

UNIVERSITETET FOR MILJØ- OG BIOVITENSKAP



Forord

Denne masteroppgaven var en del av min mastergrad innen studieprogrammet Miljø og naturressurser med studieretning Miljøgifter og økotoksikologi ved Institutt for Plante- og Miljøvitenskap ved Universitetet for Miljø- og Biovitenskap på Ås. Denne oppgaven telte 60 studiepoeng.

Jeg vil først og fremst rette er stor takk til min veileder 1. amanuensis Elin L. Gjengedal for mange uvurderlige veiledningstimer og rettleiding gjennom skriveprosessen. Jeg vil også takke overingeniør ved IPM Karl Andreas Jensen og avdelingsingeniør ved IPM Solfrid Lohne for stor hjelp til laboratoriearbeidet i denne oppgaven. Uten dere tre hadde ikke denne oppgaven kommet noen vei. Så ønsker jeg også å takke stipendiat ved IPM Anicke Brandt-Kjelsen for god hjelp med HPLC. Til slutt vil jeg takke 1. amanuensis Michael Heim, professor Tore Krogstad, Kurt Johansen, Elin Ørmen og Irene E. Dahl.

Takk også til Mari Strømme for godt samarbeid og hjelp til vanning av plantene!

Rune Lian

22.5.2012 Ås

Sammendrag

Utgangspunktet for denne oppgaven var revegetering av deponi for gruveavgang ved Titania A/S. Massene i dette deponiet er lite egnet som vekstmedium for planter og nikkelløst ut fra avgangsmassene. Denne oppgaven undersøkte effekter ved tilsetningen av avløpsslam og biokull fra ubehandlet (rent biokull) og trykkimpregnert trevirke med kobber (Cu), krom (Cr) og arsen (As) (CCA-biokull) som potensielle jordforbedringsmidler i gruveavgang. Planteopptak og binding i vekstmediet av kobber, krom, arsen og nikkelløst samt produksjon av overjordisk plantemateriale ble undersøkt i et pottforsøk i et klimaregulert rom med italiensk raigras (*Lolium multiflorum* var. Barpluto).

Frø ble sådd i vekstmedier med gruveavgang og varierende forhold av rent biokull og CCA-biokull og med og uten avløpsslam. Bindingen av kobber, krom, arsen og nikkelløst ble undersøkt ved sekvensiell ekstraksjon av vekstmediet. Spesieringsanalyse av arsen ble utført ved bruk av anionbyttekromatografi med HPLC-ICP-MS.

Produksjonen av overjordisk plantemateriale ble sterkt redusert uten tilsetning av avløpsslam i vekstmediet. Ved varierende innhold av CCA-biokull ble det kun målt små uregelmessige endringer på produksjon av biomasse. Fravær av biokull førte til en svak trend av lavere produksjon av plantemateriale. Den høyeste konsentrasjonen av kobber, arsen og nikkelløst i overjordisk plantemateriale ble funnet ved fravær av avløpsslam. Med økende andel CCA-biokull økte også konsentrasjonen av kobber og arsen i plantematerialet. Konsentrasjonen av krom i overjordisk plantemateriale ble i svært liten grad påvirket av de ulike vekstmediene.

Kationer av kobber, krom og nikkelløst viste at omtrent henholdsvis 0,8, 0,3 og 0,9 % kunne være lett plantetilgjengelig som utbyttbare kationer. Andelen vannløselige anioner av arsen var 0,5 %. Ved nedbrytning av organisk materiale kan store deler av kobber (47,6 %) og nikkelløst (34,6 %) potensielt løses ut. pH i vekstmediene var stabilt og i underkant av 8, noe som kan føre til at jern- og aluminiumassosiert arsen (4,4 %) kan løses ut over tid. Spesiering av arsen i planteekstrakter antydte at arsenitt forekom i noe større grad enn arsenat. Vannløselig arsen forekom i hovedsak som arsenitt og noe arsenat mens overflatebunnet arsen forekom kun som arsenat.

Som jordforbedringsmiddel antydte avløpsslam å kunne gi god effekt på produksjonen av overjordisk biomasse og redusert konsentrasjonen av kobber, arsen og nikkelløst. Fravær av biokull viste svært liten effekt på produksjonen av overjordisk biomasse.

Abstract

The basis for this master thesis was reclaiming of a landfill for mine tailings from the mining company Titania A/S. These mine tailings have poor properties as growth medium for plants and nickel (Ni) is released from these deposits. This master thesis examined the effects of adding sewage sludge and biochar from untreated (clean biochar) and copper (Cu), chromium (Cr) and arsenic (As) impregnated wood (CCA-biochar) as potential soil amendments to mine tailings. The plant uptake and binding to the growth medium of copper, chromium and arsenic as well as production of above surface biomass was examined in a pot trial in a climate controlled room using Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* var. Barpluto).

Seeds were sown in growth mediums with mine tailings and varying contents of clean biochar and CCA-biochar and with or without sewage sludge. The binding of copper, chromium, arsenic and nickel was examined through sequential extraction of the growth medium. Speciation of arsenic was done by anion exchange chromatography using HPLC-ICP-MS.

The production of above surface biomass was strongly reduced when sewage sludge was lacking in the growth medium. With varying CCA-biochar content, only small irregular changes in the production of biomass were measured. Absence of biochar showed only a weak trend of less biomass production. The highest biomass concentration of copper, arsenic and nickel in above surface biomass was found when sewage sludge was lacking. With increasing content of CCA-biochar, the biomass concentration of copper, arsenic and nickel also increased. The above surface biomass concentration of chromium showed only slight affects to variations in the growth medium.

Cations of copper, chromium and nickel showed that about 0.8, 0.3 and 0.9 % respectively could be easily plant available as exchangeable cations. Water soluble anions of arsenic were 0.5 %. By degradation of organic matter, large amounts of copper (47.6 %) and nickel (34.6 %) could potentially be released. The pH in the growth mediums were stable just below 8 which could lead to the release of iron and aluminium associated arsenic (4.4 %) over time. The speciation of arsenic in plant extracts implied that arsenite was present in higher concentration than arsenate. Water soluble arsenic was mainly present as arsenite and smaller amounts of arsenate while surface bound arsenic was only present as arsenate.

As soil amendment, sewage sludge indicated advantageous results in the production of above surface biomass and concentration of copper, arsenic and nickel. Absence of biochar showed only a small negative effect on the production of above surface biomass.

Forkortelser og ordforklaring

Avgangsmasser	I denne sammenheng brukt om restmateriale etter utvinning av mineraler fra malm. Knust finkornet materiale mindre enn 2 mm
CCA	Kobber, krom og arsen. Brukes i denne sammenheng om trevirke trykkimpregnert med salter av kobber, krom og arsen.
CCA-biokull	I denne sammenhengen brukt om biokull fra trevirke som er behandlet med impregneringssalter av kobber, krom og arsen
CEC	Kationbyttekapasitet
HPLC	Høytrykks-væske-kromatografi
KLIF	Klima- og forurensningsdirektoratet
ICP	Induktivt koblet plasma
MS	Massespektrometri
OES	Optisk emisjonsspektroskopi
Overjordisk biomasse	I denne sammenheng brukt om den delen av gresset som var over vekstmediet og ble høstet
Rent biokull	I denne sammenhengen brukt om biokull fra trevirke som ikke er behandlet med impregneringssalter av kobber, krom og arsen
Tallolje	Tallolje dannes som et biprodukt under celluloseproduksjon fra furu

Innhold

1 Innledning.....	1
2 Teori	5
2.1 Gruveavgangen fra Titania A/S	5
2.1.1 Produksjonen ved Titania A/S	5
2.1.2 Avgangens kjemiske egenskaper	5
2.2 Biokull	6
2.3 Pyrolyse og biokullproduksjon	7
2.3.1 Pyrolyse av trevirke	7
2.3.2 Mikrobølgepyrolyse	9
2.4 Avløpsslam i jord.....	10
2.5 Forsøksart	11
2.6 Relevante spormetaller	11
2.6.1 Arsen	11
2.6.2 Kobber.....	13
2.6.3 Krom	15
2.6.4 Nikkel.....	16
2.7 Prøveopparbeiding med UltraClave®	17
2.8 Induktivt koblet plasma massespektroskopi (ICP-MS)	18
2.9 Induktivt koblet plasma optisk emisjonsspektroskopi (ICP-OES).....	21
2.10 High performance liquid chromatography (HPLC).....	23
2.11 Ekstraksjon av jord og plantemateriale for fraksjonering og speciering	24
2.11.1 Sekvensiell ekstraksjon av jord for fraksjonering av kobber, krom, arsen og nikkel	24
2.11.2 Ekstraksjon av kationer.....	25
2.11.3 Ekstraksjon av anioner	26
2.11.4 Ekstraksjon og prøvepreparering for arsenspeciering med HPLC-ICP-MS.....	27
3 Metode.....	29
3.1 Tillaging av vekstmedier	32
3.1.1 Biokull.....	32
3.1.2 Avgangsmateriale fra Titania A/S	33
3.1.3 Avløpsslam	34
3.1.4 Tillaging av vekstmedier.....	34
3.2 Vekstforsøk.....	35

3.2.1 Såing	35
3.2.2 Gjødsling.....	35
3.2.3 Vanning.....	35
3.2.4 Høsting	35
3.2.5 pH i vekstmediene.....	36
3.3 Ekstraksjon	36
3.3.1 Sekvensiell ekstraksjon av kationer	37
3.3.2 Sekvensiell ekstraksjon av anioner	38
3.3.3 Preparering av ekstrakter før analyse.....	38
3.3.4 Ekstraksjon av gras	38
3.4 Dekomponering med UltraClave®.....	39
3.4.1 Dekomponering av gress.....	39
3.4.2 Dekomponering av vekstmedium og inert fraksjon etter sekvensiell ekstraksjon... 39	
3.4.3 Dekomponering av ekstrakter etter sekvensiell ekstraksjon	39
3.4.4 Dekomponering av biokull, avløpsslam og avgang	39
3.5 Speciering av arsen i jord- og planteekstrakter med HPLC-ICP-MS.....	40
3.6 Analyse ved bruk av ICP-MS	40
3.6.1 Analyse av gress	40
3.6.2 Analyse av ekstrakter og inert fraksjon etter sekvensiell ekstraksjon, prøver av vekstmedium og prøver av biokull, slam og avgang.	41
3.6.3 Korreksjoner av analyseresultater fra ICP-MS	41
3.7 Analyse ved bruk av ICP-OES	41
3.8 Forbrenningsanalyse	41
3.9 Mikroskopiering med «scanning electron microscopy»	42
4 Resultat og diskusjon	43
4.1 Presisjon og nøyaktighet i metoden.....	43
4.2 Avgang, avløpsslam og biokull	45
4.3 Vekstmediet.....	47
4.4 Visuelle observasjoner av planter og vekstmedium	50
4.5 Effekt av CCA på planter	51
4.5.1 Plantenes vekst.....	51
4.5.2 Arsen i gresset.....	52
4.5.3 Kobber i gresset	53
4.5.4 Krom i gresset	54

4.5.5 Nikkel i gresset	55
4.5.5 Effekten av avløpsslam og biokull.....	55
4.6 Forslag til videre arbeid.....	59
5 Konklusjon	60
6 Referanser.....	62

Vedlegg

1 Innledning

Bakgrunnen for denne oppgaven startet med et samarbeid mellom gruveselskapet Titania A/S og Universitetet for miljø- og biovitenskap hvor dette endte i forslag til temaer for mastergradsoppgaver for utredning av miljøproblemer ved driften til gruveselskapet. Et av temaene var ønsket om en metode for stabilisering av gruveselskapets deponi for avgangsmasser for å hindre vinderosjon (Nilsen 2007).

Titania A/S deponerer i dag avgangsmasser i et landdeponi bak en drenerende demning. Dette fører til en grunnvannstand under deponioverflaten og videre til at den finkornete massen eksponeres til luft og tørker ut. Dette fører så til vinderosjon og støvproblemer i områdene rundt (Skei et al. 2010). Vegetering av et slikt område er en metode som vil kunne binde overflaten og gjøre den mindre utsatt for vinderosjon i tillegg til at en vegetert slette er mer estetisk verdsatt og en metode for å tilbakeføre området til en mer naturlig tilstand (Tordoff et al. 2000).

Vegetering av et slikt deponi sees på som en utfordring og kostbart i gjennomføring. Avslutning og tilbakeføring til en mer naturlig tilstand er også et problem ved flere gruver med landdeponi (Skei et al. 2010). Det kan i denne sammenheng tenkes at det er mangel på en metode for revegetering som gir et varig plantedekke uten store økonomiske tiltak. Ved tidligere forsøk på et annet deponi i tilknytning til Titania A/S måtte sommernedbøren være tilstrekkelig, skjerming mot vind var helt nødvendig og gjødsling med kunstgjødsel for å oppnå et varig plantedekke (Frøystad 1995).

Ved vegetering av et slikt deponi oppstår en rekke problemer. Grunnet deponiets utforming med drenerende demning og massens kornstørrelsesfordeling blir grunnvannstand under deponioverflaten (Skei et al. 2010) og vannlagringskapasiteten lav (Haraldsen 2006). Massene har også et svært lavt innhold av plantetilgjengelige makro- og mikronæringsstoffer i kombinasjon med lav bindingskapasitet for næringsstoffer. Innholdet av nikkell (Ni) og kobber (Cu) er også problematisk høyt i forhold til forskrift for dyrket jord (Haraldsen 2006). Da planter trivsel er avhengig av både vann og næringsstoffer må disse problemene løses for å oppnå et varig plantedekke.

Tilsetting av jordforbedrende midler kan brukes for å oppnå bedre vekstforhold for planter. For store flater slik som gruve-deponi oppstår problemer i forhold til mengde og da også kostnad for slikt materiale. To typer jordforbedrende midler som potensielt kan benyttes på et

slikt deponi som også har egenskaper som bedrer vannlagringskapasiteten og næringsstofftilgang er biokull (Sohi et al. 2010) og avløpsslam (Tordoff et al. 2000).

Biokull er et produkt etter pyrolyse av organisk materiale for bruk i jord. Dette produseres ved oppvarming av organisk materiale uten tilgang på oksygen. Dette fører til at det dannes biogass og bioolje i pyrolyseprosesser som kan tas ut og kan potensielt erstatte deler av behovet for fossilt brensel (Mohan et al. 2006). Tidligere forsøk har vist at biokull gir økt vannlagringsevne, CEC og porøsitet (Chan et al. 2007; Fellet et al. 2011). Biokull har også en meget lang nedbrytningstid slik at dette er også en potensiell metode for karbonfangst (Sohi et al. 2010).

Som råmateriale for biokullproduksjon fremstår organisk avfall som en potensiell kilde. Fra avfallsforskriften er det ikke lov til å deponere avfall med mer en 10 % organisk innhold slik at dette må behandles på annen måte (Lovdata 2004). Trykkimpregnert returtrevirke med kobber, krom (Cr) og arsen (As) blir i dag forbrent ved godkjente anlegg (Hjellnes COWI AS 2003). Dette er regnet som farlig avfall (Lovdata 2004) med høyt innhold av organisk materiale og kan derfor gjennomgå pyrolyse med energigjenvinning av bioolje og biogass. Ved pyrolyse hvor temperaturen holdes lav kan avfallsmengden reduseres og bioolje og biogass med minimalt innhold av kobber, krom og arsen kan bli produsert (Rindal 2007). Dette kan derfor føre til gunstige økonomiske forhold hvor et avfallsproblem blir en ressurs. Dette er spesielt gunstig da det forventes at i kommende år vil mengden kassert trykkimpregnert trevirke øke betraktelig ettersom gammelt trevirke blir returtrevirke (Hjellnes COWI AS 2001). Sekvensiell ekstraksjon av kullfraksjon fra pyrolyse av trykkimpregnert trevirke har vist at kobber, krom og arsen i stor grad bindes til andre fraksjoner i kullet enn det som er utbyttbart (VandenBroeck et al. 1997) og kan i den sammenheng være lite plantetilgjengelig og lite mobil i jord. Dette ble i et pottforsøk undersøkt hvor henholdsvis 1, 4 og 0,5 % av kobber, krom og arsen ble vurdert til og potensielt kunne gå til avrenning eller være tilgjengelig for planter (Hildonen 2010).

Avløpsslam er et annet produkt som har vist seg å ha en rekke positive egenskaper i revegetering av gruedeponier (Tordoff et al. 2000). Avløpsslam som er det faste restproduktet etter rensing av avløpsvann produseres i store mengder rundt om i landet på ulike rensesanlegg. Dette var i 2010 hovedsakelig restproduktet etter mekanisk, kjemisk og kjemisk/biologisk rensing (Berge & Mellem 2011). Tabell 1 viser en oversikt over

bruksområder for totalt disponert avløpsslam i årene 2006 til 2010. Slam som blir deponert kan potensielt benyttes som jordforbedringsmiddel til revegetering av gruveponi.

Tabell 1: Oversikt over mengde disponert slam i årene 2006-2010 til ulike formål i tonn tørrstoff/år. Modifisert etter (Berge 2011).

Formål	Mengde avløpsslam disponert i tonn tørrstoff/år til ulike formål				
	2006	2007	2008	2009	2010
Jordbruksareal	50800	64500	68100	65600	57200
Grøntareal	12900	12400	15600	7560	11200
Lever jordprodusent	11800	6120	7390	18100	12500
Dekkmasse avfallsfylling	5060	7500	10400	11000	7030
Deponert	5600	1950	2440	3300	1860
Annen disponering	5630	8370	5750	5220	10200
Ukjent disponering	12000	0	1140	5630	5660
Sum disponert slam	103790	100840	110820	116410	105650

Forsøk har vist at innblanding av avløpsslam i jord har bedret jordfysiske forhold ved at innholdet av organisk karbon har økt. Organisk materiale har en positiv effekt på jordens porøsitet, vannlagringskapasitet med mer plantetilgjengelig vann. Dette er potensielt kun midlertidige effekter da det organiske materialet kan brytes ned, men er en viktig næringskilde for mikroorganismer i jord som igjen bidrar til bedre jordforhold. Grunnet avløpsslams opphavmateriale er også slammet rikt på en rekke plante makro- og mikronæringsstoffer. Som en følge av økt innhold av organisk karbon øker også humusinnholdet i jorden. Dette er viktig for jordens kationbyttekapasitet som i sandig jord er relativt lav (Brady et al. 2004; Weber et al. 2007).

Selv om det totale innholdet av kobber, krom, arsen og nikkel i jordblandingen kan føre til at den klassifiseres som forurenset har det blitt vist i en rekke forsøk at totalinnhold i mange tilfeller i liten grad beskriver mobilitet og biotilgjengelighet av grunnstoffer i jord (Gleyzes et al. 2002; Nolan et al. 2005). Det er derfor viktig å undersøke til hvilke fraksjoner kobber, krom, nikkel og arsen er bundet til i jorden og hvilke specier de forekommer i for så si noe om mobiliteten og den potensielle toksisiteten (Kabata-Pendias 2010).

Da biokull fra CCA-impregnert trevirke har vist evne til å holde tilbake kobber, krom og arsen i mindre løselige fraksjoner (VandenBroeck et al. 1997) følger spørsmålet om hvordan slikt biokull påvirker planter i et vekstmedium av avgangsmateriale fra Titania A/S og kalkstabilisert og langtidslagret avløpsslam fra mekanisk og kjemisk rensing av avløpsvann. Vil innblanding av biokull fra CCA-impregnert trevirke påvirke produksjon av overjordisk

plantemateriale? Og hvordan vil bruk av slikt biokull påvirke innholdet av kobber, krom og arsen i den overjordiske biomassen? For å undersøke dette ble det gjennomført et pottforsøk med italiensk raigras (*Lolium multiflorum* var. Barplut) i et vekstmedium av avgangsmateriale, med og uten avløpsslam og varierende mengder biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke. Sekvensiell ekstraksjon ble benyttet for å fraksjonere kobber, krom, arsen og nikkel for å si noe om biotilgjengelighet og hvordan disse er bundet i vekstmediet. Et spesieringsstudie av arsen i ekstrakter av jord og plantemateriale ble utført for å undersøke forekomsten av fire specier av arsen i overjordisk biomasse og lett løselige fraksjoner i jorden. Pottforsøket ble utført under kontrollerte betingelser hvor vanning, gjødsling, temperatur og lys ble styrt for å optimalisere forholdene for plantenes vekst og redusere variasjon over tid. Dette fører til at resultatene i større grad skyldes ulike innblandinger av biokull med mindre påvirkning av andre forklaringsvariabler som tørke og mangel av næringsstoffer. Resultatene fra dette forsøket gir kun kunnskap for videre undersøkelser vedrørende en potensiell bruk av biokull fra CCA-impregnert trevirke som jordforbedringsmiddel. I et feltforsøk vil et stort antall faktorer som ikke var med i pottforsøket være med å bestemme utfallet i et feltforsøk.

2 Teori

2.1 Gruveavgangen fra Titania A/S

2.1.1 Produksjonen ved Titania A/S

Gruveavgangen fra Titania A/S er et restprodukt etter utvinningen av mineralet ilmenitt (TiFeO_3 , titanjernstein) fra bergarten noritt. Gruven består av et dagbrudd hvor malmen tas ut etterfulgt av en nedknusning til mindre enn 0,5 mm kornstørrelse. I utvinningen av ilmenitt og biprodukter benyttes tre prosesser bestående av gravimetrisk og magnetisk separasjon og flotasjon. I den magnetiske separasjonen tas magnetitt ut. Gravimetrisk separasjon blir brukt på den groveste fraksjonen hvor den tunge ilmenitten blir skilt fra de lettere mineralene. Den fineste delen av malmen som er for fin for gravimetrisk separasjon går igjennom en flotasjonsprosess hvor det tilsettes tallolje, parafin og vann samt svovelsyre for å justere pH i prosessen. Ilmenitten skummes så av med skummet som dannes i et flotasjonskar. Etter de tre utvinningsprosessene dannes det et restprodukt som kalles avgang som blir deponert på et landdeponi i nærområdet (Ettner 2005).

Det blir årlig deponert om lag 2 millioner tonn avgangsmasser i landdeponiet. I 2007 hadde deponiet en overflate på 1,3 km² og inneholdt 24 millioner tonn avgangsmasser. Landdeponiet består av en drenerende dam hvor avgangsmassene blir deponert i en forsenkning i berggrunnen (Nilsen 2007).

2.1.2 Avgangens kjemiske egenskaper

Avgangsmassenes kjemiske egenskaper kjennetegnes med en pH rundt 7-8, lav konduktivitet og fritt for organisk materiale som gjenspeiles i relativt lite løselige plantenæringsstoffer. Innholdet av sporstoffer er lavt bortsett for nikkel og kobber. Innholdet av disse overstiger KLIFs grenseverdier som bestanddel i jord på dyrket mark slik at materialet ikke egner seg for jordbruksformål. En vurdering av avgangsmaterialet fra Titania A/S ble avgangsmassene vurdert som egnet til hovedbestanddel i et vekstmedium dersom mer finstoff bestående av silt, leir og kompost ble tilsatt (Haraldsen 2006).

2.2 Biokull

Når kull produsert fra biomasse blir brukt i sammenheng med jord og som et jordforbedringsmiddel får kullet betegnelsen «biokull» (Sohi et al. 2010). Kommersielt kan biokull produseres i en prosess kalt pyrolyse (se avsnitt 2.3 Pyrolyse) hvor produktene bioolje og biogass som regel er mest interessant. I en verden med økt fokus på klima og utslipp av drivhusgasser oppstår karbonlagring i jord ved pyrolyse av organisk materiale som en lovende metode for reduksjon av det totale utslippet av klimagasser. Biokullet har en lang nedbrytningstid i jord (Sohi et al. 2010) slik at karbonet i biokullet vil gå inn i en langsom karbonkjede. Bioolje og biogass vil kunne erstatte fossile kilder til en viss grad. Produksjon og bruk av biokull, -olje og -gass kan ved politisk vilje benyttes effektivt i reduksjon av klimagassutslipp (Grønlund 2011; van Haren & Starman 2011).

I jorden har biokullet også en rekke jordforbedrende egenskaper som økt vannlagringsevne, økt CEC, reduserer jordens tetthet, økt porevolum, kalkingseffekt og gjødseleffekt. Positiv effekt på vannlagringsevnen, CEC og tetthet skyldes biokullets store overflate og porevolum. Makroporer (over 1 µm i diameter) i biokullet som er et resultat av plantestrukturen i opphavsmaterialet har evnen til å lagre relativt store mengder plantetilgjengelig vann. Disse porene er store nok til at røtter kan trenge inn i dem. Disse porene er også viktige plasser for mikroorganismer slik at biokull også kan øke mengden mikroorganismer i jorden. I kompakte jordsmonn kan planter få problemer med å spre røttene utover samt at gassutveksling mellom jorden og atmosfæren blir lav. Biokull kan i den sammenheng være med på å senke tettheten i jorden. Overflaten på biokull er dekket av funksjonelle grupper slik som karbonylgrupper. Disse gir opphav til biokulls sin store evne til å øke jordens CEC ved at kationer bindes til disse gruppene (Sohi et al. 2010).

I et forsøk ble det undersøkt hvordan temperatur påvirket ulike egenskaper ved biokull av treflis. Innholdet av karbon ble redusert ved økende temperatur som førte til at konsentrasjonen av fosfor (P), kalium (K), kalsium (Ca) og magnesium (Mg) økte hvor også plantetilgjengeligheten var god. Mye av nitrogenet ble holdt tilbake i kullfraksjonen ved pyrolyse men lite av dette var umiddelbart plantetilgjengelig. Med økende temperatur ble også CEC redusert. Pyrolyse ved lav temperatur (400 °C) kan derfor være fordelaktig ved produksjon av biokull som jordforbedringsmiddel (Gaskin et al. 2008).

2.3 Pyrolyse og biokullproduksjon

2.3.1 Pyrolyse av trevirke

Ved oppvarming av biomasse uten luft skjer en termisk dekomponering av biomassen i en prosess kalt pyrolyse. En pyrolyseprosess kan beskrives forenklet i seks punkter (Sinha et al. 2000):

- 1) Oppvarming av biomassen i en inert atmosfære.
- 2) Under forhøyet temperatur starter primær pyrolyse hvor flyktige gasser og kull dannes fra biomassen.
- 3) Varme flyktige gasser emigrerer mot kjøligere områder av biomassen og varmeutveksling som en konsekvens.
- 4) Ved varmeutveksling kan kondenserbare flyktige gasser kondenseres og sekundære reaksjoner oppstår og tjærestoffer dannes.
- 5) Sekundær pyrolyse sammen med primær pyrolyse (punkt 2) opptrer samtidig.
- 6) Videre vil termisk nedbrytning fortsette hvor nye organiske komponenter oppstår, dehydrering og rekombinasjon av radikaler skjer. Dette er avhengig av hvilke pyrolysemetode som brukes.

Biomasse av plantemateriale inneholder hovedsakelig cellulose, hemicellulose og lignin i tillegg til mindre mengder harpiks, fett, fettsyrer, fenoler, steroler samt makro- og mikronæringsstoffer. I biokullproduksjon er det da de viktigste komponentene da cellulose, hemicellulose og lignin.

