

12. Undersøgelse af mikrobiologi samt mineralisering og sorption af pesticider i et lerjordsprofil ved Højstrup, Stevns.

Ole Stig Jacobsen (GEUS), Lars Elsgaard (DJF) og Finn Pilgaard Vinther (DJF)

12.1 Indledning

Transport, nedbrydning og sorption i strukturjorder er generelt meget forskelligt fra hvad man finder de fleste steder i sandjorde. Specielt er strømningsmønstret i ler ganske anderledes end i sand og vanskelighederne med at detektere, hvor nedsivningen af vand og stof foregår, vil naturligt også afspejle sig i de biologiske og kemiske processer.

Udvaskning af pesticider i lerjord kan foregå gennem sprækkestrukturer (makroporer) af forskellig geologisk og biologisk oprindelse. Det betyder, at pesticider på kort tid transporteres ned i dybere jordlag uden mulighed for mikrobiel nedbrydning i den omgivende matrix jord. Antallet af makroporer i danske lerjorde kan være meget højt, men det anslås, at kun en ringe del af disse makroporer er hydraulisk aktive på et givent tidspunkt. Derfor kan antallet af makroporer være et usikkert mål for risikoen for udvaskning af pesticider. Samtidig kompliceres muligheden for at vurdere omfanget af pesticiders binding og omsætning i hydraulisk aktive makroporer, da disse normalt ikke kan skelnes fra de inaktive. Aktive makroporer kan imidlertid visualiseres eksperimentelt ved hjælp af et farvestof (tracer), der vandes ud og føres med vandet ned gennem jorden. Farvestoffet binder sig til organisk stof og jordpartiklerne i de kanaler, hvor vandet løber. Derfor kan de aktive (farvede) makroporer identificeres ved efterfølgende udgravning af en profilvæg. For at vurdere pesticiders miljømæssige skæbne i hydraulisk aktive makroporer blev der i efteråret 2002 udført et tracerforsøg ved lerjordslokaliteten i Højstrup, Stevns.

12.2 Formål

I dette projekt er vægten derfor blevet lagt på forståelsen og anvendeligheden af nogle metoder til målinger af omsætning og retention af pesticider, som de udføres for sandlokaliteter. For eksempel er bestemmelsen af mineralisering for jordprøver, der udtages ved gravning i og under pløjelaget, blevet sammenlignet med prøver udtaget i uforstyrret lejring. Endvidere er omsætningen af pesticider og det mikrobiologiske potentiale i jorde fra de forskellige sprækkezoner blevet sammenholdt med aktiviteten i den omgivende matrix jord. Samtidig blev et antal jordprøver udtaget i forskellig dybde (10 cm, 40 cm og 150 cm) for at vurdere den rumlige variation i de undersøgte mikrobiologiske parametre.

12.3 Metode

Der er fra et plot ca. 40 meter nord for den store udgravning på Højstrup marken blevet udgravet et mindre profil på 5*5 meter og 1,7 meter dybt. Herudover blev der udtaget prøver i to farveplot i hovedudgravningen.

Bulkprøver

Der blev udtaget ca. 10 delprøver fra de tre dybder og delprøverne blev blandet intenst i felten (ca. 5 kg) og opbevaret i Rilsan poser ved 5 °C indtil brug. Prøver af bulk jord (4 prøver fra 0-10 cm, 12 prøver fra 35-45 cm og 12 prøver fra 150-155 cm) blev analyseret for generel mikrobiel aktivitet og diversitet. Analyserne omfattede måling af arylsulfatase aktivitet (ASA), fluorescein diacetat hydrolyse (FDA), substrat-induceret respiration (til bestemmelse af mikrobiel biomasse) og fysiologisk diversitet (Biolog®, Ecoplates). Detaljerede beskrivelser af de anvendte metoder findes i West & Sparling (1986), Vinther et al. (2003) og Elsgaard et al. (2002; 2003).

Fra tre horisonter, 0-10 cm, 35-45 cm og 155-165 cm, blev der udtaget prøver til bestemmelse af mineralisering og sorption.

I laboratoriet blev tre delprøver af 10 g inkuberet ved 10 °C og tilsat 1.0 ml radioaktiv pesticidopløsning svarende til 5 mg stof / kg jord. Dette blev gjort for hver af de tre dybder og mineraliseringen blev bestemt for 9 pesticider og natriumacetat over ca. 8 uger.

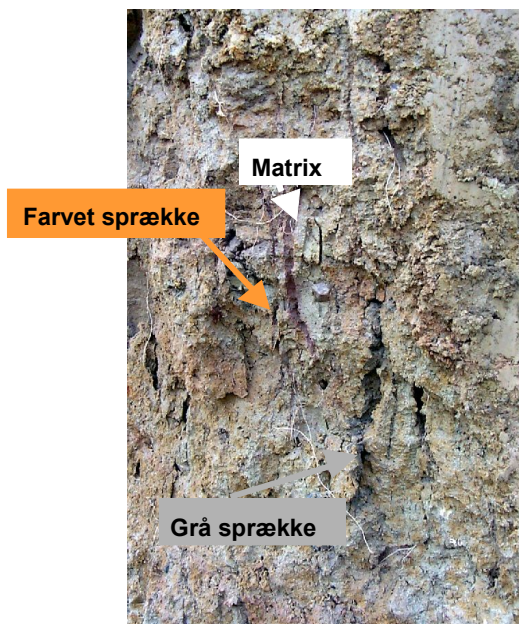
Yderligere er sorption, K_F og n -værdier, blevet bestemt for 9 pesticider fra de tre dybder.

Matrix og sprækkejord

Fra den store udgravning blev der udtaget detailprøver (1-5 g) fra to infiltrationsplot, hvor der tre dage inden var tilført Sulforhodamin B, således at det var muligt at identificere hydrologisk aktive og inaktive sprækker. Der blev udtaget i alt 71 prøver af røde (Sulforhodamin B) sprækker, af grå (ufarvede) sprækker og af matrix, figur 12.1.

Indsamlet sprække- og matrixjord fra 40 til 120 cm under terræn blev undersøgt for mikrobiel arylsulfatase aktivitet (profilvæg 1; 19 prøver) og fluorescein diacetat hydrolyse (profilvæg 2; 12 prøver). Analysemetoderne fulgte tidligere beskrivelser (Elsgaard et al., 2002; 2003), men jordvægten blev tilpasset til den beskedne prøvemængde, der var på 0,9 til 5,2 g for profilvæg 1 og 1,8 til 4,7 g for profilvæg 2. Som en tilpasning af metoden blev det vurderet hvilken prøvestørrelse, der var optimal i forhold til prøvens aktivitet og den respektive baggrundsfarvning i blindprøverne. De enkelte prøver blev delt i to til tre portioner, hvoraf én blev anvendt til måling af analysebaggrund. Det betyder, at målingerne er baseret på en til to analysegentagelser (mod normalt tre). Jorddybden for de enkelte prøver blev beregnet som gennemsnittet af det dybdeinterval, hvorfra prøven blev udtaget.

De andre 40 prøver (gennemsnitlig 2,7 g jord) blev inkuberet i mindre bægre i 150 ml glas, og tilsat radioaktivt mærket pesticid (ca. 0,4 mg / kg og 50 000 dpm) og mineraliseringen blev fulgt i ca. 9 uger. Efter forsøget er restmængden ekstraheret fra jordprøven og kvantificeret.



