

FEBRUAR 2025  
REGION SYDDANMARK

# ETHYLURETHAN - UNDERSØGELSE AF ANALYSE- OG RENSEMETODER



FEBRUAR 2025  
REGION SYDDANMARK

# ETHYLURETHAN - UNDERSØGELSE AF ANALYSE- OG RENSEMETODER

PROJEKTNR.

A272570

DOKUMENTNR.

004

VERSION

1.0

UDGIVELSESDATO

22-05-2025

BESKRIVELSE

Samlet datarapport

UDARBEJDET

BAGE/FDLX

KONTROLLERET

TJR

GODKENDT

BAGE



# INDHOLD

1	Indledning	7
2	Baggrund	9
2.1	Formål	10
2.2	Indledende forslag til kriterier	11
3	Udvikling af ny analysemetode	12
3.1	Fund	12
3.2	Delkonklusioner og anbefaling	14
4	Undersøgelse af ISCO som rensesmetode	16
4.1	Forsøgsopstilling	16
4.2	Resultater	17
4.3	Delkonklusioner	19
5	Litteraturstudie om rensesmetoder	21
5.1	Laboratorieforsøg med AOP, Grindsted	21
5.2	Fund fra litteratursøgningen	23
5.3	Delkonklusioner	24
6	Resume og konklusioner	26
6.1	Anbefalinger	27
7	Referencer	28

## BILAG

- Bilag A Udvikling af analysemetode, Højvang  
Laboratorier A/S
- Bilag B Undersøgelse af rensometoder,  
ethylurethan, COWI A/S
- Bilag C Memorandum, Ethylurethane, Literature  
Review, Geosyntec Consultants

# 1 Indledning

Region Syddanmark har i relation til forureningerne i Kærgård Klitplantage og i Grindsted by fået udarbejdet indledende forslag til sundheds- og miljøkvalitetskriterier for udvalgte farmastoffer fra forureningen fra Grindstedværket. Arbejdet er udført af DHI, og den endelige rapport er udgivet d. 29. juni 2023.

Mens forslag til miljøkvalitetskriterier skal gøre sig gældende i både Kærgård Klitplantage og i relation til Grindsted Å, gør forslag til sundhedskvalitetskriterier sig kun gældende i Kærgård Klitplantage overfor de aktiviteter, som findes i relation til badning i Vesterhavet og ophold på stranden.

Stoffet ethylurethan (også kaldet ethylcarbamate, urethan, karbamidsyre eller ethyl ester) er et stof, som mennesker generelt er eksponeret for gennem kost og derfor er det foreslået et sundhedskvalitetskriterie for badning i Vesterhavet på blot 0,005 µg/L (5 ng/l). Ved den hidtil anvendte analysemetode er detektionsgrænsen for ethylurethan i grundvand 0,1 µg/L (100 ng/l) og der således et misforhold mellem kriterie og detektionsgrænse. Der er ikke tidligere påvist indhold over detektionsgrænsen i havvandsprøver i Kærgård Klitplantage, men der er påvist indhold på op til 6.700 µg/l i grundvandet nedstrøms gruberne, hvorfor der kan være risiko for, at der findes indhold over kriteriet i badevandet.

Region Syddanmark har i 2020 udført en række laborietest med behandling af forureningsfanen fra fabriksgrunden i Grindsted med test af fire avancerede oxidations processer (AOP). Forsøgene viste generelt utilstrækkelig nedbrydning af ethylurethan og kun metoden faststof katalysator + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> viste god renseeffekt. I forbindelse med teknologiudviklingen udført for Region Syddanmark og Miljøstyrelsen i 2009-2012, som havde til hensigt at finde den bedst egnede metode til oprensning i Kærgård Klitplantage, indgik ethylurethan ikke i analyseprogrammet. Derfor vides det ikke med sikkerhed, hvorvidt den valgte oprensningsmetode, i Kærgård Klitplantage, med kemisk oxidation ved persulfat aktiveret med Fentons reagens (FR-ASP) har en effekt på ethylurethan.