Cellulose utgjør omtrent 40-50 vektprosent av tørt trevirke og gir trevirket styrke (Rowell 1984). Cellulose er en polymer dannet av 5000-10000 anhydroglukosemolekyler ved fjerning av vann fra glukose. Disse lange kjedene er så bundet sammen med hydrogenbindinger og van der Waal krefter slik at cellulose får en krystallinsk form som gjør den termodynamisk mer stabil en hemicellulose (Mohan et al. 2006; Yang et al. 2007).

Hemicellulose utgjør omtrent 25-35 vektprosent av tørt trevirke (Rowell 1984) og består av i snitt 150 polymeriserte monosakkarider og strukturen er rikt forgrenet. Dette fører til en lavere dekomponeringstemperatur hvor forgreningene lett brytes av og danner ikke-kondenserbare gasser (Mohan et al. 2006; Yang et al. 2007).

Lignin utgjør rundt 17-30 vektprosent av tørt trevirke og i motsetning til cellulose og hemicellulose har lignin ingen fast struktur. Sammensetningen består av polyfenoler av tre

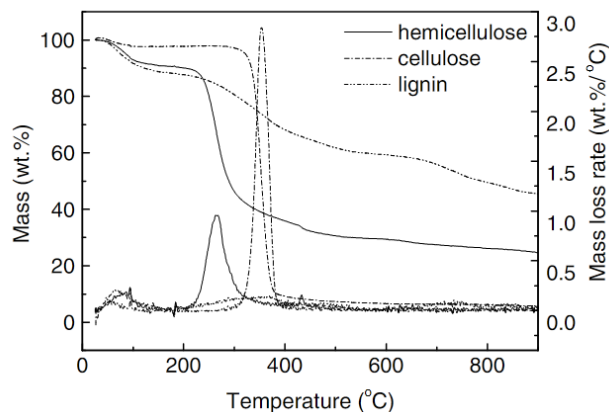
ulike aromatiske monomerer med varierende innhold av hydrokso- og metokso-grupper (Sinha et al. 2000; Sjöström 1993). Lignins oppgave i trevirke er beskyttelse mot mikrobielle angrep samt å binde cellulosestrukturene sammen (Sinha et al. 2000).

Ved pyrolyse dannes det gass og olje i tillegg til kull. De kjemiske prosessene som skjer under en pyrolyse er preget av høy kompleksitet. Prosessene som skjer for hver enkelt komponent av biomassen er i seg selv komplekse og sammen blir sammensetningen av produktene svært innholdsrik (Mohan et al. 2006; Sinha et al. 2000).

Massebalansen mellom kull, gass og olje kan i sterk grad styres ut i fra hvilke pyrolysemetoder som brukes. I økonomisk interesse er oljen den mest ettertraktede og mye forskning er gjort for å maksimere utbyttet av denne fraksjonen. Dette oppnås i hovedsak ved rask pyrolyse med hurtig oppvarming av materialet til høy temperatur, effektiv fjerning av gassfasen fra fastfasen etterfulgt av rask avkjøling av gassfasen for å kondensere til væskefase. Ved konvensjonell (eller sakte) pyrolyse dannes de tre fraksjonene i mer like forhold og skjer ved at biomassen varmes opp sakte. Dersom oppholdstiden til gassene blir lang, samt langsom avkjøling av gassene vil sekundære reaksjoner oppstå og det dannes mer gass (Bridgwater 2003).

Grunnet den ulike oppbyggingen av hemicellulose, cellulose og lignin danner disse også ulike gasser under pyrolyse. Hemicellulose som har et høyere innhold av karboksyl danner mer CO₂ ved cracking av C=O og COOH. Cellulose danner mer CO ved cracking av karbonyl og karboksyl mens lignin som har et høyere innhold av aromatiske komponenter og metoksyler danner mer H₂ og CH₄ (Yang et al. 2007). Tyngre flyktige kondenserbare komponenter dannes ved depolymerisering og fragmentering av lignin, cellulose og hemicellulose (Mohan et al. 2006).

Cellulose, hemicellulose og lignin dekomponerer ved ulike temperaturer (se Figur 1) hvor lignin har en jevn dekomponering over et stort temperaturområde (fra 160 °C og oppover). Hemicellulose og cellulose har derimot noe mer preg av trinnvis dekomponering hvor hemicellulose og cellulose dekomponeres i henholdsvis temperaturområdene 220 °C til 315 °C og 315 °C til 400 °C. Disse temperaturene for dekomponering er likevel svært avhengig av pyrolysemetode hvor spesielt prøvemengde per batch er avgjørende da dette kan føre til lengre oppholdstid for pyrolysegassene og det skjer en sekundær cracking av flyktige gasser (Yang et al. 2007). Bidraget til kullfraksjonen er lavest for cellulose etterfulgt av hemicellulose og lignin (Raveendran et al. 1996; Yang et al. 2007).



Figur 1: Pyrolysekurver for masse i vektprosent ved økende temperatur og massetap i vektprosent per °C. Resultatene er funnet ved pyrolyse i en termogravimetrisk analysator (TGA) (Yang et al. 2007).

2.3.2 Mikrobølgepyrolyse

Energioverføring til biomassen som skal pyrolyseres kan skje på ulike måter etter hvilke sluttprodukt som er av størst interesse. Konveksjon hvor termisk energi overføres til biomassen ved direkte overføring er det mest forekommende. Energioverføring ved hjelp av mikrobølger er en mulighet som med hensyn på kullfraksjonen til bruk som biokull er av interesse. Oppvarming av biomasse med mikrobølger baserer seg på dielektrisk tap hvor mikrobølger absorberes ved at polare stoffer settes i bevegelse ved dipolrotasjon.

Dipolrotasjonen bremses opp hvor bevegelsesenergien går over til varmeenergi. Vannmolekyl som er polare har høy evne til å absorbere mikrobølger mens tørr biomasse som i hovedsak består av lite polare molekyler har svært lav evne til å absorbere mikrobølger. Dette fører til at mikrobølgene får en dyp inntrengning og oppvarmingen skjer fra senter og utover i materialet. Dette står i kontrast til energioverføring ved konveksjon hvor oppvarmingen skjer fra utsiden av materialet og innover mot kjernen. Ved energioverføring ved hjelp av mikrobølger vil kun materiale som har evnen til å absorbere mikrobølgene bli varmet opp. Dersom beholder og atmosfæren er av upolart materiale vil kun biomassen varmes opp og all oppvarming vil skje fra biomassens senter og utover (Kriegerbrockett 1994; Miura et al. 2004).

Som nevnt over er produktene etter en pyrolyse sterkt avhengig av produksjonsmetode. For stort utbytte av bioolje må pyrolysegasser raskt fjernes fra biokullet etterfulgt av rask nedkjøling. Hvis ikke dette gjennomføres vil sekundære reaksjoner oppstå som fører til en dekomponering av de flyktige gassene og ikke kondenserbare gasser dannes samt at polymerisering til karbonpartikler kan skje. Oppvarmingen fra senter av biomassen og utover gir en temperaturgradient og en gasstransport fra materialets varme kjerne til den kjøligere

overflaten. Dette vil derfor redusere forekomsten av sekundære reaksjoner og favorisere produksjonen av bioolje og minimalt med karbonpartikler blir dannet (Miura et al. 2004).

2.4 Avløpsslam i jord

I avløpsrensing er målet å ta ut uønskede stoffer og slippe ut så rent vann som praktisk mulig. I tillegg til mekanisk rensing og rensing ved sedimentasjon benyttes kjemisk rensing hvor fellingskjemikalier av jern- og aluminiumsalter eller polymerer tilsettes. Disse kjemikaliene hjelper til å separere ut løst fosfor og partikkelbundet fosfor og løst organisk materiale ved flokkulering til større partikler i avløpsvannet som ikke kan tas bort ved mekanisk rensing og sedimentasjon. Disse felles så ut ved sedimentasjon og tas ut for videre behandling. Som en konsekvens av dette blir slammet svært rikt på organisk materiale, mineralsk materiale, næringsstoffer men også organiske og uorganiske miljøgifter (Lindquist & Gillberg 2003).

Avløpsslam har lenge blitt brukt som jordforbedringsmiddel på grunn av det høye innholdet av organisk materiale, plantenæringsstoffer. Resirkulering av avløpsslam er viktig for en god utnyttelse av ressursene. Slammets sammensetning er veldig avhengig av avløpsvannets opphav (industri og husholdning til eksempel) og hvilke metode som er brukt i produksjonen av slammet (Brady et al. 2004).

Avløpsslammets innhold av organisk materiale kan bedre jordstrukturen ved aggregatdannelse som igjen bedrer innfiltreringen av vann og gassutveksling med atmosfæren. Økt innhold av organisk materiale fører også til bedret vannlagringsevnen. Slam kan også ha en god gjødseleffekt ved at det inneholder fosfor og nitrogen og en rekke mikronæringsstoffer (Tchobanoglous et al. 2003). Organisk materiale i avløpsslam er en viktig energikilde for mikroorganismer. Mikroorganismer vil bryte ned lett omsettbart organisk materiale som fører til at næringsstoffer frigis og blir plantetilgjengelig (Brady et al. 2004).

Organisk materiale i slammet kan øke CEC i jorden den tilsettes. Dette fører til at kationer kan bindes i større grad og kan påvirke biotilgjengeligheten av kationer. Et forsøk med avløpsslam i forurenset jord (Theodoratos et al. 2000) viste endring i fraksjonering ved reduksjon av lett tilgjengelige til mindre tilgjengelige fraksjoner av bly (Pb) og kadmium (Cd). Opptak i overjordiske plantedeler ble også redusert med tilsetning av slam. Selv om tilsetning av slam kan øke jordens innhold av uheldige grunnstoff vil også slammet bidra til å holde tilbake mange uheldige grunnstoff ved binding til organisk materiale. Denne effekten er avhengig av pH hvor sure omgivelser kan gjøre metaller som er organisk bundet løselige og biotilgjengelige (Planquart et al. 1999).

Forsøk med ulike typer avløpsslam har vist at der kalking var en del av slambehandlingen har det ført til en kalkingseffekt i jorden. Kalket slam ga også en bedret aggregatdannelse og stabilitet i jorden som er positivt for planteproduksjon og kan hindre erosjon (Øgaard et al. 2008).

En konsekvens av å bruke fellingskjemikalier i rensing av avløpsvann er at plantetilgjengelig fosfor reduseres grunnet den sterke bindingen til fellingskjemikaliene. Forsøk har vist av svært lite av det fosforet som tilsettes med avløpsslam blir plantetilgjengelig selv over flere år. Men fellingskjemikalier har også en positiv effekt ved at de binder negativt ladede partikler i jorden og fører til aggregatdannelse og bedre jordstruktur (Ugland et al. 1998).

2.5 Forsøksart

Italiensk raigras (*Lolium multiflorum*) av varianten Barpluto er en toårig grasart som trives best på næringsrik jord hvor vanntilgangen er jevn. Italiensk raigras har hurtig vekst og kan gi store avlinger med god gjenvekst etter høsting. Selv om italiensk raigras er en toårig art er den i Norge som oftest ettårig grunnet lav overvintringsevne. Som fôr til husdyr tåler italiensk raigras godt beiting (Felleskjøpet 2012).

2.6 Relevante spormetaller

2.6.1 Arsen

Arsen er et halvmetall med et gjennomsnittlig innhold i jordskorpen på 1,8 mg/kg. Viktigste mineral hvor arsen inngår er arsenpyritt-sulfid (FeAsS). Arsen forekommer ofte sammen med avsetninger av innskuddsmetaller i årer og i mineraler med sulfid. Arsen finnes også i kull med konsentrasjoner opp mot 80 mg/kg som kan bidra betydelig til antropogent tilskudd av arsen i miljøet. Arsen har vært brukt i stor utstrekning i pesticider og impregnering av trevirke (Kabata-Pendias 2010).

Arsen forekommer i oksidasjonstrinnene -3, 0, +3 og +5 hvor de to første som regel inngår i mineraler av sulfid mens de to siste finnes som oksyanioner. Selv om det er de uorganiske formene av arsen er de mest forekommende i det terrestriske miljøet kan også arsen metyleres hvor monometylarsenat og dimetylarsenat er de mest vesentlige. Ved normale forhold i jord er det As^V som er mest forekommende etterfulgt av As^{III} som dannes under reduserende forhold. Mobiliteten av arsen i jord er sterkt preget av oksidasjonstrinn, pH og jordens

sammensetning. Oksyanionene av arsen har varierende protonering som er pH avhengig. As^{III} forekommer som udissoasert arsenittsyre til pH over 9 og er relativt mobil i jord. As^{V} forekommer også som arsensyre med reduserende protonering med økende pH. Fosfat og arsenat oppfører seg relativt likt i jord grunnet svært like kjemiske egenskaper. Siden arsenat ved normal pH i jord forekommer som anion mens arsenitt forekommer uten ladning er arsenitt den mest mobile specien i jord (Wilson et al. 2010).

Mobilitet i jord påvirkes av en rekke ulike komponenter i jord. Arsenitt og arsenat kan adsorberes til positive ladninger på leirmineraler ved elektrostatiske tiltrekning. Dette er svake bindinger som er pH avhengige hvor løseligheten øker med økende pH. Ved mer sure forhold får leirmineralene fler positive ladninger og adsorpsjonen øker. Siden arsenat forekommer som anion også under sure forhold binder arsenat sterkere til disse bindingsplassene enn arsenitt. Arsenitt adsorberes til leirmineraler når pH er nøytral til mer basisk (Selim & Sparks 2001). Arsenitt og arsenat kan også danne sterke komplekser til oksider av jern, aluminium og mangan. Igjen viser arsenat sterkere bindinger og adsorpsjonsmaksimum ved lavere pH enn arsenitt. Adsorpsjon til disse oksidene er viktige i svakt sure jordsmonn (Wilson et al. 2010). I basisk jord kan arsen også felles ut med kalsium i samme prosess som utfelling med kalsiumkarbonat. Denne prosessen skjer hovedsakelig med arsenat under dannelsen av kalsiumarsenat (Selim & Sparks 2001). Organisk materiale kan ha en tosidig effekt på mobiliteten til arsen. Løst organisk materiale kan konkurrere med arsen i binding til oksider. Organisk materiale kan også bidra til reduksjon av As^{V} til den mer giftige As^{III} ved nedbrytning. Under sure forhold kan i midlertid arsen binde til organisk materiale og immobiliseres (Kumpiene et al. 2008).

Det er ikke kjent noen funksjon for arsen i planter og det regnes som ikke-essensielt. Opptaket av arsen skjer ulikt for arsenat og arsenitt. Grunnet arsenats svært like egenskaper som fosfat blir arsenat tatt opp via de samme opptaksmekanismene som fosfat. Fosfortransporørene har høyere affinitet for fosfor enn for arsenat (Meharg & Hartley-Whitaker 2002). Arsenitt som ikke deler arsenat sine like egenskaper som fosfor blir tatt opp gjennom andre mekanismer enn arsenat. Da arsenitt forekommer som udissoasert arsenittsyre ved pH lavere enn 9 har det blitt funnet av arsenitt kan tas opp gjennom kanaler for nøytrale forbindelser slik som borsyre, silisiumsyre, glyserol og ulike nitrogenforbindelser. Disse kanalene, eller aquaporiner, er lokalisert i røttene og en underfamilie av disse kalt *nodulin26-like intrinsic proteins* (NIPs fra nå) er funnet å ha sammenheng med opptak av arsenitt. Opptak av mono- og dimetyllert

arsenat (MMA og DMA) er påvist i noen planter men mekanismene er ukjent (Zhao et al. 2009).

Både arsenitt og arsenat er giftig for planter og kan føre til vekstreduksjon og død. Opptak av arsenat fører til produksjon av reaktive oksygenspecier (ROS fra nå) ved reduksjon til arsenitt som en del av detoxifiseringen. Siden arsenat oppfører seg som en analog til fosfor kan arsenat også påvirke planten ved å konkurrere med fosfor i ATP. Arsenitt har høy affinitet for sulfid og kan ta del i proteiner ved å binde til sulfider i proteiner slik at funksjonen av disse går tapt (Meharg & Hartley-Whitaker 2002; Zhao et al. 2009).

For å unngå toksiske effekter av arsen kan planter redusere konsentrasjonen av arsenitt og arsenat i cellen ved å danne *phytochelater* (PC fra nå). Disse dannes ved reduksjon av antioksidanten *glutathion* som binder til arsen og hindrer videre reaksjoner. Detoksifisering av arsen ved binding til PC skjer gjennom binding til tiol-grupper. Arsenitt og DMA har høy affinitet for PC mens arsenat må reduseres til arsenitt for å danne stabile bindinger. For at arsenat skal bindes til PC må arsenat reduseres til arsenitt under dannelsen av ROS.

Glutathion er med i nedbrytningen av disse slik at ved eksponering for arsenat kan skadelige mengder ROS hoppe opp i cellen (Meharg & Hartley-Whitaker 2002).

Etter at arsen er bundet til PC blir disse kompleksene transportert inn i vakuolene i cellen. Siden arsen som tas opp i røttene som arsenat raskt blir redusert til arsenitt og blir bundet til PC og lagret i vakuolene holdes det meste av arsenet tilbake røttene. Dette kan forklare hvorfor det i planter ofte er en stor forskjell i fordelingen av arsen mellom røtter og overjordiske plantedeler. Forholdet mellom arsen i jordvæsken og i plantesaften i xylem er, i de fleste planter undersøkt, mindre enn en hundredel. Arsen i plantesaften i xylem er overveiende grad arsenitt siden arsenat raskt reduseres og bindes til PC (Zhao et al. 2009).

I korte trekk kan opptak og metabolismen av arsen oppsummeres ved opptak av arsenitt og arsenat. Arsenat reduseres til arsenitt ved oksidasjon av glutathion. Arsenitt og redusert arsenat bindes til PC dannet ved reduksjon av glutathion og transporteres til vakuolene. Dette skjer i rotcellene. Arsen som ikke er isolert i vakuolene etter binding til PC kan transporteres videre opp i overjordiske plantedeler hovedsakelig som arsenitt (Zhao et al. 2009).

2.6.2 Kobber

Kobber har en gjennomsnittlig konsentrasjon i jordskorpen på 55 mg/kg. Kobber finnes først og fremst i sulfidmineraler som ved forvitring danner oksider og karbonater. Antropogene

kilder til kobber i jord er gjennom gruvedrift og smelteverk men også jordbruk er en viktig kilde gjennom gjødsel, sprøytemidler og avløpslam (Kabata-Pendias 2010).

I jord forekommer kobber hovedsakelig som hydrerte ioner ($\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$) adsorbent på leirmineraler eller organisk materiale. Kobber forekommer også i andre former, da gjerne som hydroksider og karbonater. Sandige og sure jordsmonn binder dårlig kobber mens lett basisk leirjord rik på organisk materiale ofte er rike på kobber. I jord er pH med på å styre løseligheten hvor løseligheten øker ved lavere pH (Kabata-Pendias 2010). Ved økende pH binder kobber hydroksidioner for så å ende opp som lite løselig hydroksid. Kobber akkumulerer hovedsakelig i jordoverflaten til organisk materiale, leire og oksider av jern og mangan. Løst organisk materiale har en sterk affinitet for kobber og kompleksere kobberet og holder det i jordvæsken (Brady et al. 2004).

Da kobber er et essensielt mikronæringsstoff for planter har disse utviklet systemer for å opprettholde et nivå i planten slik at mangel og giftig overskudd kan unngås. Kobber inngår i en rekke proteiner og er viktig i planters fotosyntese, nedbrytning av reaktive oksygenspecier i proteinet superoksid dismutase, respirasjon og strukturer i celleveggen (Fernandes & Henriques 1991). I raigras er normalt innhold av kobber 6-12 mg/kg tørrstoff mens planter generelt begynner å vise toksiske effekter om konsentrasjonen kommer over 25 mg/kg tørrstoff (Aasen 1997).

Opptaket av kobber i rotcellene skjer gjennom proteiner i celleveggen. Disse proteinene kalt transportører er en del av en underfamilie av kobbertransportører som er lokalisert i ulike deler av planten. I røttene tas kobber opp som Cu^{I} mens den mest forekommende formen av kobber i jorden er Cu^{II} . I sammenheng med at biotilgjengeligheten av kobber i jord ofte er lav og monovalent kobber er den som i hovedsak blir tatt opp er kobbermangel i planter et utbredt problem i jordbruket. Planter har utviklet et system hvor kobberkonsentrasjonen kan reguleres i de ulike delene av cellen samt fordeling til ulike deler av planten. Planten kan også nedregulere behovet for kobber ved at helt essensielle livsfunksjoner hvor kobber inngår mottar kobber mens mindre viktige funksjoner hvor kobber inngår blir nedregulert (Burkhead et al. 2009).

I jord hvor biotilgjengeligheten av kobber er høy kan planter ta opp kobber i slike mengder at det fører til kobberforgiftning. Toksiske effekter av kobber i planter er redusert rotutvikling som igjen fører til redusert opptak av næringsstoffer og redusert vekst av overjordiske plantedeler. Kobber fører også til skader på fotosyntesystemet ved at

elektrontransportkjeden settes ut av funksjon. Overskudd av kobber i plantecellens cytosol kan reguleres for å hindre toksiske effekter. Konsentrasjonen av kobber i cytosolen kan reguleres ved binding til proteiner (*metallothionein*) som er med på å styre konsentrasjonen av fritt metall i plantecellen (Burkhead et al. 2009).

2.6.3 Krom

Krom forekommer i jordskorpen med en gjennomsnittlig verdi på 100 mg/kg. Krom finnes hovedsakelig i mafiske bergarter sammen med jern og magnesium og mineraler med krom er relativt resistente mot forvitring. Krom brukes i stor grad i garving av skinn som også er en industri som står for mye av utslippene til naturen. Krom brukes også som pigment, i trykkimpregnert trevirke og rustfritt stål. I jord er gjennomsnittlig innhold 60 mg/kg. Forurensing med krom kan skje i områder med gruvedrift samt rundt garverier for lær og i industri hvor krom blir belagt på metaller (Kabata-Pendias 2010).

Krom har mange oksidasjonstrinn men i jord er det hovedsakelig Cr^{III} og Cr^{VI} som forekommer. Seksverdig krom opptrer i jord som oksyanionet kromat med økende protonering ved avtakende pH. Treverdig krom finnes hovedsakelig som utfelte oksider og hydroksider i jord (Zayed & Terry 2003). Fordelingen mellom disse er sterkt forskjøvet mot den reduserte formen. Reduksjon av seksverdig krom skjer under reduserende og sure forhold men dersom det er organisk materiale til stede kan også reduksjon skje ved svakt basiske og oksiderende forhold. Oksidasjon av treverdig krom kan skje dersom det er manganoksid tilstede som kan reduseres. Denne prosessen blir som regel minimal fordi prosessen er avhengig av at det finnes løst treverdig krom. Mobiliteten er i stor grad styrt av pH hvor treverdig krom i hovedsak er løselig ved lav pH. Seksverdig krom er mer mobil men mobiliteten er lavest i pH-området 6-8 ved adsorpsjon til oksider og hydroksider av jern og aluminium (Bartlett 1991).

Krom forekommer som nevnt hovedsakelig i oksidasjonstrinnene Cr^{III} og Cr^{VI} i jord. Krom har ingen kjent funksjon i planter og blir derfor ikke regnet som essensielt plantenæringsstoff selv om det er vist positive effekter dersom det er krom til stede i vekstmediet. Mens seksverdig krom er svært giftig for planter og dyr har treverdig krom lavere giftighet. Toksiske effekter i planter er i sammenheng med redusert spiring, rotutvikling og overjordisk biomasse, hemmer fotosyntese og fører til oksidativt stress (Shanker et al. 2005). I grasarter er det funnet at normale konsentrasjoner i overjordiske deler ligger på rundt 0,3-0,6 mg/kg tørrstoff (Aasen 1997). Opptaket av krom skjer gjennom ulike mekanismer avhengig av

specie. Seksverdig krom tas opp gjennom aktive mekanismer for anioner slik som sulfat. Opptak av treverdig krom skjer gjennom en passiv mekanisme. Etter opptak av krom i røttene vil det meste bli lagret i der. Kun små mengder blir transportert videre opp i overjordiske plantedeler. Etter opptak av seksverdig krom blir dette redusert raskt til treverdig krom og lagret i vakuolene i rotcellene (Zayed & Terry 2003).

2.6.4 Nikkel

Nikkel forekommer i jordskorpen med en gjennomsnittlig konsentrasjon på 20 mg/kg med høyest konsentrasjon i ultramafiske bergarter og reduserende innhold med bergartens surhet. Nikkel opptrer gjerne med jern i mineraler men også svovel kan være en del av mineralene. Ved forvitring av nikkelfermineraler felles nikkel ut igjen med jern og mangan. Nikkel har også stor affinitet for organisk materiale slik at kull kan inneholde store mengder nikkel og bidrar til det antropogene tilskuddet av nikkel i miljøet. Nikkel brukes i stor grad i produksjon av rustfritt stål og batterier (Kabata-Pendias 2010).

Nikkel i jord forekommer hovedsakelig i oksidasjonstrinnet Ni^{II} i specier som enkelt ion, hydroksider og oksyanion. I jord er nikkel i liten grad mobilt og mobiliteten avtar med økende pH. Oksider av jern og mangan samt leire kan akkumulere nikkel ved nøytral til basisk pH. Binding til organisk materiale kan være sterk og kan føre til mobilisering når det organiske materialet er i løst form. Organiske komplekser kan også være lett løselige og kan bidra til at konsentrasjonen av mobilt nikkel øker (Kabata-Pendias 2010).

Det er ikke funnet noen funksjon av nikkel i selve planten men nikkel er essensielt i nitrogenfikserende planter men da for bakteriene i symbiosen mellom planten og bakteriene. Ellers viser nikkel toksiske effekter i planten og opptaket står i sammenheng med mengden løst i jord hvor specier av toverdig nikkel er den mest tilgjengelige og toksiske. Opptaksmekanismene for nikkel i planter er ikke ennå fullt ut undersøkt men opptaket i plantene står i sammenheng med hvor mye løst nikkel det er i jordvæsken. I planten er nikkel mobilt slik at høye konsentrasjoner kan også finnes i overjordiske plante deler. Toksiske effekter av nikkel sees lettest ved klorose på blader men effekter viser seg også ved redusert rotutvikling og redusert næringsstoffopptak som resultat. Tidlige effekter av nikkelforgiftning er hemming av fotosyntese og transpirasjon (Kabata-Pendias 2010). I planter varierer grensene for giftige konsentrasjoner fra 10 mg/kg tørrstoff for følsomme arter til 50 mg/kg i planter som er mer tolerante. Normale konsentrasjoner i planter er i området 1-10 mg/kg tørrstoff (Aasen 1997).

