvaron av etanol vid jämviktsförhållanden.

Corseuil *et al.* (2004) utförde även experiment med ren bensin utan etanoltillsats vilka visade att medeljämviktskoncentrationerna för bensen, toluen och xylener i ett system med bensin och vatten var 10,5; 28,4 respektive 11,7 mg/l. I system med etanolblandad bensin och vatten ökade lösligheten av bensen, toluen och xylener med 67 %, 89 % respektive 90 % när volymprocenten av etanol ökade från 0,93 % till 15,8 %.

Den kooperativa lösningseffekten kan påverka fördelningen och öka rörligheten av aromatiska kolväten i system under markytan som kontaminerats av blandningar av etanol och andra bränslen (Corseuil *et al.* 1998, Alvarez *et al.* 2001). Om etanolblandad bensin kommer i kontakt med grundvatten kommer etanolen främst att fördelas i vattenfasen. Etanolen minskar vattenfasens polaritet (Groves 1988). Detta gör att hydrofoba ämnen, såsom BTEX och PAH:er, kan återfinnas i högre koncentrationer och ha större utbredningsplymer i grundvatten kontaminerat av blandningar av petroleumkolväten och etanol jämfört med grundvatten kontaminerat med enbart petroleumkolväten (Groves 1988, Powers *et al.* 2001a, Corseuil *et al.* 2004). Detta kan ge en högre risk för mänsklig exponering för dessa ämnen.

Corseuil *et al.* (2004) menar att en kooperativ lösningseffekt endast uppstår i eller i närheten av källområdet, där etanolkoncentrationen är hög, vid ett spill av etanolblandad bensin. De förklarar detta med att det beror på att etanol rör sig fortare än BTEX och PAH:er i grundvatten och tillslut kommer att vara separerad från dem. Deras studie, samt en studie av Reckhorn *et al.* (2001), visar att den kooperativa lösningseffekten ökar vid etanolkoncentrationer över 10 % i vattenfasen. Reckhorn *et al.* (2001), Alvarez *et al.* (2001) och Corseuil *et al.* (2004) menar att den kooperativa lösningseffekten kan spela en betydande roll vid stora spill av etanolblandad bensin eller vid samtida utsläpp av ren etanol och andra bränslen. Detta har lett till att det uppstått en oro över om grundvattenskyddet är tillräckligt

vid etanolterminaler och platser där etanolblandad bensin blandas till (Rice & Depue 2001). Vid mindre spill av etanolblandad bensin anser varken Powers *et al.* (2001a), Alvarez *et al.* (2001) eller Corseuil *et al.* (2004) att koncentrationen av etanol i grundvattnet kan förväntas nå över 10 %. Dock baserar de detta resonemang på ett fältexperiment i en sandig akvifer som utfördes med etanolblandad bensin med betydligt lägre etanolkoncentration än E85.

1.4.3 Begränsning av masstransport

Det finns krafter som kan motverka masstransport i både vattenfasen och bensinfasen, vilket begränsar hastigheten av masstransporten över gränssytan mellan faserna. Detta kan i slutändan leda till lägre grundvattenkoncentrationer av BTEX än vad som förutsetts av jämviktsmodeller. (Powers *et al.* 2001a)

Masstransport i grundvatten kontrolleras främst av advektion och hydrodynamisk dispersion. Genom advektion transporteras kolväten horisontellt från ett begränsat område med ackumulerad bensin med grundvattensflödet. Genom hydrodynamisk dispersion transporteras kolväten vertikalt från området. Advektion och dispersion är processer som är platsspecifika och som till stor del kontrolleras av grundvattenflödets hastighet. Den genomsnittliga hastigheten av masstransport över gränssytan ökar med ökat grundvattenflöde och ökad dispersion. Detta beror på att dessa processer reducerar koncentrationen av lösta kolväten nära gränssytan. (Powers *et al.* 2001a)

Beräkningar av ämnens koncentrationer i grundvatten via modellering kan ge högre värden än vad koncentrationerna är i verkligheten. Detta beror på att modellerna inte tagit hänsyn till effekten av begränsningar av masstransport orsakad av hydrogeologiska faktorer. (Corseuil *et al.* 2004)

1.5 Etanol och BTEX löst i vattenfasen

Etanol skiljer sig jämfört med standardbensinkomponenter med avseende på biologisk nedbrytning och dess förmåga att påverka lösligheten av BTEX. Detta kan göra att etanol påverkar bensens, toluens, etylbensens och xyleners uppträdande och nedbrytning i grundvatten. (Powers *et al.* 2001a)

1.5.1 Sorption av BTEX i närvaro av etanol

Det kan ske sorption av BTEX till fast material i grundvattnet. En av sorptionens huvudeffekter på lösta ämnen i grundvattnet är en minskning av nettotransporten (Powers *et al.* 2001a). Kolvätenas hastigheter blir lägre än den hastighet det grundvatten som transporterar dem rör sig med (Powers *et al.* 2001a).

Närvaro av etanol eller andra kooperativa lösningsmedel i grundvatten minskar omfattningen av sorption på grund av vattenfasens reducerade polaritet (Powers *et al.* 2001a, Alvarez *et al.* 2001). Det gör att uppbromsningen av BTEX i jämförelse med grundvattenflödet minskar och att omfattningen av transporten av BTEX med grundvattnet kan öka (Heermann & Powers 1998, Powers *et al.* 2001a). Detta har visats i modelleringsstudier av BTEX i närvaro av kooperativa lösningsmedel (Powers *et al.* 2001a).

1.5.2 Etanols effekt på den biologiska nedbrytningen av BTEX

Etanol bryts ner snabbt i en akvifer. BTEX bryts ofta ned av inducerbara enzymer. Dessa enzymer kan inhiberas när lättnedbrytbara substrat, såsom etanol, finns närvarande i höga

koncentrationer (Lovanh *et al.* 2002, Deeb *et al.* 2002, Niven 2005). Inhiberingen sker genom att etanol undertrycker induktionen av oxygenaszymer som behövs för att initiera aerob nedbrytning av BTEX (Lovanh *et al.* 2002). Detta innebär att nedbrytning av BTEX startar först sedan huvuddelen av etanolen brutits ned, vilket leder till förbrukning av näring och elektronacceptorer som deltar i biogeokemiska oxidations- eller reduktionsreaktioner samt förändringar i den mikrobiella populationen till förmån för nedbrytare av etanol (Corseuil *et al.* 1998, Powers *et al.* 2001a, Alvarez *et al.* 2001, Deeb *et al.* 2002, Niven 2005). Etanol kan, till skillnad från andra lösliga komponenter i bensen, brytas ned i närvaro av alla vanligt förekommande elektronacceptorer (Powers *et al.* 2001a). Därför orsakar etanol troligen en förbrukning av sådana elektronacceptorer som föredras av nedbrytare av BTEX, vilket kan hämma nedbrytningen av BTEX (Corseuil *et al.* 1998, Alvarez *et al.* 2001).

Deeb *et al.* (2002) isolerade och använde en mikroorganismkultur som var naturligt förekommande i en bensinförorenad akvifer för att utvärdera etanols påverkan på den aeroba nedbrytningshastigheten av bensen. Mikroorganismerna var kända nedbrytare av BTEX och det har tidigare visats att de effektivt använder bensen, toluen och etylbensen för sin tillväxt. Den biologiska nedbrytningen av bensen (25 mg/l) hämmades kraftigt av närvaron av 25 mg/l etanol. Den tidsfördröjning av nedbrytningen av bensen som observerades vid närvaro av etanol indikerar att nedbrytning av etanol i dessa fall företrädesvis sker före nedbrytning av BTEX.

Den höga biologiska syreförbrukning (BOD) hos etanol i grundvatten i jämförelse med andra lösliga komponenter i bensen medför att den aeroba nedbrytningen av BTEX i syrebegränsade akviferer minskar (Corseuil *et al.* 1998, Alvarez *et al.* 2001) och leder till mer reducerande förhållanden som kan bli anaeroba (Corseuil *et al.* 1998, Alvarez *et al.* 2001) och metanogena (Da Silva & Alvarez 2002). Detta påverkar speciellt utbredningen av bensen, som är det mest toxiska ämnet av BTEX-ämnena och som bryts ned relativt långsamt eller inte alls under anaeroba förhållanden (Alvarez *et al.* 2001, Powers *et al.* 2001a).

Anaeroba processer tros spela en viktig roll vid det naturliga försvinnandet av petroleumprodukter efter ett spill (Corseuil *et al.* 1998, Alvarez *et al.* 2001). Närvaro av etanol kan också leda till förbrukning av elektronacceptorer som behövs vid anaerob biologisk nedbrytning av BTEX, såsom nitrat, järnjoner och sulfat (Alvarez *et al.* 2001, Powers *et al.* 2001a). Etanol kan på detta sätt även förhindra naturlig anaerob nedbrytning av BTEX (Powers *et al.* 2001a).

Vid studier av akvifera mikrokosmos fann Corseuil *et al.* (1998) att etanol bröts ned före bensen, toluen och *o*-xylen (BTX) i samtliga undersökta fall. Det skedde ringa eller ingen nedbrytning av BTX i aeroba, denitrifierande, järnreducerande, sulfatreducerande eller metanogena mikrokosmos vid närvaro av etanol. En tidsfördröjning observerades under vilken etanol bröts ned innan nedbrytningshastigheten av BTX ökade. Ju högre den initiala etanolkoncentrationen var desto längre blev tidsfördröjningen. Vissa studier antyder även att metaboliter av etanol (till exempel ättiksyra) på grund av ackumulation i grundvattnet kan ge en pH-sänkning och därmed inhibera mikrobiell aktivitet (Alvarez *et al.* 2001 och Williams *et al.* 2003).

Som en följd av att etanol fördröjer nedbrytning av BTEX menar Österreicher-Cuncha *et al.* (2004) att negativa effekter mot bakterier på grund av BTEX-förorening i jord kvarstår längre i miljöer förorenade med etanolblandad bensen än i miljöer förorenade med vanlig bensen. En studie utförd av Österreicher-Cuncha *et al.* (2004) visade att bakteriepopulationer i jord

minskar signifikant när stora volymer av bensin eller etanolblandad bensin tillsätts. Studien visade också att populationernas återhämtning, med avseende på antalet bakterier, i jord förorenad med etanolblandad bensin startar mycket senare än i jord förorenad med vanlig bensin. Återhämtningen i bensinförorenad jord inleddes när innehållet av bensinkomponenter i jorden sjunkit under 1 %. I jord förorenad med etanolblandad bensin skedde återhämtningen först när inte längre några bensinkomponenter kunde detekteras i jorden.

Den negativa effekt som etanol kan ha på nedbrytningen av BTEX kan i viss mån motverkas genom att etanol kan ha en positiv effekt på mikrobiell tillväxt (Lovanh *et al.* 2002). Etanol är en kol- och energikälla som troligen stimulerar tillväxten av olika mikrobiella populationer, inklusive arter som kan bryta ned BTEX (Powers *et al.* 2001a och Powers & McDowell 2001). I försök utförda av Lovanh *et al.* (2002) studerades nedbrytningen av bensen av *Pseudomonas putida* i en kemostat (flödesstyrd utrustning för kontinuerlig odling av mikroorganismer) med och utan närvaro av etanol. Biomassan ökade vid tillsats av en relativt liten mängd etanol. Den lilla mängden tillförd etanol hade lägre kemisk syreförbrukning (COD) än det lösta syre som fanns tillgängligt i systemet. En ökning i biomassa leder ofta till en högre biologisk nedbrytningshastighet (Lovanh *et al.* 2002). Dock utjämnas troligen denna positiva effekt i kontaminerade områden eftersom etanolnedbrytningens höga syreförbrukning kan göra systemet anaerobt, vilket kan få som följd att allt syre som diffunderar in i systemet snabbt konsumeras (Lovanh *et al.* 2002).

Tidsfördröjning innan nedbrytningen av BTEX startar kan leda till en ökad utbredning av plymen av grundvatten förorenat med BTEX, speciellt plymen av löst bensen (Corseuil *et al.* 1998, Rice & Depue [Eds.] 2001, Alvarez *et al.* 2001, Da Silva & Alvarez 2002, Lovanh *et al.* 2002, Deeb *et al.* 2002). Åtskilliga modelleringsstudier har visat att det är troligt att plymer av löst bensen i grundvattnet ökar i längd vid närvaro av etanol (Powers *et al.* 2001b). Modelleringsstudier har förutsett att med 10 % etanolinblandning (E10) så ökar längden på plymer med löst bensen med allt från 7-150 % över en 20-årsperiod jämfört med spill av bensin utan etanolinnehåll (Deeb *et al.* 2002 och Niven 2005). Den stora variationen i den predikterade plymlängden hos olika modeller beror generellt på olika antaganden vid modelleringen och på egenskaperna hos den akvifer och det transportsystem som undersökts i de olika studierna (Williams *et al.* 2003). Längre och/eller mer persistenta plymer av grundvatten förorenat med BTEX kan ge en högre risk för mänsklig exponering för BTEX, till exempel via dricksvattenbrunnar från grundvattentäkter (Lovanh *et al.* 2002, Williams *et al.* 2003).