Figur 12.1. Farvede (røde) og ufarvede (grå) sprækker samt matrix fra den store udgravning.

Uforstyrrede søjler

Fra de tre samme dybder som bulk-prøver blev udtaget, blev der endvidere udtaget i hver dybde 15 intakte jordkerner i stålør (60*100 mm) til undersøgelse af mineraliseringen af tre pesticider, MCPA, glyphosat og metamitron. Jordkernerne blev forseglet og inkuberet umiddelbart efter udtagningen. Søjler blev inkuberet i 500 ml glas-containerer og tilført en volumen vand indeholdende en radioaktiv pesticidopløsning på 5 mg/l og en mængde svarende til det mobile vand i søjlen. Herved skulle pesticidet blive fordelt i søjlen som ved normal nedsivning og ikke som ved batchforsøg i hele jordmængden. Mineraliseringen blev fulgt i 60 dage.

Profilvæg

Det nordlige plot, som 4 dage inden var infiltreret med Brilliant Blue farvestof i en vandmængde svarende til 10 mm nedbør, fik blotlagt en profilvæg for udtagning af prøver i fire horisonter med hver 9 plugs (25*100 mm, 100 g). Forinden var pløjelaget blev fjernet og overfladen afrenset. Der blev udtaget plugs i 50 cm, 75 cm, 100 cm og 130 cm under terræn fra et profil gravet ca. 1 meter inde i plottet for at undgå randeffekt. Prøverne blev analyseret for indhold af Brillint Blue, vandindhold, organisk indhold og kolonidannende bakterier (CFU), samt en række kemiske parametre.

Kemiske analyser

Brillant Blue blev målt på ekstrakter i 70 % MeOH og derefter bestemt kolorimetrisk ved 530 nm. Sulforhodamin B blev ekstraheret i 70 % MeOH og kvantificeret ved differens-fotospektroskopi ved 630/480 nm.

Der blev udført kemiske analyser på de indsamlede jordprøver for at vurdere næringsindholdet og for at vurdere den lokale variation på de enkelte delprøver. Analyser blev også udført efter forsøgene for at se eventuelle ændringer ved inkuberingen. Vandindholdet er bestemt ved tørring i 24 timer ved 105 °C og beregnet på tørstofbasis. Organisk stof er estimeret som glødetab ved glødning i 6 timer ved 550 °C. Gløderesten er efterfølgende oplukket i 1N HCl for bestemmelse af total ekstraherbart jern Fe (ex) efter reduktion med hydroxylammoniumchlorid for fotometrisk bestemmelse ved bipyridin-metoden. Extraherbart Fe(II) er bestemt direkte på friske prøver ved ekstraktion med 1N HCl og kvantificering med bipyridin metoden. Total ekstraherbart phosphat er bestemt på HCl-extracten af gløderesten ved kaliumantimonyl-tartrat metoden. pH-værdien blev bestemt på friske prøver ved jord:vand suspension (1:2,5 vægt/vol). Efter centrifugering blev vand-ekstraherbart sulfat og nitrat bestemt ved ion-kromatografi.

12.4 Resultater

12.4.1 Det nordlige plot profil

De øverste 20-30 cm af profilet er pløjelag der årligt ompløjes, dyrkes og sprøjtes. Fra 30 cm til ca. 90 cm er leren gennemsat af rodkanaler og ormegange og mindre tydelige sprækker. Fra ca. 100 cm er sprækkerne det mest fremherskende. Alle prøver er indsamlet i jordlag hvor det overordnede miljø er oxideret. Ingen af de indsamlede prøver var reducerede.

Tabel 12.1. Vandindhold, organisk indhold, pH (målt i vand) og mikrobiologi på de anvendte bulkprøver

Dybde (cm)	Vandindhold (%)	Organisk stof (% C)	pH	R2A-agar ^a (CFU g ⁻¹)	Petrifilm ^a (CFU g ⁻¹)
0-10	17.25	3.7	7.47	6.5 10 ⁶	2.1 10 ⁷
35-45	14.81	2.1	7.79	2.1 10 ⁴	7.2 10 ⁴
150-155	14.97	1.9	8.73	2.5 10 ³	4.6 10 ³

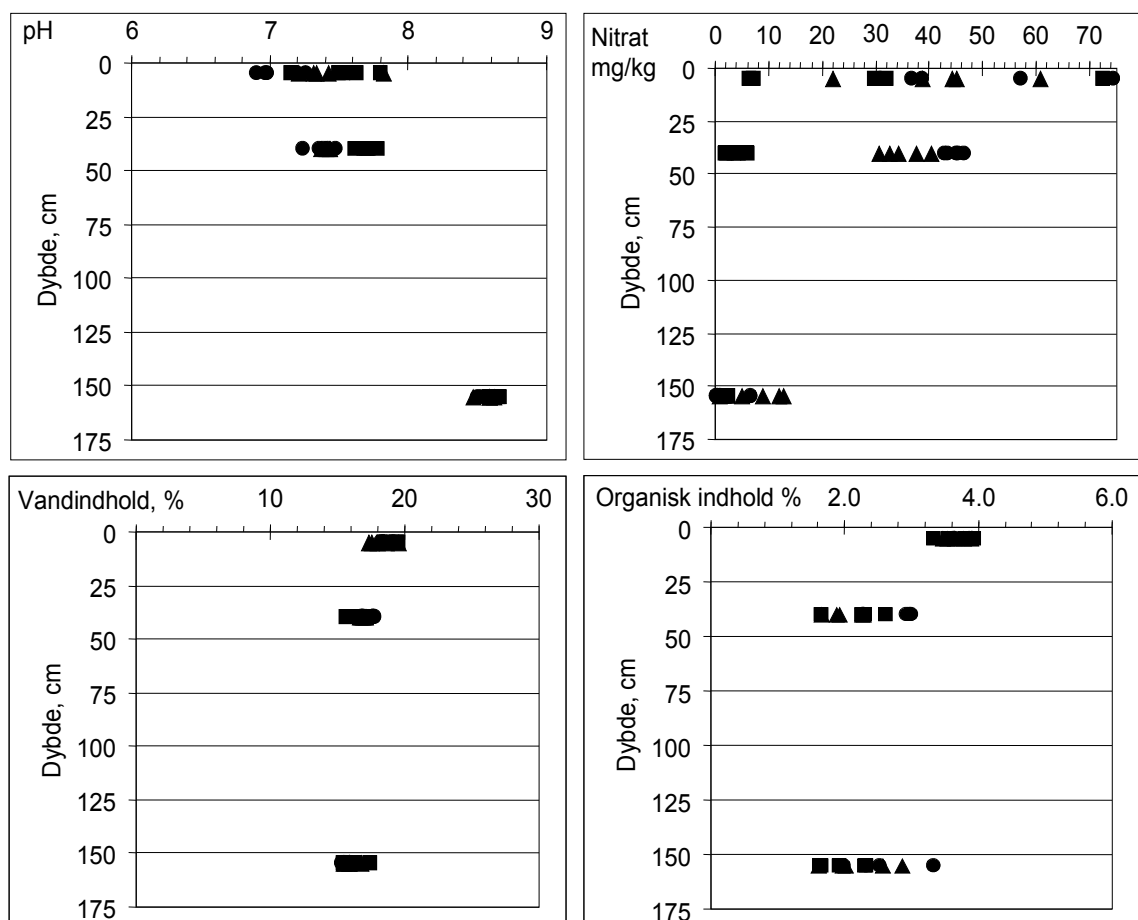
^aR2A og Petrifilm® er to medier til at tælle kollonidannende bakterier (CFU).