2.7 Prøveopparbeiding med UltraClave®

Analyseinstrumenter benyttet i dette forsøket krevde at prøven ble introdusert i væskeform slik at faste prøver måtte løses opp. Dekomponering i UltraClave® er en metode for å oppnå dette. Prøven veies da inn i teflonrør som tilsettes reagenser med ønskede egenskaper. Valg av reagens til dekomponering er viktig da ulike matrikser dekomponerer ved ulike reaksjoner. Organisk materiale dekomponerer lett ved å bruke den oksiderende syren salpetersyre (HNO_3) mens silikater dekomponerer ved kompleksbinding med fluorid (F^-) i flussyre (HF) (Harris 2007). Det må også tas hensyn til om noen av reagensene kan danne tungtløselige forbindelser med analytt. Dette er tilfelle med kalsiumioner (Ca^{2+}) og fluorid (F^-) som danner tungt løselig kalsiumfluorid (CaF_2). Bruk av oksiderende syrer kan også føre til at tungt løselige oksider av analytt kan dannes (Jensen 2011).

Teflonrør med prøve og dekomponeringsreagens plasseres i en prøvekarusell som settes inn i et trykkammer. I trykkammeret er prøvekarusellen senket ned i en beholder som tilsettes vann, en syre og et oksidasjonsmiddel (*load*). Det ble benyttet svovelsyre (H_2SO_4) og hydrogenperoksid (H_2O_2) i dette forsøket. Før dekomponeringen settes i gang økes trykket i kammeret. Dekomponeringen settes så i gang ved at mikrobølger varmer opp vannbadet prøven står i. Ettersom kammeret er under trykk økes kokepunktet til både vannbadet og prøven. Dekomponering kan derfor foregå med temperaturer opp til $260\text{ }^\circ\text{C}$ som ikke ville vært mulig ved normalt atmosfæretrykk (Milestone Inc 2008).

Mikrobølgeoppvarming krever at polare forbindelser er til stede slik at ionemigrasjon og dipolrotasjon kan oppstå og gi friksjon med varmeutvikling som resultat. Da vann blir mindre polart ved økende temperatur tilsettes vannbadet syre for å ha polare forbindelser selv ved høye temperaturer. Ved dekomponering med oksiderende syrer kan gassutvikling av nitrøse gasser oppstå og trykket i kammeret kan bli for høyt. Dette kan da løses ved å tilsette hydrogenperoksid (H_2O_2) i vannbadet som vil oksidere de nitrøse gassene til nitrat (Jensen 2011).

Fordelen ved mikrobølgeoppvarming av et vannbad som omslutter alle prøvene istedenfor mikrobølgeoppvarming av hver enkelt prøve er at alle prøvene får lik behandling slik at ulikheter i dekomponering ikke skyldes ulik bestråling av prøvene. Dekomponering ved høyere temperaturer fører til at dekomponeringen går raskere og blir mer fullstendig da effektiviteten av syren øker med temperatur (Milestone Inc 2008).

2.8 Induktivt koblet plasma massespektroskopi (ICP-MS)

Det ble i dette forsøket brukt en ICP-MS av typen Perkin Elmer Sciex Elan 6000. Før prøveintroduksjon i plasmaet ble prøven ført inn i en konsentrisk forstøver hvor en strøm av argongass blåser prøven ut i små dråper. En slik forstøver sikrer en svært konstant forstøving dersom matriksen mellom prøver er tilnærmet lik. Et forstøverkammer av kvarts som sikret at ingen dråper med større diameter enn 10 μm ble introdusert i plasmaet men kolliderte med veggene i kammeret og gikk ut i avløp. Det ble brukt en peristaltisk pumpe for å føre prøven fram til forstøveren. En slik pumpe sikrer en jevn prøvetransport uten pulser samt at ingen deler av pumpen er i kontakt med prøven som kan føre til kontaminering (Jensen 2009).

Etter forstøverkammeret kommer prøven inn i en del av instrumentet kalt «torch». Denne består av tre rør plassert inni hverandre hvor de to ytterste er av kvarts og det innerste keramisk. I det ytterste røret sendes en argongass inn tangensielt slik at den beveger seg i en spiral langs innsiden av røret. Dette hindrer at plasmaet kommer i kontakt med kvartsrøret. I røret innenfor går en strøm av argongass som regulerer posisjonen til plasmaet. I det innerste røret blir den forstøvede prøven introdusert i midten av plasmaet. For å starte plasmaet dannes et raskt vekslende magnetfelt ved at et høyfrekvent elektrisk potensial settes på en spole av kobberør som ligger rundt det ytterste kvartsrøret i torchen. Det sendes så en gnist igjennom strømmen av argongass i rørene i torchen. Dette fører til at elektroner i argonatomene slås løs slik at det dannes frie elektroner og positivt ladede argonioner. Disse blir så satt i bevegelse av det raskt vekslende magnetfeltet slik at elektroner og ioner av argon kolliderer med nye argonatomer som igjen danner nye ioner og elektroner. Dette blir så en selvdrivende prosess så lenge det raskt vekslende magnetfeltet opprettholdes. Bevegelsen av ioner og elektroner gir opphav til friksjon og varmeutvikling som kan nå temperaturer opp mot 10000 K (Jensen 2009).

Når den forstøvede prøven sendes inn i et slikt plasma vil prøven umiddelbart fordampe, atomisere og ioniseres. Ioniseringen avhenger av grunnstoffers første ioniseringsenergi. Da argon har en relativt høy første ioniseringsenergi vil de fleste grunnstoffer ioniseres. Ioniseringsraten avtar jo nærmere og høyere første ioniseringsenergi grunnstoffet har i forhold til argon. Grunnstoffers andre ioniseringsenergi er høyere enn argons første ioniseringsenergi og svært lite toverdige ioner dannes. Barium som har andre ioniseringsenergi nær argons første danner i noen grad toverdige positive ioner som kan danne interferens (forklart senere) (Jensen 2009).

Fra plasmaet trekkes en strøm av ioner igjennom et hull i en «sampler cone» som er plassert slik at uttaket av ioner fra plasmaet blir representativt og god overføring videre inn i instrumentet. Innenfor «sampler cone» sitter en «skimmer cone» med hull og mellom disse sikrer en rotasjonspumpe at trykket holdes på 1-3 torr. Fra plasmakammerets atmosfæretrykk og til det lave trykket mellom de koniske platene vil strømmen av ioner meget hurtig bli ekspandert noe som fører til at sammensetningen av ionestrålen blir preservert uten å gjennomgå videre reaksjoner (Agilent Technologies 2005).

Etter «skimmer cone» sendes ionestrålen inn i et nytt vakuumkammer hvor en ionelinse fokuserer ionestrålen samt å dirigere positivt ladde ioner rundt en blokade. Nøytrale forbindelser og fotoner som ikke påvirkes av ionelinsens elektrostatiske felt vil kollidere med en hindring i ionelinsen. Dette hindrer da at nøytrale forbindelser og fotoner når detektoren og gi opphav til økt bakgrunnsverdier (Agilent Technologies 2005). Etter ionelinsen vil kun positivt ladede forbindelser være igjen. Disse kommer så inn i et nytt vakuumkammer (10^{-5} torr) hvor en kvadrupol sitter. Dette er instrumentets masseseparasjonsenhet som består av fire parallelle gullbelagte staver. Stavene er parvis påsatt en varierende likevektstrøm og vekselstrøm. Når spenningen på stavene varierer dannes et komplekst felt hvor kun ioner med riktig masseladning får en stabil bane i ved en spesifikk spenning og frekvens. Ioner med annen masseladning vil kollidere med stavene. Ved å endre det elektromagnetiske feltet får en annen masseladning stabil bane gjennom masseseparasjonsenheten (Jensen 2009).

Etter masseseparasjon i kvadrupolen kommer de komponentene med den rette massen fram til detektoren. Detektoren som ble brukt var en elektronmultiplikator med 20 dynoder hvor den første var negativ. Positive ladde forbindelser vil da bli trukket mot den sterkt negativt ladde dynoden. Ved kollisjon vil elektroner fra dynoden skytes løs som så treffer neste dynode i rekken. Ved hver kollisjon mellom elektroner og dynoder vil flere elektroner skytes løs enn det som kolliderte. Dette fører til at kun et fåtall ioner trenger å treffe den første dynoden for å få et godt signal i enden av rekken med dynoder. Hvert ion som treffer detektoren danner så en puls av elektroner som måles som en «telling» som telles over tid (counts per second, cps). Med denne forsterkingen av hvert ion fører dette til at svært lave konsentrasjoner kan måles. Denne deteksjonsmetoden har riktignok en svakhet ved at detektoren kan mettes ved for høye konsentrasjoner som fører til at responsen ikke blir lineær. Den detektoren som ble bruk hadde en mulighet for å komme rundt dette problemet. Ved høye konsentrasjoner kunne detektoren stoppe elektronkaskaden halvveis og måle antall tellinger som en strøm istedenfor

som en puls av elektroner. Dette fører til at instrumentet hadde et stort lineært område (Jensen 2009).

For å gjøre om målt signal til konsentrasjon ble det benyttet ekstern standardisering. Da målemetoden er svært lineær trengs det kun å bruke kalibreringsblank og en standard med passende konsentrasjoner av analytter. Etter hvert som instrumentet analyserer en prøverekke kan drift i instrumentet oppstå. Denne endringen i respons kan korrigeres for ved å måle standard som en prøve med jevne mellomrom. Ved å gjøre dette kan drift kontrolleres og påvirkningen reduseres ved driftkorreksjon hvor en faktor for ending i målt standardverdi legges til de målte verdiene mellom de målte standardene (Jensen 2009; Jensen 2011).

Det ble også benyttet internstandard (IS) som er en løsning som kan tilsettes prøven på et så tidlig stadium i prøveopparbeidingen som mulig. IS inneholder ulike grunnstoff som forekommer i svært liten grad i prøven og ikke er av interesse å kvantifisere. Valg av grunnstoff til internstandard bør gjøres slik at disse har så like egenskaper som analytt som mulig med hensyn på masse og ioniseringspotensial. Når IS tilsettes i lik konsentrasjon i alle prøver og standarder skal også signalet være det samme i alle prøver for IS-grunnstoffet. Ved avvik i IS-signalet på grunn av drift, fortynningsfeil og liknende vil dette også gjelde analytten. Dette kan da korrigeres for ved å justere IS- og analyttsignalet med samme faktor slik at IS-signalet blir det den er satt til å være (Jensen 2009).

ICP-MS er også beheftet med interferenser slik som andre måleprinsipp. Da ICP-MS baserer seg på separasjon av og deteksjon av positivt enkeltladede ioner av grunnstoffer oppstår flere problemer. Ulike grunnstoffer har flere isotoper slik at isobare interferenser (overlapp mellom masser) oppstår. Isobar interferens fører til at målt signal ved en bestemt masseladning dannes fra både analytt og interfererende isotop og registreres som samme grunnstoff. Den enkleste og beste metoden for å løse dette er å måle på en annen isotop som ikke har interferens og forekommer i slike konsentrasjoner at intensiteten blir høy nok. Da fordelingen mellom ulike isotoper er kjent kan denne interferensen også korrigeres ved at det måles på en interferensfri isotop av det interfererende grunnstoffet. Bidraget fra interferens på analyttens signal kan da trekkes fra slik at en sitter igjen med signalet til analytten (Jensen 2009).

En annen interferens oppstår når det dannes polyatomære forbindelser. Det finnes en rekke slike kombinasjoner som i større eller mindre grad vil føre til overestimering av en analytts konsentrasjon i en prøve ved at masseladningen til den polyatomære forbindelsen er lik som for analytten. Ved kvantifisering av kadmium (Cd) med masse 111 og 116 amu vil dannelsen

av molybdenoksid (MoO) med $^{95}\text{Mo}^{16}\text{O}^+$ og $^{98}\text{Mo}^{16}\text{O}^+$ interferere. Dette kan korrigeres for ved å analysere en standard med molybden uten kadmium for å se hvor mye som blir registrert som de to isotopene av kadmium. Forholdet da mellom målt kadmium og molybden i standarden og i en prøve vil da være likt. Dette forholdet kan da brukes til å korrigere overestimert kadmium i en prøve hvor også molybden inngår (Jensen 2009).

Dobbeltladede ioner kan også oppstå dersom andre ioniseringsenergi er lav nok. Dersom masseladningen til et dobbelionisert ion er lik masseladningen til et enkeltionisert ion oppstår interferens. Denne interferensen kan løses på samme måte som for kadmium over (Jensen 2009).

2.9 Induktivt koblet plasma optisk emisjonsspektroskopi (ICP-OES)

ICP-OES er et måleprinsipp som baserer seg på grunnstoffers ulike bølgelengder av emittert lys etter eksitasjon med induktivt koblet plasma som energikilde. Kvantifisering skjer ved å måle intensiteten av emittert lys. Når en prøve i væskefase introduseres i et slikt plasma fører dette til at prøven umiddelbart fordampes for så å bli atomisert. Atomene kan så eksiteres ved å adsorbere energi fra plasmaet og dersom den adsorberte energien er høy vil også atomet bli ionisert. Ionene vil også kunne eksitere ved adsorpsjon av energi. Etter eksitasjon vil ionene/atomene emitte og sende ut elektromagnetisk stråling med grunnstoffspesifikk bølgelengde. Grunnet plasmaets høye temperatur oppstår en viktig fordel ved OES. Siden atomer og ioner har flere forskjellige energitrittene de kan eksiteres til kan flere av disse dannes i plasmaet. Dette fører til at antall ulike linjer å måle på øker som gir frihet til å velge gode linjer men også ulempen ved at flere av linjene kan få interferens fra andre linjer (Perkin Elmer 1997).

Det ble i dette forsøket benyttet et instrument av typen Perkin Elmer Optima 5300 DV hvor prøveintroduksjon, ionisering og ekstern standardisering var likt som beskrevet for ICP-MS over men det ble benyttet en «cross-flow» forstøver og keramisk forstøverkammer.

Etter atomisering, ionisering og eksitasjon i plasma vil emittert lys så bli fokusert før det treffer en Echellegitterbasert optikk. Optikken sprer polykromatisk lys og danner et todimensjonalt echellogram av monokromatisk lys som treffer en SCD-detektor hvor flere bølgelengder kan avleses simultant. Detektoren har pixler som absorberer lyset over tid og sender signalet ut som en strøm (Perkin Elmer 1997).

Instrumentet som ble brukt hadde mulighet for å måle utsendt lys både radielt og aksielt fra plasmaet. Radiell avlesning fører til at det måles i den delen av plasmaet med høyest temperatur og lengst lineært måleområde. Ved aksiell avlesning av utsendt lys vil dette føre til at en større del av plasmaet blir avlest med lavere deteksjonsgrense som resultat. I plasmaets lengderetning er det derimot en temperaturgradient som fører til at selvabsorpsjon kan skje og polyatomære forbindelser kan dannes som sprer lyset. For å hindre denne effekten kan den kaldere delen av plasmaet bøyes vekk fra avlesningsområdet ved at en strøm av argongass (Perkin Elmer 1997).

Interferenser oppstår også ved analyse på ICP-OES. Spektrale interferenser oppstår dersom bølgelengden for emittert lys fra et grunnstoff overlapper med et annet grunnstoff. Interferens kan oppstå fra et grunnstoff som danner kontinuerlige spekter i samme bølgelengdeområde hvor avlesning av emittert lys fra analytt ligger. Denne interferensen kan korrigeres for ved å gjøre en ett-punkts bakgrunnskorreksjon. Dette gjøres ved kun å integrere det arealet som ligger over signalet til det kontinuerlige spekteret. Dette avhenger av at intensiteten av det kontinuerlige spekteret er relativt konstant over en større båndbredde enn båndbredden til analytten slik at den nye grunnlinjen kan settes slik at et minimum av signal fra interfererende analytt tas med i integrasjonen. Dersom linjeoverlapp skyldes halen av bred topp må en to-punkts bakgrunnskorreksjon benyttes. Bakgrunnen settes da på hver side av toppen til den ønskede analytten slik at bakgrunnslinjen følger helningen til halen av det interfererende signalet. Denne metoden krever at stigningen på bakgrunnssignalet er konstant slik at integrasjonen av analyttens areal ikke blir mindre eller større grunnet ujevnheter i bakgrunnen. I tilfeller hvor interferens oppstår vil den beste løsningen være å velge å måle på en annen linje om dette er mulig. Ulike grunnstoff har flere atom og ionelinjer med ulike intensiteter. Dersom det forekommer interferens på en linje kan en annen linje velges dersom denne har høy nok intensitet. Dersom intensiteten blir for lav vil endringer i plasmaet som endrer ioniseringen føre til at målt konsentrasjon i forhold til standard blir feil. Dette problemet øker med lavere intensitet (Perkin Elmer 1997).

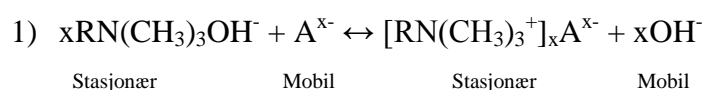
I tilfeller med særlig kraftig bakgrunnsstøy eller komplekse spektrale interferenser kan instrumentet brukt i dette forsøket benytte et program hvor som kan beregne bakgrunnsstøyen og fjerne den fra analyttens signal. Dette programmet som heter MSF, «*multi-component spectral fitting*», er konstruert ut i fra analyser av blanker, rene løsninger med analytt og prøver som fører til kraftige interferenser (Perkin Elmer 1997).

2.10 High performance liquid chromatography (HPLC)

Ved analyse på ICP-MS vil kun den totale konsentrasjonen av et grunnstoff bli målt. Ingen informasjon om hvilke specie grunnstoffet er i vil kunne fås da ionisering i plasma danner kationer av atomer (hvis en ser bort i fra eventuelle interferenser). Informasjon om dette kan oppnås ved å separere ulike species av et grunnstoff i en kromatografisk kolonne. Separasjon ved HPLC benytter en mobil væskefase hvor prøven settes inn. Mobilfasen sendes inn i kolonnen hvor species separeres over tid da mobilfasens hastighet er konstant. Etter kolonnen sendes mobilfasen med prøve til ICP-MS (se over) for deteksjon. Ved å sette ICP-MS til kun å skanne for massen av analytt vil et kromatogram dannes med tid på x-aksen og tellinger per sekund (cps) på y-aksen.

Arsen forekommer hovedsakelig som treverdig og femverdig oksianioner men også femverdig metylert arsen finnes i terrestrisk og marint miljø. Disse har pH-avhengige funksjonelle grupper hvor protoneringen avtar med økende pH og gir opphav til varierende ladning. Innenfor ionebytte kromatografi av arsenspecier er kolonnen Hamilton PRP-X100 mye brukt og mobilfase av fosfatbuffer er foretrukket med ICP-MS som detektor (Francesconi & Kuehnelt 2004).

I denne oppgaven ble anionbytte med en Hamilton PRP-X100 kolonne benyttet med en ammoniumfosfatbuffer pH-justert til 6 som mobilfase. Ved denne pH foreligger treverdig arsen som udisosiert arsenitt (H_3AsO_3) og femverdig arsen som toprotonert arsenat (H_2AsO_4^-), disosiert monometylarsenat ($\text{CH}_3\text{AsO}_2(\text{OH})^-$) og nøytralt dimetylarsenat ($(\text{CH}_3)_2\text{AsO}(\text{OH})$) (Sloth 2004). Ulikhet i ladning mellom speciene fører til at disse kan separeres når de sendes igjennom en kolonne. I kolonnen som ble brukt er pakningsmaterialet en polymer med trimetylammonium ($-\text{N}(\text{CH}_3)^+$) som funksjonelle grupper (Hamilton 2012). Når en prøve med ulike arsenspecier kommer inn i en slik kolonne vil disse i varierende grad danne elektrostatiske bindinger til stasjonærfasen. Dersom det benyttes en mobilfase med like egenskaper som analyttene vil anionene i mobilfasen konkurrere med analyttene men i ulik grad slik at jo lavere negativ ladning jo raskere vil analyttene eluere. Når en væskefase med anioner av arsen går igjennom kolonnen vil det dannes en likevekt mellom kolonnens pakningsmateriale og væskefasen (likning 1):



Da analyttene i mobilfasen har ulike likevekter mellom mobilfasen og stasjonærfasen gir dette muligheten til å separere analyttene i tid dersom mobilfasens hastighet igjennom kolonnen holdes konstant (Skoog et al. 2007).

HPLC kan brukes som en kvantitativ metode. Ved kvantitativ analyse kan ekstern standardisering benyttes hvor det integrerte arealet under et kromatogram av analytt med kjent konsentrasjon benyttes til å lage en standardkurve. ICP-MS er en metode som har relativt lik respons for ulike arsenspecier. Arsen er derimot følsom for endringer i plasma grunnet arsens høye første ioniseringsenergi slik at organiske forbindelser i prøven vil føre til økt ionisering av arsen i forhold til standard. Dannelsen av argonklorid ($^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}$) med masse 75 er en interferens som er viktig å utelukke i ekstraksjonsløsninger og bør ikke forekomme i prøvematerialet da arsen ikke har andre masser å analysere på enn 75 (Francesconi & Kuehnelt 2004). I dette forsøket ble ikke HPLC-ICP-MS benyttet for å kvantifisere arsen men for å undersøke hvilke specier som var tilstede i jordekstrakter og planteekstrakter og undersøke om en eller flere av speciene dominerte over andre ut i fra kromatogrammene. Analyse av en mer kvalitativ natur krever ikke standardisering på lik linje som en kvalitativ analyse. Ved å analysere prøver hvor det analyseres en specie av gangen for så å analysere en prøve hvor alle speciene er samlet vil en kunne finne retensjonstiden til hver enkelt specie samt om metoden separerer speciene i god nok grad og om detektoren har lik respons for de ulike speciene.

2.11 Ekstraksjon av jord og plantemateriale for fraksjonering og spesiering

2.11.1 Sekvensiell ekstraksjon av jord for fraksjonering av kobber, krom, arsen og nikkel

Som nevnt over forekommer kobber, krom, arsen og nikkel både naturlig i mineraler og jord, men også som antropogent tilført gjennom forurensing. Hvordan disse grunnstoffene oppfører seg i jord er avhengig av jordens sammensetning og hvordan jorden påvirkes av omgivelsene. Det faktum at ett grunnstoff i jord bindes på ulike måter gir opphav til at mobilitet og toksisiteten av et grunnstoff er avhengig av grunnstoffets kjemiske egenskaper og jordens sammensetning (Gleyzes et al. 2002). I kjemisk fraksjonering klassifiseres former av grunnstoffer etter fysiske eller kjemiske egenskaper i prøven (Templeton et al. 2000). Sekvensiell ekstraksjon er blitt benyttet for å løse ut analytten fra prøven trinnvis hvor hvert trinn løser ut en definert mineralogisk fraksjon (Gleyzes et al. 2002).

Fraksjoner som er interessante å undersøke i jord er de som i stor grad bidrar til å forklare fordelingen i jorden. Videre er det interessant å undersøke i hvilken grad disse lar seg løse ut. Ved en slik ekstraksjon er det viktig å ta hensyn til om det er kationer eller anioner som skal ekstraheres da de bindes på ulik måte.

2.11.2 Ekstraksjon av kationer

Kationer kan bindes til i jord til ulike komponenter slik som organisk materiale, leire, oksider og karbonater. Disse bindingene kan være av ulik karakter og kan løses under ulike forhold slik at kationene blir mobile. Ved å ekstrahere jorden med ulike kjemiske reagenser som påtvinger jordprøven endrede betingelser kan en undersøke hvor mye som er løselige ved varierende forhold. Viktige fraksjoner i jord er de som er utbyttbare, løselige ved lav pH, løselige under reduserende forhold, løselige under oksiderende forhold og en restfraksjon som i liten grad kan løses.

Jordpartikler har ladninger av positiv og negativ karakter. De negative ladningene gir opphav til svake elektrostatiske bindinger til hydrerte kationer som en ikke-spesifikk binding. Disse utbyttbare kationene er viktige for planter da dette er et stort reservoar for næringsstoffer. Disse kationene lar seg lett bytte ut av andre kationer med like egenskaper (Brady et al. 2004). Ved ekstraksjon av denne fraksjonen er magnesiumklorid (MgCl_2) ofte brukt. Ved å bruke en sterk løsning av magnesiumklorid vil Mg^{2+} bytte ut mange av de utbyttbare kationene grunnet magnesiumionets store evne til å bytte ut andre kationer. Klorid som er til stede vil da svakt kompleksbinde de utbyttede ionene slik at disse i mindre grad lar seg adsorbere på nytt (Gleyzes et al. 2002).

Ved en reduksjon av pH i jorden vil dette påvirke kationers binding til karbonater. Ved reduksjon av pH vil dette føre til at karbonater løses og kationer som er utfelt med karbonater vil løses ut. En acetatbufferløsning med pH 5 kan benyttes for å løse ut karbonatbundne kationer. En økning av H^+ -konsentrasjonen kan også løse ut ikke spesifikt bundede kationer ved utbytting med H^+ (Brady et al. 2004; Gleyzes et al. 2002).

Oksider av jern og mangan kan adsorbere store mengder kationer gjennom dannelsen av spesifikke bindinger (VanLoon & Duffy 2005). Ved å redusere disse oksidene i sure omgivelser kan disse løses effektivt. Hydroksylamin er et reduksjonsmiddel som kan redusere disse oksidene som i kombinasjon med saltsyre kan senke pH og fungere som en kompleksbinder for å holde løste kationer i løsning (Gleyzes et al. 2002).

Kationer kan være både inkorporert i organisk materiale i jord som en del av den opprinnelige strukturen eller bundet til organisk materiale gjennom kompleksbinding til funksjonelle grupper på for eksempel humus og kan være en viktig kilde til kationer. Kobber er et metall som kan danne sterke binding til humus. Organisk materiale kan effektivt løses ved oksidasjon med hydrogenperoksid i surt miljø. Lav pH er viktig i denne ekstraksjonen for å hindre at jernhydroksider feller ut løste kationer. Kationene kan likevel bindes til oksidert materiale så en ammoniumacetatløsning kan brukes for å løse ut disse ved kompleksbinding (Gleyzes et al. 2002).

Kationer bundet i mineraler eller andre komponenter som ikke løser seg i de overnevnte fraksjonene vil i liten grad løses under forhold som er normale i jord over en lengre tid. Disse kan løses ved dekomponering med sterke oksiderende og kompleksbindende syrer slik som salpetersyre og flussyre (Gleyzes et al. 2002).

2.11.3 Ekstraksjon av anioner

Som for kationer finnes ulike reservoarer i jorden for anioner. Grunnet anionenes negative ladning krever disse andre ekstraksjonsløsninger siden bruk av løsninger beregnet for kationer kan ha omvendt effekt for anioner og danne bindingsplasser for disse på jordpartiklene (Gleyzes et al. 2002). Viktige fraksjoner i jord hvor anioner kan bindes er positive ladninger på overflater, oksider av jern og aluminium og karbonatbundet. Jordvæsken er den fasen som planter kan ta opp store mengder næringsstoffer men konsentrasjonen i jordvæsken er som regel lav. Likevekter er viktig for å forsyne jordvæsken med nye næringsstoffer. Når konsentrasjonen i jordvæsken blir lavere vil næringsstoffer løses fra andre fraksjoner i jorden til likevekten på nytt er innstilt (Brady et al. 2004).