Den övergripande effekten av etanol är troligen systemspecifik. Den beror till stor del på utsläppsscenario, den akvifera kemin och på assimilationskapaciteten hos akviferen, vilken exempelvis är beroende av elektronacceptorpoolens storlek och hastigheten av den naturliga påfyllningen av elektronacceptorer (Powers *et al.* 2001a, Lovanh *et al.* 2002).

Shih *et al.* (2004) jämförde data från ett stort antal olika platser som hade en läckande bränsletank under markytan. Studien undersökte om andra oxygenater än etanol (i detta fall MTBE, tert-butylalkohol, tert-amylmetyleter, diisopropyleter, etyl-tert-butyleter) kunde påverka rörelsen och utbredningen av petroleumkolväten på liknade sätt som etanol. Platser där oxygenater hade använts eller påträffats och platser där inga oxygenater hade använts eller påträffats jämfördes. Man fann att plymlängderna för bensen var signifikant längre (+ 20-30 %) vid närvaro av oxygenater jämfört med vid frånvaro av oxygenater.

1.6 Uppdrag och frågeställning

Examensarbetet görs på uppdrag av konsultföretaget Golder Associates AB. Företaget arbetar bland annat med förorenad mark och då främst med olika typer av industrimark. Examensarbetet ska bidra med underlag till bättre riskbedömning av läckage av etanolbränslet E85 från underjordiska förvaringstankar.

Golder Associates AB vill få mer kunskap om vad som sker med bensen, toluen, etylbensen och xylener vid läckage av E85 i mineraljorden och hur detta skiljer sig i jämförelse med vid läckage av bensin utan tillsats av etanol. Därför formulerades följande frågeställning: Är det möjligt att närvaron av etanol kan påverka rörligheten och nedbrytningen av bensen, toluen, etylbensen och xylener i mark och leda till att dessa ämnen i större utsträckning når grundvattnet?

1.7 Syfte

Syftet är att studera nedbrytning och rörlighet av bensen, toluen, etylbensen och xylener i jord under markytan genom simulerade spill av 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol och av etanolbränslet E85.

2 Material och metoder

I samtliga försök användes E85 och 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol, båda tillverkade av Preem Petroleum AB. Den E85 som användes var på grund av årstiden av vinterkvalitet. Den innehöll därför cirka 75 % etanol och cirka 20-25 % bensin. Anledningen till att bensin som inte innehöll etanol användes var för att efterlikna den typ av bensin som idag ligger kvar i mark till följd av äldre bensinspill. Innan år 2003 var etanoltillsats i bensin inte lika allmänt förekommande som idag.

I utlakningstesterna och i den kombinerade nedbrytnings- och respirationsstudien användes en mineraljord (se nedan) för att efterlikna den jord där läckage från underjordiska förvaringstankar för bränsle sker. Underjordiska förvaringstankar i anslutning till bensinstationer är ofta placerade i mineraljorden.

2.1 Provtagning och grundläggande jorddata

En lerig moränmo togs från 1-2 meters djup från en av de testgropar som Golder Associates AB hade i Sala. På platsen hade det tidigare skett oljeläckage från en oljedepå, men jorden som provtogs var inte kontaminerad. Jorden togs från skiktet med opåverkad mineraljord och hade därför troligen låg biologisk aktivitet. Jorden sållades med ett 4 mm såll. Därefter lufttorkades jorden tills vattenhalten var cirka 60 % av den maximala vattenhållande kapaciteten (WHC – Water Holding Capacity).

En vattenhalt mellan 30-80 % av jordens maximala WHC anses vara optimalt för biologisk nedbrytning av föroreningar i jord (Miller *et al.* 2004). Den optimala vattenhalten för aerob bakteriell aktivitet i jord är cirka 50 till 70 % av jordens WHC (Miller *et al.* 2004). Låga vattenhalter kan begränsa den mikrobiella aktiviteten (Castillo & Torstensson 2007). Höga vattenhalter nära vattenmättnad kan leda till syrebrist i systemet. Under dessa förhållanden är aeroba mikrobiella processer begränsade och anaeroba processer dominerar (Castillo & Torstensson 2007).

2.1.1 Vattenhalt, glödförlust och vattenhållande kapacitet

Jordens vattenhalt bestämdes genom att väga upp cirka 18 g jord i en aluminiumform och torka den i 105 °C under 6 timmar. Sedan vägdes den torkade jorden och vattenhalten beräknades enligt:

$$\text{Vattenhalt (\%)} = 100 \times (\text{jordens våtvikt} - \text{jordens torrsvikt}) / \text{jordens våtvikt}$$

Glödförlusten för en jordtyp är ett mått på halten av organiskt material i jorden. När man glödgar jord bränns det organiska materialet bort. Genom att väga jorden före och efter glödgningen kan man bestämma halten av organiskt material.

Samma jordprov som användes vid bestämningen av vattenhalten användes även för att bestämma jordens glödförlust. Den torkade jorden (ca 17 g) glödgades i 550 °C i 5 timmar. Därefter vägdes den glödgade jorden och glödförlusten beräknades enligt:

$$\text{Glödförlust (\%)} = 100 \times ((\text{jordens torrsvikt} - \text{glödgad jordsvikt}) / \text{jordens torrsvikt})$$

Jordens maximala WHC bestämdes genom att placera 30 g jord i 6 cm höga plaströr med nylonnät i botten. För att mätta jorden med vatten placerades rören över natten i en behållare som fylldes med avjoniserat vatten till en höjd av 2 cm. Därefter fick rören droppa av i fem timmar. Vattenhalten i jorden analyserades sedan på samma sätt som ovan. Denna vattenhalt motsvarade jordens maximala WHC.

2.1.2 Bestämning av pH-värde

20 g jord vägdes in i en plastburk med lock. 40 ml avjoniserat vatten tillsattes och sedan skakades burken liggande på skakmaskin i cirka 15 minuter. Därefter fick burken stå över natten. Dagen därpå skakades burken i ytterligare 10 minuter. Sedan öppnades burkens lock och jordpartiklarna fick sedimentera i cirka 1 timme. Därefter mättes pH i vätskan.

2.1.3 Basrespiration och substratinducerad respiration

Markrespirationen definieras som den mängd koldioxid som avges av markorganismerna vid respiration. Markrespirationen bestäms av biomassans storlek, sammansättning och aktivitet. En hög respiration innebär oftast en snabb omsättning av organiskt material. Respirationen i en orörd jord kallas basrespiration och kan ses som en bakgrundsrespiration (Odlare 2007), det vill säga det kan betraktas som ett mått på den mikrobiella basaktiviteten.

Substratinducerad respiration (SIR) används som ett mått på mikrobiell biomassa i mark (Stenström *et al.* 2001). SIR-metoden bygger på att den respirationsrespons som man får efter inblandning av ett substrat (glukos blandat med kväve-, fosfor- och kaliumsalter) i jorden är proportionell mot storleken på den mikrobiella biomassan. Den exponentiella tillväxtresponsen efter tillsats av ett SIR-substratet kan delas upp i koldioxidproduktionshastigheten för exponentiellt växande (r) och icke-växande (K) mikroorganismer (1) (Stenström *et al.* 2001). Detta kan användas som ett mått på hur aktiv den mikrobiella biomassan är. Vid tillsats av substrat börjar r -organismer växa direkt medan K -organismers respons på tillsatsen endast innebär att de ökar sin koldioxidproduktionshastighet till en konstant nivå (Stenström *et al.* 2001). Andelen r -organismer är generellt liten (5-20 %) i jordar där inte någon tillsats av substrat gjorts nyligen (Stenström *et al.* 2001). I jordar med hög tillgång på substrat kan andelen r -organismer vara 100 %.

$$dp/dt = re^{ut} + K \quad (1)$$

För att få ett mått på den mikrobiella biomassan i jorden bestämdes basrespiration och SIR med hjälp av en respirometer enligt Stenström *et al.* (2001) och Enwall *et al.* (2007).

Basrespirationen bestämdes genom att tre replikat av jordprover lades i respirometerburkar och placerades i en respirometer (Respicond III, Nordgren Innovation AB, Umeå, Sweden). Jorden inkuberades under sju dagar vid 22 °C. Mängden koldioxid som producerades under inkubationen fångades i 0,2 M kaliumhydroxid och koncentrationen av koldioxid uppskattades genom automatisk avläsning av konduktiviteten var 30:e minut. Minskningen av lösningens konduktivitet användes för att beräkna basrespirationshastigheten.

SIR i dessa jordprover bestämdes efter de sju dagars inkubation. Varje burk tillsattes då ett SIR-substrat bestående av glukos, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ och KH_2PO_4 i talkpuder. Jorden i varje burk blandades med SIR-substratet och den exponentiella ökningen av respirationshastigheten därefter uppmättes enligt ovan.

SIR definieras som den respirationshastighet som erhålls direkt efter tillsatsen av substrat, det vill säga ekvation (1) vid $t = 0$.

$$SIR = r + K \quad (2)$$

Rent praktiskt beräknades värdena på r och K grafiskt genom att plotta de ackumulerade respirationsvärdena mot tiden. Därefter anpassades de plottade värdena via icke-linjär regression till en funktion med formeln:

$$p = p_0 + \frac{r}{\mu}(e^{\mu t} - 1) + Kt \quad (3)$$

där p_0 är en parameter som tar hänsyn till den initiala konduktiviteten i KOH-lösningen i varje burk, r är den initiala respirationshastigheten för växande mikroorganismer, μ är deras specifika tillväxthastighet, K är respirationshastigheten för icke växande mikroorganismer och t är tiden efter tillsats av substraten till varje burk.

2.2 Löslighet av BTEX i vatten

Försöket avsåg att studera om BTEX fördelas annorlunda mellan vattenfas och organisk fas om etanol är närvarande eller inte samt om vattnets joninnehåll påverkar lösligheten av BTEX.

2.2.1 Försöksuppställning

Baserat på resultaten från ett förförsök användes följande försöksuppställning: Både E85 och 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol blandades i förhållandena 1:1, 1:100, 1:1000 samt 1:10 000 med avjoniserat vatten respektive naturligt grundvatten (3 replikat per behandling) i glasflaskor (118ml) med krymplock av metall med teflonseptum. För att jämvikta proven skakades de på en skakmaskin (120 rotationer per minut) under 24 timmar i 20 °C. En tidigare studie har visat att 24 timmar är en tillräckligt lång tidsperiod för jämviktning av dessa typer av prover (Heermann & Powers 1998).

Grundvattnet som användes i försöket hade provtagits i Sala. Grundvattnet antogs ej vara förorenat med BTEX. Detta kontrollerades genom kemisk analys.