I modsætning til sandjordsprofiler har lerjordsprofiler som regel et noget højere indhold af organisk stof under pløjelaget (0-30 cm), tabel 12.1 og figur 12.2. Det ses også at pH stiger næsten 1,5 enhed med dybden som følge af det større kalkindhold. Det betyder meget for såvel sorption som for mikroorganismernes aktivitet. Som det også fremgår er variationen også stor specielt i overjorden både med hensyn til pH og nitratindhold. Prøverne som er

anvendt er homogeniserede 500 g frisk vægt. Antallet af bakterier falder med tre størrelsesordner fra pløjelag til underjord i 1,5 meters dybde.

12.4.2 Mikrobiologi i sprækker og matrix

Prøver af bulk-jord fra dybderne 0, 35 og 150 cm viser en aftagende mikrobiel aktivitet ned gennem jordprofilet, tabel 12.2. For både ASA og FDA er aktiviteten i 150 cm's dybde under 3 pct. af niveauet i pløjelaget. ASA udviser den mindste rumlige variation i de enkelte jorddybder, men variationen er relativ ensartet for de to parametre. Den mikrobielle biomasse, estimeret ud fra substrat-induceret respiration, falder med en faktor ti ned gennem jordprofilet. Den mikrobielle diversitet, estimeret ved Shannon-Weaver indexet (H'), viser at den potentielle mikrobielle substratudnyttelse er sammenlignelig i alle tre jorddybder.



Figur 12.2. pH (målt i vand), nitrat- og vandindhold samt indhold af organisk stof i prøver udtaget ved Højstrup.

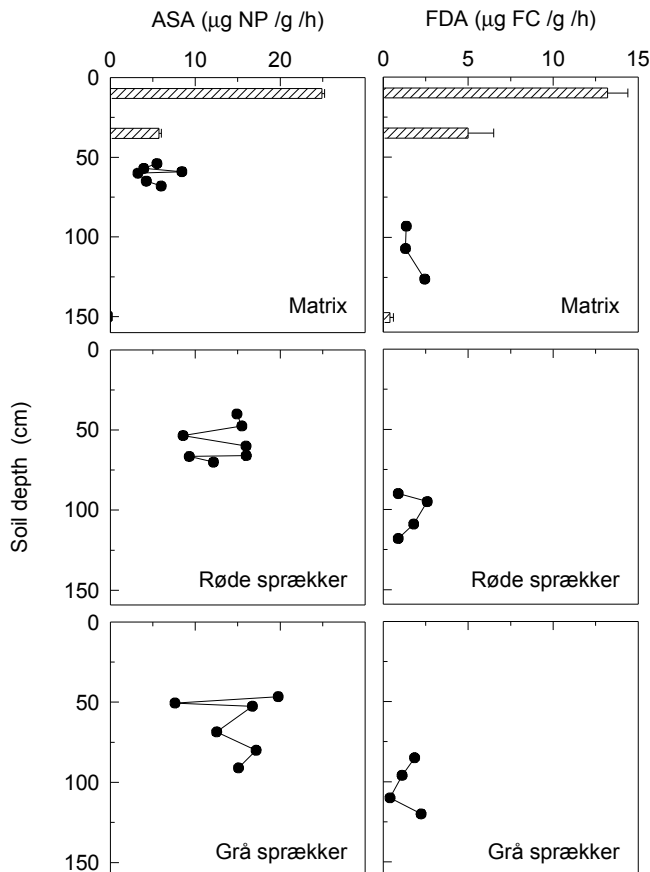
Arylsulfatase aktiviteten (ASA) i jord fra makroporer ligger højere end niveauet for ASA i omgivende matrix-jord og jord fra bulkprøver fra 35 og 150 cm's dybde, figur 12.3. Det betyder, at der i makroporerne findes en relativ høj ASA selv i dybe jordlag (ned til ~100 cm). Samtidig tyder resultaterne på, at ASA i aktive og inaktive makroporer ikke er kvantitativt forskellig. Disse resultater fra profilvæg 1 svarer delvis til resultaterne for FDA fra profilvæg

2. Her observeres også, at aktiviteten i hydraulisk aktive og inaktive makroporer ligger på samme niveau. Til gengæld er FDA hydrolysen i disse makroporer ikke højere end niveauet i omgivende matrix-jord og jord fra bulk-prøver, figur 12.3.

Tabel 12.2. Mikrobiel aktivitet, biomasse og diversitet (H') i prøver af matrix-jord fra Højstrup. Data er middel \pm standardfejl af 4 til 12 jordprøver (N). ASA, arylsulfatase aktivitet; FDA, fluorescein diacetat hydrolyse; NP, nitrophenol; FC, fluorescein.

Dybde (cm)	n	ASA ($\mu\text{g NP /g /h}$)	FDA ($\mu\text{g FC /g /h}$)	Biomasse ($\mu\text{g C /g}$)	Diversitet (H')
0-10	4	24.9 \pm 0.3	13.6 \pm 1.2	312 \pm 30	3.1 \pm 0.1
35-45	12	5.7 \pm 0.3	5.0 \pm 1.5	<50	2.6 \pm 0.2
150-155	12	<0.5	<0.5	<50	2.8 \pm 0.1

Arylsulfatase aktiviteten (ASA) i jord fra makroporer ligger højere end niveauet for ASA i omgivende matrix-jord og jord fra bulkprøver fra 35 og 150 cm's dybde, figur 12.3. Det betyder, at der i makroporerne findes en relativ høj ASA selv i dybe jordlag (ned til ~100 cm). Samtidig tyder resultaterne på, at ASA i aktive og inaktive makroporer ikke er kvantitativt forskellig. Disse resultater fra profilvæg 1 svarer delvis til resultaterne for FDA fra profilvæg 2. Her observeres også, at aktiviteten i hydraulisk aktive og inaktive makroporer ligger på samme niveau. Til gengæld er FDA hydrolysen i disse makroporer ikke højere end niveauet i omgivende matrix-jord og jord fra bulk-prøver, figur 12.3.



Figur 12.3. Mikrobiel aktivitet i prøver af matrix og makroporer udtaget ved Højstrup. Skraverede søjler viser aktiviteten i bulk-prøver fra 0-10 cm, 35-45 cm og 150-155 cm's dybde. Disse data er middel \pm standardfejl af 4 til 12 jordprøver. Sorte cirkler viser aktiviteten i mindre prøver af matrix (øverst), i jord fra hydraulisk aktive makroporer (røde sprækker; midterst) og i jord fra hydraulisk inaktive makroporer (grå sprækker; nederst). Disse data er baseret på enkelte jordprøver. ASA, arylsulfatase aktivitet; FDA, fluorescein diacetat hydrolyse; NP, nitrophenol; FC, fluorescein.