Slik som kationer kan anioner bindes elektrostatiske til jordpartikler. Disse er da av positiv ladning og befinner seg gjerne på leirmineraler men også andre kolloider (Brady et al. 2004). Anioner kan byttes ut fra disse bindingsplassene ved utbytting med andre anioner slik som karbonat. Denne fraksjonen kan betegnes som en labil fraksjon som kan bidra til å forsyne den vannløselige fraksjonen (McLaren et al. 1998).

Oksider av jern og aluminium danner sterke bindinger til arsenat, fosfat og liknende ved kompleksbinding. I denne bindingen er i motsetning til elektrostatiske bindinger av overflateadsorberte anioner ikke vann inkorporert slik at bindingene blir svært sterke (Brady et al. 2004). Adsorpsjonsmaksimum for disse oksidene av arsen er ved pH lavere enn 8 (Selim

& Sparks 2001) slik at disse kan løses ved å øke pH til sterkt basisk med natriumhydroksid (Gleyzes et al. 2002).

Ved lett basiske og oksiderende forhold kan kalsium danne komplekser med arsen og danne utfellinger av kalsiumarsenat. På lik linje med karbonater løses disse ved reduksjon i pH og arsen løses ut (Sadiq et al. 1983). Oppløsning av kalsiumforbindelser kan gjøres ved ekstraksjon med sterk saltsyreløsning (McLaren et al. 1998).

Som for kationer vil det potensielt kunne være anioner av analytt som sitter bundet i jorden som ikke løses ut med de kjemiske reagensene nevnt over. Disse kan regnes for å være lite plantetilgjengelige over relativt lang tid. Disse kan løses ut ved bruk av sterkt oksiderende og kompleksbindende syrer som salpetersyre og flussyre ved dekomponering.

2.11.4 Ekstraksjon og prøvepreparering for arsenspeciering med HPLC-ICP-MS

Kjemiske specier er blitt definert som hvilke oksidasjonstrinn, molekylstruktur, kompleksstruktur eller isotop et grunnstoff forekommer som (Templeton et al. 2000). Ved bruk av HPLC for å separere specier av et grunnstoff i en prøve må prøven være i væskeform. Ekstraksjon av prøven med en løsning som løser ut analyttene fra prøvematriksen er som regel benyttet for å oppnå dette. Dersom speciering av grunnstoffets ulike former skal få noe betydning må ekstraksjonsløsningen ikke endre specienes identitet ved ekstraksjon. Ved ekstraksjon må også hvilke fraksjoner som ønskes ekstrahert være definert for at specieringen skal gi noen mening. Dersom det ønskes et bilde på fordelingen mellom specier i en prøves totale innhold av et grunnstoff må så mye som mulig av grunnstoffet ekstraheres for at informasjon om specieringen ikke skal sitte igjen i prøvematriksen (Krachler & Emons 2000). Det kan også skilles mellom det ønskes en total ekstraksjon eller en fraksjonering av grunnstoffets specier i prøven.

Arsenekstraksjon av plantemateriale for specieringsanalyse er gjennomført med mange ulike metoder med varierende resultater. Dette kan være et resultat av at ulike arter er benyttet samt ekstraksjonsmedier og annen prøveopparbeiding (Francesconi & Kuehnelt 2004). Ekstraksjon med en løsning av like mengder vann og metanol har vært brukt i specieringsanalyser av arsen. Dette er et mildt ekstraksjonsmiddel som ikke påvirker integriteten av arsenspeciene. Metanol i prøven kan endre ioniseringen i plasmaet men dette kan reduseres betraktelig ved frysetørring av prøven for så å løse opp i vann igjen. Dette fører også til at standarder og prøver kan lages i vann. Denne ekstraksjonsløsningens ekstraksjonseffektivitet er avhengig av

prøvematriks og ekstraksjonsmetode (Francesconi & Kuehnelt 2004; Mir et al. 2007; Pizarro et al. 2003).

For å øke effektiviteten av ekstraksjonen kan det ekstraheres med mindre mengder ekstraksjonsløsning i flere trinn (Harris 2007). For at ekstraksjonsløsningen lettere skal trenge inn i prøvematriksen er det ofte benyttet ultralyd. Ultralydbad benytter ultralyd for å danne mikromiljø hvor høy temperatur og store endringer i trykk i en prosess kalt kavitasjon. Dette hjelper ekstraksjonsløsningen i å trenge dypere inn i materialet med en mer fullstendig ekstraksjon som resultat (Suslick & Price 1999).

Som nevnt over er biotilgjengelighet i jord ikke styrt av det totale innholdet i jord men hvordan det forekommer i jorden. Vannløselig og overflatebundet arsen er de formene som er lett og på kort sikt tilgjengelig. Ekstraksjon av disse to fraksjonene i jord kan utføres i en sekvensiell ekstraksjon beskrevet over. Specieringsanalyse av disse fraksjonene i jord kan gi informasjon om hvilke specier som er umiddelbart tilgjengelige for planter og hvilke form som plantene tar opp.

3 Metode

Tabell 2-6 viser materialer og utstyr, kjemikalier, analyseinstrumenter, sertifiserte referansematerialer og standarder og verneutstyr som ble benyttet ved utførelse av de ulike delene av forsøket.

Det ble også benyttet ionebyttet vann til vanning av gresset gjennom vekstforsøket og vask av utstyr etter bruk. Det ionebyttede vannet ble produsert ved IPM ved at kommunalt drikkevann ble renset gjennom to partikkelfilter og så omvendt osmose. Etter omvendt osmose ble vannet filtrert gjennom et kullfilter og et bakteriefilter. Alt vann som ble benyttet i eller var i kontakt med prøver var ionebyttet vann filtrert gjennom et Barnstead filteranlegg med en ionebytteenhet og en enhet for fjerning av lavmolekylære og oksiderbare forbindelser (Gjengedal 2008).

Tabell 2: Utstyr og materialer benyttet ved gjennomføringen av forsøket. Forkortelser vier hvor utstyret og materialene ble benyttet i forsøket. Speciering av arsen = S, sekvensiell ekstraksjon av kationer og anioner = SE, tillaging og preparering av gruveavgang, biokull og avløps slam = ABA, vekstforsøk = VF og måling av pH = pH.

Materialer og utstyr	Produsent	Modell/kvalitet	Anvendelse
Sentrifuge	Eppendorf	MiniSpin	S
Sprøyte	BD Plastipak	1 ml Syringe	S
Sprøytefilter	Pall	Life sciences syringe filter Acrodisc® LC 13 mm syringe filter with 0,45 micrometer PVDF membrane. HPLC certified.	S
Vial	Supelco	2 ml clear vial, screw top. Polypropylene Hole Cap with PTFE/Silicone Septa	S
Vortexmixer	VWR	100-2400 rpm	S og SE
Mikrobølgeovn	CEM	Max	ABA
Fraksjoneringsanlegg for bioolje og biogass	UMB	(Rindal 2007)	ABA
Glassflasker for pyrolyse	Duran	Schott 1L	ABA
Porselensmorter			ABA
Kvern	Fritsch	<2 mm	ABA
Sikt	Retsch	Rustfritt stål, 2 mm kvadratisk sikteåpning	ABA
Plastbrett			ABA
Gråpapir			ABA
Tørkeskap	CTC Wascator		ABA
Plastkasser	Hammerplast	40 L	ABA
Glassflaske med propp		15 L	VF
Toppvekt	Sartorius	2 desimaler	VF og ABA
Trakt			VF
Potter	Ejers Plast-emballage	3,5 L plast	VF
Saks	Fiskars	Rustfritt stål	VF

Papirposer			VF
Tablettglass med lokk	PLM	50 ml	VF
Blomsterpinner			VF
Kniv			VF
Tørkeskap			VF
Linjal			VF
Trakt			SE
Pappbeiger	Eurofins		SE
Rundfilter	Whatman	589/3, 125 Ø	SE
Sentrifugerør	Sarstead	50 ml	SE, VF, ABA, S
Sentrifuge	Heraeus	Labofuge M	SE og S
Ristebord	Edmund Bühler	SM25, 30-300 rpm	SE
Vannbad	Grant	SUB28, 5-99 °C	SE
Manuell pipette			SE
Toppvekt	Sartorius	3 desimaler	SE, S, VF, ABA
Sandbad	LHG	ST82, 100W 0-300 °C	SE
Målekolbe	Kebo	1000 ml, A	SE og S
	Duran	500 ml, A	SE
	Kebo	250 ml, A	SE
	Duran	100 ml, A	SE
Sylindrisk jordprøvetaker	UMB		pH
Sylindrisk hulmål			pH
Olabeger	Landteknikk A/L	50 ml, plast med lokk	pH
Agatmorter	Retsch	RM 200	ABA
Kulemølle	Fritsch	Pulerisette	S
Dekomponeringsenhet	Milestone	UltraClave® 3	ABA, VF, SE
Ubehandlet trevirke		Sammenpresset treflis	ABA
CCA-impregnert trevirke		Impregneringsklasse A, 15 år gammel terrasse	ABA
Avløpsslam	AHSA	Aluminiumsulfatfelt, kalkstabilisert og 2 års lagring utendørs	ABA
Gruveavgang	Titania A/S		ABA
Frø	NAK-Nederland	Lolium multiflorum var. Barpluto, certified seed	VF
Ultralydbad	Elma	Transsonic 660/H	S
Frysetørker	Christ	Epsilon 2-4 LSC	S

Tabell 3: Kjemikalier benyttet i gjennomføringen av forsøket. Forkortelser i kolonnen «anvendelse» vier hvor i forsøket kjemikaliene ble benyttet. Vekstforsøket = VF, spesiering av arsen = S, tillaging og preparering av gruveavgang, biokull og avløpsslam = ABA, sekvensiell ekstraksjon av kationer og anioner = SE.

Kjemikalie	Produsent	Kvalitet/konsentrasjon	Anvendelse
Ca(NO ₃) ₂	UMB	12 g N/L	VF
K ₂ SO ₄	UMB	12 g K/L	VF
Ca(H ₂ PO ₄) ₂	UMB	3 g P/L	VF
Na ₂ B ₄ O ₇	UMB	0,25 g st/L	VF
Dimetylarsenat	SUPELCO	99,0 % purity, (CH ₃) ₂ As(O)OH	S

Monometylarsenat	SUPELCO	99, % purity, CH ₅ AsO ₃ Na	S
Arsenitt	Spectrapure standarda AS	1000 ± 3 µg/L, 99,9999 % purity	S
Arsenat	Alfa Aesar GmbH & Co	98 % purity Na ₂ HAsO ₄ · 7H ₂ O	S
Metanol	Merck	99,9 vekt % pro analysi	S
Natriumfosfat	Sigma	98,5 % for molecular biology, Na ₂ HPO ₄	S
Amoniakk-løsning	Merck	25 vekt % pro analysi	S
Fosforsyre	Merck	85 vekt % pro analysi	S
Salpetersyre	Merck, IPM	65 vekt % Sub boiled Ultrapure	ABA, VF og SE
Svovelsyre	Merck	96 vekt % pro analysi	ABA, VF og SE
Hydrogenperoksid	Merck	30 vekt % pro analysi	ABA, VF og SE
Saltsyre	Merck	37 vekt % Sub boiled Ultrapure	SE
Eddiksyre	Reidel-de Haen	99,7 vekt % pro analysi	SE
Natriumbikarbonat	Kebo	Pro analysi	SE
Kaliumhydroksid	Titrisol	1 M pro analysi, 100 ml ampul	SE
Magnesiumklorid	Merck	Pro analysi	SE
Natriumacetat	Merck	Pro analysi	SE
Hydroksylaminklorid	Fluko	Puriss	SE
Nitrogengass	Yara	2,6	ABA, VF og SE
Argongass	Yara	5,0	ABA, VF, SE og S

Tabell 4: Sertifiserte referansematerialer og standarder benyttet i gjennomføringen av forsøket. (China National Analysis Center for Iron and Steel 2004b) ¹⁾, (China National Analysis Center for Iron and Steel 2004a) ^{2) og 3)}, (Swedish University of Agricultural Sciences (SLU) 1995b) ⁴⁾, (Swedish University of Agricultural Sciences (SLU) 1995a) ⁵⁾, (National Institute of Standards & Technology (NIST) 2008) ⁶⁾, (National Institute of Standards & Technology (NIST) 2009a) ⁷⁾, (National Institute of Standards & Technology (NIST) 2009b) ⁸⁾, (National Institute of Standards & Technology (NIST) 2009c) ⁹⁾ og (National Institute of Standards & Technology (NIST) 2004) ¹⁰⁾. Forkortelser i kolonne «anvendelse» indikerer hvor i gjennomføringen av forsøket det sertifiserte referansematerialet eller standard ble benyttet hvor tillaging og preparering av gruveavgang, biokull og avløpslam = ABA, vekstforsøk = VF og måling av pH = pH.

Sertifisert referansemateriale og standardløsninger	Produsent	Referanse/kvalitet	Anvendelse
NCS DC73348 Bush, branches and leaves	China National Analysis Centre for Iron and Steel	¹⁾	ABA og VF
NCS DC73324 Soil	China National Analysis Centre for Iron and Steel	²⁾	ABA
NCS DC73325 Soil	China National Analysis Centre for Iron and Steel	³⁾	ABA
NJV 94-5 Wood Fuel	Swedish University og Agricultural Science (SLU)	⁴⁾	ABA
NJV 94-4 Energy Grass	Swedish University og Agricultural Science (SLU)	⁵⁾	VF
1570a Spinach Leaves	National Institute of Standards & Technology (NIST)	⁶⁾	VF
2709a San Joaquin Soil	National Institute of Standards & Technology (NIST)	⁷⁾	VF
2710a Montana I Soil	National Institute of Standards & Technology (NIST)	⁸⁾	VF
2711a Montana II Soil	National Institute of Standards & Technology (NIST)	⁹⁾	VF
1646a Estuarine Sediment	National Institute of Standards & Technology (NIST)	¹⁰⁾	ABA
As, B, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na,	Spectra Pure	1000 µg/ml	ABA og VF

Ni, S og Zn			
Ca, K og P	Spectra Pure	10000 µg/ml	ABA og VF
Intern standard (In, Rh, Te og Tl) 4 mg /l	Spectra Pure, IPM	1000 µg/ml	ABA og VF
Mo Ba standard 250 µg/l	Spectra Pure, IPM	1000 µg/ml	ABA og VF
Multistandard ABC, 20 µg/l	HPS	ICP-MS-68 A, B, og C 1 mg/l	ABA og VF
Bufferløsning pH 4	Merck	pH 4 ved 20 °C	pH
Bufferløsning pH 7	Merck	pH 7 ved 20 °C	pH

Tabell 5: Instrumenter og tilkoblet utstyr benyttet ved analyse. Forkortelsene under kolonne "anvendelse" indikerer i hvilke deler av forsøket analyseinstrumentet ble benyttet. Vekstforsøket = VF, tillaging og preparering av gruveavgang, biokull og avløpslam = ABA, sekvensiell ekstraksjon av kationer og anioner = SE og spesiering av arsen = S.

Instrument	Produsent	Modell	Anvendelse
ICP-MS	Perkin Elmer	Sciex Elan 6000	VF, ABA, SE og S
	Perkin Elmer	AS-90	
ICP-OES	Perkin Elmer	Optima 5300 DV	VF og ABA
	Perkin Elmer	AS-90	
HPLC	Perkin Elmer	Series 200 Autosampler	S
	Perkin Elmer	Series 200 Pump	
	Hamilton	PRP-X100 Anion Exchange 250 x 4,6 mm, 5µm particle size, PEEK-tubing	
pH	Orion	SA 720 pH-meter	VF og ABA
		ROSS kombinasjonselektrode	
Total C og N	Leco	CHN 1000	ABA
SEM	Carl Zeiss SMT Ltd	Zeiss EVO-50-EP	ABA

Tabell 6: Verneutstyr som ble benyttet ved fare for eksponering for helseskadelige stoffer og støy i sammenheng med gjennomføring av forsøket.

HMS-utstyr	Produsent	Model
Laboratoriefrakk	Tekstilservice AS	
Vernebriller	VWR	
Vynlhansker	VWR	
Hørselvern	Jernia	
Friskluftsmaske	JSP	Powercap
Filtermaske	3M	8825

3.1 Tillaging av vekstmedier

3.1.1 Biokull

Råmateriale for biokullproduksjon var fyringsbriketter laget fra sammenpresset treflis av ukjent opphav og trykkimpregnert trevirke av furu (*Pinus spp.*) klasse A brukt som terrassebord i 15 år.

Ved tillaging av biokull fra ubehandlet trevirke ble fyringsbriketter av sammenpresset treflis smuldret opp ved bruk av slegge og porselens morter og pistill.

Tillaging av biokull fra trykkimpregnert trevirke ble utført ved å kutte trykkimpregnerte terrassebord ned til omtrent 60 cm lengder før tørking i tørkeskap ved 60 °C i nærmere tre døgn. Det tørre trevirket ble så kuttet til briketter av omtrent 1x1x5 cm størrelse for så å kverne brikettene ned til mindre enn 2 mm størrelse og lagt i plastbakker for lagring til senere.

Treflis ble veid inn (omtrent 350 g) i 1 L glassflasker (Duran) med slipkant. Ved pyrolyse ble flaskene plassert inn i mikrobølgeovnen (CEM-Max) og koblet til kolonnesystemet for pyrolysegassene (Rindal 2007). Temperaturen ble så økt jevnt til 400 °C som ble opprettholdt i to timer. Temperaturkontroll ble opprettholdt med en temperaturprobe som målte temperaturen i luften utenfor flasken. Pyrolysegasser ble ledet ut av glassflasken gjennom glassrør med slipkant til et kolonnesystem med vannkjøling. Vannkjøling på kondensasjonskolonnene ble utført ved og kontinuerlig pumpe vann igjennom kjøleenheten på kolonnene. Etter endt pyrolyse ble ovnen avkjølt og glassflasken med biokull koblet fra. Biokullet ble overført til lynlåspose og lagt bort til senere bruk. Glassflasker og kolonnesystem ble vasket i 8 M lutbad mellom pyrolyse av trykkimpregnert trevirke og ubehandlet trevirke.

Biokullet ble homogenisert i en konsentrisk roterende trommel i omtrent en halv time før biokullet ble overført tilbake i lynlåsposer for oppbevaring før bruk.

3.1.2 Avgangsmateriale fra Titania A/S

Innhenting av avgangsmateriale ble gjort etter avtale med Titania AS. Grunnet deponiets størrelse og vanskelige tilgjengelighet ble det valgt å hente ut materiale fra tre ulike punkter innen et avgrenset område. Materiale ble hentet ut ved å bruke en spade godt rensed ved å ta spadestikk i avgangsmaterialet. Avgang ble så overført til 40 L plastkasser av polyetylen med lokk. Avgangsmaterialet ble så transportert til Institutt for plante- og miljøvitenskap (IPM), Universitetet for miljø- og biovitenskap (UMB). Avgangsmaterialet ble så lagret mørkt i et kjølerom ved ca 4 °C før videre behandling.

Avgangsmaterialet ble videre overført til plastbrett dekt med gråpapir for tørking i varmeskap ved 40 °C i 48 timer. Etter at alt materialet var tørket ble avgangen siktet gjennom en sikt av rustfritt stål med 2 mm kvadratiske masker for så å bli overført til en 300 L plasttønne med lokk for homogenisering. Det ble ikke registrert noen partikler over 2 mm kornstørrelse.

Tønner ble rotert kraftig for å sikre en så god homogenisering som mulig. Etter homogenisering ble avgangen overført til plastkasser igjen med lokk for videre oppbevaring.

3.1.3 Avløpsslam

Kompostert avløpsslam ble hentet fra Indre Østfold Renovasjon IKS etter avtale.

Avløpsslammet ble tatt ut ved spade på forhånd rensset ved spadestikk i avløpsslammet.

Slammet ble så overført til plastkasser med lokk for så å bli transportert til IPM-UMB. Her ble materialet tørket i tørkeskap ved 60 °C i 48 timer på fibermatter. Etter tørking ble materialet siktet gjennom 2 mm kvadratisk sikt i rustfritt stål. Slammet ble så homogenisert i en roterende konsentrisk trommel med skovler i omtrent en halv time. Etter homogenisering ble slammet overført til plastkasser med lokk for lagring.

3.1.4 Tillaging av vekstmedier

Vekstmediet til de ulike pottene ble laget ved å veie ut beregnet mengde av avgang, avløpsslam og biokull fra rent og trykkimpregnert trevirke. Tabell 7 viser blandingsforholdet mellom de ulike komponentene brukt for å lage til vekstmediene.

Tabell 7: Oversikt over blandingsforholdet mellom avgang, slam og biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke. Pottetype indikerer prosentvis forhold mellom CCA-biokull og rent biokull (potte 1-15) og hvilke jordkomponent utelukket (14-15).

Potte	Pottetype	Avgang (g)	Avløpsslam (g)	Biokull rent (g)	Biokull CCA (g)
1	0 % CCA	3119	648	189,0	0,0
2	25 % CCA	3119	648	141,8	47,3
3	50 % CCA	3119	648	94,5	94,5
4	50 % CCA	3119	648	94,5	94,5
5	50 % CCA	3119	648	94,5	94,5
6	50 % CCA	3119	648	94,5	94,5
7	50 % CCA	3119	648	94,5	94,5
8	50 % CCA	3119	648	94,5	94,5
9	75 % CCA	3119	648	47,3	141,8
10	75 % CCA	3119	648	47,3	141,8
11	75 % CCA	3119	648	47,3	141,8
12	75 % CCA	3119	648	47,3	141,8
13	100 % CCA	3119	648	0,0	189,0
14	- Biokull	3465	720	-	-
15	50 % CCA - Slam	4455	-	94,5	94,5

Forholdet mellom avgang og avløpsslam blandet i potte 1-13 var 70 % avgang og 30 % avløpsslam volum/volum. Biokull av ubehandlet og CCA-impregnert trevirke ble tilsatt slik at den totale mengden biokull var lik i alle pottes med biokull. Potte 14 ble ikke tilsatt biokull for å undersøke effekten av biokull på overjordiske plantedeler. Potte 15 ble ikke tilsatt avløpsslam for å undersøke effekten på overjordiske plantedeler.

3.2 Vekstforsøk

Vekstforsøket ble gjennomført i et klimaregulert rom ved IPM, UMB. I vekstrommet var det lys 16 timer i døgnet og lysintensiteten var $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Temperaturen i rommet var 20 °C når det var lyst og 16 °C når det var mørkt.

3.2.1 Såing

Hver potte ble sådd med 0,3 g frø (omtrent 90 frø) av italiensk raigras (*Lolium multiflorum* var. Barpluto). Før såing ble omtrent en halv centimeter av vekstmediet fjernet fra overflaten før pottene ble gjødslet (se avsnitt 3.2.2) og vannet opp til 60 % vannmetning (se avsnitt 3.2.3). Frøene ble så spredd godt utover før vekstmediet som ble fjernet ble lagt tilbake så det dekket frøene godt. Overflaten av vekstmediet ble så vannet forsiktig opp ved hjelp av spruteflaske.

3.2.2 Gjødsling

Før vekstforsøket startet ble pottene gjødslet med nitrogen (N), kalium (K) og fosfor (P). Hver potte ble tilsatt 25 ml løsning av $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ tilsvarende 12 g N/L, 12,5 ml løsning av K_2SO_4 tilsvarende 12 g K/L og 25 ml $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ tilsvarende 3 g P/L. Løsningene av N, K, P ble tilsatt vannet som det ble vannet med slik at gjødselen ble jevnt fordelt ut over overflaten av vekstmediet.

Etter hver klipping ble det gjødslet med N og K etter samme prosedyre som nevnt over. Etter 4. høsting ble potte 10 gjødslet med 25 ml bor (B) $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ tilsvarende 0,25 g st/L, potte 11 gjødslet med ekstra P som over og potte 12 ble gjødslet med både bor og fosfor tilsvarende potte 10 og 11.

3.2.3 Vanning

Alle pottes ble vannet opp til 60 % vannmetning hver dag i starten og annen hver dag resten av tiden. 60 % vannmetning ble beregnet ved å fylle en potte med perforert bunn med ferdig blande vekstmedium som ble veid og registrert som 0 % vannmetning. Potten med vekstmedium ble så vannmettet ved å tilsette vann helt til det drypte fra bunnen av potten. Potten sto så i et døgn før vekten av potten med fuktig vekstmedium ble veid og registrert som 100 % vannmetning. 60 % vannmetning ble beregnet felles for potte 1-13.

3.2.4 Høsting

Pottene ble høstet første gang etter seks uker og påfølgende hver fjerde uke. Ved høsting ble gresset klipt omtrent 4 cm over vekstmediet målt ut ved merkede pinner som ble satt ned i vekstmediet. Det høstede gresset ble klipt ned i mindre deler og lagt i papirposer. Posene med

gress ble satt i tørkeskap ved 60 °C i tre døgn. Etter at gresset ble klipt ble pottene vannet og gjødslet som i avsnitt 3.2.2 og 3.2.3.

Når gresset var ferdig tørket ble vekten notert før kverning. Gresset ble så kvernet i en kvern med 1 mm siktåpning. Kvernet gress ble så overført til 50 ml tablettglass med lokk og lagret inntil dekomponering.

3.2.5 pH i vekstmediene

Hver femte uke ble det tatt ut to jordprøver fra hver potte med en sylindrisk jordprøvetaker tilsvarende et volum på omtrent 15 cm³ og overført til plastbeger med lokk. Jorden ble tørket i ett døgn ved 40 °C før ionebyttet vann ble tilsatt i et forhold mellom jord og vann på 2,5. prøvene ble ristet godt opp og sto så i et døgn før prøvene ble på nytt ristet opp. Etter omtrent en halv time ble pH i prøvene målt med en Ross kombinasjonselektrode kalibrert med bufferløsninger på pH 4 og 7.

3.3 Ekstraksjon

Etter tredje høsting ble potte 6, 7 og 8 tatt ut for sekvensiell ekstraksjon av kationer av kobber, krom og nikkel og anioner av arsen. Alt overjordisk plantemateriale ble først klipt bort før vekstmediet ble tatt ut av potten. Rotutvikling og jordstruktur ble undersøkt utenpå og i et snitt gjennom den faste massen av vekstmedium og røtter. Røtter ble så fjernet ved å smuldre opp jorden og riste ut jorden for hånd. Jorden ble siktet gjennom en 2 mm kvadratisk stålsikt for å fjerne så mye som mulig av røttene. Det ble så tatt ut noen prøver av fuktig jord som ble overført til 50 ml sentrifugerør og satt til lagring mørkt ved 4 °C til spesiering av arsen. Det ble så tatt ut nye prøver som ble slått sammen til en prøve for sekvensiell ekstraksjon i en jordprøvebeholder av papp.