2.2.2 Provtagning

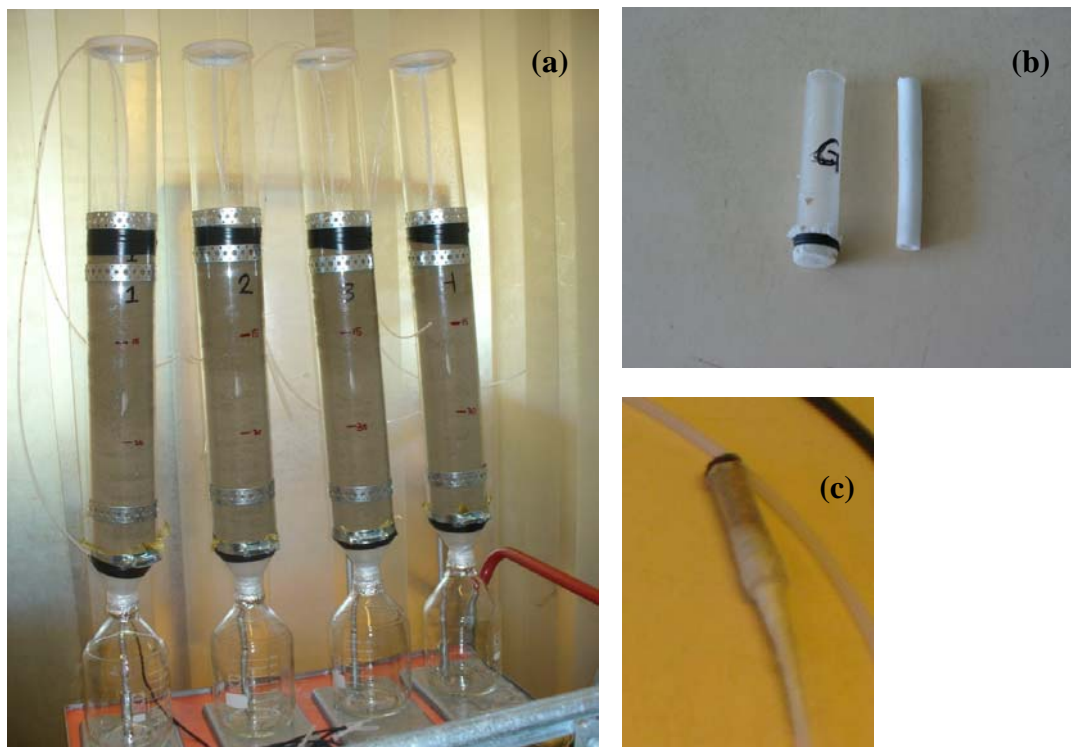
Tre prover á 0,75 ml togs av vattenfasen i varje flaska. Vid provtagningen vändes flaskan upp och ned så att vattenfasen hamnade närmast flaskans lock. Proven togs med en 1 ml plasticspruta försedd med kanyl (0,4 x 20 mm) som stacks genom teflonseptumet i flasklocket. Proven överfördes till vialer med teflontätade skruvlock som används vid gaskromatografi/masspektrofotometeranalyser (GC/MS-analyser).

2.3 Utlakningsförsök

Detta försök var avsett att simulera ett enstaka utsläpp av E85 respektive 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol i mineraljord. Regn kan främja utlakning av föroreningar genom markprofilen, vilket kan leda till att ytvatten och grundvatten blir förorenade (Adam *et al.* 2002). Försöket syftade till att jämföra rörlighet och utlakning av BTEX vid tillsats av vatten till en kolonn fylld med jord som tillförts E85 respektive 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol.

2.3.1 Försökuppställning

Baserat på resultaten från ett antal förförsök som utredde hur provtagningsystemet för provtagning av markvatten i jordkolumnerna skulle konstrueras, användes följande försökuppställning: Försöket var ett försök i liten skala där det ingick två kolumner med jord som tillsattes E85 och två kolumner med jord som tillsattes 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol. Försöket pågick i 21 dagar och utfördes vid rumstemperatur (20- 24 °C). Kolumnerna var 50 cm höga, 9,2 cm i innerdiameter (volym: cirka 3,3 dm³) och gjorda av plexiglas. De stöddes av stativ med metallringar som löpte runt kolumnkropparna på tre ställen (figur 2a). Kolumnerna fylldes med jord till en höjd av 45 cm och varje kolumn innehöll cirka 6 kg jord. Delar av försökuppställningen var en modifiering av den försökuppställning som användes av Adam *et al.* (2002).



Figur 2. Försökuppställning för studie av rörlighet och utlakning av bensen, toluen, etylbensen och xylener från jord. (a) De fyra jordkolumnerna med tillhörande förlängningsrör och uppsamlingsflaskor för lakvatten. (b) En sugcells beståndsdelar. (c) En färdigtillverkad sugcell.

Jorden packades i kolumnerna med hjälp av en ”packningsstav” (ett ca 1 m långt plaströr fyllt med grovt grus) som vägde cirka 2 kg. Cirka 4 cm lös jord packades ihop åt gången med staven. Vertikalt i varje kolumn placerades en sugcell på 30 cm djup och en sugcell på 15 cm djup mätt från toppen av kolumnen (se markeringar på kolumnerna i figur 2a). Sugcellerna bestod av ett ca 5 cm långt filterrör som placerats i ett ca 5,5 cm plaströr som fyllts med finkornig glödgad sand (figur 2b,c). I rörmynningen i den nedre delen av sugcellen var en bit finmaskigt nylonnät fäst med hjälp av en liten gummisnodd. Rörmynningen i den övre delen av sugcellen var täckt med flera lager parafilm för att förhindra att sanden rann ut ur sugcellen och för att det endast skulle sugas in vatten via den nedre delen av sugcellen.

Varje sugcell var kopplad till ett slangsystem som med hjälp av en peristaltisk pump (Alitea –XV) möjliggjorde provtagning av markvattnet från olika nivåer i kolumnen. Slangsystemet bestod av 150 cm hård slang av polytetrafluoretylen (PTFE, Teflon, 2 x 1 mm) som var kopplad till 50 cm mjuk slang av märket Fluorel (tillverkad av ospecificerade

fluorerade kolväten, 970.0016.016, Watson-Marlow Alitea, 1,6 x 1,6 mm) via en slangkoppling gjord av polyvinyliden fluorid (Natural Kynar PVDF, N007/004-J1A, Watson-Marlow Alitea). Fluorelslangen var i sin tur kopplad till en kanyl (0,4 x 20 mm) som stacks ned genom teflonseptumet på locket av en vial för uppsamling av vattenprov. Teflonseptumet förblev lufttätt även efter penetrering av kanylen.

På toppen av varje kolonn monterades ett förlängningsrör som var 30 cm högt och 9,2 cm i innerdiameter. Skarvarna tätades med överlappande vattentät tejp. Förlängningsröret användes vid tillsats av vatten till kolonnen. För att minimera avdunstningen av de tillsatta bränslena under försökets gång försågs kolonnerna med lock.

Ett finmaskigt kopparnät spändes med en slangklämma runt rörets mynning i botten av varje kolonn. Detta nät höll jorden kvar i kolonnen men lät lakvattnet flöda fritt ut ur kolonnen. För att leda lakvattnet från respektive kolonn till ett eget uppsamlingskärl monterades en plasttratt vid rörets nedre mynning på varje kolonn. Tratten var nedstucken i en flaska (2 l) där lakvattnet samlades upp.

Jorden som packades i kolonnerna hade förvarats i kylrum sedan den samlades in. Därför hade den en temperatur av cirka 4 °C när den packades. För att jämvikta jordkolonnerna temperaturmässigt placerades de under ett dygn i ett konstantrum som höll 15 °C, därefter förvarades de i rumstemperatur (cirka 20-24 °C).

Vid försökets början tillsattes 50 ml koncentrerad E85 eller 95-oktanig bensen utan tillsats av etanol vid toppen av respektive kolonn. Bränslet fördelades jämt över jordytan genom att 5 ml tillsattes åt gången i tio över ytan jämt fördelade punkter. Bränslet fick sedan infiltrera i jorden under 1 timme. Därefter tillfördes 130 ml kranvatten för att blöta jorden. Efter ytterligare 1 timme fylldes förlängningsröret med motsvarande en porvolym kallt kranvatten som läts penetrera ner i jorden i egen takt. En porvolym motsvarade cirka 40 % av jordkolonnens volym, det vill säga cirka 1,2 l. Detta beräknades enligt:

En porvolym (cm^3) = (porositet /100) x total kolonnvolym
en porvolym/total kolonnvolym = 40 %.

Tillsatsen av en porvolym vatten till jordkolonnerna innebar att jordporerna genomsköljdes, det vill säga vattnet i porerna omsattes en gång. Under försöket tillsattes totalt 9 porvolym vatten till varje kolonn med ett tidsintervall på 1-6 dagar. I början av försöket tillsattes porvolymerna med en dags mellanrum, sedan ökades successivt antalet dagar mellan tillsatserna.

2.3.2 Provtagning

Cirka en timme efter varje tillsats av vatten, medan vattnet infiltrerade i jorden, togs ett markvattenprov (7 ml) ut per sugcell för analys av BTEX-innehåll och samlades upp i en 7 ml vial med krymplock av metall med teflonseptum. Vialen fylldes helt för att minimera avdunstningsförlusterna innan analysen. När ett markvattenprov tagits ut ur kolonnen vändes pumpriktningen i systemet och det vattnet som fanns kvar i slangsystemet pumpades tillbaka in i kolonnen. Vid tre tillfällen (dag 3, 4 och 20) togs även ett prov på 21 ml för analys av BTEX-innehåll. Dessa prover skickades till analysföretaget ALcontrol AB.

Det lakvatten som kom ut nedtill på kolonnen under dygnet efter vattentillsatsen samlades upp och den uppsamlade volymen noterades. Därefter togs vattenprover av lakvattnet från respektive kolonn för analys av BTEX-innehåll.

När försöket avslutats togs jordprover (ca 15 g) från varje kolonn på tre olika nivåer på ett avstånd av 5, 15 och 30 cm från toppen av kolonnen. Jordproven togs ut genom att borra hål i plexiglasväggen vid de olika nivåerna. Jordproven frystes sedan vid - 20 °C innan de skickades för analys av BTEX-innehåll till ALcontrol AB.

2.4 Nedbrytning och påverkan på respiration

Detta försök var en kombinerad nedbrytnings- och respirationsstudie i jord förorenad med E85 respektive 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol. Vid ett spill av bränsle i mark kan man förmoda att nedbrytningen av BTEX kommer att ske snabbast i spilllets utkanter där koncentrationen är låg medan nedbrytningen där koncentrationen är hög kommer att hämmas av brist på elektronacceptorer (upplöst syre, nitrat, sulfat etc.) (Takahata *et al.* 2006). För att simulera detta studerades respirationen och nedbrytningen vid tillsats av flera olika mängder E85 respektive bensin.

2.4.1 Försöksuppställning

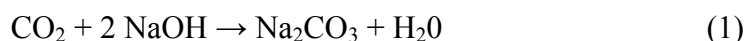
Baserat på resultaten från ett förförsök användes följande försöksuppställning: 1 ml, 1,5 ml eller 2 ml E85 respektive 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol tillsattes 20 g jord (WHC=60 %) i en plastburk (tre replikat per behandling). I försöket ingick även en okontaminerad kontroll (tre replikat).

Plastburken placerades i en lufttät respirationsburk tillsammans med två mindre plastburkar (25 ml), som vardera innehöll 4 ml 0,2 M natriumhydroxid. Natriumhydroxiden fungerade som koldioxidfälla genom att den koldioxid som bildades reagerade med natriumhydroxiden (se nedan). Respirationsburkarna inkuberades i mörker vid 20 °C i ett konstantrum.

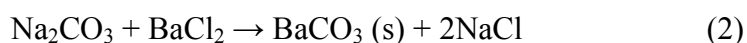
I huvudförsöket följdes respirationen och nedbrytningen av BTEX i jordproven under sammanlagt 15 dagar. Plastburkarna med natriumhydroxid byttes ut dag 2, 5 och 11. Provtagningar av jorden gjordes dag 0, 2, 5 och 15. Vattenhalten i jordproverna hölls vid 60 % av WHC genom tillsats av vatten dag 2, 5 och 11.

2.4.2 Respirationsmätning

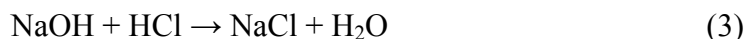
Metoden för respirationsmätning (Andersson 2005) byggde på att den bildade koldioxiden i respirationsburkarna reagerade med natriumhydroxiden i plastburkarna och bildade natriumkarbonat enligt:



Genom att titrera den natriumhydroxid som återstod i en av plastburkarna med 0,1 M saltsyra kunde den mängd koldioxid som bildats bestämmas. Till 2 ml prov tillsattes först 0,1 M bariumklorid i överskott (8 ml) för att binda den bildade karbonaten. Denna föll då ut som bariumkarbonat enligt:



Kvarvarande mängd natriumhydroxid titrerades sedan med saltsyra enligt:



Titrationen skedde med hjälp av en Titralab 850 autotitrator (Radiometer Analytical, Copenhagen, Denmark) som titrerade ner till pH 8,3 som var titreringens ekvivalenspunkt.