12.4.3 Sorption af pesticider målt på bulkprøver

Sorptions og desorptions isotermer blev tilnærmet en Freundlich sorption isoterm:

$$C_s = K_F \times C_e^{n_F}$$

hvor C_s (mg/kg) er koncentrationen af sorberet pesticid og C_e (mg/l) er koncentrationen af pesticid i jordvæsken. K_F ($\text{mg}^{(1-n_F)} \times \text{L}^{n_F} / \text{kg}$) og n_F er konstanter.

Sorptionen for de tre undersøgte pesticider varierer ganske meget både med hensyn til dybde og til stof. MCPA er det stof som helt klart bindes mindst til jordmatrixen og som derfor i dette profil generelt vil være tilgængeligt for nedbrydning i jordvandet, tabel 12.3. Metamitron bindes kun en lidt mere end MCPA og vil også i underjorden være fortrinsvis i jordvæsken. Derimod bindes glyphosat meget stærkt til lermatrixen og kun en ringe mængde vil befinde sig i jordvæsken.

Tabel 12.3. Freundlich konstanter for de tre undersøgte stoffer målt som triplikater på bulk prøver.

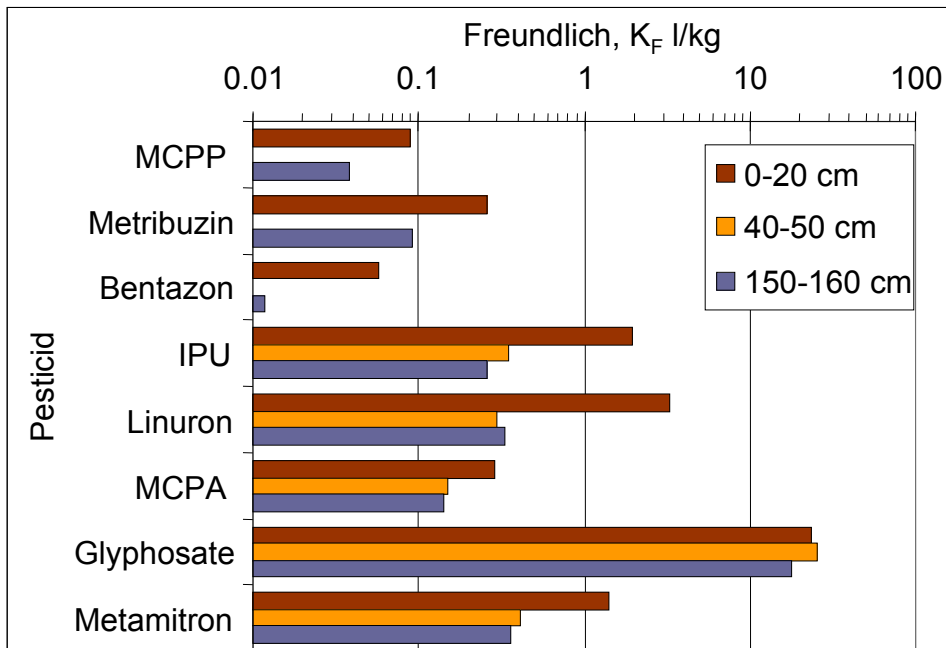
Dybde (cm)	MCPA		Glyphosat		Metamitron	
	K_F	N	K_F	n	K_F	n
0-10	0,29	0,96	23,3	0,64	1,4	0,8
35-45	0,15	0,98	25,3	0,61	0,41	0,99
155-165	0,14	0,98	18,1	0,55	0,36	1,1

Når et stof bindes så stærkt som glyphosat er det afgørende for nedbrydningen af stoffet om bindingen er reversibel, det vil sige hvorvidt stoffet kan frigøres til jordvæsken og derved blive tilgængelig for bakteriel nedbrydning. I modsat fald opnås persistens af stoffet, som vist tidligere (Jacobsen, 2003). Desorptionen er såvel tids- som koncentrationsafhængig og afhænger af bindingstypen til jordmatricen (Jensen et al., 2004). I de to øverste jordlag er det ca. 30 til 60 % af den bundne mængde, der kan frigøres igen til jordvæsken, mens det i det dybe jordlag (150 cm) er fra 50 til 85 % som kan gøres tilgængelig for nedbrydning (Strange-Hansen, 2004).

Tabel 12.4. Desorptionsprocenter for glyphosat ved forskellige koncentrationer

Initial koncentration mg/l	0-10 cm	35-45 cm	155-165 cm
0.5	32.8	27.0	49.2
1.0	40.5	37.7	44.9
5.0	45.8	42.8	57.4
50.0	56.8	57.3	66.5
500.0	57.9	55.4	82.2

Måling af sorptionen på 8 forskellige pesticider viser at med undtagelse af glyphosat findes den højeste sorptionskoefficient K_F i overjorden hvor mængden af organiske stof er største og pH lavest. For tre stoffers vedkommende (MCPA, metribuzin og bentazon) er sorptionen så lille i 35-45 cm, at sorptionen ikke har kunne bestemmes.



Figur 12.4. Sorption af 8 pesticider i tre dybder; angivet som Freundlich isotermens K_F .

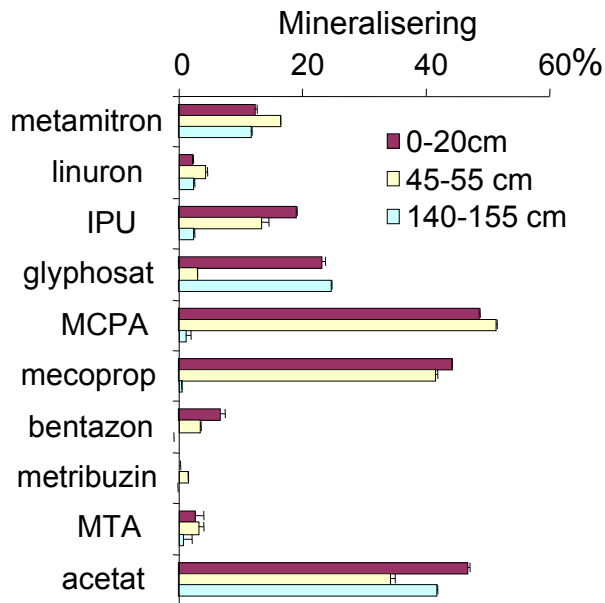
12.4.4 Mineralisering i bulkprøver fra tre dybder

For 9 stoffer (Metamitron, Linuron, IPU, glyphosat, MCPA, MCPP, Bentazon, Metamitron og MTA) er der udført målinger af mineraliseringsraterne i de tre dybder ved anvendelse af bulkprøver. Der er samtidig udført måling af omsætningen af acetat for at få et udtryk for den mikrobiologiske aktivitet i de tre dybder, figur 12.5. Det fremgår at aktiviteten i de tre dybder er nogen lunde lige stor. For phenoxysyrerne MCPP og MCPA ses mineraliseringen at være af samme størrelsesorden som for acetat i de to øverste dybder, mens mineraliseringen stort set ikke er tilstede i 140-150 cm. For Linuron, Bentazon, metribuzin og MTA er mineraliseringspotentialet manglende i alle dybder. Derimod mineraliseres såvel Metamitron som IPU i de to øverste dybder, Metamitron i alle dybder. Glyphosate mineraliseres, men har en ringe mineralisering umiddelbar under pløjelaget.