Vekstmediet som skulle til sekvensiell ekstraksjon ble tørket ved 60 °C i ett døgn etterfulgt av homogenisering ved å nøye blande vekstmediet i jordprøvebeholderen.

I filtreringen av prøvene ble det benyttet plasttrakter med filterpapir av typen Blauband 589/3 (Whatman) som ble kondisjonert ved å la ionebyttet vann filtreres igjennom før filtreringen av prøven. Etter filtrering av prøven ble partikler fra prøven spylt tilbake i sentrifugerøret før vask. Alt vann som ble brukt i den sekvensielle ekstraksjonen var kommunalt vann som først var rensset ved ionebytting for så å gå igjennom et Barnsteadfilter.

Ved den sekvensielle ekstraksjonen ble det benyttet ristebord som alltid var stilt inn til 175 rpm. Sentrifugering av prøvene ble gjort ved 3000 rpm i 15 minutter. Vasking av prøven etter hvert ekstraksjonstrinn ble utført ved å tilsette 30 ml ionebyttet vann for så å bli ristet i 30 minutter og sentrifugert. Supernatanten ble så pipettert ut og kastet før neste ekstraksjonstrinn. Det ble kun brukt manuelle pipetter.

3.3.1 Sekvensiell ekstraksjon av kationer

Ekstraksjon av kationer av kobber, krom og nikkel ble gjort ved å veie inn nøyaktig omtrent 1 g vekstmedium. Det ble laget seks paralleller fra en potte 6 og en prøve fra potte 7 og 8.

Ekstraksjon av kationer fulgte et ekstraksjonsskjema modifisert etter Hartley & Lepp (2008).

Trinn 1. Utbyttbare kationer av kobber, krom og nikkel

Det ble tilsatt en løsning av 8 ml 1 M $MgCl_2$ pH-justert til 7 med NaOH. Prøven ble så ristet på ristebord i 60 minutter. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 2. Karbonatbunnede kationer av kobber, krom og nikkel

Det ble tilsatt 25 ml 1 M CH_3COONa pH-justert til 5 med CH_3COOH . Prøven ble så ristet i 5 timer før sentrifugering, filtrering av supernatanten og vasking.

Trinn 3. Jern- og manganoksidbunnede kationer av kobber, krom og nikkel

Det ble tilsatt 20 ml 0,04 M $NH_2OH \cdot HCl$ i 25 vekt % CH_3COOH og pH ble kontrollert til å være 2 i ekstraksjonsløsningen. Prøven ble så tatt i vannbad ved 96 °C i 6 timer. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 4. Organisk bunnede kationer av kobber, krom og nikkel

Det ble tilsatt 3 ml 0,02 M HNO_3 og 5 ml 30 vekt % H_2O_2 . Prøven ble så ristet opp for hånd og satt i vannbad ved 85 °C i 2 timer. Det ble passet på under temperaturøkningen i prøven at reaksjonen mellom organisk materiale og ekstraksjonsløsningen ikke boblet over ved å ta ut prøven og kjøle den ned i vann. Etter 2 timer i vannbad ble nye 3 ml H_2O_2 tilsatt, ristet opp og satt tilbake i vannbadet i 3 timer. Prøvene ble så tatt ut av vannbadet og tilsatt 5 ml 3,2 M CH_3COONH_4 ristet opp og satt til side i 30 minutter. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 5. Inerte kationer av kobber, krom og nikkel

Restfraksjonen etter trinn 4 ble satt i tørkeskap ved 50 °C i 72 timer. Prøven ble så veid opp i teflonrør for dekomponering i UltraClave® (se avsnitt 3.4).

3.3.2 Sekvensiell ekstraksjon av anioner

Ved ekstraksjon av anioner av arsen fulgte samme prosedyre som ekstraksjon av kationer men andre ekstraksjonsløsninger ble benyttet.

Trinn 1. Vannløselige anioner av arsen

Det ble tilsatt 30 ml vann og ristet i 16 timer. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 2. Overflatebunnede anioner av arsen

Det ble tilsatt 30 ml 0,5 M NaHCO₃ og ristet i 16 timer. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 3. Jern- og aluminiumassosierte anioner av arsen

Det ble tilsatt 30 ml 0,1 M KOH og ristet i 16 timer. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 4. Karbonatbunnede anioner av arsen

Prøven ble tilsatt 30 ml 1 M HCl og ristet i 16 timer. Prøven ble så sentrifugert, filtrert og vasket.

Trinn 5. Inert arsen

Samme prosedyre som trinn 5 for kationer av kobber, krom og nikkel.

3.3.3 Preparering av ekstrakter før analyse

Før analyse av ekstraktene fra trinn 1-4 fra sekvensiell ekstraksjon av kationer og anioner ble matriksen endret for å oppnå mer like prøver. Ekstraktene ble da dampet inn til tørrhet i sandbad på 80-90 °C. Det ble så tilsatt 2 ml 65 vekt % HNO₃ og 250 µL internstandard som ble dampet inn på sandbad ved 80-90 °C. Denne prosedyren ble gjentatt tre ganger. Alle komponenter i ekstraktene som dannes ved tilsetting av syre som hadde lavere kokepunkt enn HNO₃ da ville dampe av før HNO₃.

Etter at syren var dampet inn ble rørene så tilsatt 1 ml ionebyttet vann, ristet godt på vortexmixer og overført til teflonrør for dekomponering i UltraClave®. Denne prosedyren ble gjentatt tre ganger hvor det siste gangen ble benyttet 2,5 ml konsentrert HNO₃. Prøvene ble så dekomponert (se avsnitt 3.4)

3.3.4 Ekstraksjon av gras

Gress fra tredje klipp ble frysetørket, kvernet i og malt i kulemølle til ett fint mel. Det ble så veid ut nøyaktig omtrent 250 mg malt gress inn i 15 ml sentrifugerør. Det ble så tilsatt 10 ml løsning av like deler ionebyttet vann og metanol. Prøvene ble så ristet opp ved hjelp av vortexmixer i omtrent 30 sekunder før prøvene ble satt i ultralydbad i 20 minutter. Prøvene ble så sentrifugert på samme måte som ved sekvensiell ekstraksjon. Supernatanten ble pipettert av over i 50 ml sentrifugerør. Denne prosedyren ble gjentatt tre ganger. Ekstraktet

ble til slutt ristet opp og 20 ml av ekstraksjonsløsningen ble overført til nye sentrifugerør og fortynnet til 40 ml med ionebyttet vann for å øke smeltepunktet til løsningen til omtrent -20 °C. Prøvene ble så fryst ned før de ble satt i frysetørker og tørket inn til tørrhet og satt til side mørkt før analyse på HPLC-ICP-MS.

3.4 Dekomponering med UltraClave®

Ved dekomponering i UltraClave® benyttes et bad kalt «load» av 320 ml ionebyttet vann, 25 ml 30 vekt % H₂O₂ og 3 ml 96 vekt % H₂SO₄ som mikrobølgeabsorbent som jevnt varmer opp prøvene. Før dekomponering ble det pumpet inn nitrogengass (N₂) satt på et trykk på 50 bar i trykkammeret.

3.4.1 Dekomponering av gress

Før dekomponering ble det veid inn nøyaktig omtrent 0,25 g kvernet gress i teflonrør for dekomponering. Det ble så tilsatt 2 ml ionebyttet vann, 250 µL internstandard og 5 ml 65 vekt % HNO₃. Korker ble satt på og plassert i stativ for teflonrørene. Stativet ble så plassert inn i UltraClave® og lukket. Prøvene ble så dekomponert med trinnvis temperaturøkning til 250 °C som ble holdt i 20 minutter. Etter dekomponering ble prøven overført til 50 ml sentrifugerør og fortynnet til 50 ml med ionebyttet vann. Prøvene ble så ristet godt og satt til side før analyse på ICP-MS og ICP-OES.

3.4.2 Dekomponering av vekstmedium og inert fraksjon etter sekvensiell ekstraksjon

Den inerte fraksjonen etter den sekvensielle ekstraksjonen ble dekomponert og fortynnet på samme måte som ved dekomponering av gress men uten vann og temperaturen trinnvis hevet til 260 °C og holdt i 30 minutter.

3.4.3 Dekomponering av ekstrakter etter sekvensiell ekstraksjon

Ekstraktene fra sekvensiell ekstraksjon av vekstmediet ble dekomponert med samme UltraClave®-program og fortynnet som ved dekomponering av gress.

3.4.4 Dekomponering av biokull, avløpsslam og avgang

Avløpsslam, avgang og CCA-biokull ble dekomponert og fortynnet på samme måte som den inerte fraksjonen etter sekvensiell ekstraksjon. Avløpsslam ble i tillegg tilsatt 2 ml ionebyttet vann og 1 ml 30 vekt % flussyre (HF) og avgang 1 ml 30 vekt % HF. Etter dekomponering ble det i hvert sentrifugerør i tillegg tilsatt 6 ml mettet borsyreløsning (H₃BO₄) før fortynning for å binde fluoridionene.

Avløpsslam og CCA-biokull og rent biokull ble i tillegg også dekomponert med samme metode som gress.

3.5 Speciering av arsen i jord- og planteekstrakter med HPLC-ICP-MS

HPLC-instrument (Perkin Elmer, Series 200) med beskyttelseskolonne og separasjonskolonne (Hamilton, PRP-X100) i samme materiale ble koblet på linje med ICP-MS. Mobilfasen som ble benyttet var 20 mM $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ med pH 6. Injeksjonsvolum var 100 μL og mobilfasehastighet 0,8-1,5 ml min^{-1} og kolonnetemperatur ved romtemperatur (omtrent 20 °C). Det ble benyttet to separasjonskolonner hvor den ene var noe tett slik at mobilfasehastigheten måtte senkes. Masseseparasjonen i ICP-MS ble satt statisk til masse 75 amu for arsen.

Frysetørkede ekstrakter av plantemateriale ble løst i 20 ml ionebyttet vann og ristet godt opp. Prøveløsningen ble så filtrert gjennom 0,45 μm membranfilter med 1 ml sprøyter inn i 2 ml telleglass med membran skrukork.

Standarder av As^{III} , As^{V} , MMA og DMA ble laget til 0,5 mg/L i ionebyttet vann og overført til samme telleglass som prøvene.

Standarder og blankprøver og planteprøver ble satt i prøveveksleren i HPLC-instrumentet og analysen startet.

3.6 Analyse ved bruk av ICP-MS

Ved analyse på ICP-MS (Perkin Elmer, Sciex Elan 6000) ble instrumentets tilstand undersøkt ved å analysere en prøve kalt «daily performance». Dersom kriteriene for denne prøven ikke gikk inn måtte instrumentet optimaliseres.

3.6.1 Analyse av gress

Ved analyse på ICP-MS ble instrumentet kalibrert med kalibreringsblank og kalibreringsstandard. Kalibreringsblank ble laget av ionebyttet vann, 250 μL internstandard og HNO_3 til 50 ml med syrekonsentrasjon lik som i prøvene. Kalibreringsstandard ble laget av ABC-standard (multistandard) med internstandard inkludert, ekstra bor-standard og HNO_3 slik at konsentrasjonen av alle analytter blir slutt ble 20 $\mu\text{g/L}$ bortsett fra bor som ble 220 $\mu\text{g/L}$ og lik syrekonsentrasjon som i prøvene. En løsning med husstandard av elvevann kalt 1643H ble analysert som en kontroll på kalibreringskurven. Løsning med molybden og barium ble også benyttet for å korrigere for polyatomære interferenser fra molybdenoksid på kadmium og ioniseringsinterferens på sink fra barium. Kalibreringsstandard ble analysert for hver tiende prøve for å utføre driftkorleksjon. Grunnet høye konsentrasjoner i prøvene ble alle

prøver fortynnet 1+1 med ionebyttet vann i blandeblokk koblet på linje mellom prøveveksler og ICP-MS.

3.6.2 Analyse av ekstrakter og inert fraksjon etter sekvensiell ekstraksjon, prøver av vekstmedium og prøver av biokull, slam og avgang.

Analysen ble utført på samme måte som i avsnitt 3.6.1 men det ble benyttet en multistandard av ABCSS til kalibreringsstandard slik at konsentrasjonen av alle analytter ble 100 µg/L inkludert bor. Det ble fortynnet 1+9 ganger med ionebyttet vann i blandeblokk.

3.6.3 Korreksjoner av analyseresultater fra ICP-MS

Analyseresultatene fra ICP-MS ble underveis i programvaren for instrumenter korrigert for isobare interferenser som ble lagt inn i analysens metode. Resultatene ble også normalisert mot IS som ble valgt i metoden. Det ble så i ettertid utført korreksjon av interferens på sink (Zn) fra dobbelionisert barium. Driftkorreksjon ble også utført mot regelmessig analyse av kalibreringsstandard gjennom prøveserien.

3.7 Analyse ved bruk av ICP-OES

Analyse på ICP-OES (Perkin Elmer, Optima 5300 DV) ble utført av laboratoriepersonale ved IPM. Instrumentet ble standardisert mot kalibreringsblank og kalibreringsstandard på to nivå ved behov ved å lage til standarder fra sertifiserte standardløsninger med lik syrekonsentrasjon som prøver og blankprøver. En prøve kalt «quality check» ble analysert regelmessig gjennom prøveserien hvor et avvik på 5 % fra angitt verdi ble godkjent. Avvik større enn 5 % førte til at instrumentet ble kalibrert på nytt.

Før analyse ble det lagt inn i metode hvor programvaren til instrumentet skulle utføre ett- og topunkts bakgrunnskorreksjon og MSF.

3.8 Forbrenningsanalyse

Totalt karbon og nitrogen i avløsslam og biokull ble analysert av laboratoriepersonale ved IPM. Totalt karbon ble analysert ved forbrenning ved 1050 °C før CO₂ ble målt ved absorpsjon av infrarødt lys i en IR-celle. Analyse av totalt nitrogen ble utført ved forbrenning ved 1050 °C før N₂ ble målt ved termisk konduktivitet.

3.9 Mikroskopiering med «scanning electron microscopy»

Biokull av ubehandlet og CCA-impregnert trevirke ble undersøkt med elektronmikroskopi av laboratoriepersonale ved UMB. Prøver av biokull ble montert på aluminiumsstubber med dobbeltsidig karbonteip. Prøven ble så satt inn i en *sputter coater* hvor et tynt lag med palladium (Pd) og gull (Au) ble lagt på prøven for å øke overflatens ledningsevne.

4 Resultat og diskusjon

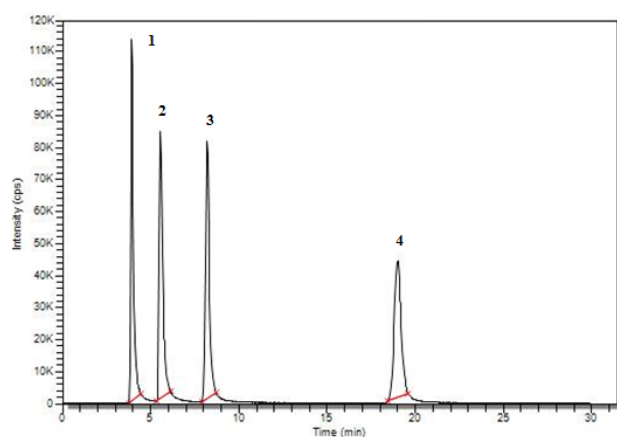
4.1 Presisjon og nøyaktighet i metoden

Ved alle analyser på ICP-OES og ICP-MS ble det benyttet sertifisert referansemateriale (SRM fra nå) for å bestemme nøyaktigheten i metoden. Det ble benyttet SRM så lik prøven som mulig med hensyn på konsentrasjon og matriks. Valg av metode for dekomponering var avgjørende for om de bestemte verdiene av SRM kom innenfor det sertifiserte området. Som regel kom de målte verdiene av SRM innenfor det sertifiserte området. En del verdier kom innenfor to ganger det sertifiserte området og kan i visse tilfeller sies å være nøyaktige nok dersom det sertifiserte området var veldig lite i forhold til konsentrasjonen i SRM. I andre tilfeller stemte verdien dårlig med det sertifiserte området og kan ha sammenheng med valg av dekomponeringsteknikk i forhold til det som ble benyttet ved bestemmelse av det sertifiserte området for SRM. Alle analyseresultater fra som følger her hvor det ble benyttet SRM havnet innenfor det sertifiserte området til SRM (se Vedlegg 5) i analyser hvor SRM ble benyttet selv om matriksen ikke alltid var helt lik. Det ble ikke benyttet SRM ved spesiering av arsen og måling av pH. Det ble heller ikke benyttet SRM i sekvensiell ekstraksjon utenom ved analysen som en kontroll på bestemmelsen på ICP-MS.

Dekomponering av avgang, avløps slam, biokull fra CCA-impregnert trevirke og SRM med så lik matriks som mulig ble gjort med flussyre og salpetersyre (avsnitt 3.4.4). Disse prøvene ble også analysert i en prøveserie. Ikke alle de bestemte verdiene av SRM havnet innenfor det sertifiserte området (Vedlegg 5). Ved en kombinasjon av alle SRM ble bestemmelsen nøyaktig for alle analytter av interesse i de tre forskjellige prøvetypene selv om matriksen av SRM ikke alltid var lik. Dette innebærer at bestemmelsen var nøyaktig men metoden hvor også dekomponeringen inngår ikke var nøyaktig for alle analytter med hensyn på matriks. Dette kan skyldes både det at en kombinasjon av salpetersyre og flussyre dekomponert ved 260 °C blir en svært effektiv dekomponering slik at mer av analyttene løses ut enn det som ble oppnådd ved bestemmelse av det sertifiserte området for SRM. Matriksinterferenser kan også påvirke bestemmelsen av analyttene i SRM slik som utfelling av analytt.

Avløps slam, vekstmedier, inertfraksjon etter sekvensiell ekstraksjon, biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke ble dekomponert med kun salpetersyre. De samme problemene med SRM oppsto også her som nevnt i avsnittet over. Dekomponering av silikater blir lite effektivt med salpetersyre slik at for lite av analytten som sitter bundet i silikatene blir løst ut. Interferens kan også oppstå ved at analytten felles ut ved oksidasjon med salpetersyre.

Ved spesiering av arsen ble det benyttet to kolonner av samme fabrikat på ulike tidspunkt. Når den første kolonnen ble benyttet ble mobilfasehastigheten redusert ($0,8 \text{ ml min}^{-1}$) grunnet at denne kolonnen var noe tett. Standarder av de fire ulike speciene av arsen som arsenitt, arsenat, monometylarsenat og dimetylarsenat ble analysert for å undersøke retensjonstid, separasjonen av specier, respons i ICP-MS og separasjon (Figur 2 og Tabell 8). Responsen i ICP-MS for de ulike speciene var i relativt lik og kolonnen hadde evne til å separere de ulike speciene i tid. På et senere tidspunkt hvor prøvene ble analysert ble en annen kolonne benyttet hvor mobilfasehastigheten ble justert opp til $1,5 \text{ ml min}^{-1}$. Det ble på dette tidspunktet ikke analysert noen standarder. Retensjonstiden som var grunnlaget for å bestemme arsenspecien ble derfor ikke lik mellom de to kolonnene. Det ble derfor i ettertid funnet at produktet mellom retensjonstid og mobilfasehastighet kunne benyttes som en korreksjon for mobilfasehastigheten på retensjonstiden. Når dette ble utført stemte også resultatene godt med det som tidligere er beskrevet i litteraturen om specier av arsen i plantemateriale og jord. I tillegg ble en standard med dimetylarsenat også analysert på begge kolonner fikk omtrent likt produkt mellom mobilfasehastighet og retensjonstid. Dette fører til store usikkerheter rundt om det er riktig specie som er detektert men en indikasjon om spesieringen av arsen i de ulike prøvetypene.



Figur 2: Kromatogram av en prøve med standarder av arsen. Topp 1 = arsenitt, topp 2 = dimetylarsenat, topp 3 = monometylarsenat og topp 4 = arsenat. Mobilfasehastigheten var $0,8 \text{ ml min}^{-1}$ og konsentrasjonen av de ulike speciene var $0,5 \text{ mg/l}$.

Tabell 8: Resultater av spesiering av en $0,5 \text{ mg/l}$ standardløsning med arsenitt, dimetylarsenat, monometylarsenat og arsenat.

Topp nr	Arsenspecie	Areal	Retensjonstid (min)	Mobilfasehastighet ml min ⁻¹	Produkt
1	Arsenitt	1157574,6	4	0,8	3,2
2	Dimetylarsenat	1129124,5	5,5	0,8	4,4
3	Monometylarsenat	1131398,4	8	0,8	6,4
4	Arsenat	1139116,0	19	0,8	15,2

Oppsettet av forsøket (Tabell 7) ble designet ut i fra å undersøke om innholdet av kobber, krom og arsen i overjordiske plantedeler endret seg ved økende konsentrasjon av biokull fra CCA-impregnert trevirke. Det ble laget henholdsvis seks og fire parallelle pottes hvor 50 og 75 vekt % av biokullet var fra CCA-impregnert trevirke (potte 3-8 og 9-12). Disse parallellene sa noe om presisjonen i metoden da alle pottene ble behandlet likt både på vekstrom og prøveopparbeiding til analyse. Potte 6-8 ble tatt ut etter tre uker for å gjøre sekvensiell ekstraksjon og undersøke jordstrukturen slik at tre pottes sto igjen til å undersøke presisjonen ved 50 vektprosent CCA og fire fra 75 vektprosent CCA. Potte 10-12 ble gjødslet med henholdsvis bor, fosfor og bor + fosfor som analoge til henholdsvis arsenitt og arsenat for å undersøke om dette påvirket opptaket av arsen etter 18. uke slik at kun tre pottes fra 50 vektprosent CCA var igjen for å undersøke presisjonen.

4.2 Avgang, avløpsslam og biokull

Innholdet av plantenæringsstoffer og ikke-essensielle næringsstoffer i avgangsmaterialet, avløpsslammet og biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke finnes i Tabell 9.

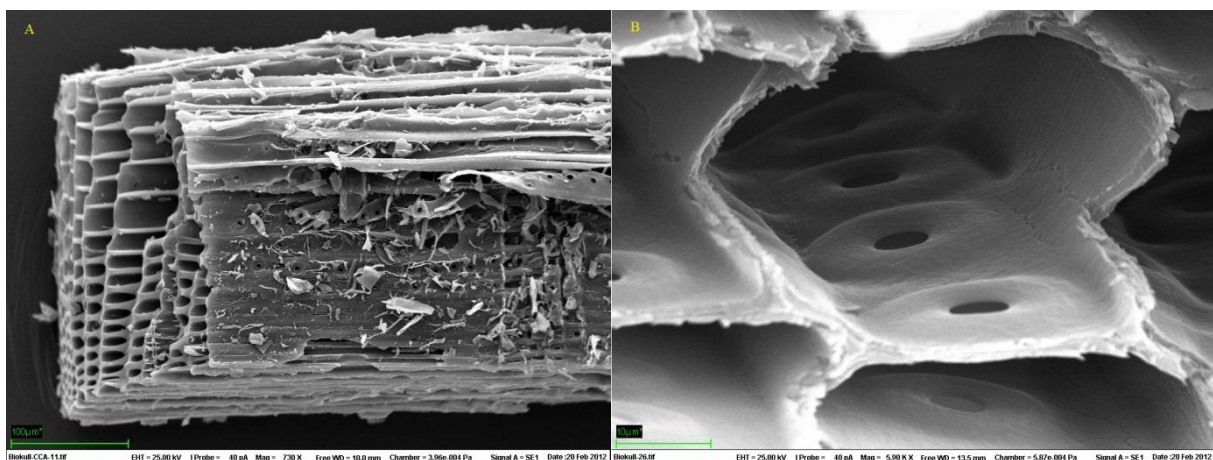
Tabell 9: Gjennomsnittlig konsentrasjon og standardavvik av essensielle og ikke-essensielle plantenæringsstoffer i avgangen, avløpsslammet og biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke målt på ICP-OES. Verdier merket * kommer fra prøver dekomponert med HF+HNO₃ og umerkede verdier fra prøver dekomponert med kun HNO₃. Karbon og nitrogen ble bestemt ved forbrenningsanalyse og ble ikke dekomponert i UltraClave®. Felter merket med i.b. indikerer at analytten ikke ble bestemt i gjeldende prøve.

Grunnstoff	Avgang	Avløpsslam	Biokull ubehandlet	Biokull CCA
	Gjennomsnitt og SD (n=3)	Gjennomsnitt og SD (n=5)	Gjennomsnitt og SD (n=5)	Gjennomsnitt og SD (n=5)
As	<LOD*		<LOD	6,6 ± 0,12 g/kg*
B	i.b.*	0,06 ± 0,011 g/kg	6 ± 1,4 mg/kg	4 ± 2,6 mg/kg
Ca	40,4 ± 0,44 g/kg*	170 ± 37 g/kg	4,9 ± 0,42 g/kg	1,77 ± 0,029 g/kg*
Cr	282 ± 3,5 mg/kg*	0,05 ± 0,012 g/kg	<LOD	5,1 ± 0,11 g/kg*
Cu	96 ± 5,3 mg/kg*	0,07 ± 0,015 g/kg	2,8 ± 0,33 mg/kg	4,42 ± 0,025 g/kg
Fe	107 ± 2,0 g/kg*	16 ± 1,0 g/kg*	0,5 ± 0,11 g/kg	0,17 ± 0,030 g/kg*
K	5,69 ± 0,084 g/kg*	7,3 ± 0,58 g/kg*	1,46 ± 0,073 g/kg	0,30 ± 0,016 g/kg*
Mg	35,7 ± 0,56 g/kg*	4,5 ± 0,33 g/kg*	0,8 ± 0,14 g/kg	320 ± 5,9 mg/kg
Mn	0,723 ± 0,0091 g/kg*	0,23 ± 0,016 g/kg*	0,32 ± 0,010 g/kg	280 ± 5,1 mg/kg*
Na	17,3 ± 0,25 g/kg*	4,3 ± 0,57 g/kg*	0,08 ± 0,011 g/kg	120 ± 8,6 mg/kg
Ni	0,30 ± 0,041 g/kg*	16,0 ± 0,96 mg/kg*	0,72 ± 0,062 mg/kg	14,2 ± 0,26 mg/kg
P	1,01 ± 0,059 g/kg*	9,4 ± 0,11 g/kg*	0,13 ± 0,012 g/kg	<LOD
S	1,2 ± 0,20 g/kg*	5 ± 1,0 g/kg	75 ± 4,8 mg/kg	380 ± 9,5 mg/kg
Zn	94,0 ± 0,21 mg/kg*	0,19 ± 0,041 g/kg	37 ± 1,3 mg/kg	70 ± 6,9 mg/kg
C	i.b.	131 ± 7,1 g/kg	789 ± 3,9 g/kg	795 ± 4,5 g/kg
N	i.b.	14,6 ± 0,84 g/kg	3,2 ± 0,24 g/kg	3,8 ± 0,40 g/kg

Ut i fra «helsebaserte tilstandsklasser for forurenset grunn» (Hansen & Danielsberg 2009) kan avgangsmassene i deponiet klassifisere ut i fra innholdet av ulike grunnstoffers konsentrasjon. I Vedlegg 2 finnes verdien for de ulike tilstandsklassene. Analyseresultatene fra avgangsmaterialet viser at nikkelinholdet ble målt til $0,30 \pm 0,041$ g/kg tørrstoff. Dette fører til at avgangsmassene havner i tilstandsklasse 4 (dårlig). Krominnholdet på $282 \pm 3,5$ mg/kg havner i klasse 3 (moderat) dersom krom forekommer som treverdige. Det ble ikke utført noen spesiering av krom men ut i fra at avgangsmassene hadde en pH rundt $8,63 \pm 0,015$ kan det tenkes at krom i dette tilfellet kan forekomme som seksverdige krom slik at avgangsmaterialet havner i tilstandsklasse 5 (svært dårlig). Disse tilstandsklassene er satt ut i fra human helse og kan ikke overføres til dyringsjord eller jord for matproduksjon.