Mängden koldioxid som bildats kunde därefter beräknas genom att bestämma skillnaden i antal mol vätejoner (H^+) som gick åt vid titrering av det aktuella provet jämfört med titreringen av ett referensprov som innehöll 0,2 M NaOH (4). Denna mängd motsvarade antal mol hydroxidjoner (OH^-) som reagerat med koldioxid i koldioxidfällan. Hälften av denna mängd var lika med antal mol CO_2 som bildats (1). Resultatet räknades sedan om till $\mu\text{g CO}_2/\text{g}$ torrsubstans.

$$m_{\text{CO}_2} = (n_{\text{H}^+,\text{ref}} - n_{\text{H}^+,\text{prov}}) \times 0,5 \times M_{\text{CO}_2} \quad (4)$$

där m_{CO_2} = massa koldioxid, n = antal mol och M_{CO_2} = molvikt för koldioxid.

2.4.3 Nedbrytning av BTEX

För analys av nedbrytning av BTEX togs ett jordprov på ca 3 g vid dag 0, 2, 5 och 15. Provtagningen av jorden för analys av BTEX-innehåll var destruktiv, vilket innebar att när ett jordprov tagits från jorden i en respirationsburk så togs denna burk bort från försöket. För att minska antalet analyser slogs jordproven från de tre replikaten av varje typ av behandling samman i en 21 ml vial innan analysen. Jordproven frystes sedan vid -20°C innan de skickades för analys till ALcontrol AB.

2.5 Analys av BTEX

2.5.1 Analyser utförda vid Institutionen för mikrobiologi, SLU

2.5.1.1 Löslighet av BTEX i vatten

Extraktion av BTEX från vattenprover från de olika löslighetsförsöken gjordes med 0,75 ml kloroform som tillsattes till vialerna. Efter tillsatsen av kloroform skakades proverna kraftigt med hjälp av en vortex i 20 s och sedan centrifugerades de i 15 min i 4500 varv/min (ca 110-160 g). Därefter analyserades provens koncentration av BTEX med en Hewlett Packard model 6890 gaskromatograf med en HP-5MS-kolonn (Chrom Tech AB), 3 m lång med en innerdiameter på 0,25 mm och en film av 0,25 mikrometers tjocklek, kombinerad med en HP model 5973 Massdetektor. Standardlösningar användes för att göra kalibreringskurvor för BTEX, lösningarna hade koncentrationerna 100; 10; 1; 0,1; 0,01 mg BTEX/l. Även okontaminerat grundvatten och avjoniserat vatten analyserades. Som en referens bestämdes på samma sätt koncentrationen av BTEX i den E85 och bensin som användes i försöket.

2.5.1.2 Utlakningsförsök

Från varje vial med vattenprov togs 0,75 ml ut med en 1 ml plastspruta försedd med kanyl (0,4 x 20 mm) som stacks genom teflonseptumet i locket på vialen. Proven överfördes till vialer med teflontätade skruvlock som används vid gaskromatografi/masspektrofotometeranalyser (GC/MS-analyser).

Halten av BTEX i vattenproverna från utlakningstesterna analyserades med GC/MS enligt samma metod som användes för analys av vattenprover från löslighetsförsöket (se ovan).

2.5.2 Analyser utförda av ALcontrol AB

Som en kontroll av de GC/MS-analyser som utfördes vid Institutionen för mikrobiologi utförde det ackrediterade analysföretaget ALcontrol AB GC/MS-analyser av halten av BTEX i tolv av vattenproverna från utlakningstesterna, både markvatten och lakvatten.

Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var $\pm 20-30\%$ för bensen och $\pm 15-25\%$ för toluen, etylbensen och xylener. Detektionsgränsen för bensen var $0,1\ \mu\text{g/l}$ och för toluen, etylbensen och xylener var den $1\ \mu\text{g/l}$.

GC/MS-analyser av halten av BTEX i jordproverna från jordkolonnerna som användes i utlakningstesterna samt jordproverna från nedbrytningsstudien utfördes även de av ALcontrol AB. Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var $\pm 20-30\%$. Detektionsgränsen för bensen var $0,005\ \text{mg/kg}$ och för toluen, etylbensen och xylener var den $0,1\ \text{mg/kg}$.

2.6 Statistik och beräkningar

2.6.1 Respirationsmätning

Resultaten analyserades statistiskt med Mann-Whitney test och en skillnad ansågs signifikant då $p < 0,05$. Den programvara som användes var MINITAB 12.2 Statistical Software.

2.6.2 Nedbrytning av BTEX

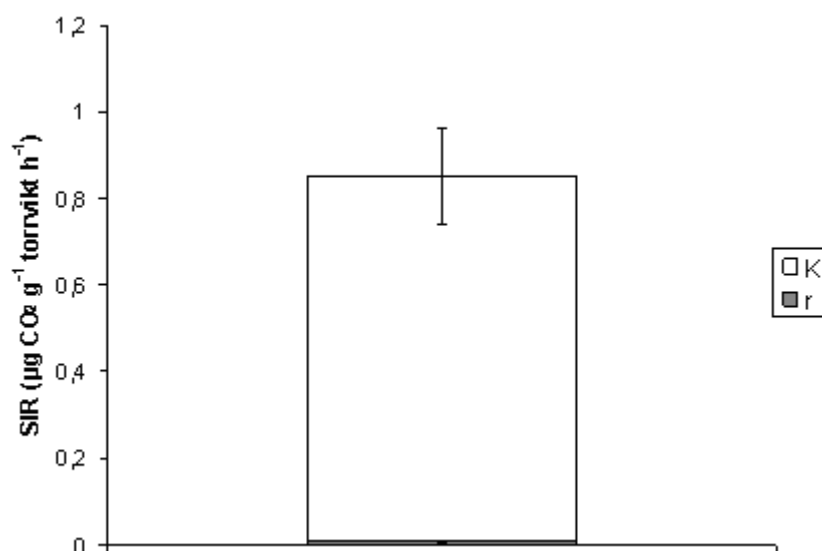
Andelen (%) bensen, toluen, etylbensen respektive xylener som hade brutits ned efter två dygn beräknades. I de fall där nedbrytningen följde första ordningens kinetik plottades de logaritmerade koncentrationsvärdena mot tiden varpå en rät linje anpassades till punkterna. Halveringstiden beräknades sedan enligt: $T^{1/2} = \ln 2/k$ där k är regressionslinjens lutning.

3 Resultat

3.1 Grundläggande jorddata

Jordens vattenhållande kapacitet var cirka 14 %, vattenhalten cirka 8,7 %, glödförlusten cirka 0,68 % och pH cirka 8,6.

Jorden hade låg mikrobiell biomassa. SIR_{medel} var $0,853 \pm 0,113 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} och basrespirationen var $0,170 \pm 0,039 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} (figur 3). Den växande delen (r) av SIR-responsen var $0,0057 \pm 0,0008 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} och den icke-växande delen (K) var $0,8473 \pm 0,0390 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} .



Figur 3. Substratinducerad respiration (SIR) ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} , medelvärde \pm SD, $n=3$) i jorden som användes i två av försöken. SIR är ett mått på jordens mikrobiella biomassa. Jorden var en lerig moränmo som tagits från jordskiktet med opåverkad mineraljord (1-2 meters djup) i en testgrop som Golder Associates AB hade i Sala. På platsen hade det tidigare skett oljeläckage från en oljedepå, men jorden som provtogs var ren. r = respirationshastighet för växande mikroorganismer, K = respirationshastighet för icke-växande mikroorganismer.

3.2 Förlust av data

Resultaten från GC/MS-analyserna som utfördes på Institutionen för mikrobiologi på SLU förlorades på grund av att hårddisken i analysinstrumentet (GC/MS) havererade.

Med anledning av denna förlust av data kan inget resultat redovisas från studien av lösligheten av BTEX i vatten. Detta gör även att endast analysresultat för vattenproverna från utlakningsförsöken som analyserades av ALcontrol AB kan redovisas.

3.3 Utlakningsförsök

3.3.1 Markvatten

De sex markvattenprover som analysresultat kan redovisas för togs alla ut med sugceller som var placerade 15 cm ner i kolonnen mätt från kolonnens topp. Tre av proverna togs ut från en

av kolonnerna med tillsats av E85 och de tre andra proverna togs ut från en av kolonnerna med tillsats av bensin (tabell 4).

På grund av förlusten av data kan inga säkra slutsatser dras. Från erhållna analysresultat förefaller det dock som om koncentrationen av bensen och toluen i markvattenproverna från E85-kolonnen minskade med tiden. Resultaten tyder även på att koncentrationen av etylbensen och xylener i markvattenproverna minskade från dag 3 till dag 4. Dag 20 hade koncentrationen av båda ämnena ökat jämfört med dag 3 och 4.

Beträffande bensen antyder analysresultaten att koncentrationen i markvattenproverna från bensinkolonnen genomgående var högre än i markvattenproverna från E85-kolonnen. Koncentrationen av bensen, toluen och xylener ökade med tiden i markvattenproverna från bensinkolonnen. Koncentrationen av etylbensen minskade något dag 4 jämfört med dag 3, men skillnaden var mycket liten. Dag 20 hade koncentrationen av etylbensen, i likhet med de andra ämnena, ökat jämfört med dag 3 och 4.

Tabell 4. Koncentrationen av bensen, toluen, etylbensen och xylener i markvattenprover uttagna med sugceller från en jordkolonn med tillsats av E85 respektive en jordkolonn med tillsats av bensin. Kolonnerna var packade med en lerig moränmo som tagits från jordskiktet med opåverkad mineraljord (1-2 meters djup). Vid dag 0 tillsattes 50 ml koncentrerad E85 eller 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol till respektive kolonn. Under försöket adderades vatten motsvarande en porvolym (ca 1,2 l) med ett tidsintervall på 1-6 dagar. Cirka en timme efter varje tillsats av vatten, togs markvattenprover (20 ml) 15 cm ner i kolonnen mätt från kolonnens topp. Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var $\pm 20-30\%$ för bensen och $\pm 15-25\%$ för toluen, etylbensen och xylener. I kolumnen "Antal porvolym" anges hur många porvolym vatten som passerat genom kolonnen då vattenprovet togs.

Prov	Koncentration (mg/l)				Antal porvolym
	Bensen	Toluen	Etylbensen	Xylener	
E85 Dag 3	0,29	2,8	0,083	0,53	2,7
E85 Dag 4	0,090	1,4	0,040	0,17	3,6
E85 Dag 20	0,028	0,98	0,70	2,5	8,4
Bensin Dag 3	0,88	0,50	0,034	0,13	2,7
Bensin Dag 4	0,92	1,2	0,028	0,13	3,7
Bensin Dag 20	1,5	9,6	0,30	0,95	8,5

3.3.2 Lakvatten

De sex lakvattenprover som analysresultat kan redovisas för togs från en av kolonnerna med tillsats av E85 respektive en av kolonnerna med tillsats av bensin. Proverna togs av vattnet som lakats ut mellan dag 3 och 4, mellan dag 4 och 5 samt mellan dag 20 och 21.

På grund av förlusten av data kan inga säkra slutsatser dras. Från erhållna analysresultat av lakvattensproverna förefaller det dock som om BTEX lakades ut ur både E85-kolonnen och bensinkolonnen (tabell 5). Halterna av toluen, etylbensen och xylener (TEX) i lakvattnet från E85-kolonnen var till en början högre än halterna av TEX i lakvattnet från bensinkolonnen, trots att E85 innehåller betydligt mindre TEX än bensin. Vid försökets slut var halterna av etylbensen och xylener i lakvattnet från E85-kolonnen fortfarande högre än halterna i lakvattnet från bensinkolonnen. Däremot lakades större mängder av bensen ut ur bensinkolonnen jämfört med E85-kolonnen vid samtliga provtagningstillfällen. Dock var inte mängdskillnaden mellan proverna stor för vattnet som lakats ut mellan dag 3 och 4.

Analysresultaten antyder att det med tiden lakades ut allt mindre mängd bensen och toluen ur E85-kolonnen. Utlakningen av etylbensen och xylener ur denna kolonn följde i princip samma mönster. Koncentrationen av BTEX var högre i vattnet som lakades ut från E85-kolonnen mellan dag 3 och 4 samt mellan dag 4 och 5 jämfört med markvattenproverna från samma kolonn från motsvarande tidpunkt. Skillnaden var däremot inte stor mellan vattnet som lakades ut mellan dag 20 och 21 jämfört med markvattenproverna från samma kolonn från motsvarande tidpunkt.

Utlakningen av BTEX från bensinkolonnen uppvisade ett annat mönster än utlakningen från E85-kolonnen. Av de tre prover som togs av lakvattnet var koncentrationen av BTEX högst i provet som togs av vattnet som lakades ut mellan dag 4 och 5. Analysresultaten antyder att koncentrationen av BTEX var högre i samtliga lakvattensprover från bensinkolonnen jämfört med markvattenproverna från samma kolonn.