12.4.5 Mineralisering på intakte søjler

For at undersøge hvorvidt mineraliseringsraterne er afhængige af inkuberingsmetoden blev der udført målinger på intakte jordsøjler med ca. 450 g jord i naturlig lejring i modsætning til bulkprøvernes 10 g homogeniseret jord. For hver dybde og stof er der udført 5 replikater.

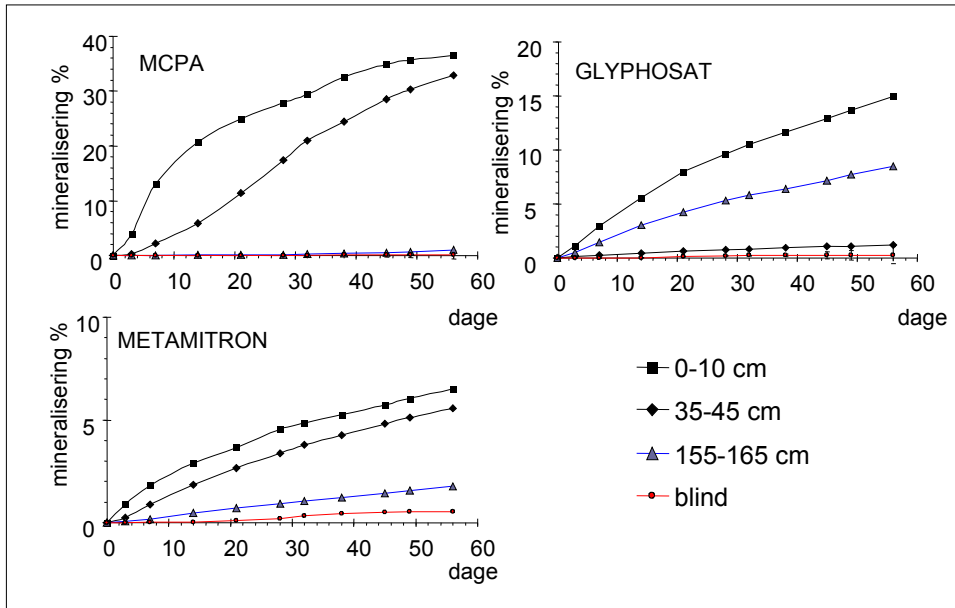
MCPA følger stort set det samme mønster som for bulkprøverne, idet de to øverste dybder har en næsten ens høj mineraliseringsrate og dybden 155-165 cm stort set ikke mineraliserer, figur 12.6.



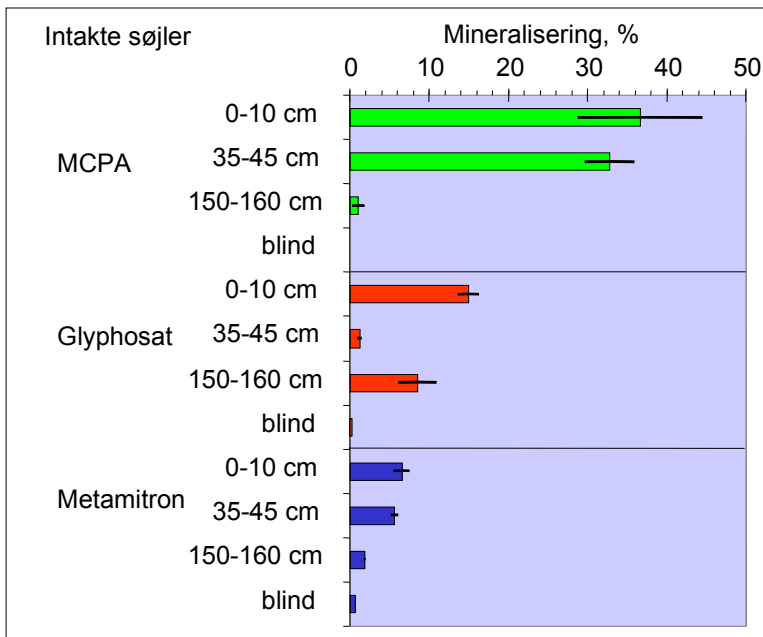
Figur 12.5. Mineralisering i % efter 60 dage af 9 pesticider udført på 10 g bulkprøver (omblandet poseprøver)

Da der er anvendt intakte søjler - med den heterogenitet dette indebærer - viser forsøgene at under de givne forhold er anvendelsen af 450 g intakt jord en rimelig mængde i forhold til den spredning på medianværdien man derved opnår, figur 12.7.

Da indholdet af organisk stof anses for i visse tilfælde at afspejle den biologiske aktivitet, idet den fornødne kulstofkilde er tilstede, er sammenhørende værdier for mineraliseringen af de tre pesticider og de tilsvarende organiske indhold i søjlerne sammenstillet, figur 12.8. Det fremgår at der ikke umiddelbart synes at være en univariat sammenhæng mellem disse parametre.



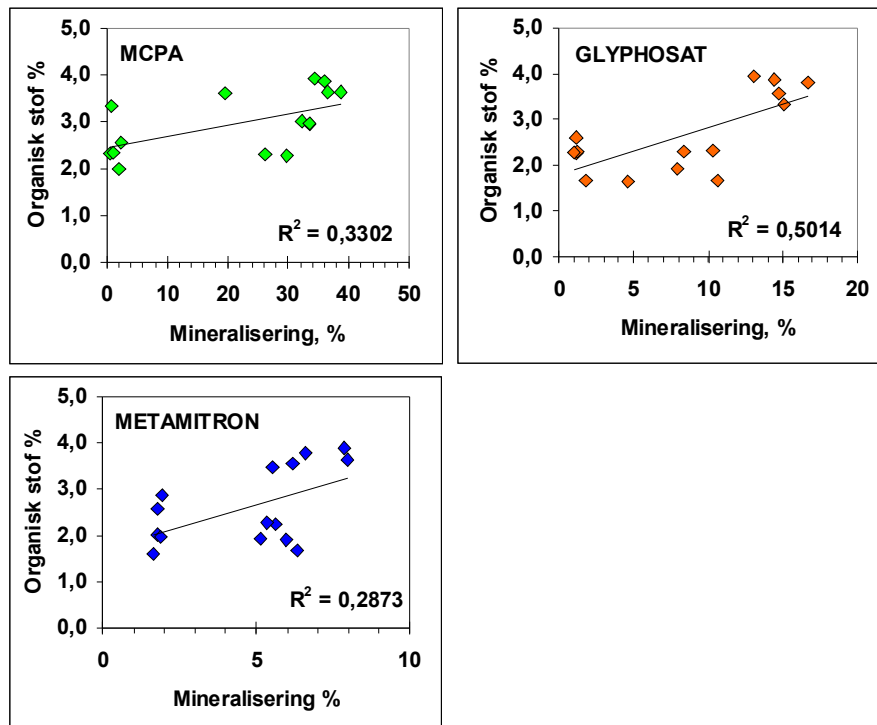
Figur 12.6. Mineralisering i % af 3 pesticider udført på intakte søjleprøver (450 g) fra tre dybder med angivelse af median værdi.