Ut i fra de analysene som ble gjort på avløpsslammet (Tabell 9) havnet dette i kvalitetsklasse 1 for gjødselvarer av organisk opphav (Vedlegg 1). Gjødselvarer med organisk opphav i denne kvalitetsklassen kan benyttes på jordbruksarealer, parker og hager på inntil 4 tonn per dekar per 10 år (Lovdata 2003). Det settes krav til at jord som skal tilsettes gjødselvarer av organisk opphav i klasse en ikke inneholder mer en 30 mg/kg Ni, 50 mg/kg Cu og 100 mg/kg krom som er grenseverdier (Lovdata 2003) som avgangsmassen overgår.

Biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke ble undersøkt med elektronmikroskop (scanning electron microscopy, SEM) for å undersøke om biokullet fikk en porøs og ren struktur som beskrevet i en annen undersøkelse (Miura et al. 2004). Fra Figur 3 ser det ut til at biokullet har bevart mange av de strukturene som finnes i trevirke. Gangstrukturen i biokullet er åpen og ren uten partikler som tetter igjen strukturen.



Figur 3: Bilde av biokull tatt med «scanning electron microscopy» (SEM) ved IPM. Bilde A er bilde av biokull fra trykkimpregnert trevirke og bilde B er av biokull fra ubehandlet trevirke.

Begge biokullproduktene hadde et høyt innhold av karbon (Figur 9) og innholdet var også relativt likt mellom dem. Innholdet av kobber, krom og arsen var vesentlig høyere i biokullet fra CCA-impregnert trevirke enn ubehandlet trevirke som et resultat av impregneringen med kobber, krom og arsen. Noen forskjeller var det også mellom makro- og mikronæringsstoffer for planter som kan skyldes ulikt opphavsmateriale for biokullet.

4.3 Vekstmediet

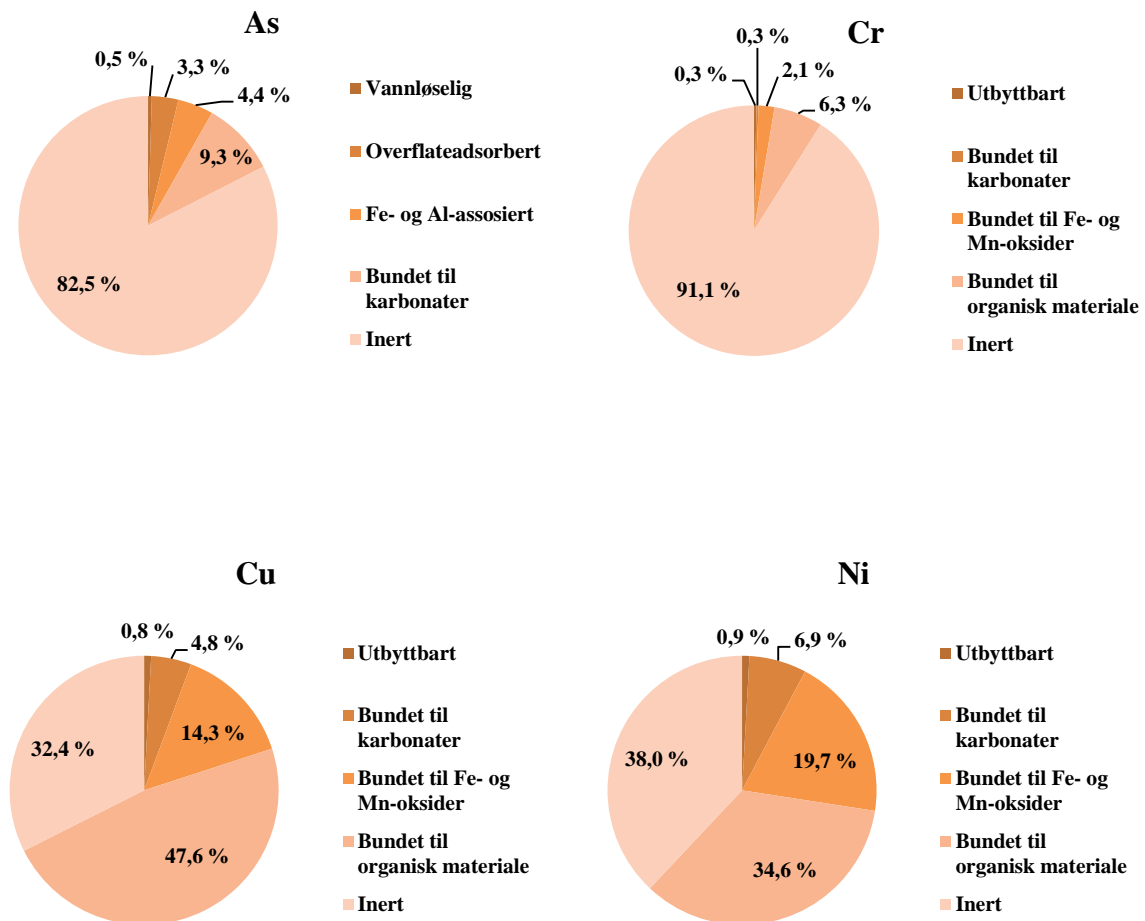
Tabell 10 viser beregnet innhold innholdet av ulike grunnstoff som er betenkelige i jord og inngår i tilstandsklassifiseringen av jord. Grunnet avgangens høye innhold av nikkel blir vekstmediet som kun inneholder biokull fra ubehandlet trevirke og vekstmediet som kun inneholder biokull fra CCA-impregnert trevirke klassifisert som 4 (dårlig) dersom det ses bort fra at krom kan forekomme i den mer toksiske seksverdige formen.

Tabell 10: Beregnede konsentrasjoner av As, Cr, Cu, Ni og Zn i de ulike vekstmediene med gruveavgang, avløpslam og biokull. Konsentrasjonene er beregnet ut i fra tallmaterialet i tabell 7 og 8.

Grunnstoff	Enhet	Vekstmedium				
		0 % CCA	25 % CCA	50 % CCA	75 % CCA	100 % CCA
As	mg/kg	0	79	158	237	315
Cr	mg/kg	231	292	354	415	476
Cu	mg/kg	87	139	192	245	298
Ni	mg/kg	238	238	238	238	239
Zn	mg/kg	107	108	108	108	109

Resultatet av sekvensiell ekstraksjon av anioner av arsen og kationer av krom, kobber og nikkel i vekstmediet med like mengder biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke etter 14 uker kan sees i Figur 4. I Vedlegg 4 er konsentrasjonene og ekstraksjonseffektiviteten i den sekvensielle ekstraksjonen listet opp. Standardavviket i noen av fraksjonene var noe høyt men resultatene gir en indikasjon omtrent hvor mye de ulike fraksjonene utgjør av det totale innholdet. Ekstraksjon av arsen viste at store mengder (82,5 %) forekommer i den inerte fraksjonen og kan tenkes og ikke løse ut på kort sikt og bli plantetilgjengelig. Karbonatbundet arsen vil løses dersom pH i vekstmediet blir lav men ettersom pH i vekstmediet holdt seg stabil gjennom vekstforsøket på omtrent 8 (se Vedlegg 3) vil denne fraksjonen kunne holde seg lite løselig så lenge ikke pH synker. Arsen assosiert med jern og aluminium kan løses dersom det pH i jorden blir høy. Dersom pH i vekstmediet blir høyere enn 8 kan disse løses ut og gi et betydelig bidrag til de mer biotilgjengelige fraksjonene. Overflatebundet arsen har

potensiale til å byttes ut med andre kationer i jorden. Tilsetning av fosfat i jorden kan bytte ut overflatebundet arsen og overføre arsen til den vannløselige fraksjonen (Kumpiene et al. 2008).

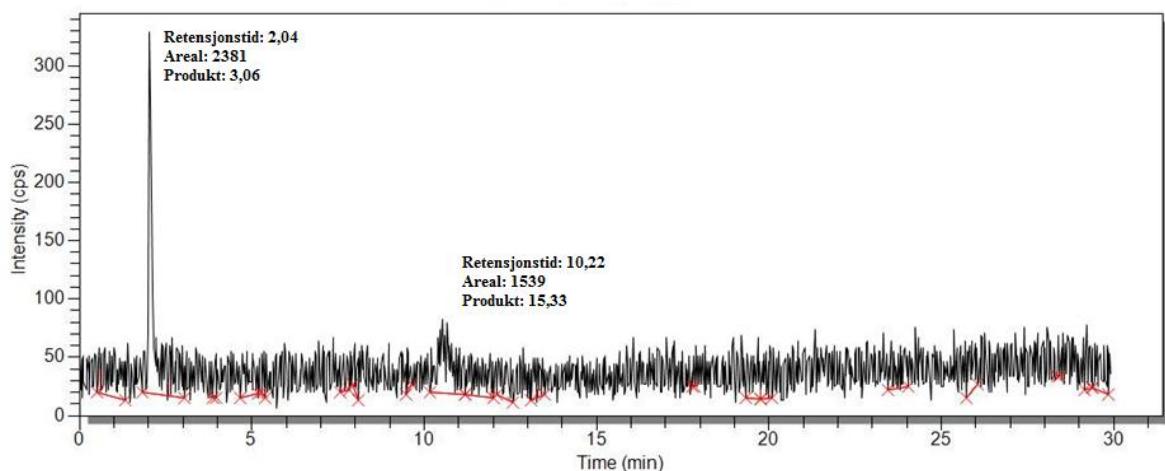


Figur 4: Resultater etter sekvensiell ekstraksjon av anioner av arsen og kationer av krom, kobber og nikkel.

Ekstraksjon av kationer av krom viste at en det meste av dette var bundet til den inerte fraksjonen og kan tenkes at ikke er løselig på svært lang tid. Kationer av krom som er bundet til organisk materiale kan ved nedbrytning frigis og bli biotilgjengelig. Avløpsslam som inneholder mye organisk materiale kan binde krom men løse det ut igjen etter hvert som det brytes ned. Da avløpsslammet hadde ligget ute i to år kan det tenkes at mye av det organiske materialet var humifisert og mer stabilt enn ferskt avløpsslam. Med kun 0,6 % av krom i den utbyttbare og karbonatbundede fraksjonen vil svært lite av det totale innholdet være tilgjengelig på kort sikt. Sekvensiell ekstraksjon av kationer av kobber og nikkel viser likheter i fordelingen av de ulike fraksjonene. Dette er interessant da store deler av nikkelet stammer

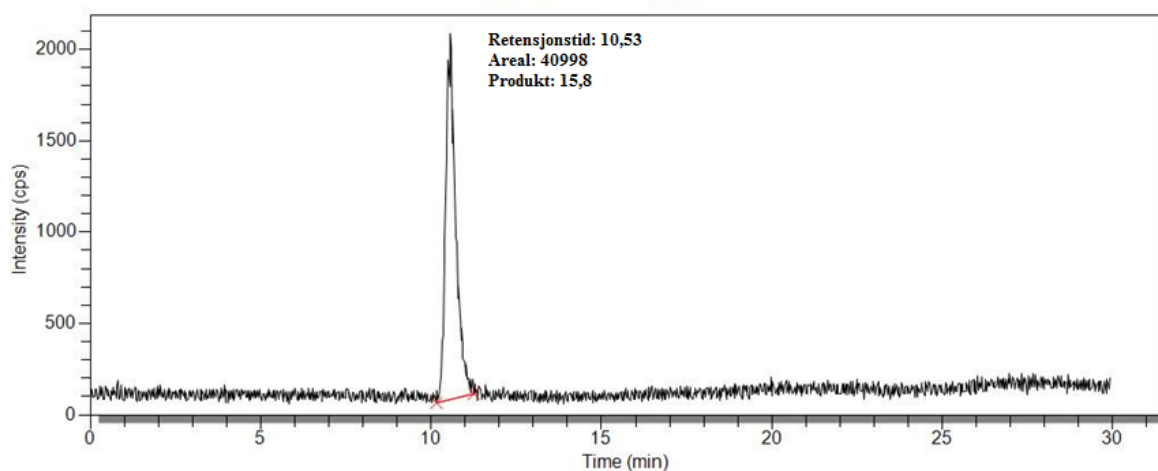
fra gruvematerialet mens CCA-biokull har det største bidraget til kobber. Dette indikerer at det muligens kan ha skjedd en fordeling av kobber og nikkel i vekstmediet til ulike bindingsplasser fra vekstforsøkets start og til jordprøvene til sekvensiell ekstraksjon ble tatt ut. Kobber og nikkel bundet til organisk materiale utgjør en stor fraksjon og kan være en kilde til mer biotilgjengelige fraksjoner ved nedbrytning av det organiske materialet som i hovedsak stammer fra avløpsslammet.

Speciering av arsen i den vannløselige (Figur 5) og overflateadsorberte (Figur 6) fraksjonen indikerer at noe mer arsenitt forekommer i den vannløselige fraksjonen enn arsenat mens det i den overflateadsorberte fraksjonen hovedsakelig forekommer arsenat. Det ble ikke observert noen metylerte arsenspecier i vekstmediet. Produktene mellom retensjonstid og mobilfasehastighet stemmer til dels over ens med verdiene beregnet i Tabell 8.



Figur 5: Speciering av arsen i den vannløselige fraksjonen i vekstmediet med 50 % CCA andel av biokullet, gruveavgang og avløpsslam.

Arsen forekommer hovedsakelig som arsenat og arsenitt i jord hvor arsenitt er den mest mobile formen. Arsenitt forekommer som udisosiert arsenittsyre ved normale pH-verdier i jord og har liten evne til å binde til ladninger på overflater i jord. Arsenat som forekommer som mer eller mindre disosiert arsenatsyre ved normale pH-forhold i jord har større evne til å binde til overflater i jord.



Figur 6: Spesiering av arsen i den overflateadsorberte fraksjonen i vekstmediet med 50 % CCA andel av biokullet, gruveavgang og avløpsslam.

4.4 Visuelle observasjoner av planter og vekstmedium

Gjennom de 22 ukene som vekstforøket pågikk ble plantene også studert for å se om de hadde noen visuelle mangelsymptomer eller tegn på forgiftning. Det ble ikke observert noen klare tegn til at plantene hadde noen mangel eller forgiftninger bortsett fra potten som kun besto av gruveavgang og halvt om halvt med rent og CCA-biokull (50 % CCA – Slam). De første ukene i vekstforsøket så gresset fint ut men resten av tiden viste gresset tegn på og ikke trives i vekstmediet med noe gule, sammenrullede blad med brune prikker og visne bladspisser. Veksten var også vesentlig redusert (Figur 8 og Figur 14) enn i de andre pottene.

Etter tre uker ble tre pottes (6,7 og 8. 50 % CCA-biokull) tatt ut for sekvensiell ekstraksjon og undersøke rotutvikling og jordstruktur. Røttene hadde på dette tidspunkt i alle tre pottene spredd seg godt utover og vekstmediet var holdt godt sammen av røttene. Det var ingen tydelig strukturering i jorden annet enn svake tegn til noen gryn eller små aggregater.

Etter at vekstforsøket var avsluttet ble de resterende pottene tømt og jordstruktur og rotutvikling ble på nytt undersøkt (Figur 7). Røttene var på dette tidspunktet også svært godt bredd utover i potten og vekstmediet ble holdt sammen av den gode rotutviklingen (Figur 7 bilde A og B). Det ble på dette tidspunktet heller ikke observert noen struktur i jorden bortsett fra noen tegn til aggregater. Dette gjaldt alle pottene bortsett fra potten hvor avløpsslam (Figur 7 bilde C) ikke var en del av vekstmediet. I denne potten var rotutviklingen relativt dårlig i forhold til de andre pottene og vekstmediet var løst og minnet mye om avgangsmaterialet da det ble hentet på deponiet.

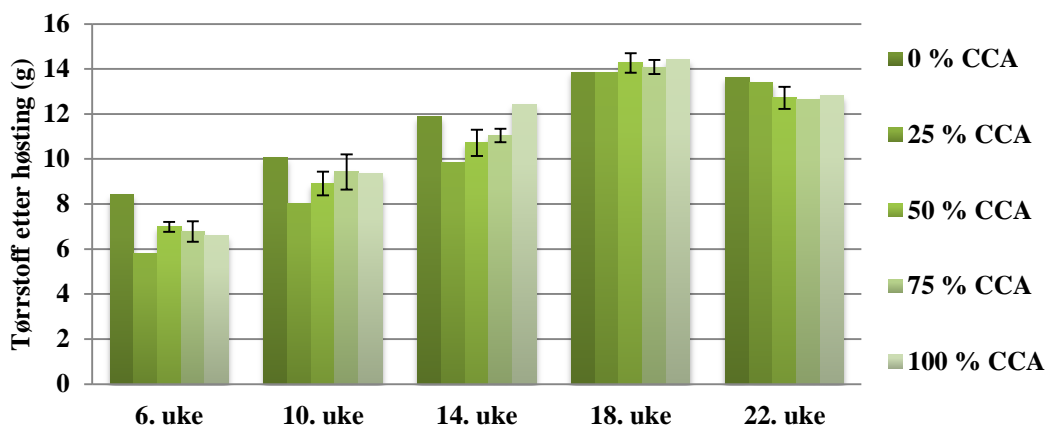


Figur 7: Snitt gjennom vekstmediet etter vekstforsøkets avslutning. A: Potte med avgangsmateriale, avløpsslam og biokull fra ubehandlet trevirke (potte 1). B: Potte med avgangsmateriale, avløpsslam og biokull fra CCA-impregnert trevirke (potte 13). C: Potte med avgangsmateriale og biokull 1:1 fra ubehandlet trevirke og CCA-impregnert trevirke.

4.5 Effekt av CCA på planter

4.5.1 Plantenes vekst

Veksten av plantene ble undersøkt som en funksjon av økt innblanding av CCA-biokull. Figur 8 viser produsert overjordisk biomasse (overjordisk plantemateriale) av forsøksarten italiensk raigras etter i hver høsting i gram tørrstoff.



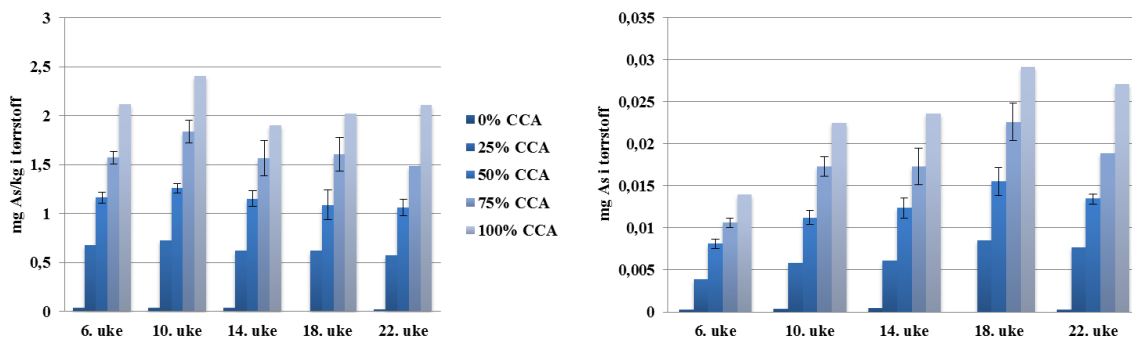
Figur 8: Vekt av høstet biomasse av italiensk raigras (*Lolium multiflorum* var. Barpluto) i gram tørrstoff fra vekstmedier med gruveavgang, avløpsslam og biokull med varierende innhold av biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke.

Produksjonen av biomasse ser ut til å øke mellom hver høsting fram til den 18. uken. Etter dette ser det ut til at veksthastigheten avtar noe for vekstmediene med 50-100 % CCA. Spesielt mellom uke 14 og 18 ser det til at veksthastigheten har økt en del. Effekten av økende andel av rent biokull på produksjon av plantemateriale er noe uklart. Graset som vokste i vekstmediet med biokull fra kun ubehandlet trevirke ser ut til å ha noe bedre vekst fram til den 10. uken og sannsynligvis også ved den 14. uken. Etter dette er forskjellen i produsert biomasse mellom vekstmediene mindre. I vekstmediene med CCA-biokull ser det ut til at dette biokullet har gitt noe økt vekst helt til den 18. uken. Vekstmediene med 50 % og 75 %

CCA er ikke signifikant forskjellige der standardavviket for begge vekstmediene er tilgjengelig. Det kan derfor tenkes at dette også er tilfellet mellom de andre vekstmediene også til en viss grad.

4.5.2 Arsen i gresset

Ved økende andel av CCA-biokull i vekstmediet ble det også funnet at konsentrasjon av arsen i den overjordiske delen av plantene økte som Figur 9 viser. Endring i opptak over tid ser ut til å være liten og mellom uke 10 og 18 er endringen ikke signifikant forskjellig innenfor et vekstmedium. Den maksimale konsentrasjonen av arsen i overjordisk plantemateriale finnes i gresset høstet etter 10 uker i vekstmediet med 100 % CCA-biokull på 2,4 mg As/kg. I fôrwareforskriften settes en grenseverdi på 2 mg As/kg i forvarer med 12 % vanninnhold (Lovdata 2002). Ved omregning til 12 vektprosent vanninnhold i graset blir konsentrasjonen 1,9 mg As/kg som er tett opp mot grenseverdien.



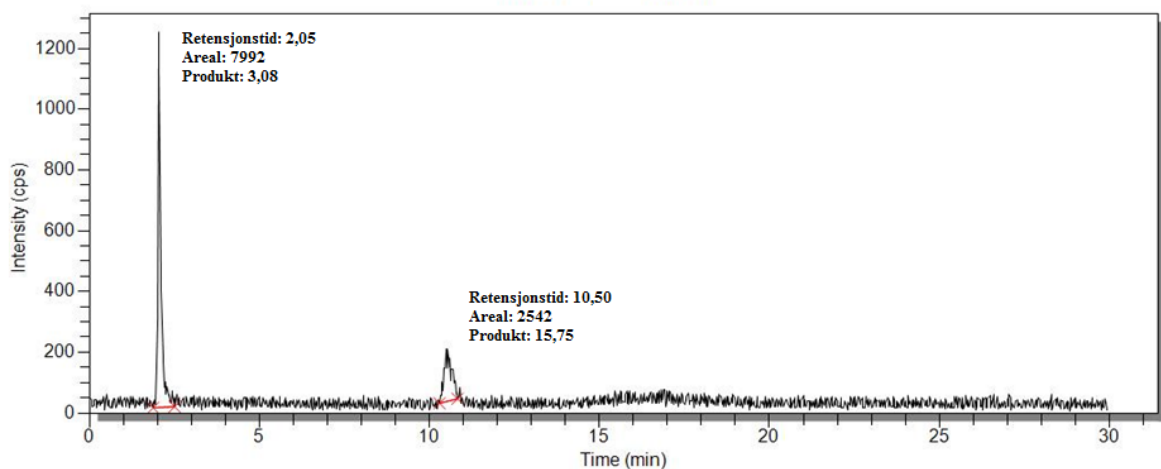
Figur 9: Figuren til venstre viser konsentrasjonen (mg As/kg) av arsen i høstet gress tørket ved 60 °C i tre døgn fra vekstmediene med gruveavgang, biokull og avløpslam. Figuren til høyre viser mengden arsen (mg As) tatt opp fra vekstmediet og overført til det høstede gresset.

Totalt opptak av arsen i overjordiske plantedeler fra hvert vekstmedium (Figur 9) ser ut til å øke over tid. I vekstmediet med kun rent biokull varierer totalt opptak lite i motsetning til vekstmediene hvor også CCA-biokull ble blandet inn som kan tenkes er en konsekvens av at arsenkonsentrasjonen er relativt lav. I vekstmediene med CCA-biokull ser det ut til at opptak i de overjordiske plantedelene øker fra uke 6 til uke 18 før det synker igjen til uke 22. Denne økningen over tid i opptak i overjordisk biomasse kan stå i sammenheng med at også produksjonen av biomasse økte over tid. Dette gjenspeiles i at konsentrasjonen i overjordisk biomasse var relativt konstant innenfor hvert vekstmedium.

I vekstmediene med 75 % CCA som etter fjerde høsting ble gjødslet med henholdsvis bor, fosfor og bor + fosfor ble arsenkonsentrasjonen i plantematerialet målt til henholdsvis 1,4 mg/kg, 1,9 mg/kg og 1,8 mg/kg mot 1,5 mg/kg i ugjødslet vekstmedium med samme CCA-andel. Dette indikerer at ved tilsetning av bor, kan dette som analog til arsenitt redusere

opptaket av plantetilgjengelig arsen. Tilsetning av ekstra fosfor ser ut til å ha økt opptaket av arsen som en potensiell effekt av at fosfat er analog til arsenat og kan bytte ut overflateabsorbent arsenat og bli plantetilgjengelig. Dette ser også ut til å være tilfellet ved tilsetning av bor og fosfor sammen.

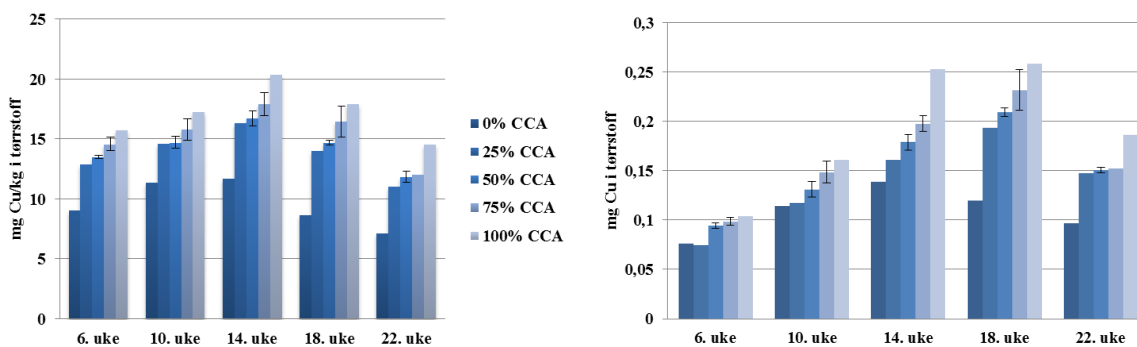
Speciering av arsen i overjordisk plantemateriale ekstrahert med en løsning av like deler ionebyttet vann og metanol viste at store deler av det ekstraherte arsenet forekom som arsenitt og omtrent en fjerdedel forekom som arsenat (Figur 10). Dette stemmer godt med teorien om at det i røttene skjer en reduksjon av arsenat til arsenitt og den mest forekommende specien som blir overført til de overjordiske plantedelene er treverdige arsen.