Tabell 5. Koncentrationen av bensen, toluen, etylbensen och xylener i lakvatten från en jordkolonn med tillsats av E85 respektive en jordkolonn med tillsats av bensin. Kolonnerna var packade med en lerig moränmo som tagits från jordskiktet med opåverkad mineraljord (1-2 meters djup). Vid dag 0 tillsattes 50 ml koncentrerad E85 eller 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol till respektive kolonn. Under försöket adderades vatten motsvarande en porvolym (ca 1,2 l) med ett tidsintervall på 1-6 dagar. Prover togs av det uppsamlade lakvattnet ett dygn efter varje tillsats av vatten. Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var $\pm 20-30\%$ för bensen och $\pm 15-25\%$ för toluen, etylbensen och xylener. I kolumnen "Antal porvolym" anges hur många porvolym vatten som passerat genom kolonnen då vattenprovet togs.

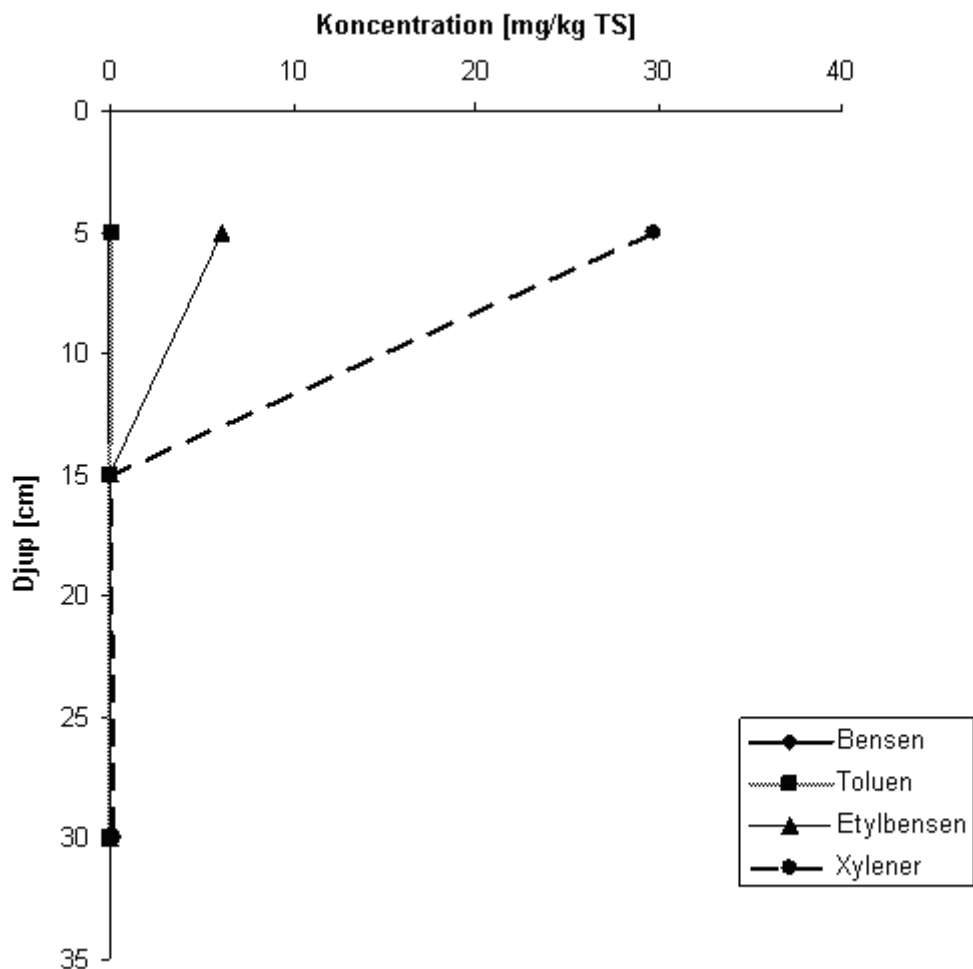
Prov	Koncentration (mg/l)				Antal porvolym
	Bensen	Toluen	Etylbensen	Xylener	
E85 Dag 3-4	2,8	28	2,1	11	2,7
E85 Dag 4-5	0,46	22	2,2	12	3,6
E85 Dag 20-21	0,0092	0,70	1,4	5,3	8,4
Bensin Dag 3-4	3,3	12	0,44	3,7	2,7
Bensin Dag 4-5	12	27	1,3	6,4	3,7
Bensin Dag 20-21	4,8	16	0,64	3,1	8,5

3.3.3 Jordprover

Koncentrationen av BTEX var betydligt högre i jordproverna tagna från kolonnerna med tillsats av bensin jämfört med kolonnerna med tillsats av E85 (figur 4 och 5).

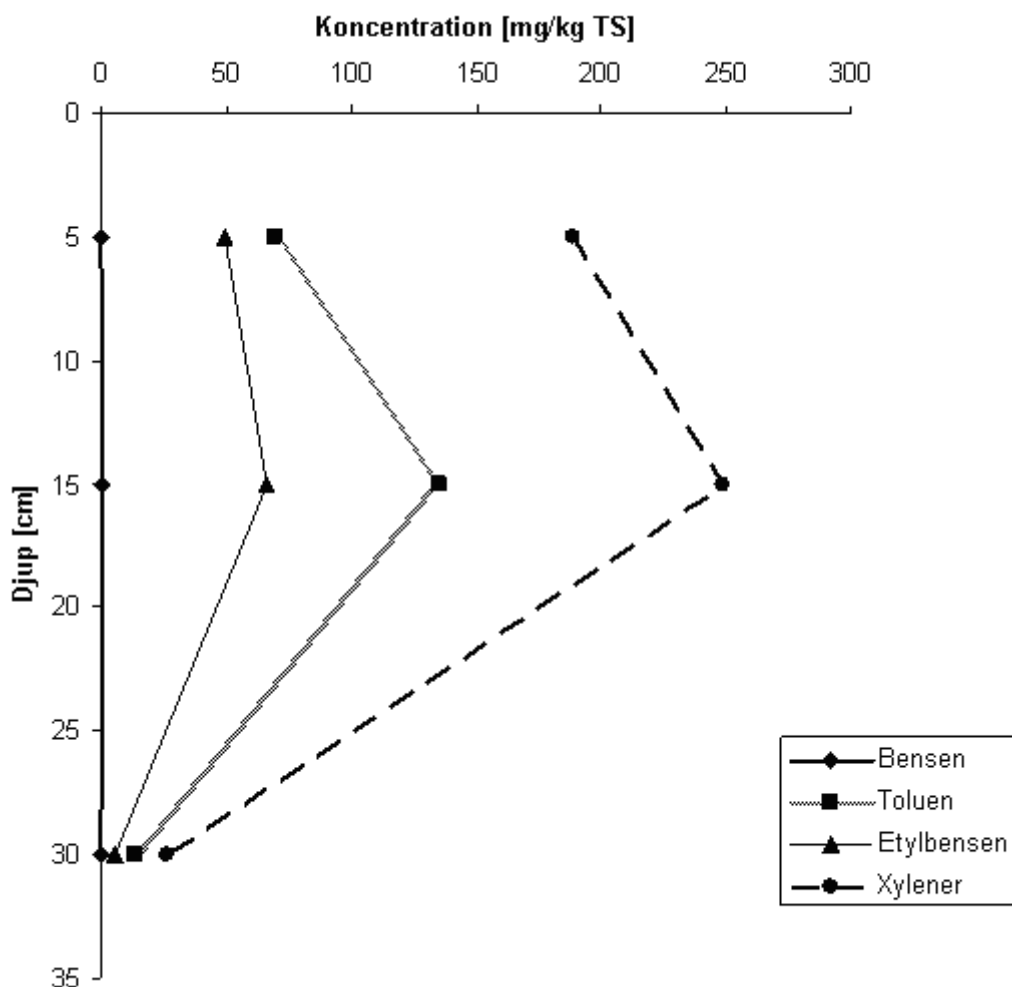
Analysresultaten tyder på att koncentrationen av etylbensen och xylener i jorden i kolonnerna med tillsats av E85 efter 21 dagar var högst längst upp i kolonnerna (figur 4).

Koncentrationen av xylener var vid samtliga provtagningsnivåer högre än koncentrationen av de andra ämnena. Toluenhalten var mycket låg, men detekterbar, vid 5 cm djup och under detektionsgränsen (0,1 mg/kg) vid 15 och 30 cm djup. Bensenhalten var under detektionsgränsen (0,005 mg/kg) vid alla tre provtagningsnivåerna.



Figur 4. Koncentration (mg/kg TS, medelvärde, n=2) av bensen, toluen, etylbensen och xylener i jordprover från två kolonner med tillsats av E85. Kolonnerna var packade med en lerig moränmo som tagits från jordskiktet med opåverkad mineraljord (1-2 meters djup). Vid dag 0 tillsattes 50 ml koncentrerad E85 till kolonnerna. Under försöket adderades vatten motsvarande en porvolym (ca 1,2 l) med ett tidsintervall på 1-6 dagar. Då försöket avslutades vid dag 21 togs jordprover på ca 15 g från 5, 15 och 30 centimeters djup mätt från kolonnens topp. Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var $\pm 20-30\%$.

Vidare tyder analysresultaten på att koncentrationen av toluen, etylbensen och xylener i jorden i kolonnerna med tillsats av bensin efter 21 dagar var högst på 15 cm djup (figur 5). Koncentrationen av xylener var vid samtliga provtagningsnivåer högre än koncentrationen av de andra ämnena. Bensenhalten var mycket låg, men detekterbar, vid alla tre provtagningsnivåerna.



Figur 5. Koncentration (mg/kg TS, medelvärde, n=2) av bensen, toluen, etylbensen och xylener i jordprover från två kolonner med tillsats av bensin. Kolonnerna var packade med en lerig moränmo som tagits från jordskiktet med opåverkad mineraljord (1-2 meters djup). Vid dag 0 tillsattes 50 ml koncentrerad 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol till kolonnerna. Under försöket adderades vatten motsvarande en porvolym (ca 1,2 l) med ett tidsintervall på 1-6 dagar. Då försöket avslutades vid dag 21 togs jordprover på ca 15 g från 5, 15 och 30 centimeters djup mätt från kolonnens topp. Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var \pm 20-30 %.

3.4 Nedbrytning och påverkan på respiration

3.4.1 Respirationsmätning

Respirationshastigheten var högre ju större volym E85 som tillsattes (figur 6). Dag 2 (figur 6) var respirationshastigheten signifikant högre i jordprover med en tillsats av 1,5 ml E85 ($p = 0,005$) eller 2 ml E85 ($p = 0,006$) jämfört med i jordprover med en tillsats av 1 ml E85. Dag 5 (figur 6) var respirationshastigheten signifikant högre i jordprover med en tillsats av 2 ml E85 jämfört med i jordprover med en tillsats av 1 ml E85 ($p = 0,005$) eller 1,5 ml E85 ($p = 0,005$).