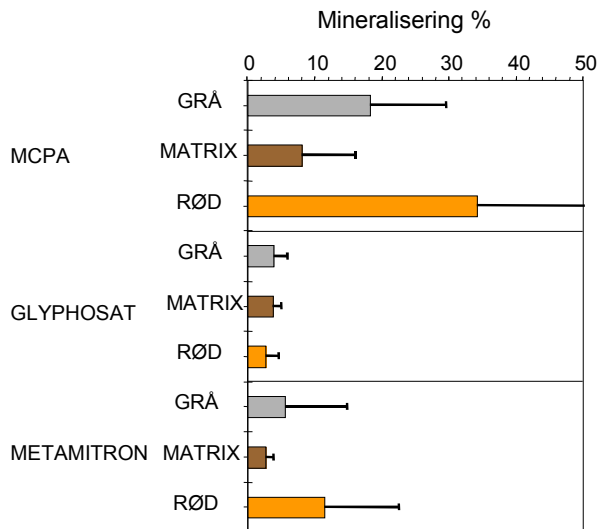
Figur 12.7. Mineralisering i % efter 56 dage af 3 pesticider, MCPA, glyphosat og metamitron, udført på intakte søjler med angivelse af spredningen på medianen (n=5)

12.4.6 Mineralisering i sprækker og matrix

For at afklare om hydraulisk aktive sprækker har et større nedbrydningspotentiale end hydraulisk inaktive sprækker og matrix blev der udført målinger af mineraliseringen på prøver udtaget fra disse tre miljøer. Skellen mellem aktive og inaktive sprækker blev vurderet efter indfarvningen af sprækkerne med det tre dage inden udsprede farvestof sulforhodamin. Målingerne viste, at der ikke kunne ses nogen umiddelbar relation mellem sprækkenes hydrauliske aktivitet og mineraliseringen, figur 12.9. Derimod kunne man for MCPA og metamitron se forskel på nedbrydning i sprækker og i matrix. Dette var ikke tilfældet med glyphosat.

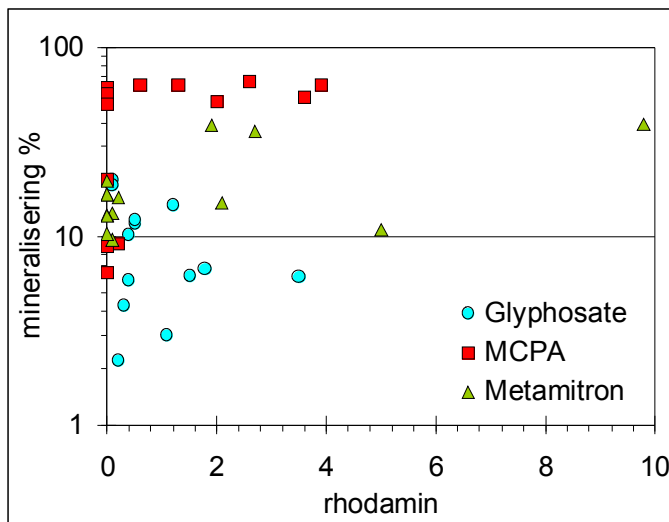


Figur 12.8. Forholdet mellem mineraliseringen (%) af henholdsvis MCPA, glyphosat samt metamitron og det organiske indhold (%).



Figur 12.9. Mineralisering af henholdsvis MCPA, glyphosat og metamitron i % efter 60 dage i sprækker og matrix

For at se om der var en sammenhæng mellem rød farvningen i sprækkerne og mineraliseringen målt indholdet af ekstraherbart Sulforhodamin B på prøverne og dette blev sammenstillet med værdier for mineraliseringen, figur 12.10. Det fremgår at der ikke er en umiddelbar sammenhæng mellem rød farvningen og mineraliseringspotentiallet.



Figur 12.10. Forholdet mellem indholdet af Sulforhodamin B og mineralisering af de tre pesticider MCPA, glyphosat og metamitron.

12.4.7 Variabiliteten i et 3 x 1,5 meter lerprofil

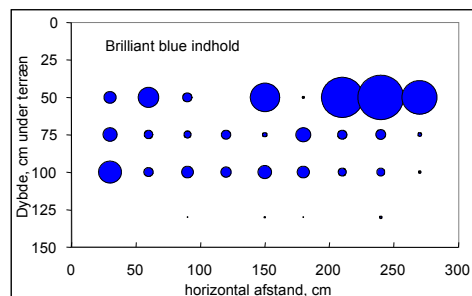
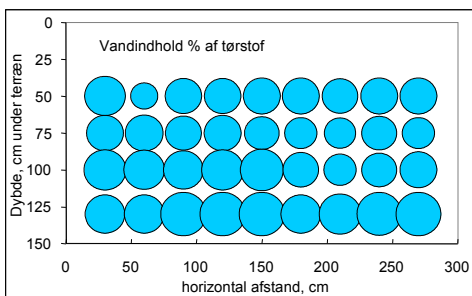
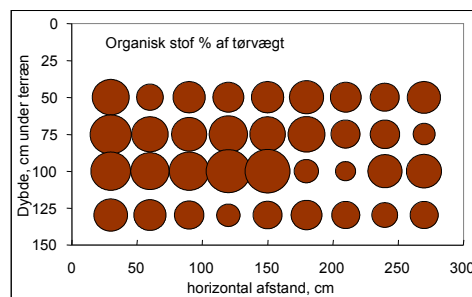
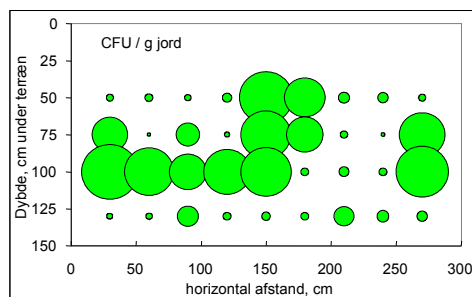
For at undersøge hvor store forskelle man ville kunne finde inden for et mindre plot på lerjord, blev der udført målinger på et profil fra 50 cm til 135 cm under overfladen i 36 punkter. Profilet fremstod umiddelbart ensartet med en zoner i ca. 90 cm dybde, figur 12.11, idet pløjelaget var fjernet forinden.