Figur 10: Speciering av arsen i plantemateriale fra vekstmedium gruveavgang, avløpsslam og 50 % andel CCA-biokull av biokullet. Plantematerialet ble ekstrahert med en løsning av like deler vann og metanol.

4.5.3 Kobber i gresset

Konsentrasjonen av kobber i overjordiske plantedeler ser ut til å øke med økende andel av CCA-biokull i vekstmediet (Figur 11). Dette så ut til å gjelde også over tid da konsentrasjonen i de overjordiske plantedelene fra vekstmediet med kun rent biokull og vekstmediet med kun CCA-biokull viser relativt stor forskjell. Konsentrasjonen i den overjordiske biomassen så ut til og nå en topp ved den 14. uken før konsentrasjonen så går ned igjen. Kobberforgiftning er funnet å kunne starte ved 20-25 mg Cu/kg tørrstoff i planter (Aasen 1997). Etter den tredje høstingen i uke 14 ble kobberkonsentrasjonen i de overjordiske plantedelene i vekstmediet med kun CCA-biokull funnet til å være over 20,4 mg Cu/kg tørrstoff. Dersom konsentrasjonen hadde fortsatt å øke kunne dette ført til forgiftningssymptomer på gresset.

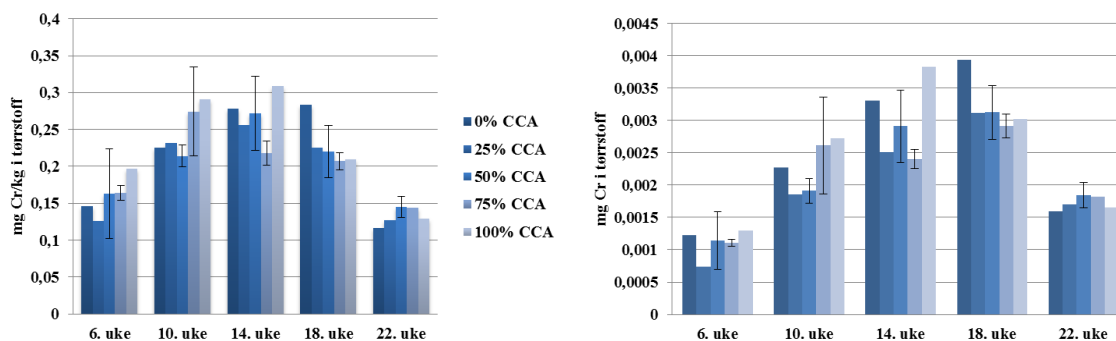


Figur 11: Figuren til venstre viser konsentrasjonen (mg Cu/kg) av kobber i høstet gress tørket ved 60 °C i tre døgn fra vekstmediene med gruveavgang, biokull og avløpsslam. Figuren til høyre viser mengden kobber (mg Cu) tatt opp fra vekstmediet og overført til det høstede gresset.

Opptaket av kobber i gresset så ut til å øke med økende andel CCA-biokull i vekstmediet (Figur 11). Dette var tilfellet ved alle fem høstinger i mer eller mindre grad. Forskjellen i opptaket ved økende andel CCA-biokull viste en økende trend fra første høsting, hvor forskjellen var liten, til fjerde høsting i uke 18 hvor det var en relativt stor forskjell i opptaket mellom vekstmediet uten CCA-biokull til vekstmediet med kun CCA-biokull. Opptaket sank noe til neste høsting som også vises i lavere konsentrasjon i gresset.

4.5.4 Krom i gresset

Konsentrasjonen av krom i overjordiske plantedeler viste en trend som tyder på at innhold av CCA-biokull har en mindre effekt på konsentrasjonen i plantematerialet (Figur 12). Dette kan skyldes at avgangsmaterialet inneholder relativt høye konsentrasjoner av krom og noe av dette kan være plantetilgjengelig. Konsentrasjonen av krom så ut til og nå et maksimum i plantematerialet ved uke 14, før konsentrasjonen gikk ned igjen. I henhold til hva som er funnet å være normale konsentrasjoner i plantemateriale, 0,3-0,6 mg Cr/kg tørrstoff, var konsentrasjonen i gresset lavere. Dette til tross for at krominnholdet var relativt høyt (Tabell 10) i vekstmediet i forhold til gjennomsnittlig konsentrasjon i jord på 60 mg Cr/kg tørrstoff.

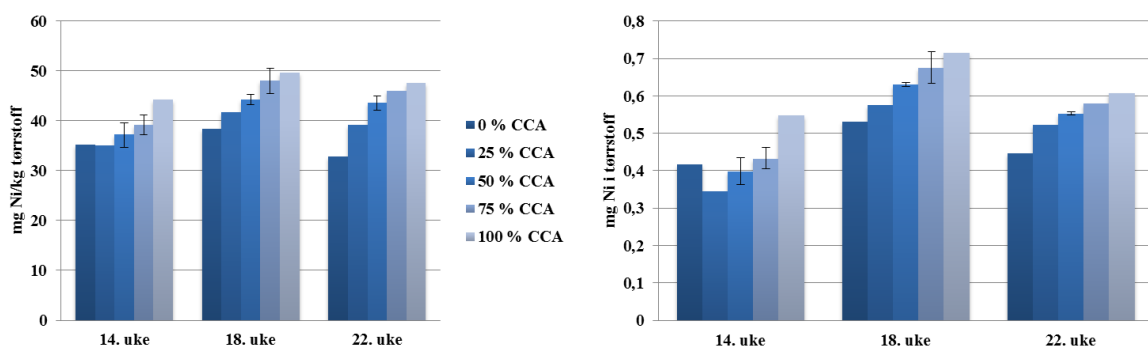


Figur 12: Figuren til venstre viser konsentrasjonen (mg Cr/kg) av krom i høstet gress tørket ved 60 °C i tre døgn fra vekstmediene med gruveavgang, biokull og avløpsslam. Figuren til høyre viser mengden krom (mg Cr) tatt opp fra vekstmediet og overført til det høstede gresset.

Opptaket av krom i gresset økete tilsynelatende også med tid og viste tegn til å være uavhengig av andelen CCA-biokull i vekstmediet.

4.5.5 Nikkel i gresset

Nikkel viste seg noe problematisk å oppnå måleresultater for nikkel da metoden kun var nøyaktig for de tre siste høstingene. Ved de tre siste høstingene viste det seg at konsentrasjonen av nikkel var relativt høy (Figur 13), opp mot 50 mg Ni/kg tørrstoff som regnes som grenseverdi for mer tolerante arter (Aasen 1997). Konsentrasjonen viste også tendenser til å øke med økende andel av CCA-biokull i vekstmediet. Dette virker noe overraskende da store deler av nikkelet i vekstmediene forekommer i avgangsmaterialet og ikke i biokullet. Det ble funnet noe mer nikkel i CCA-biokull enn i rent biokull (Tabell 9) som kan bidra til at mengden nikkel i vekstmediene øker med økende innhold av CCA-biokull dersom dette var løselig og plantetilgjengelig.

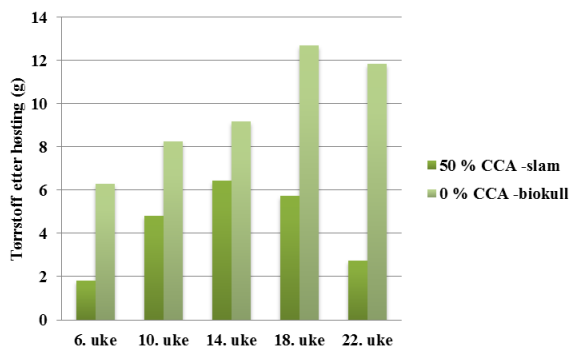


Figur 13: Figuren til venstre viser konsentrasjonen (mg Ni/kg) av nikkel i høstet gress tørket ved 60 °C i tre døgn fra vekstmediene med gruveavgang, biokull og avløpsslam. Figuren til høyre viser mengden nikkel (mg Ni) tatt opp fra vekstmediet og overført til det høstede gresset.

Overført mengde nikkel til overjordiske plantedeler indikerer også at dette øker med økende innhold av CCA-biokull slik endret konsentrasjon i overjordisk biomasse ikke skyldes er en fortynningseffekt.

4.5.5 Effekten av avløpsslam og biokull

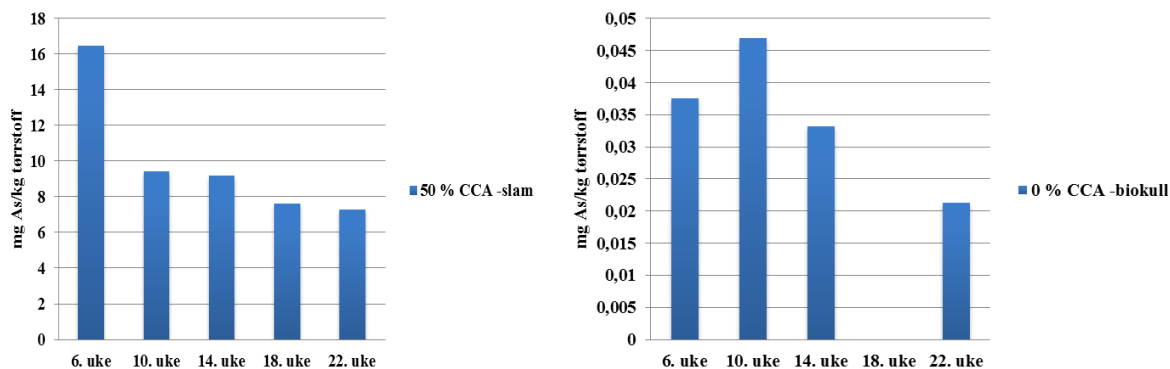
For å undersøke hvordan avløpsslam påvirket veksten til gresset ble det i en potte ikke tilsatt avløpsslam men kun avgang og biokull. Produksjon av overjordisk biomasse var vesentlig lavere i vekstmediet som ikke fikk avløpsslam i forhold til pottene som fikk avløpsslam (Figur 14 og Figur 8). Felles for alle vekstmediene kan det se ut til at vekstraten økte mellom hver høsting fram til høstingen den 14. uken for vekstmediet uten avløpsslam og fram til den fjerde høstingen for vekstmediene med avløpsslam. Når biokull ikke var en del av vekstmediet, så ikke dette ut til å ha noen stor betydning på produksjonen av biomasse verken positivt eller negativt.



Figur 14: Vekt av høstet biomasse av italiensk raigras i gram tørrstoff fra vekstmedium med gruveavgang og like mengder biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke og vekstmedium med gruveavgang og avløpsslam men uten biokull.

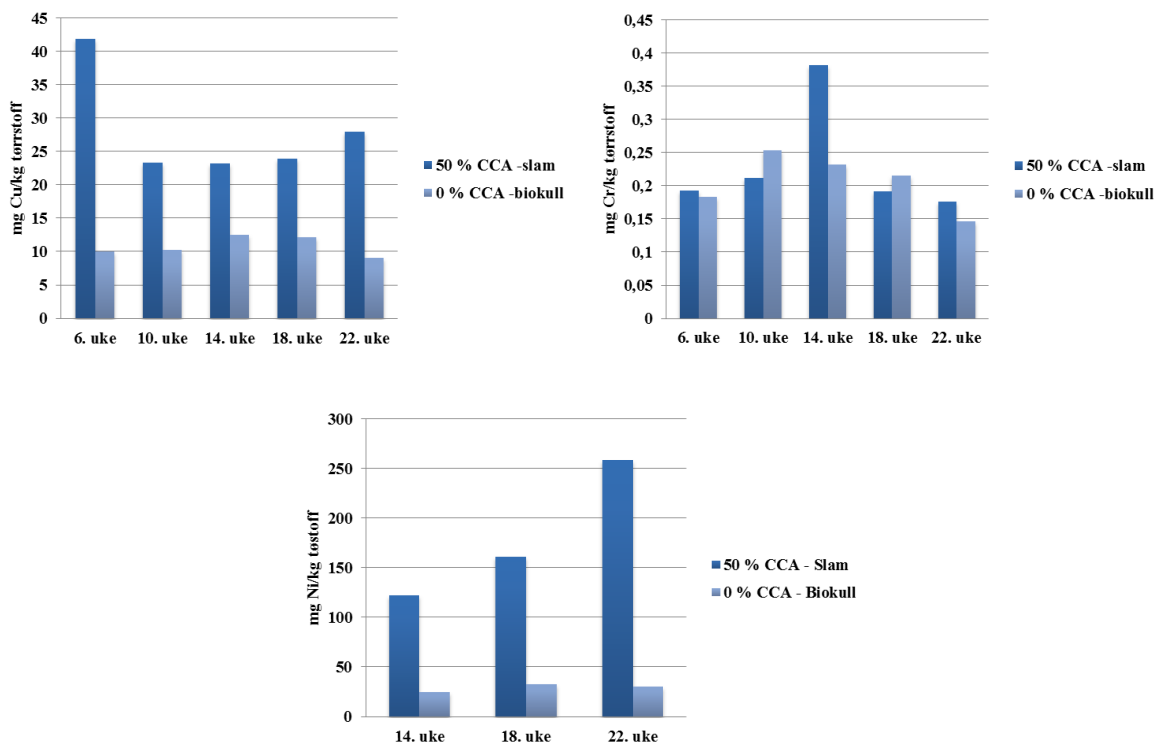
I tillegg til redusert vekst av overjordisk biomasse var også mengden røtter tilsynelatende vesentlig mindre ved visuell undersøkelse etter forsøket avslutning (Figur 7 bilde c) ved fravær av avløpsslam. Når mengden røtter reduseres kan dette også gå utover opptaket av vann og næringsstoffer. Som omtalt i teorien kan giftig overskudd av kobber og giftige konsentrasjoner av arsen, krom og nikkell i planterøtter føre til redusert rotutvikling som igjen viste seg i lavere produksjon av overjordisk biomasse. Overjordisk biomasse viste også tegn til at optimalt innhold av en eller flere grunnstoff i plante ikke var innfridd. Bladverket var stedvis brunlig og tørt og blekt grønnfarget i andre områder.

Slik som Figur 15 viser ligger konsentrasjonen i overjordisk biomasse av arsen på omtrent 16 mg/kg tørrstoff ved de to første høstingene for så å reduseres til omtrent 7 mg/kg tørrstoff ved fjerde og femte høsting. Dette er mye høyere konsentrasjon enn det som ble målt i overjordiske plantedeler fra vekstmediene hvor også avløpsslam var en del av vekstmediet (Figur 9). Dette indikerer at avløpsslam kan redusere den plantetilgjengelige konsentrasjonen av arsen som i dette tilfellet stammer fra hovedsakelig CCA-biokull.



Figur 15: Konsentrasjonen (mg As/kg TS) av arsen i tørt overjordisk plantemateriale. Plantematerialet er fra vekstmedium med gruvemateriale og like deler biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke og vekstmedium av gruveavgang og avløpsslam.

Konsentrasjonen av kobber målt i overjordisk biomasse fra vekstmediet uten avløpsslam ligger også tidvis en del over det som ble målt i de samme plantedelene fra vekstmedium med avløpsslam og biokull (Figur 11 og Figur 16). Konsentrasjoner over 20-25 mg/kg tørrstoff er vist å kunne være giftig overskudd (Aasen 1997) og ved første høsting ble innholdet målt til over 40 mg Cu/kg. I vekstmediet hvor det ikke ble tilsatt biokull ligger konsentrasjonen i overjordiske plantedeler noe høyere enn i vekstmediet hvor også rent biokull var en del av vekstmediet. Dette kan ha en sammenheng med at det totalt er mer kobber i potten med kun gruveavgang og avløpsslam slik at også mer kan være biotilgjengelig.



Figur 16: Konsentrasjonen (mg/kg TS) av kobber, krom og nikkel i tørt overjordisk plantemateriale. Plantematerialet er fra vekstmedium med gruvemateriale og like deler biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke og vekstmedium av gruveavgang og avløpsslam.

Kromkonsentrasjonen i overjordisk biomasse ser ut til ikke å være styrt av konsentrasjonen av krom i vekstmediet eller om avløpsslam og biokull er en del av vekstmediet eller ikke.

Konsentrasjonen er under eller i området for normalt innhold (Aasen 1997) selv ved høy konsentrasjon i vekstmediet og når avløpsslam ikke er en del av vekstmediet.

Innholdet av ulike plantenæringsstoffer og ikke-essensielle plantenæringsstoffer i overjordiske plantedeler fra vekstmedium med 50 % CCA-biokull, vekstmediet uten avløpsslam og vekstmediet uten biokull kan sees i Vedlegg 6. Innholdet av bor er i overjordiske plantedeler i vekstmedier med avløpsslam er generelt høyt og over det som

regnes som er normalt (14 mg/kg tørrstoff) og kan føre til forgiftning. Vekstmediet uten avløpsslam har et lavere innhold og ligger innenfor det som regnes som normalt. Innholdet av fosfor er noe lavt i forhold til det som er normalt i raigras på 3,5 - 5 mg/kg tørrstoff (Aasen 1997). Innholdet ble målt til å øke noe i vekstmedier med slam og synke noe i vekstmediet uten slam. Lavt innhold av fosfor i vekstmedier med slam kan skyldes at dette fosforet er felt ut med aluminiumsalter. Fosfor i aluminiumfelt slam regnes som lite plantetilgjengelig i tillegg til at fellingskemikaliene kan binde til fosfor som allerede er i jord og gjøre dette lite plantetilgjengelig. Det ble forsøkets start gjødslet med relativt store mengder fosfor i forhold til det som er normalt i jordbruket slik at jordens fosforstatus skulle være god. Men det kan være at aluminium fra avløpsslammet kan ha gjort dette lite plantetilgjengelig.

4.6 Forslag til videre arbeid

Da dette forsøket var et potteforsøk som ble utført i et klimaregulert rom hvor plantenes tilgang på vann ble forsøkt å holdes så optimal som mulig for planter vekst fører dette til at det kan være store forskjeller i resultatet mellom et slikt forsøk og et forsøk i felt. Forslag til videre arbeid vil derfor være og stegvis tilnærme seg et feltforsøk ved og videre undersøke hvordan et deponi for gruveavgang kan revegeters.

Det ble i dette forsøket kun undersøkt påvirkningen av biokull hos én kultivert grasart. Ved revegetering vil ville arter på sikt kunne etablere seg i deponiet samt at et mer naturlig vegetasjonsdekke vil bestå av flere arter enn bare italiensk raigras. Andre arter vil potensielt kunne påvirkes annerledes enn det som ble observert i dette forsøket. Nitrogenfikserende planter slik som kløver (*Trifolium spp.*) kan tilføre deponiet, på sikt, plantetilgjengelig nitrogen. Da nitrogenfikseringen skjer i rotknoller hvor det er en symbiose mellom nitrogenfikserende bakterier og planten kan denne symbiosen påvirkes av kobber, krom, arsen og nikkel som kan føre til redusert rotutvikling og negativ effekt på nitrogenfikseringen ved eksponering til reaktive oksygen specier i en prosess som krever anaerobe forhold i knollene.

Da dette forsøket var del av en masteroppgave hvor vekstforsøket kun strak seg over 22 uker er dette veldig kort tid å si noe om hvordan biokull og avløpsslam oppfører seg i jord og hvordan slammet, biokullet og avgangen påvirker hverandre. Spørsmål som må besvares er hvordan biokull og avløpsslam over tid vil endre seg og i hvilke grad biokullet og organisk materiale i avløpsslammet blir brutt ned og om dette vil kunne påvirke mobiliteten av kobber, krom og arsen.

I et feltforsøk på deponiet hvor vanning i størst mulig grad må skje ved naturlig tilførsel via nedbør slik at vannlagringskapasiteten i jordsmonnet må være tilstrekkelig for å kunne opprettholde et varig plantedekke. Gjødsling av et slikt areal vil også være en økonomisk belastning som også i størst mulig grad vil være ønskelig å minimere. Vekstmediets evne til å holde tilbake plantenæringsstoffer fra avrenning vil også være viktig. Dette må sees i sammenheng med hva slags jordforbedringsmidler som benyttes og hvordan disse er produsert.

5 Konklusjon

I denne oppgaven ble det undersøkt vekst og opptak av kobber, krom, arsen og nikkel i overjordiske plantedeler av italiensk raigras. Forsøksoppsettet ble ikke designet for å utføre statistiske undersøkelser da det kun var et begrenset antall pletter som kunne være med i forsøket. Dette fører til det ikke med sikkerhet sies om det er signifikante forskjeller mellom ulike vekstmediene eller behandlingene med hensyn på vekst og opptak. Men forsøket kan gi viktige indikasjoner hvordan avløpsslam og biokull påvirket veksten og opptak i gresset.

I vekstmediene med gruveavgang, avløpsslam og varierende blandingsforhold mellom biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke ble det ikke observert noen visuell forskjell på overjordiske plantedeler. Det ble heller ikke observert noen store forskjeller i rotutviklingen. Produksjonen av overjordisk biomasse så ut til ved forsøkets to første høstinger å være bedre når det kun ble brukt biokull fra ubehandlet trevirke. Denne forskjellen ble svakere etter hvert da vekstmediet med kun rent biokull og kun CCA-biokull ga mest biomasse ved tredje høsting før forskjellen ble svært liten ved den fjerde og femte høstingen mellom alle vekstmediene med avløpsslam og biokull. Når biokull ikke var en del av vekstmediet førte dette til en noe lavere biomasseproduksjon sammenliknet med vekstmediene hvor det i tillegg til avløpsslam også var biokull. Når avløpsslam ikke var en del av vekstmediet ble veksten vesentlig redusert i forhold vekstmediet med avløpsslam og like mengder biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke. Det tyder derfor på at avløpsslam har en god effekt på biomasseproduksjon når det benyttes biokull fra ubehandlet og CCA-impregnert trevirke.

Konsentrasjonen av arsen i plantematerialet så ut til å øke som en funksjon av økt innhold av CCA-biokull i vekstmediet med gruveavgang og avløpsslam og biokull. Mengde arsen tatt opp så også ut til å øke med økende innhold av CCA-biokull. Dette indikerer at når innholdet av CCA-biokull øker, øker også den biotilgjengelige delen av arsen. Når avløpsslam ikke var en del av vekstmediet økte konsentrasjonen av arsen i overjordiske plantedeler sterkt.

Avløpsslammet ser derfor ut til å ha en god effekt som sorbent og reduserte den biotilgjengelige andelen arsen i vekstmediet.

Speciering av arsen i overjordisk biomasse ekstrahert med en løsning av like deler metanol og vann indikerer at både arsenitt og arsenat forekommer med hvor arsenitt dominerer. Da det er store usikkerheter identiteten til de ulike speciene må det tas forbehold om at det kan være andre specier som detektert. Det må i midlertid nevnes at resultatene fra specieringen stemmer

godt over ens med det som er beskrevet i litteraturen. Dette indikerer at arsenet forekommer i størst konsentrasjon som den mest toksiske formen av de som ble funnet.

Kobberkonsentrasjonen i de overjordiske plantedelene ser også ut til å øke med økende innhold av CCA-biokull i vekstmedium med gruveavgang, avløpsslam og biokull. I vekstmediet uten avløpsslam var også innholdet kobber, slik som arsen, høyere enn i vekstmediene med avløpsslam. Dette tyder derfor på at avløpsslammet kan bidra med bindingsplasser for det kobberet som er løselig fra biokullet og gjøre dette mindre plantetilgjengelig.

Kromkonsentrasjonen i overjordiske plantedeler var generelt lav til normal i forhold til det som er funnet i litteraturen. Dette var tilfelle i alle vekstmediene både med og uten biokull og avløpsslam. Dette tyder derfor på at store deler av krommet ikke er biotilgjengelig eller at plantene har gode egenskaper til å hindre translokasjon av krom til overjordiske plantedeler.

Den sekvensielle ekstraksjonen viste at av den totale konsentrasjonen av arsen, kobber, krom og nikkel var svært lite umiddelbart plantetilgjengelig. Det kan på sikt riktignok tenkes at noe av de mindre plantetilgjengelige fraksjonene kan blir mer tilgjengelige over tid. Dette kan spesielt tenkes å være tilfellet for organisk bunnet kobber, krom og nikkel som ved nedbrytning av det organiske materialet kan løses ut. Fraksjoner av kobber, krom og nikkel som var følsomme for reduksjon i pH vil sannsynligvis i mindre grad kunne løses da pH i vekstmediet var høy (jevnt rundt 8 over tid) og viste liten endring over tid. Arsen kan i midlertid være følsomt for høy pH slik at arsen assosiert med jern og aluminium kan løses ut over tid.

Det vannløselig arsen som kan være direkte plantetilgjengelig viste seg å dominere av arsenitt men også en del arsenat var tilstede mens overflateadsorbent arsen viste seg kun som arsenat. Det er også i denne spesieringen av arsen store usikkerheter i forhold til identiteten til speciene.

Ut i fra resultatene fra de undersøkelsene innenfor rammene av forsøket kan det konkluderes med at avløpsslam kan ha en svært god effekt på veksten av raigras. Det kan videre konkluderes med at avløpsslam også kan ha en svært god effekt som sorbent for arsen, kobber og nikkel. Dette viste seg ved både redusert vekst og høy konsentrasjon av arsen, kobber og nikkel ved fravær av avløpsslam i vekstmediet med både rent og CCA-biokull.

6 Referanser

- Aasen, I. (1997). *Mangelsjukdomar og andre ernæringsforstyrningar hos kulturplanter: årsaker - symptom - rådgjerder*. [Oslo]: Landbruksforl. 95, 16 s. s.
- Agilent Technologies. (2005). *ICP-MS, Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, A Primer*. USA.
- Bartlett, R. J. (1991). CHROMIUM CYCLING IN SOILS AND WATER - LINKS, GAPS, AND METHODS. *Environmental Health Perspectives*, 92: 17-24.
- Berge, G. (2011). Disponering av avløpsslam. I: *SSB*. Tilgjengelig fra: http://statbank.ssb.no/statistikbanken/Default_FR.asp?PXSid=0&nvl=true&PLanguage=0&tilside=selectvarval/define.asp&Tabellid=05279 (lest 12.4.2012).
- Berge, G. & Mellem, K. B. (2011). Kommunale avløp. Ressursinnsats, utslipp, rensing og slamdisponering 2010. Gebyrer 2011, 46/2011: Statistisk sentralbyrå.
- Brady, N. C., Weil, R. R., Brady, N. C. & Weil, R. R. (2004). *Elements of the nature and properties of soils*. Upper Saddle River, N.J.: Prentice Hall. XIV, 606 s. s.
- Bridgwater, A. V. (2003). Renewable fuels and chemicals by thermal processing of biomass. *Chemical Engineering Journal*, 91 (2-3): 87-102.
- Burkhead, J. L., Reynolds, K. A. G., Abdel-Ghany, S. E., Cohu, C. M. & Pilon, M. (2009). Copper homeostasis. *New Phytologist*, 182 (4): 799-816.
- Chan, K. Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A. & Joseph, S. (2007). Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment. *Australian Journal of Soil Research*, 45 (8): 629-634.
- China National Analysis Center for Iron and Steel. (2004a). *Certificate of Certified Reference Materials, NCS DC73319 - 73326, Soil*. Beijing, Kina.
- China National Analysis Center for Iron and Steel. (2004b). *Certificate of Certified Reference Materials, NCS DC73347 - NCS DC73351*. Beijing, Kina.
- Ettner, D. (2005). Samlerapport: Geokjemisk og miljømessig vurdering av avgangsmasser ved Titania A/S: GEM Consulting AS. 12 s.
- Felleskjøpet. (2012). *Grovfôrkatalogen 2012 - grunnlaget for et godt resultat*.
- Fellet, G., Marchiol, L., Delle Vedove, G. & Peressotti, A. (2011). Application of biochar on mine tailings: Effects and perspectives for land reclamation. *Chemosphere*, 83 (9): 1262-1267.