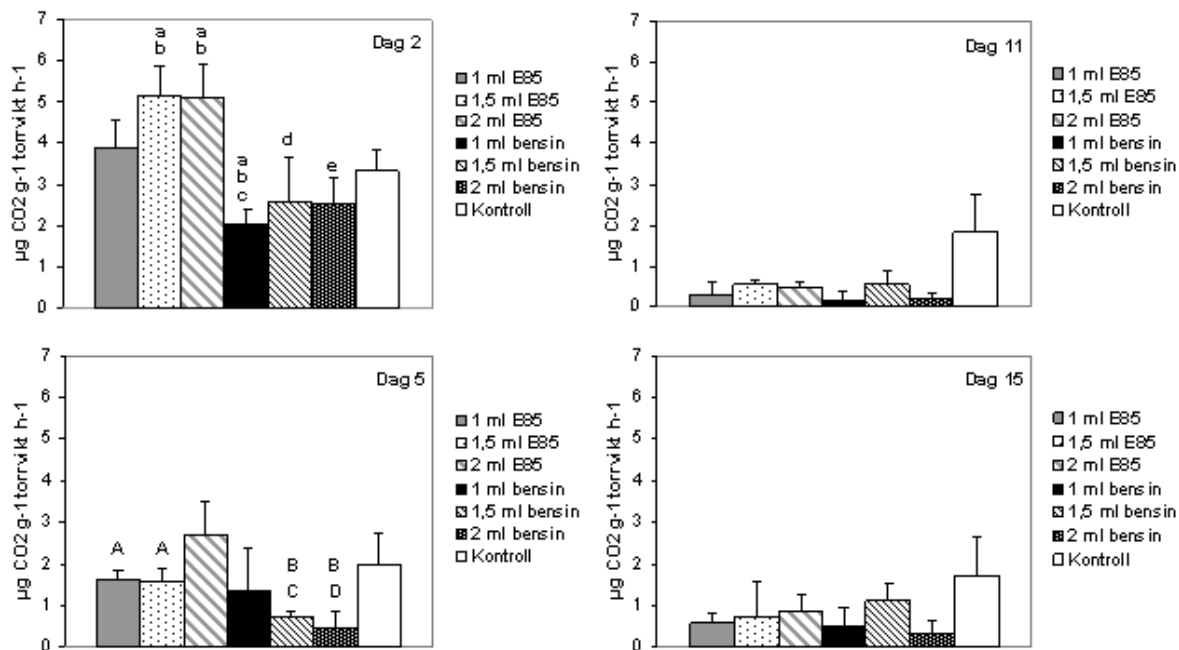
Respirationshastigheten avtog från dag 2 till dag 11 i samtliga jordprover med tillsats av E85, oavsett tillsatt bränslevolym (figur 6). I kontrollen minskade respirationshastigheten med tiden (figur 6). Minskningen var störst mellan dag 2 och 5, därefter planade minskningen ut och respirationshastigheten låg på en jämn nivå. Standardavvikelsen var stor för

kontrollproverna. Vid dag 2 (figur 6) var respirationshastigheten signifikant högre jämfört med kontrollen vid tillsats av 1,5 ml E85 ($p = 0,016$) eller 2 ml E85 ($p = 0,016$).

Vid tillsats av olika volymer 95-oktanig bensin sågs inget tydligt mönster gällande respirationshastigheterna. Vid tillsats av 1 ml bensin var respirationshastigheten dag 2 signifikant lägre jämfört med vid tillsats av 2 ml bensin ($p = 0,040$) (figur 6). Respirationshastigheten var signifikant lägre jämfört med kontrollen vid tillsats av 1 ml bensin vid dag 2 ($p = 0,016$) (figur 6) samt dag 5 vid tillsats av 1,5 ml bensin ($p = 0,028$) eller 2 ml bensin ($p = 0,028$) (figur 6).

Vid tillsats av 1 ml respektive 2 ml bensin avtog respirationshastigheten i jordproven från dag 2 till dag 11 (figur 6). Respirationshastigheten i jordproven med tillsats av 1,5 ml bensin uppvisade ett något annorlunda mönster.

Respirationshastigheten var generellt lägre vid tillsats av 95-oktanig bensin jämfört med tillsats av E85 (figur 6). Dag 2 var respirationshastigheten signifikant lägre i samtliga jordprover med en tillsats av bensin jämfört med jordprover med motsvarande tillsatt mängd E85 ($p = 0,0004$ för skillnaden mellan 1 ml bensin och 1 ml E85; $p = 0,002$ för skillnaden mellan 1,5 ml bensin och 1,5 ml E85; $p = 0,0004$ för skillnaden mellan 2 ml bensin och 2 ml E85). Dag 5 var respirationshastigheten signifikant lägre i jordprover med en tillsats av 1,5 ml bensin jämfört med tillsats av 1,5 ml E85 ($p = 0,005$) samt i jordprover med en tillsats av 2 ml bensin jämfört med tillsats av 2 ml E85 ($p = 0,005$).



Figur 6. Respirationshastighet ($\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ torrvikt h}^{-1}$, medelvärde \pm SD, $n=3$) vid dag 2, 5, 11 och 15. 1 ml, 1,5 ml eller 2 ml E85 respektive 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol tillsattes 20 g jord i en plastburk. Jorden var en lerig moränmo som tagits från jordskiktet med opåverkad mineraljord (1-2 meters djup). Plastburken placerades sedan i en lufttät respirationsburk tillsammans med två mindre plastburkar (25 ml) som vardera innehöll 4 ml 0,2 M natriumhydroxid. Natriumhydroxiden fungerade som koldioxidfälla. Respirationsburkarna inkuberades i mörker vid 20 °C. Plastburkarna med natriumhydroxid byttes ut dag 2, 5 och 11 och natriumhydroxiden analyserades med en Titralab 850 autotitrator.

a = signifikant skilt från 1 ml E85, b = signifikant skilt från kontroll, c = signifikant skilt från 2 ml bensin, d = signifikant skilt från 1,5 ml E85, e = signifikant skilt från 2 ml E85. A = signifikant skilt från 2 ml E85, B = signifikant skilt från kontroll, C = signifikant skilt från 1,5 ml E85, D = signifikant skilt från 2 ml E85. $p < 0,05$ (Mann-Whitney) i samtliga fall.

3.4.2 Nedbrytning av BTEX

Resultatet från analysen av nedbrytningen av BTEX i jord redovisas i tabell 6. Det skedde en snabb nedbrytning av BTEX både vid tillsats av bensin och E85 ($t_{1/2} < 1,5$ dagar i samtliga fall). Nedbrytningen gick i de flesta fall alltför snabbt för att halveringstiden skulle kunna beräknas utifrån de prover som tagits. I flera fall hade toluen, etylbensen samt xylener brutits ned till en koncentration som låg under detektionsgränsen innan första provet togs efter två dygn (detektionsgränsen för toluen, etylbensen och xylener var 0,1 mg/kg och för bensin 0,005 mg/kg).

Tabell 6. Halveringstid ($T_{1/2}$) av bensen, toluen, etylbensen och xylener samt andel (%) av respektive ämne som hade brutits ned efter två dygn i jordprover från nedbrytningsstudien. 1 ml, 1,5 ml eller 2 ml E85 respektive 95-oktanig bensin utan tillsats av etanol tillsattes 20 g jord i en plastburk (tre replikat per behandling). Den placerades sedan i en lufttät respirationsburk och inkuberades i mörker vid 20 °C. Ett jordprov på ca 3 g togs vid dag 0, 2, 5 och 15. Mätosäkerheten vid GC/MS-analysen var ± 20 -30 %. Halveringstider var endast möjligt att beräkna vid tillsats av 2 ml bensin, i övriga fall skedde nedbrytningen alltför snabbt för att halveringstiden skulle kunna beräknas utifrån de prover som tagits.

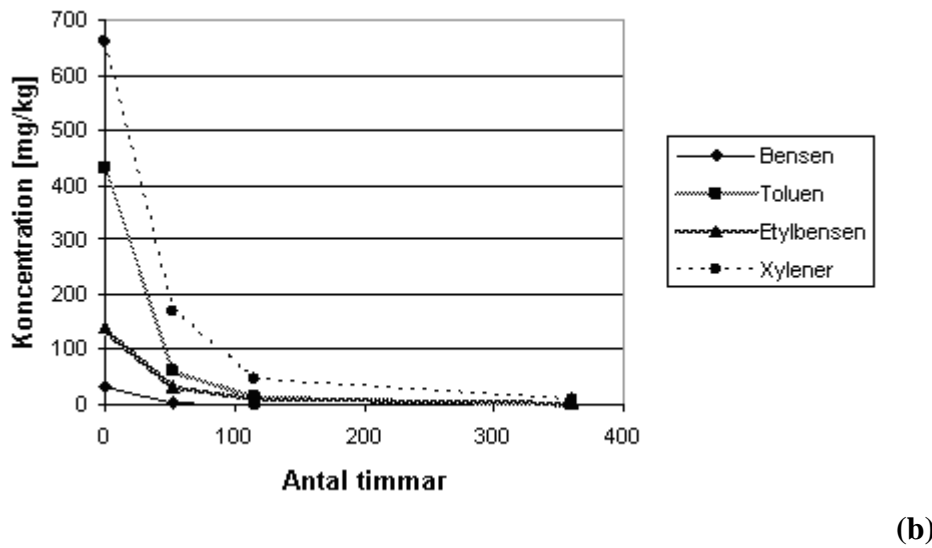
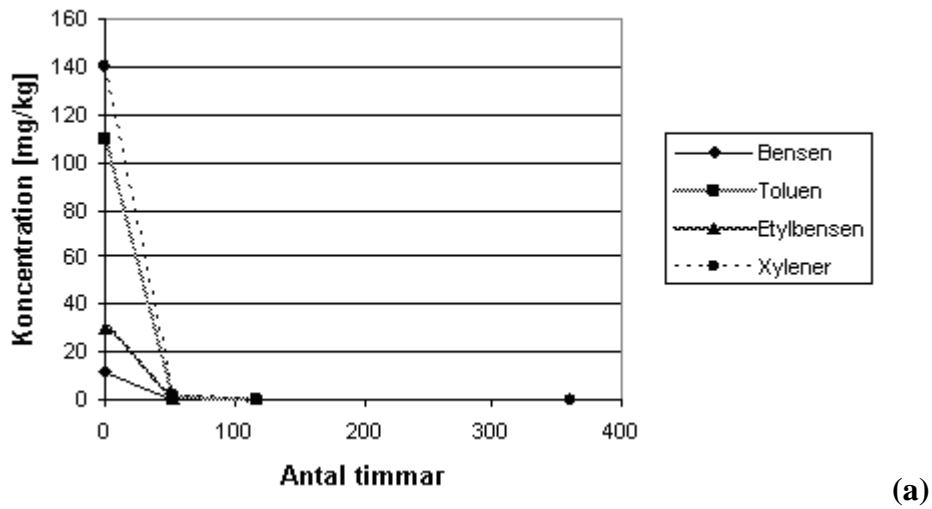
Ämne	Prov	$T_{1/2}$ (h)	% nedbrutet efter 2 dygn
Bensen	1 ml Bensin	-	99,8
	1 ml E85	-	98,3
	1,5 ml Bensin	-	>99,9
	1,5 ml E85	-	99,8
	2 ml Bensin	21,2	92,7
	2 ml E85	-	98,9
Toluen	1 ml Bensin	*	>99,9
	1 ml E85	*	>97,8
	1,5 ml Bensin	-	99,5
	1,5 ml E85	*	>99,5
	2 ml Bensin	24,0	85,3
	2 ml E85	-	98,4
Etylbensen	1 ml Bensin	*	>99,5
	1 ml E85	*	>86,8
	1,5 ml Bensin	-	99,2
	1,5 ml E85	*	>97,8
	2 ml Bensin	30,0	76,4
	2 ml E85	-	98,3
Xylener	1 ml Bensin	-	99,9
	1 ml E85	*	>97,3
	1,5 ml Bensin	-	99,1
	1,5 ml E85	*	>99,5
	2 ml Bensin	30,4	74,2
	2 ml E85	-	98,2

* Ämnet hade innan två dygn brutits ned till en koncentration som låg under detektionsgränsen (bensen: 0,005 mg/kg; toluen, etylbensen och xylener: 0,1 mg/kg).

- Beräkning ej möjlig

Resultaten tyder på att nedbrytningen av BTEX generellt gick något fortare vid tillsats av E85 jämfört med tillsats av bensin. Nedbrytningen av BTEX gick även generellt fortare vid tillsats av liten mängd ($\leq 1,5$ ml) av bränslena.

Skillnaden i nedbrytningshastighet syns vid jämförelse av nedbrytningen av BTEX vid tillsats av 2 ml E85 respektive 2 ml bensin (figur 7 och tabell 6). Vid tillsats av 1 ml respektive 1,5 ml bränsle gick nedbrytningen av ämnena i många fall så snabbt att en liknande jämförelse inte är möjlig.



Figur 7. Nedbrytningen i jord av BTEX vid tillsats av 2 ml E85 (a) respektive 2 ml bensin (b). Observera att koncentrationsaxlarna har olika skalor.

Vid tillsats av 2 ml bensin följde nedbrytningen av BTEX första ordningens kinetik och halveringstider gick att beräkna (tabell 6). Bensen hade den kortaste halveringstiden och xylener den längsta.

4 Diskussion

BTEX är flyktiga ämnen och det är troligt att det uppstod förluster i provtagningsystemet som användes vid provtagning av markvatten och lakvatten. Exempelvis kan betydande förluster ha skett vid pumpningen av markvattenproverna genom slangsystemet. Förförsök visade att förlusterna i provtagningsystemet av bensen respektive toluen uppskattningsvis var cirka 50 %. Med anledning av förlusterna i provtagningsystemet kan man anta att koncentrationen av BTEX i markvattnet som omgav sugcellerna och i lakvattnet var högre än vad analysresultaten visade. Utifrån de data som erhållits är det svårt att uppskatta hur stora förlusterna var och om de var lika stora oberoende av ämne. För att kompensera för förmodade förluster i slangsystemet var det meningen att en omräkningsfaktor skulle tas fram för varje ämne. Omräkningsfaktorerna skulle ha baserats på förluster vid provtagning via slangsystemet av en spädningsserie med olika koncentrationer av BTEX. Med hjälp av omräkningsfaktorerna skulle de uppmätta koncentrationerna i markvattenproverna ha räknas om till de faktiska koncentrationer proven hade innan de pumpades genom slangsystemet. På grund av förlust av data har det inte varit möjligt att beräkna omräkningsfaktorer.