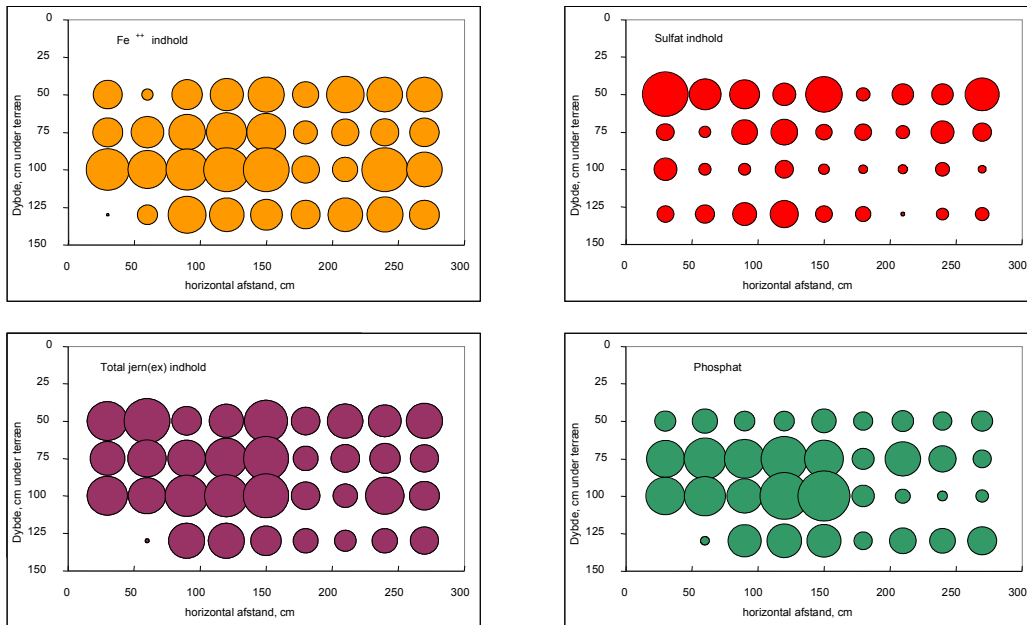
Figur 12.11. Profilet efter prøvetagningen. Bemærk hullerne efter plugning.

Analyser af de udtagne plugs viste at vandindhold og organisk indhold ikke varierede stærkt, figur 12.12. Derimod var antallet af bakterier (CFU) meget forskelligt både over dybden og horisontalt. Ligeledes varierede indholdet af det udsprede farvestof brilliant blue ganske betydeligt. Nogen umiddelbar sammenhæng mellem disse parametre kunne ikke etableres.

Måling af sulfat, fosfat, jern(II) og total ekstraherbart jern viste også en ganske stor variation såvel horisontalt som vertikalt, figur 12.13. Der kunne måske ses et mindre område hvor et mere ensartet koncentrationsniveau blev målt. Men generelt må det konstateres at prøver inden for et profil af denne størrelse udviser endog ganske store variationer selv når prøvestørrelsen er ca. 100 g.



Figur 12.2. Mikrobiel aktivitet, indhold af organisk stof, vandindhold og ekstraheret indhold af traceren Brilliant Blue i plugs.



Figur 12.13. Indhold og fordeling af ferrojern, totalt ekstraherbart jern, sulfat og fosfat i plugs.

12.5 Fortolkning og diskussion

12.5.1 Metodiske forhold

Undersøgelsen på Højstrup viser, at det er muligt at udtage jordprøver fra hydraulisk aktive og inaktive makroporer i dybere jordlag. Den opnåelige prøvemængde er dog beskedent (< 5 gram) og dette begrænser de analytiske muligheder for at måle den mikrobielle aktivitet i prøverne. Det betyder at analysemetoderne skal optimeres i forhold til en begrænset prøvestørrelse. I det udførte forsøg blev dette gjort bl.a. ved at nedsætte prøvemængden anvendt til analyse for baggrundsfarvning i de spektrofotometriske assay for ASA. Dette krævede en efterfølgende korrektion i forhold til prøvestørrelsen anvendt til måling af den samlede farveudvikling. Sammenhængen mellem prøvestørrelse og baggrundsfarvning i blankprøverne viste, at en prøvestørrelse på under 0,5 g gav en markant forøgelse af den relative baggrundsfarvning. Derfor vurderes det, at en prøvestørrelse på mindst 0,5 g er optimal for ASA i makroporejorden. Analysens følsomhed kan efterfølgende øges ved at forlænge inkubationstiden og/eller inkubationstemperaturen.

Med så små prøvestørrelse er det også meget vanskeligt at bestemme mineralisering og sorption, idet begge processer kan være knyttet til meget små niches og derfor vil målingerne være yderst afhængige af tilfældigheder i prøvernes beskaffenhed.

Selve prøvetagningen er også behæftet med nogen usikkerhed, idet sprækkernes apertur generelt er lille (mm).

Måling af mineralisering i prøver fra matrix og sprækker, bulk-prøver og intakte søjler viser nogen lunde den samme tendens, men omsætningen per areal/vægt/volumen ganske forskellig. Alle tre anvendte metoder er baseret på ikke dynamiske forhold, hvilket vil sige, at vand og stofbevægelse udelukkende er diffusionsbestemt.

12.5.2 Mikrobiel aktivitet i makroporer

Resultaterne fra Højstrup viser, at makroporer i lerjord kan have en højere mikrobiel aktivitet end der findes i den omgivende matrix-jord. Dette underbygger resultater fra andre danske jorde (Vinther et al., 1999; 2001), hvor også indholdet af nitrat og vandopløseligt kulstof viste sig at være forhøjet i makroporemiljøet. I lerjorden fra Højstrup var ASA tydeligt forøget i makroporemiljøet, mens FDA ikke var højere end i det omgivende matrixjord. Et lignende resultat blev tidligere fundet i lerjord fra Flakkebjerg, hvor kun ASA var statistisk signifikant forøget i makroporer versus matrixjord (Vinther et al., 2001).

Analyserne af mikrobiel aktivitet i hydraulisk aktive og inaktive makroporer er uden fortillende og tyder på, at der ikke er kvantitativ forskel på det mikrobielle miljø i de to typer af makroporer. Dette kan skyldes, at opdelingen mellem aktive og inaktive makroporer er dynamisk, således at vandtransporten foregår i forskellige makroporer til forskellige tidspunkter. For de mikrobielle undersøgelser betyder resultatet, at det ikke er nødvendigt eksperimentelt at skelne mellem de to typer makroporer for at skaffe repræsentative data for mikrobiel omsætning i makroporemiljøet. I praksis betyder det, at prøveindsamlingen kan foregå uden tracertilførsel, hvilket styrker muligheden for at indhente data fra udgravede jordprofiler.

12.5.3 Mineralisering og sorption i ler og makroporer

Mineraliseringen målt i søjler og på bulk-prøver viser ret stor samhörighed, og om den procentuelle fjernelse (mineralisering) af pesticider er nogenlunde sammenstemmende end beregningsmæssige problemer med hensyn til angivelsen af mineraliseringen på vægt, volumen eller areal kan volde problemer. Derimod synes målingerne på sprække-matrix prøverne at adskille sig fra den procentuelle mineralisering. Derfor vil der ikke være basis for at anvende detailprøver som disse ved måling af mineraliseringspotentialet i lerjord når det drejer sig om analyser på plot eller markniveau. Men da alle målinger er fortaget på stationære opstillinger vil disse ganske givet være forskellige fra målinger i et dynamisk system hvor vandet bevæger sig gennem sprækker og matrix som i lysimetre.

Desorption betyder meget for tilgængeligheden af pesticiderne og deres metabolitter og derfor må det anbefales at man udfører målinger af desorptionskinetik på prøver eller anvender lysimeterstudier for en bedre vurdering af nedsivningsrisikoen (Jensen et al., 2004; Jacobsen et al., 2004; Strange-Hansen et al. 2004).