- Fernandes, J. C. & Henriques, F. S. (1991). BIOCHEMICAL, PHYSIOLOGICAL, AND STRUCTURAL EFFECTS OF EXCESS COPPER IN PLANTS. *Botanical Review*, 57 (3): 246-273.
- Francesconi, K. A. & Kuehnelt, D. (2004). Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000-2003. *Analyst*, 129 (5): 373-395.
- Frøystad, B. (1995). Planting på Kjerdalsdeponiet. Titania A/S i Skndal i åra 1987-1994. Stavanger: Titania A/S. 13 s.
- Gaskin, J. W., Steiner, C., Harris, K., Das, K. C. & Bibens, B. (2008). EFFECT OF LOW-TEMPERATURE PYROLYSIS CONDITIONS ON BIOCHAR FOR AGRICULTURAL USE. *Transactions of the Asabe*, 51 (6): 2061-2069.
- Gjengedal, E. L. (2008). PRØVETAKING, PRØVEOPPARBEIDING OG BESTEMMING AV ENKLE FYSIKALSK-KJEMISKE VARIABLE Institutt for plante- og miljøvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap. Ås. 8 s.
- Gleyzes, C., Tellier, S. & Astruc, M. (2002). Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *Trends in Analytical Chemistry*, 21 (6-7): 451-467.
- Grønlund, A. (2011). *Biochar carbon sequestration- political and economic considerations. Nordic seminar on biochar 9-10th November 2011*, Oslo. 20 s.
- Hamilton. (2012). *Flexible Anion Analysis with Hamilton PRP-X100 and X110 Columns*. Reno, Nevada, USA. 2 s.
- Hansen, H. J. & Danielsberg, A. (2009). *Tilstandsklasser for forurenset grunn*. Statens forurensningstilsyn. Oslo. 28 s.
- Haraldsen, T. K. (2006). Vurering av avgang og vektmateriale fra Titania som basis for produksjon av vekstmedier: Bioforsk Jord og miljø. 3 s.
- Harris, D. C. (2007). *Quantitative chemical analysis*. New York: Freeman. XVII, 663, [136] s. s.
- Hartley, W. & Lepp, N. W. (2008). Effect of in situ soil amendments on arsenic uptake in successive harvests of ryegrass (*Lolium perenne* cv Elka) grown in amended As-polluted soils. *Environmental Pollution*, 156 (3): 1030-1040.
- Hildonen, H. (2010). *Plantetilgjengelighet av kobber, krom og arsen i jord gjødslet med askeresten fra cca-impregnert og mikrobølgepyrolysert trevirke*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for plante- og miljøvitenskap. 83 s.
- Hjellnes COWI AS. (2001). Impregnert trevirke som avfall, Klassifisering og disponering. Oslo. 47 s.

- Hjellnes COWI AS. (2003). Innsamlingsordninger for impregnert trevirke. 30.
- Jensen, K. A. (2009). *INDUKTIVT KOBLET PLASMA MASSESPEKTROMETRI*. Institutt for plante- og miljøvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås.
- Jensen, K. A. (2011). Institutt for plante- og miljøvitenskap, Universitetet for miljø- og biovitenskap, Ås. *Personlig meddelelse*.
- Kabata-Pendias, A. (2010). *Trace Elements in Soils and Plants*. Boca Raton: CRC Press.
- Krachler, M. & Emons, H. (2000). Extraction of antimony and arsenic from fresh and freeze-dried plant samples as determined by HG-AAS. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 368 (7): 702-707.
- Kriegerbrockett, B. (1994). MICROWAVE PYROLYSIS OF BIOMASS. *Research on Chemical Intermediates*, 20 (1): 39-49.
- Kumpiene, J., Lagerkvist, A. & Maurice, C. (2008). Stabilization of As, Cr, Cu, Pb and Zn in soil using amendments - A review. *Waste Management*, 28 (1): 215-225.
- Lindquist, A. & Gillberg, L. (2003). *Konsten att rena vatten*. Helsingborg: Kemira Kemwater. 220 s. s.
- Lovdata. (2002). Forskrift om fôrvarer. Tilgjengelig fra: <http://www.lovdata.no/cgi-wift/ldles?doc=/sf/sf/sf-20021107-1290.html> (lest 5.5.2012).
- Lovdata. (2003). Forskrift om gjødselvarer mv. av organisk opphav. Tilgjengelig fra: <http://www.lovdata.no/for/sf/ho/xo-20030704-0951.html#27> (lest 2.5.2012).
- Lovdata. (2004). Forskrift om gjenvinning og behandling av avfall (avfallsforskriften). Tilgjengelig fra: <http://www.lovdata.no/cgi-wift/ldles?doc=/sf/sf/sf-20040601-0930.html> (lest 12.4.2012).
- McLaren, R. G., Naidu, R., Smith, J. & Tiller, K. G. (1998). Fractionation and distribution of arsenic in soils contaminated by cattle dip. *Journal of Environmental Quality*, 27 (2): 348-354.
- Meharg, A. A. & Hartley-Whitaker, J. (2002). Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species. *New Phytologist*, 154 (1): 29-43.
- Milestone Inc. (2008). *UltraCLAVE, The Next Generation Microwave Digestion System*. Shelton, USA. 8 s.
- Mir, K. A., Rutter, A., Koch, I., Smith, P., Reimer, K. J. & Poland, J. S. (2007). Extraction and speciation of arsenic in plants grown on arsenic contaminated soils. *Talanta*, 72 (4): 1507-1518.

- Miura, M., Kaga, H., Sakurai, A., Kakuchi, T. & Takahashi, K. (2004). Rapid pyrolysis of wood block by microwave heating. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 71 (1): 187-199.
- Mohan, D., Pittman, C. U. & Steele, P. H. (2006). Pyrolysis of wood/biomass for bio-oil: A critical review. *Energy & Fuels*, 20 (3): 848-889.
- National Institute of Standards & Technology (NIST). (2004). *Certificate of Analysis, Standard Reference Material 1646a, Estuarine Sediment*. Gaithersburg, USA.
- National Institute of Standards & Technology (NIST). (2008). *Certificate of Analysis, Standard Reference Material 1570a, Trace Elements in Spinach Leaves*. Gaithersburg, USA.
- National Institute of Standards & Technology (NIST). (2009a). *Certificate of Analysis, Standard Reference Material 2709a, San Joaquin Soil, Baseline Trace Element Concentrations* Gaithersburg, USA.
- National Institute of Standards & Technology (NIST). (2009b). *Certificate of Analysis, Standard Reference Material 2710a, Montana I Soil, Highly Elevated Trace Element Concentrations*. Gaithersburg, USA.
- National Institute of Standards & Technology (NIST). (2009c). *Certificate of Analysis, Standard Reference Material 2711a, Montana II Soil, Moderately Elevated Trace Element Concentration*. Gaithersburg, USA.
- Nilsen, A. H. (2007). *Titania, Møte på Ås 31.01.2007, Ås*.
- Nolan, A. L., Zhang, H. & McLaughlin, M. J. (2005). Prediction of zinc, cadmium, lead, and copper availability to wheat in contaminated soils using chemical speciation, diffusive gradients in thin films, extraction, and isotopic dilution techniques. *Journal of Environmental Quality*, 34 (2): 496-507.
- Perkin Elmer. (1997). *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. 2. utg.: Boss, C.B. & K.J. Fredeen, USA.
- Pizarro, I., Gomez, M., Camara, C. & Palacios, M. A. (2003). Arsenic speciation in environmental and biological samples - Extraction and stability studies. *Analytica Chimica Acta*, 495 (1-2): 85-98.
- Planquart, P., Bonin, G., Prone, A. & Massiani, C. (1999). Distribution, movement and plant availability of trace metals in soils amended with sewage sludge composts: application to low metal loadings. *Science of the Total Environment*, 241 (1-3): 161-179.
- Raveendran, K., Ganesh, A. & Khilar, K. C. (1996). Pyrolysis characteristics of biomass and biomass components. *Fuel*, 75 (8): 987-998.

- Rindal, B. B. (2007). *Mikrobølgjepyrolyse av trykkimpregnert trevirke for produksjon av bioolje - frdeling av arsen, krom og kopar i tørrstoff - og væskefraksjon avhengig av pyrolysetemperatur*. Masteroppgave. Ås: Universitetet for miljø- og biovitenskap, Institutt for plante- og miljøvitenskap. 54 s.
- Rowell, R. M. (1984, 1984). *The Chemistry of solid wood*, Washington, D.C.: American Chemical Society. X, 614 s. s.
- Sadiq, M., Zaidi, T. H. & Mian, A. A. (1983). ENVIRONMENTAL BEHAVIOR OF ARSENIC IN SOILS - THEORETICAL. *Water Air and Soil Pollution*, 20 (4): 369-377.
- Selim, H. M. & Sparks, D. L. (2001). *Heavy metals release in soils*. Boca Raton, Fla.: Lewis Publishers. 249 s. s.
- Shanker, A. K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H. & Avudainayagam, S. (2005). Chromium toxicity in plants. *Environment International*, 31 (5): 739-753.
- Sinha, S., Jhalani, A., Ravi, M. R. & Ray, A. (2000). Modelling of Pyrolysis in Wood: A Review. *SESI Journal*, 10: 17.
- Sjöström, E. (1993). *Wood chemistry: fundamentals and applications*. New York: Academic Press. XIV, 293 s. s.
- Skei, J., Iversen, E., Kristensen, T., Aanes, K. J., Fosså, J. H., van der Meeren, T., Jensen, T., Rye, H., Løkeland, M., Thornhill, M., et al. (2010). Bergverk og avgangsdeponering. status, miljøutfordringer og kunnskapsbehov, TA-2715/2010. Oslo: Klima- og forurensningsdirektoratet, Ressursgruppe for bergverksdrift. 104 s.
- Skoog, D. A., Crouch, S. R. & Holler, F. J. (2007). *Principles of instrumental analysis*. Belmont, Calif.: Thomson. XV, 1039 s. s.
- Sloth, J. J. (2004). *Speciation analysis of arsenic: development of selective methodologies for assessment of seafood safety*. [Bergen]: Department of Biology, University of Bergen. 1 b. (flere pag.) s.
- Sohi, S. P., Krull, E., Lopez-Capel, E. & Bol, R. (2010). A REVIEW OF BIOCHAR AND ITS USE AND FUNCTION IN SOIL. I: Sparks, D. L. (red.) *Advances in Agronomy*, b. 105 *Advances in Agronomy, Vol 105*, s. 47-82. San Diego: Elsevier Academic Press Inc.
- Suslick, K. S. & Price, G. J. (1999). Applications of ultrasound to materials chemistry. *Annual Review of Materials Science*, 29: 295-326.
- Swedish University of Agricultural Sciences (SLU). (1995a). *Certificate, Energy Grass (Phalaris arundinaceae L.) Reference Material NJV 94-4*. Umeå.

- Swedish University of Agricultural Sciences (SLU). (1995b). *Certificate, Wood Fuel Reference Material NJV 94-5*. Umeå, Sverige.
- Tchobanoglous, G., Burton, F. L. & Stensel, H. D. (2003). *Wastewater engineering: treatment and reuse*. Boston: McGraw-Hill. XXVIII, 1819 s. s.
- Templeton, D. M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L. G., Muntau, H., Van Leeuwen, H. P. & Lobinski, R. (2000). Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry*, 72 (8): 1453-1470.
- Theodoratos, P., Moirou, A., Xenidis, A. & Paspaliaris, I. (2000). The use of municipal sewage sludge for the stabilization of soil contaminated by mining activities. *Journal of Hazardous Materials*, 77 (1-3): 177-191.
- Tordoff, G. M., Baker, A. J. M. & Willis, A. J. (2000). Current approaches to the revegetation and reclamation of metalliferous mine wastes. *Chemosphere*, 41 (1-2): 219-228.
- Ugland, T. N., Ekeberg, E. & Krogstad, T. (1998). *Bruk av avløps slam i jordbruket*. Grønn forskning, b. 04/98. Ås: Planteforsk. 13 bl. s.
- van Haren, R. & Starman, I. (2011). *Biochar: Climate saving soils. Nordic seminar on biochar 9-10th November 2011*, Oslo. 21 s.
- VandenBroeck, K., Helsen, L., Vandecasteele, C. & VandenBulck, E. (1997). Determination and characterisation of copper, chromium and arsenic in chromated copper arsenate (CCA) treated wood and its pyrolysis residues by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analyst*, 122 (7): 695-700.
- VanLoon, G. W. & Duffy, S. J. (2005). *Environmental chemistry: a global perspective*. Oxford: Oxford University Press. XVI, 515 s. s.
- Weber, J., Karczewska, A., Drozd, J., Licznar, M., Licznar, S., Jamroz, E. & Kocowicz, A. (2007). Agricultural and ecological aspects of a sandy soil as affected by the application of municipal solid waste composts. *Soil Biology & Biochemistry*, 39 (6): 1294-1302.
- Wilson, S. C., Lockwood, P. V., Ashley, P. M. & Tighe, M. (2010). The chemistry and behaviour of antimony in the soil environment with comparisons to arsenic: A critical review. *Environmental Pollution*, 158 (5): 1169-1181.
- Yang, H. P., Yan, R., Chen, H. P., Lee, D. H. & Zheng, C. G. (2007). Characteristics of hemicellulose, cellulose and lignin pyrolysis. *Fuel*, 86 (12-13): 1781-1788.

- Zayed, A. M. & Terry, N. (2003). Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant and Soil*, 249 (1): 139-156.
- Zhao, F. J., Ma, J. F., Meharg, A. A. & McGrath, S. P. (2009). Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*, 181 (4): 777-794.
- Øgaard, A. F., Grønsten, H. A., Sveistrup, T. E., Bøen, A., Kværnø, S. H. & Haraldsen, T. K. (2008). Potensielle miljøeffekter av å tilføre avløpsslam til jordbruksarealer. Resultater fra to feltforsøk i korn, 1. forsøksår 2007. Ås: Bioforsk. 39 s.

Vedlegg

Vedlegg 1: Kvalitetsklasser for gjødselvarer med organisk opphav (Lovdata 2003).

Grunnstoff	Enhet	Kvalitetsklasse			
		0	1	2	3
Ni	mg/kg	20	30	50	80
Zn	mg/kg	150	400	800	1500
Cu	mg/kg	50	150	650	1000
Cr	mg/kg	50	60	100	150

Vedlegg 2: Tilstandsklasser for jord ut i fra «helsebaserte tilstandsklasser for forurenset grunn» (Hansen & Danielsberg 2009).

Grunnstoff	Enhet	Tilstandsklasse				
		1 = Meget god	2 = God	3 = Moderat	4 = Dårlig	5 = Svært dårlig
As	mg/kg	<8	8-20	20-50	50-600	600-1000
Cr (III)	mg/kg	<50	50-200	200-500	500-2800	2800-25000
Cr (VI)	mg/kg	<2	2-5	5-20	20-80	80-1000
Cu	mg/kg	<100	100-200	200-1000	1000-8500	8500-25000
Ni	mg/kg	<60	60-135	135-200	200-1200	1200-2500
Zn	mg/kg	<200	200-500	500-1000	1000-5000	5000-25000

Vedlegg 3: pH i de ulike vekstmediene 7, 12, 17 og 22 uker etter utsåing. Uke 7-17 50 % CCA hadde n = 6 og 75 % CCA hadde n = 4. Uke 22 hadde 50 % CCA n = 3.

Vekstmedium	pH			
	7. uke	12. uke	17. uke	22. uke
0 % CCA	7,9	7,8	7,8	7,8
25 % CCA	8,0	7,9	7,8	7,8
50 % CCA	7,96 ± 0,044	7,89 ± 0,049	7,9 ± 0,11	7,96 ± 0,010
75 % CCA	7,96 ± 0,052	7,84 ± 0,078	7,85 ± 0,024	
100 % CCA	8,0	7,7	7,8	8,0
50 % CCA -avgang	8,0	7,9	7,8	7,9
50 % CCA -slam	7,7	7,3	7,7	7,6
0 % CCA -biokull	7,9	7,8	7,9	7,9

Vedlegg 4: Konsentrasjoner av As, Cu, Cr og Ni i ulike fraksjoner fra sekvensiell ekstraksjon av vekstmediet med 50 % CCA, gruveavgang og avløps slam. Total konsentrasjon ble funnet ved dekomponering av mortet vekstmedium dekomponert med HNO₃. Ekstraksjonseffektiviteten er i tabellen forkortet til EE %. De ulike fraksjonene av As er 1 = vannløselig, 2 = overflateadsorbent, 3 = Fe- og Al- assosiert, 4 = Bundet til karbonater og 5 = inert. De ulike fraksjonene av Cu, Cr og Ni er 1 = utbyttbart, 2 = Bundet til karbonater, 3 = bundet til Fe- og Mn-oksider, 4 = bundet til organisk materiale og 5 = inert.

Grunnstoff	Antall	Fraksjon, mg/kg					Sum fraksjoner mg/kg	Total mg/kg	EE %
		1	2	3	4	5			
As	3	0,8 ± 0,13	5,4 ± 0,75	7 ± 1,0	15 ± 2,8	134 ± 31	163 ± 32	137 ± 20	118 ± 5,9
Cu	8	1,4 ± 0,19	8 ± 1,2	24 ± 7,3	79 ± 1,5	54 ± 4,2	167 ± 14	186 ± 15	89 ± 12
Cr	8	0,93 ± 0,026	0,7 ± 0,11	6 ± 1,1	18 ± 7,5	255 ± 6,5	280 ± 3,4	301 ± 12	93 ± 17
Ni	8	1,93 ± 0,042	15,2 ± 0,89	43 ± 2,2	76,0 ± 0,44	84 ± 5,4	220 ± 7,6	230 ± 6,7	96 ± 6,9

Vedlegg 5: Sertifiserte områder for grunnstoffer i sertifiserte referansemateriale benyttet i forsøket. Sertifiserte områder merket ¹=Ca målt som CaO, ²= K målt som K₂O, ³= Mg målt som MgO og ⁴= Na målt som Na₂O

Grunnstoff	NCS DC 73348	NCS DC 73324	NCS DC 73325	NJV 94/4	NJV 94/5
	Gjennomsnitt	Gjennomsnitt	Gjennomsnitt	Konsentrasjon	Gjennomsnitt
	Konfidensintervall	Konfidensintervall	Konfidensintervall	Konfidensintervall	Konfidensintervall
As	0,95 ± 0,12 µg/g	220 ± 14 µg/g	4,8 ± 1,3 µg/g	0,4 ± 0,12 mg/kg	0,8 ± 0,24 mg/kg
B	34 ± 7 µg/g	57 ± 5 µg/g			
Ca	2,22 ± 0,13 %	0,22 ± 0,03 % ¹	0,16 ± 0,02 % ¹	0,21 ± 0,018 %	0,35 ± 0,022 %
Cr	2,3 ± 0,3 µg/g	75 ± 6 µg/g	410 ± 23 µg/g	3,4 ± 0,68 mg/kg	0,8 ± 0,30 mg/kg
Cu	5,2 ± 0,5 µg/g	390 ± 14 µg/g	97 ± 6 µg/g	6,8 ± 0,46 mg/kg	2,2 ± 0,30 mg/kg
Fe	1020 ± 67 µg/g			0,106 ± 0,0063 %	0,007 ± 0,0016 %
K	0,85 ± 0,05 %	1,70 ± 0,06 % ²	0,20 ± 0,02 % ²	0,38 ± 0,021 %	0,09 ± 0,017 %
Mg	0,287 ± 0,018 %	0,34 ± 0,05 % ³	0,26 ± 0,03 % ³	0,088 ± 0,0074 %	0,030 ± 0,0018 %
Mn	58 ± 6 µg/g	1450 ± 82 µg/g	1780 ± 113 µg/g	0,016 ± 0,0016%	0,021 ± 0,0038 %
Na	1,10 ± 0,10 %	0,19 ± 0,02 % ⁴	0,08 ± 0,02 % ⁴		0,004 ± 0,0012 %
Ni	1,7 ± 0,4 µg/g	53 ± 4 µg/g	276 ± 15 µg/g		
P	830 ± 40 µg/g	303 ± 30 µg/g	1150 ± 39 µg/g	0,109 ± 0,009 %	0,021 ± 0,0028 %
S	0,32 ± 0,03 %	260 ± 43 µg/g	250 ± 36 µg/g	0,132 ± 0,0097 %	0,018 ± 0,0039 %
Zn	20,6 ± 2,2 µg/g	97 ± 6 µg/g	142 ± 11 µg/g	42 ± 4,2 mg/kg	38 ± 8,5 mg/kg

Grunnstoff	1570a	2709a	2710a	2711a	1646a
	Gjennomsnitt	Gjennomsnitt	Gjennomsnitt	Gjennomsnitt	Gjennomsnitt
	Konfidensintervall	Konfidensintervall	Konfidensintervall	Konfidensintervall	Konfidensintervall
As	0,068 ± 0,012 mg/kg		0,154 ± 0,01 %	107 ± 5 mg/kg	6,23 ± 0,21 mg/kg
B	37,6 ± 1 mg/kg				
Ca	1,527 ± 0,041 %	1,91 ± 0,09 %	0,964 ± 0,045 %	2,42 ± 0,06 %	0,519 ± 0,02 %
Cr		130 ± 9 mg/kg		52,3 ± 2,9 mg/kg	40,9 ± 1,9 mg/kg
Cu	12,2 ± 0,6 mg/kg		0,342 ± 0,005 %	140 ± 2 mg/kg	10,01 ± 0,34 mg/kg

Fe		3,36 ± 0,07 %	4,32 ± 0,08 %	2,82 ± 0,04 %	2,008 ± 0,039 %
K	2,903 ± 0,052 %	2,11 ± 0,06 %	2,17 ± 0,13 %	2,53 ± 0,1 %	0,864 ± 0,016 %
Mg		1,46 ± 0,02 %	0,734 ± 0,038 %	1,07 ± 0,06 %	0,388 ± 0,009 %
Mn	75,9 ± 1,9 mg/kg	529 ± 18 mg/kg	0,214 ± 0,006 %	675 ± 18 mg/kg	234,5 ± 2,8 mg/kg
Na	1,818 ± 0,043 %				
Ni	2,14 ± 0,1 mg/kg			21,7 ± 0,7 mg/kg	
P	0,518 ± 0,011 %	0,0688 ± 0,0013 %	0,105 ± 0,004 %	842 ± 11 mg/kg	0,027 ± 0,001 %
S					0,352 ± 0,004 %
Zn	82 ± 3 mg/kg		0,418 ± 0,015 %	414 ± 11 mg/kg	48,9 ± 1,6 mg/kg

Vedlegg 6: Konsentrasjon av makro- og mikronæringsstoffer og ikke-essensielle grunnstoff i plantemateriale fra vekstmediene med 50 % CCA, 50 % CCA – Slam og 0 % CCA – Biokull for alle høstingene.

Grunnstoff og enhet	6. uke			10. uke			14. uke			18. uke			22. uke		
	50 % CCA	50 % CCA - Avløpsslam	- Biokull	50 % CCA	50 % CCA - Avløpsslam	- Biokull	50 % CCA	50 % CCA - Avløpsslam	- Biokull	50 % CCA	50 % CCA - Avløpsslam	- Biokull	50 % CCA	50 % CCA - Avløpsslam	- Biokull
As, mg/kg	1,16 ± 0,055	16	0,038	1,26 ± 0,046	9,4	0,047	1,15 ± 0,081	9,2	0,033	1,1 ± 0,15	7,6	0	1,06 ± 0,084	7,3	0,021
B, mg/kg	i.b.	i.b.	i.b.	19,9 ± 0,98	15	21	24 ± 1,7	13	25	27 ± 2,8	9,8	26	21 ± 1,7	9,1	21
Ca, g/kg	12,4 ± 0,23	15	12	i.b.	i.b.	i.b.	12,2 ± 0,54	17	14	12,1 ± 0,37	23	13	12,9 ± 0,11	33	14
Cr, mg/kg	0,16 ± 0,061	0,19	0,18	0,21 ± 0,015	0,21	0,25	0,27 ± 0,050	0,38	0,23	0,22 ± 0,035	0,19	0,22	0,15 ± 0,014	0,18	0,15
Cu, mg/kg	13,5 ± 0,12	42	10	14,7 ± 0,50	23	10	16,7 ± 0,63	23	13	14,7 ± 0,20	24	12	11,9 ± 0,46	28	9,1
K, g/kg	55 ± 1,2	56	54	i.b.	i.b.	i.b.	41 ± 4,3	40	46	30 ± 2,1	44	34	37 ± 1,1	49	35
Mg, g/kg	3,7 ± 0,11	5,0	3,7	i.b.	i.b.	i.b.	4,6 ± 0,15	3,1	4,7	3,7 ± 0,28	3,1	4,3	2,60 ± 0,056	3,2	3,1
Mn, mg/kg	40 ± 1,9	102	49	i.b.	i.b.	i.b.	97 ± 7,4	45	132	51 ± 3,9	53	82	36 ± 3,1	83	47
Ni, mg/kg	i.b.	i.b.	i.b.	i.b.	i.b.	i.b.	37 ± 2,5	120	25	44 ± 1,0	160	33	47 ± 1,3	0,27	0,034
P, g/kg	1,43 ± 0,082	2,2	1,4	i.b.	i.b.	i.b.	1,8 ± 0,10	1,1	1,8	1,9 ± 0,12	1,1	2,1	1,81 ± 0,053	1,2	1,8
S, g/kg	3,14 ± 0,074	7,3	3,0	i.b.	i.b.	i.b.	4,5 ± 0,27	5,4	4,4	5,0 ± 0,16	7,0	6,1	5,6 ± 0,30	8,9	5,8
Zn, mg/kg	23 ± 1,3	7,1	24	30 ± 1,9	11	33	36 ± 2,4	20	39	28 ± 2,4	26	33	23 ± 1,7	39	25