Förlusten av data gör även att det tyvärr endast finns resultat från analysen av markvatten och lakvatten från en av E85-kolonnerna och en av bensinkolonnerna. Dessutom finns endast resultat från prover tagna vid försökets början och slut, vilket gör att det saknas uppgifter om koncentrationen av BTEX i markvattnet och lakvattnet vid övriga tidpunkter. Dag 3 och 4 ligger mycket nära varandra i tiden och därför motsvarar de ungefär samma tidpunkt i mätserien. Data från en tidpunkt närmare tidsintervallets mitt hade kunnat ge en bättre indikation på om koncentrationen av BTEX i markvattnet och lakvattnet från kolonnerna minskade med tiden eller om den fluktuerade. Utifrån de mätdata som erhållits kan man endast spekulera om detta.

Det är svårt att i laboratorieskala efterlikna förhållanden i fält. Utlakningsförsöket utfördes vid en högre temperatur än årsmedeltemperaturen i fält. Dessutom var det en onaturligt hög genomströmning av vatten genom kolonnerna. I naturen sker oftast en större nedbrytning av till exempel BTEX innan utlakningen sker än vad som kan simuleras i ett kolonnförsök.

4.1 Utlakningsförsök

På grund av alltför litet antal observationer och de förmodade förlusterna i provtagningsystemet är det inte meningsfullt att dra några alltför långtgående slutsatser från analysen av markvattenproverna och lakvattenproverna.

Utifrån de begränsade analysresultaten förefaller det dock som om BTEX lakades ut ur båda kolonnerna. Halterna av toluen, etylbensen och xylener (TEX) i lakvattnet från E85-kolonnen var till en början högre än halterna av TEX i lakvattnet från bensinkolonnen, trots att E85 innehåller betydligt mindre TEX än bensen. Däremot lakades större mängder av bensen ut ur bensinkolonnen jämfört med E85-kolonnen. Skillnaden av utlakade mängder bensen var minst i början av försöket.

Det förefaller således som om närvaron av etanol påskyndar utlakningen av TEX. Detta skulle kunna förklaras av att etanolen i E85-kolonnen haft en kooperativ lösningseffekt på TEX vilket gjort att dessa ämnen lättare löst sig i vattenfasen och därmed lakats ut i större utsträckning än i bensinkolonnen. Resultatet överensstämmer med en studie utförd av Adam *et al.* (2002) som undersökte rörelsen hos dieselbränsle, med eller utan etanoltillsats, i en 1 m

hög jordkolonn. De fann att tillsats av 5 % etanol till dieselbränslet ökade den neråtgående transporten av komponenter i dieselbränslet i en jordkolonn.

Adam *et al.* (2002) studerade även etanols påverkan på rörelsen hos enskilda aromatiska kolväten i små jordkolonner (100 mm långa och med en innerdiameter av 4,6 mm). De fann att en etanolkoncentration på över 10 % i vattenfasen behövdes för att någon transport av aromatiska kolväten i jorden skulle ske. När etanolkoncentrationen var 25 % i vattenfasen minskade jordens förmåga att hålla kvar majoriteten av de studerade kolvätena. Vid 50 % etanol i vattenfasen rörde sig alla aromatiska kolväten obehindrat genom jordkolonnen. Liknande resultat har även visats av Alvarez *et al.* (2001) som vid kolonnstudier fann att en etanolkoncentration på 50 % i vattenfasen gav en signifikant ökning av transporten av bensen, toluen och *o*-xylen genom kolonnen.

Analysen av jordproverna ger en ögonblicksbild 21 dagar efter att bränslena tillsattes och försöket startade. Därför kan man endast spekulera om vad som skett innan jordproverna togs. Efter 21 dagar återfanns toluen, etylbensen och xylener längre ned och i högre koncentrationer i bensinkolonnen jämfört med E85-kolonnen. Bensenhalten var mycket låg i båda kolonnerna. I enlighet med tidigare uppmätta K_{OC} -värden för bensen tyder analysen av jordproverna och lakvattnet på att bensen hade hög rörlighet i jordkolonnerna, oavsett vilket av bränslena som tillsattes.

Reckhorn *et al.* (2001) utförde en studie av rörligheten av 12 bensinkolväten vid tillsats av bensin eller etanolblandad bensin till en kolonn. Ämnena försvann från både kolonnen med bensin och kolonnen med etanolblandad bensin i fallande ordning beroende av deras vattenlöslighet. Bensen var det första ämnet som lakades ut ur de båda kolonnerna. Ett liknande mönster som i studien som utfördes av Reckhorn *et al.* (2001) kan anas i E85-kolonnen. Det förefaller som om de mer vattenlösliga ämnena bensen och toluen var rörligare i E85-kolonnen än de mindre vattenlösliga ämnena etylbensen och xylener.

Analysresultaten antyder att koncentrationen av bensen och toluen i markvattnet vid 15 cm djup i E85-kolonnen minskade med tiden. Detta överrensstämmer med resultaten från lakvattensproverna från samma kolonn som antyder att koncentrationen av BTEX i lakvattnet minskade med tiden. I motsats till detta förefaller det som om koncentrationen av BTEX i markvattnet vid 15 cm djup i bensinkolonnen ökade med tiden och att koncentrationen i lakvattnet från samma kolonn fluktuerade över tid.

En förklaring till skillnaderna mellan de olika kolonnerna kan vara att BTEX rörde sig fortare genom kolonnen i närvaro av etanol. Det kan ha lett till att merparten bensen och toluen i E85-kolonnen redan hade passerat provtagningsnivån vid 15 cm djup när första markvattenprovet togs. I bensinkolonnen kan koncentrationsökningen i markvattnet vid 15 cm djup bero på att det tog tid innan BTEX hade rört sig ner till denna provtagningsnivå.

4.2 Nedbrytning och påverkan på respiration

Det skedde generellt en snabb nedbrytning av BTEX både vid tillsats av bensin och E85 ($t_{1/2} < 1,5$ dagar i samtliga fall) trots att den mikrobiella biomassan i jorden som användes i försöken var relativt låg (SIR_{medel} var $0,853 \pm 0,113 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} och basrespirationen var $0,170 \pm 0,039 \mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1}). SIR för jorden motsvarade ungefär SIR som uppmätts i olika typer av banvallar (Cederlund 2006). Banvallar har i allmänhet låg mikrobiell biomassa jämfört med jordbruksmark (Cederlund, muntlig information). Som jämförelse kan nämnas att

i jordprov från långtidsgödslingsförsök i fält i Uppsala, som utförs av Sveriges Lantbruksuniversitet, har SIR uppmätts till 8,4-28,4 $\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} beroende på vad jorden gödslats med (Enwall *et al.* 2007). I jordbruksmark har SIR uppmätts till 15,5 $\mu\text{g CO}_2 \text{ g}^{-1}$ torrsvikt h^{-1} (Enwall *et al.* 2007).

Utifrån resultaten från nedbrytningsstudien går det inte att avgöra om etanol och BTEX bröts ned i någon särskild ordning eller om de bröts ned parallellt. Det förefaller som om nedbrytningen av BTEX generellt hämmades vid tillsats av den största mängden (2 ml) av bränslena. Inhiberingen av den biologiska nedbrytningen av BTEX var dock inte lika tydlig vid tillsats av 2 ml E85 som vid tillsats av 2 ml bensin. Vid hög bränslekoncentration i jorden kan den biologiska nedbrytningen av BTEX hämmas på grund av brist på elektronacceptorer såsom upplöst syre, nitrat och sulfat (Takahata *et al.* 2006) Det är dock inte så troligt att det rådde brist på alla elektronacceptorer i försöket. Miljön i respirationsburkarna kan inte antas blivit anaerob eftersom jordproverna var så pass små och locken på burkarna öppnades vid varje provtagningstillfälle. Däremot kan den biologiska nedbrytningen ha hämmats på grund av att den höga bränslekoncentrationen haft en toxisk effekt på mikroorganismerna, framförallt vid tillsats av bensin.

Resultaten antyder även att nedbrytningen av BTEX överlag gick något fortare vid tillsats av E85 jämfört med vid tillsats av bensin. Detta resultat är inte i linje med resultat från studier utförda av exempelvis Corseuil *et al.* (1998), Powers *et al.* (2001a), Alvarez *et al.* (2001), Deeb *et al.* (2002) och Niven (2005) som visade att nedbrytningen av BTEX inhiberades i närvaro av etanol. Detta skulle kunna förklaras av att resultatet från nedbrytningsstudien är baserat på en relativt liten mängd data. Dessutom är många av värdena osäkra eftersom toluen, etylbensen och xylener i flera fall hade brutits ned till en koncentration som låg under detektionsgränsen innan första provet togs.

Respirationshastigheten ger en indikation på hur mikroorganismerna påverkas av tillsatsen av bränsle till jorden och därmed hur omsättningen av organiskt material i jorden påverkas. Respirationshastigheten stimulerades till en början av tillsats av E85 och hämmades möjligen till en början av tillsats av bensin. Respirationshastigheten var troligen generellt lägre vid tillsats av bensin jämfört med tillsats av E85, vilket även det tyder på att mikroorganismerna i jorden påverkades negativt av tillsats av bensin.

Respirationshastigheten ökade med ökad tillsats av E85. Förmodligen beror detta på att etanolen i bränslet fungerar som en kolkälla för mikroorganismerna (Powers *et al.* 2001a, Powers & McDowell 2001, Lovanh *et al.* 2002). En alternativ förklaring kan vara att något i bränslet löser upp det organiska materialet i jorden vilket i sin tur fungerar som en kolkälla. Att respirationshastigheten avtog med tiden vid tillsats av E85, oavsett tillsatt bränslevolym, berodde troligen på att mängden bränsle i jorden och därmed kolkällan förbrukades.

Vid tillsats av olika volymer bensin sågs däremot inget tydligt mönster gällande respirationshastigheten. Dock var respirationshastigheten vid dag 2 beroende av tillsatt bensinvolym, men tvärtom förväntan var respirationshastigheten lägre vid liten än vid stor tillsats av bensin. Överlag var variationen i mätresultat relativt stor, speciellt för kontrollen, vilket tyder på att mätvärdena är osäkra. För att undvika osäkra mätvärden bör framtida studier innehålla fler replikat.

Nedbrytningshastigheten av BTEX i jord vid tillsats av E85 samt vid tillsats av liten (<1,5 ml) volym bensin är så pass hög att det i framtida studier är nödvändigt att provtagningen sker

med korta tidsintervall och/eller att försök görs med stor tillsatt volym av bränslena. Detta skulle möjliggöra beräkningar av halveringstider vid samtliga behandlingar och därmed ge möjlighet till bättre bedömning av skillnader i nedbrytningshastighet. Vid tillsats av stor volym bränsle finns det dock en risk att nedbrytningen initialt hämmas av en eventuell toxisk effekt på mikroorganismerna. Vidare skulle det även vara intressant att utföra liknande försök i anaerob miljö.

En jämförelse av nedbrytningsstudien och utlakningsförsöket visar att nedbrytningsförsöket med tillsats av 2 ml bränsle hade en bränslekoncentration i jorden som väl motsvarade koncentrationen i kolonnernas ytskikt (0,09 ml bränsle/g torrsubstans). Nedbrytningshastigheten av BTEX i kolonnerna var inte lika hög som nedbrytningshastigheten i nedbrytningsförsöket. Nedbrytning av BTEX går långsammare under anaeroba förhållanden. Troligen var inte miljön anaerob i nedbrytningsförsöket, däremot kan möjligen nedbrytningen av det tillsatta bränslet i toppen av jordkolonnerna ha konsumerat syre i en sådan utsträckning att det lett till att det uppstått anaerobi i kolonnernas nedre delar. En generell brist på syre i kolonnerna kan även ha uppstått på grund av att jorden var mättad med vatten, det vill säga vattenhalten var nära 100 % av WHC. Som tidigare nämnts anses en vattenhalt mellan 30-80 % av jordens maximala WHC vara optimalt för biologisk nedbrytning av föroreningar i jord. Till skillnad från kolonnstudien så justerades kontinuerligt vattenhalten i jordproven i nedbrytningsförsöket till 60 % av WHC. Detta kan ha lett till skillnader i nedbrytningshastighet av BTEX i de olika försöken. Den stora skillnaden i volym jord som användes i försöken kan också ha lett till skillnader i nedbrytningshastighet av BTEX. I nedbrytningsförsöket användes små jordprover i små brukar som öppnades med jämna mellanrum. Luftningen av jordproverna var därmed bättre än av jorden i jordkolonnerna.