12.5.4 Relevans for zonerung af lerjorde

Makroporer i lerjord muliggør udvaskning af pesticider til dybere jordlag uden mikrobiel nedbrydning i den omgivende matrixjord. Den kvantitative risiko for udvaskning af pesticider fra lerjord afhænger derfor bl.a. af den mikrobielle omsætning af pesticider i makroporemiljøet. Sammenhængen mellem makroporetransport og nedbrydning af pesticider er kun sparsomt belyst for danske lerjorde. Derfor skal datagrundlaget udvides, hvis en kvantitativ vurdering af makroporetransport skal inkluderes i forsøget på at kortlægge risikoen for udvaskning af pesticider fra forskellige lerjorde. Kvantitativ måling af pesticidnedbrydning er ønskelig, men økonomisk urealistisk, når et større antal jordprøver rutinemæssigt skal screenes. Ved at anvende korrelerbare mål for den mikrobielle aktivitet, som for eksempel ASA, nedsættes den analytiske belastning. Derfor kan de generelle mikrobielle parametre inkluderes som zoneringsværktøj i samspil med øvrige pedologiske og jordfysiske parametre. Omsætningen er desuden som alle andre biologiske processer temperaturafhængig (Walker et al., 1997).

For at opnå de optimale betingelser for at kunne vurdere udvaskningsrisikoen, skal disse målinger suppleres med målinger, hvor sorption-desorption og nedbrydning finder sted i samme system og hvor vandbevægelsen nærmer sig det naturlige (Amand og Jacobsen, 2001). Her ud over skal der på alle strukturjorder vurderes hvor stor den kolloid- og partikelbårne transport udgør.

De pesticider, der anvendes i dag, er meget forskelligartede og repræsenterer både letopløselige og stærkt adsorberende pesticider. Det er derfor vigtigt, at man i risikovurderingen tager højde for transport af både opløst og bundet pesticid. Tidligere har man haft den overbevisning, at det udelukkende var jordens vand- og gasfase, der var mobile og derfor bidrager til udvaskning af pesticider fra jorden. Dette har f.eks. haft betydning for hvilke egenskaber, man har valgt at lægge vægt på i forbindelse med godkendelse af pesticider. Således har man ment, at pesticider som bindes hårdt til jordpartiklerne ikke udvaskes.

Ligeledes har undersøgelser vist, at bindingsprocesserne i overjorden også har stor betydning for pesticidernes biotilgængelighed og derved deres direkte effekter i jordbundsmiljøet (Scribner et al., 1992; Ronday et al., 1997; Sijm et al., 2000; Jensen et al., 2004).

Kolloider der frigives fra den øverste del af landbrugsjorden kan medbringe en række pesticider og nedbrydningsprodukter bundet til overfladerne. Specielt stoffer med en høj K_{oc} værdi binder sig til såvel organiske kolloider som organisk coatede lerkolloider (Jones og Bryan, 1998; Pignatello, 1998). For stoffer med affinitet over for uorganiske overflader kan det også forventes, at en del af stoftransporten foregår kolloidbåren. Grundlaget for affinitet er dog langt fra entydigt og afklaret.

Nedbrydning og mineralisering af pesticider er hurtigere, når pesticidet er opløst i forhold til, når det er kolloidbundet. Enkelte studier indikerer at omsætningen kan gå i stå når stoffet er bundet (Jensen et al., 2004). Når kolloid/pesticid komplekset transporteres ned gennem jorden vil muligheden for flokkulering og filtrering fremmes i underjordshorisonter med høj ionstyrke. Flokkuleringskinetikken af kolloid-pesticid komplekset har derfor afgørende betydning for den videre transport.

12.6 Litteratur

Aamand, J. og O. S. Jacobsen. 2001. Sorption and degradation of glyphosate and dichlobenil in fractured clay In: Walker A (ed) Pesticide behaviour in soils and water, 2001-BCPC Symposium Proc. No78: 205-210

Elsgaard, L., Andersen, G.H. og Eriksen, J. 2002. Measurement of arylsulfatase activity in agricultural soils using a simplified assay. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 81-84.

Elsgaard, L., Pojana, G., Miraval, T., Eriksen, J. & Marcomini, A. 2003. Biodegradation of linear alkylbenzene sulfonates in sulfate-leached soil mesocosms. *Chemosphere* 50: 929-937.

Jacobsen, O.S. 2003. Degradation, sorption and persistence of glyphosate and the metabolite AMPA in a fractured clay soil profile In: (Eds) Del Re, A.A.M., Capri, E., Padovani, L., Trevisan, M. Pesticide in air, plant, soil and water system. p 137-144

Jensen, P. H., Hansen, H. C. B., Rasmussen, J. og O.S. Jacobsen. 2004 Sorption-controlled degradation kinetics of MCPA in soil. *Envir. Science Technol.* (submitted)

Jones, M.N. og N.D. Bryan. 1998. Colloidal properties of humic substances. *Adv. Colloid Interface Science* 78: 1-48

Pignatello, J.J. 1998. Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants. *Adv. Colloid Interface Science* 76-77: 445-467

Ronday, R., Van Kammen-Polman, A. M. M., Dekker, A., Houx, N. W. H., og Leistra, M. 1997. Persistence and toxicological effects of pesticides in topsoil: Use of the equilibrium partitioning theory. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 16: 601-607.

Scribner, S. L., Benzing, T. R., Sun, S. B., og Boyd, S. A. 1992. Desorption and bioavailability of aged simazine residues in soil from. *J. Environ. Qual.* 21: 115-120.

Sijm, D., Kraaij, R., og Belfroid, A., 2000. Bioavailability in soil or sediment: Exposure of different organisms and approaches to study it. *Environmental Pollution*, 108: 113-119

Strange-Hansen, R., Holm, P. E., Jacobsen, O. S. og C.S. Jacobsen. 2004 Sorption, mineralization and mobility of *N*-(phosphonomethyl)glycine (glyphosate) in five different types of gravel. *Pest. Manag. Sci.*, 60:570–578

Vinther, F.P., Eiland, F., Lind, A.M. og L. Elsgaard. 1999. Microbial biomass and numbers of denitrifiers related to macropore channels in agricultural and forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 31: 603-611.

Vinther, F.P., Elsgaard, L. og Jacobsen, O.S. 2001. Heterogeneity of bacterial populations and pesticide degradation potentials in the unsaturated zone of loamy and sandy soils. *Biology and Fertility of Soils* 33: 514-520.

Vinther, F.P., Mortensen, G.K. og Elsgaard, L. 2003. Effects of linear alkylbenzene sulphates on functional diversity of microbial communities in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22: 35-39.

Walker, A., Helweg, A. og O.S. Jacobsen. 1997. Temperature and pesticide transformation, in *Soil Persistence Models and EU Registration*, Ed by Boesten, J., Helweg, A., Businelli, M., Bergstrom, L., Schaefer, H., Delmas, A., Kloskowski, R., Walker, A., Travis, K., Smeets, L., Jones, R., Vanderbroeck, V., Van Der Linden, A., Broese, S., Klein, M., Layton, R., Jacobsen, O.S. og Yon, D., EU Focus Group, Brussels, Belgium, pp 10–24 (1997).

West, A. W. og G.P. Sparling. 1986. Modification to the substrate induced respiration method to permit measurement of microbial biomass in soils of differing water contents. *Journal of Microbiological Methods* 5:177-189.