4.3 Sammanfattande kommentarer

På grund av det begränsade datamaterialet är det svårt att dra några säkra övergripande slutsatser utifrån de utförda försöken. Det förefaller dock som om närvaron av etanol ökar såväl lakningen av TEX som jordens respirationshastighet.

Risken för att grundvattnet kontamineras av TEX är således högre vid spill av E85 än vid spill av bensin. Etanol förefaller underlätta utlakningen av TEX, men å andra sidan innehåller bensin betydligt högre halter av TEX än vad E85 gör. Utlakningsförsöket visade att vid tillsats av samma volym bränsle var halterna av TEX i lakvattnet från E85-kolonnen till en början högre än halterna av TEX i lakvattnet från bensinkolonnen, trots att E85 innehåller betydligt mindre TEX än bensin. Inga studier som redovisar jämförelser i absoluta tal mellan lika stora spill av E85 och bensin har hittats i befintlig litteratur.

Ytterligare forskning kring etanols effekter på mobilitet och nedbrytning i jord under markytan behövs för att möjliggöra bättre riskbedömningar av läckage av E85. Framförallt behövs fler studier på bränslen med högt etanolinnehåll. Fältstudier av kontrollerade utsläpp i större skala i naturliga miljöer skulle kunna ge tydligare indikationer på vad som sker vid läckage av E85 under markytan. Detta skulle kunna kombineras med försök i laboratorieskala med metoder som är utvecklade för analys av flyktiga ämnen. En jämförelse av uppmätta koncentrationer av BTEX i grundvatten innan och efter introduktionen av etanolblandade bränslen skulle kunna bidra med värdefull information. Förbättrad modellering med få förenklade antaganden och en modell som tar hänsyn till många faktorer skulle även det kunna ge värdefulla indikationer.

Referenser

- Adam, G., Gamoh, K., Morris, D.G. & Duncan H. 2002. Effect of alcohol addition on the movement of petroleum hydrocarbon fuels in soil. *The Science of the Total Environment* 286: 15-25.
- Alvarez, P.J.J, Ruiz-Aguilar, G.M.L., Fernandez-Sanchez, J.M., Kim, D., Beller, H.R. & Kane, S.R. 2001. Effects of ethanol and MTBE on BTEX biodegradation in the saturated zone: kinetic studies. In *Environmental assessment of the use of ethanol as a fuel oxygenate: subsurface fate and transport of gasoline containing ethanol. Report to the California State Water Resources Control Board*. Chapter 3. Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, CA. UCRL-AR-145380.
- Andersson, L. 2005. Biologisk sanering av petroleumkontaminerad jord - en undersökning av alifatnedbrytning vid varierande förhållanden. Examensarbete vid Institutionen för mikrobiologi, Sveriges Lantbruksuniversitet. ISRN: SLU-MIKRO-EX--05/9--SE Serie: Master Thesis/Swedish University of Agricultural Sciences. Department of Microbiology, 1101-8151; 2005:9
- Arey, J.S. & Gschwend, P.M. 2005. A physical-chemical screening model for anticipating widespread contamination of community water supply wells by gasoline constituents. *Journal of Contaminant Hydrology* 76: 109-138.
- Castillo, M.d.P. & Torstensson, L. 2007. Effect of biobed composition, moisture, and temperature on the degradation of pesticides. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 55: 5725-5733.
- Cederlund, H. 2006. The Microbiology of Railway Tracks: Towards a Rational Use of Herbicides on Swedish Railways. *Acta Universitatis Agriculturae Suecia* 2006:44 ISBN 91-576-7093-5. Doktorsavhandling. <http://diss-epsilon.slu.se/archive/00001096/01/Cederlund06.pdf>
- Corseuil, H.X., Hunt, C. dos Santos Ferreira, R. & Alvarez, P.J.J. 1998. The influence of the gasoline oxygenate ethanol on aerobic and anaerobic BTX biodegradation. *Water Research* 32(7): 2065-2072.
- Corseuil, H.X., Kaipper, B.I.A. & Fernandes, M. 2004. Cosolvency effect in subsurface systems contaminated with petroleum hydrocarbons and ethanol. *Water Research* 38: 1449-1456.
- Da Silva, M.L.B. & Alvarez, P.J.J. 2002. Effects of ethanol versus MTBE on benzene, toluene, ethylbenzene and xylene natural attenuation in aquifer columns. *Journal of Environmental Engineering* 128(9): 862-867.
- Deeb, R.A., Sharp, J.O., Stocking, A., McDonald, S., West, K.A., Laugier, M., Alvarez, P.J.J., Kavanaugh, M.C. & Alvarez-Cohen, L. 2002. Impact of ethanol on benzene plume lengths: microbial and modelling studies. *Journal of Environmental Engineering* 128(9): 868-875.
- Duncan, J. 2002. Blending ethanol into petrol – an overview. Report prepared for Energy Efficiency and Conservation Authority in New Zealand. <http://www.eeca.govt.nz/eeca-library/renewable-energy/biofuels/review/blending-ethanol-into-petrol-overview-02.pdf>
- Enwall, K., Nyberg, K., Cederlund, H., Bertilsson, S., Stenström, J. & Hallin, S. 2007. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil. *Soil Biology & Biochemistry* 39(1): 106-115.
- Groves, F.R. 1988. Effect of cosolvents on the solubility of hydrocarbons in water. *Environmental Science and Technology* 22(3): 282-286.
- Heermann, S.E. & Powers, S.E. 1998. Modeling the partition of BTEX in water-reformulated gasoline systems containing ethanol. *Journal of Contaminant Hydrology* 34: 315-341.
- Lee, K.Y. 2007. Phase partitioning modeling of ethanol, isopropanol, and methanol with BTEX compounds in water. *Environmental Pollution*, in press, doi:10.1016/j.envpol.2007.10.001

- Lee, K.Y. 2008. Viscosity of high-alcohol content fuel blends with water: Subsurface contaminant transport implications. *Journal of Hazardous Materials*, in press, doi:10.1016/j.jhazmat.2008.02.088
- Lovanh, N., Hunt, C.S. & Alvarez, P.J.J. 2002. Effect of ethanol on BTEX biodegradation kinetics: aerobic continuous culture experiments. *Water Research* 36: 3739-3746.
- McDowell, C.J & Powers, S.E. 2003. Mechanisms affecting the infiltration and distribution of ethanol-blended gasoline in the vadose zone. *Environmental Science and Technology* 37: 1803-1810.
- McDowell, C.J., Buscheck, T. & Powers, S.E. 2003. Behavior of gasoline pools following a denatured ethanol spill. *Ground Water* 41(6): 746-757.
- Miller, M.N., Stratton, G.W. & Murray, G. 2004. Effects of soil moisture and aeration on the biodegradation of pentachlorophenol contaminated soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 72: 101-108.
- Naturvårdsverket/Svenska Petroleum Institutet. 1998. Förslag till riktvärden för förorenade bensinstationer. Naturvårdsverket rapport 4889.
<http://www.naturvardsverket.se/Documents/publikationer/620-4889-9.pdf>
- Niven, R.K. 2005. Ethanol in gasoline: environmental impacts and sustainability review article. *Renewable & sustainable energy reviews* 9: 535-555.
- Odlare, M. 2007. Biogödsel och kompost - en resurs för jordbruket. Resultat från ett fältförsök. Forskningsrapport MDH Ist 2007:1
<http://mdh.diva-portal.org/smash/record.jsf?pid=diva2:120610>
- Powers, S.E., Hunt, C.S., Heermann, S.E., Corseuil, H.X., Rice, D & Alvarez, P.J.J. 2001a. The transport and fate of ethanol and BTEX in groundwater contaminated by gasoline. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 31(1): 79-123.
- Powers, S.E., Alvarez, P.J., & Rice, D.W. 2001b. Increased use of ethanol in gasoline and potential ground water impacts. In *Environmental assessment of the use of ethanol as a fuel oxygenate: subsurface fate and transport of gasoline containing ethanol. Report to the California State Water Resources Control Board*. Chapter 1. Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, CA. UCRL-AR-145380.
- Powers, S.E. & McDowell, C.J. 2001. Infiltration and distribution of ethanol and ethanol-blended gasoline in the vadose zone. In *Environmental assessment of the use of ethanol as a fuel oxygenate: subsurface fate and transport of gasoline containing ethanol. Report to the California State Water Resources Control Board*. Chapter 2. Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, CA. UCRL-AR-145380.
- Reckhorn, S.B.F., Zuquette, L.V. & Grathwohl, P. 2001. Experimental investigations of oxygenated gasoline dissolution. *Journal of Environmental Engineering* 127(3): 208-216.
- Rice, D.W. & Depue, R.T (Eds). 2001. Environmental assessment of the use of ethanol as a fuel oxygenate: subsurface fate and transport of gasoline containing ethanol. Report to the California State Water Resources Control Board. Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, CA. UCRL-AR-145380, Chapter 1-6.
- Shih, T., Rong, Y., Harmon, T. & Suffet, M. 2004. Evaluation of the impact of fuel hydrocarbons and oxygenates on groundwater resources. *Environmental Science & Technology* 38 (1): 42-48.
- Stenström, J., Svensson, K. & Johansson, M. 2001. Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 36: 93-104.
- Takahata, Y., Kasai, Y., Hoaki, T. & Watanabe, K. 2006. Rapid intrinsic biodegradation of benzene, toluene, and xylenes at the boundary of a gasoline-contaminated plume under natural attenuation. *Applied Microbiology and Biotechnology* 73(3): 713-722.
- Williams, P.R.D., Cushing, C.A. & Sheehan, P.J. 2003. Data available for evaluating the risk and benefits of MTBE and ethanol as alternative fuel oxygenates. *Risk Analysis* 23 (5): 1085-1115.

Österreicher-Cuncha, P., Vargas, E.d.A., Guimarães, J.R.D., de Campos, T.M.P., Nunes, C.M.F., Costa, A., dos Santos Antunes, F., da Silva, M.I.P. & Mano, D.M. 2004. Evaluation of bioventing on a gasoline-ethanol contaminated undisturbed residual soil. *Journal of Hazardous Materials* 110: 63-76.

Elektroniska källor

ECOTOX, databas. 2008-04-20
www.epa.gov/ecotox

European chemical Substances Information System (ESIS) – IUCLID Chemical Data Sheets 2000. 2008-04-20
<http://ecb.jrc.it/esis/index.php?PGM=dat>

European Union Risk Assessment Report, Toluene, vol 30, 2003. 2008-04-20
http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Existing-Chemicals/RISK_ASSESSMENT/REPORT/toluenereport032.pdf

Hazardous Substances Data Bank (HSDB). 2008-04-20
<http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB>

Kemikalieinspektionens hemsida. 2008-05-02
Kemikalieinspektionens föreskrifter (KIFS 2005:5) med EG-harmoniserad bindande klassificering och märkning
http://www.kemi.se/templates/Page_____2910.aspx

Preems hemsida a. 2008-04-20
Produktinformation Bensin 95 E5 – 95 oktan Miljöklass 1
<http://ipreem.preem.se/sm/prod3NySite.nsf/vProductsByLinkID/528?OpenDocument>

Preems hemsida b. 2008-04-20
Produktinformation Etanol E85
<http://ipreem.preem.se/sm/prod3NySite.nsf/vProductsByLinkID/765?OpenDocument>

Svenska Petroleum Institutets hemsida a. 2008-03-22.
95 oktanig bensin med tillsats av etanol.
<http://www.spi.se/produkter.asp?art=31>

Svenska Petroleum Institutets hemsida b. 2008-03-22.
E85 vinterkvalitet.
<http://www.spi.se/produkter.asp?art=61>

U.S. Geological Survey, hemsida. 2008-03-02
<http://geology.er.usgs.gov/eespteam/brass/ground/groundintro.htm>

Muntlig information

Cederlund, H., forskare vid Institutionen för mikrobiologi, Sveriges Lantbruksuniversitet, muntlig information.
2008-02