På den baggrund har Region Syddanmark bevilliget midler til et udviklingsprojekt for at undersøge, hvorvidt det er muligt at sænke

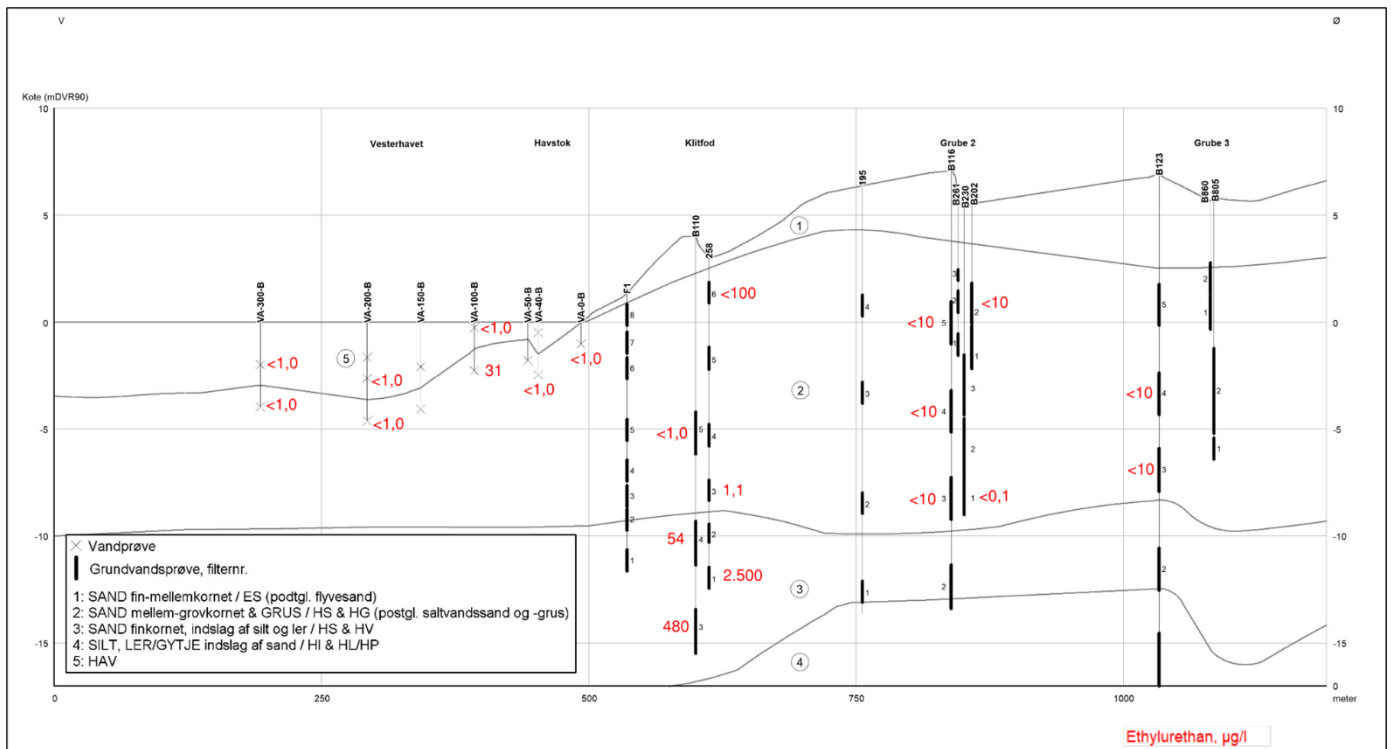
detektionsgrænsen for ethylurethan ved at udvikle en mere følsom analysemetode, sideløbende med at det undersøges, om oprensningmetoden med aktiveret persulfat kan destruere ethylurethan. Som et sidste formål er der udarbejdet et litteraturstudie for at undersøge, hvorvidt der findes dokumentation for mulige in-situ metoder, der effektivt kan nedbryde ethylurethan. Projektet er udført som et samarbejdsprojekt mellem COWI, Højvang Laboratorier A/S og Geosyntec Consultants.

## 2 Baggrund

Ethylurethan er ikke et stof, der tidligere har været fokus på i jord- og grundvandsforureningsregi i dansk kontekst. Stoffet er mest kendt for at være et naturligt forekommende stof i primært gærede og fermenterede fødevarer såsom vin, øl, brød, yoghurt mf. /1/, hvilket betyder at vores daglige tolerable indtag (TDI) allokeres til dette. Det betyder i jord- og grundvandsforureningsøjemed, at påvirkning herfra på mennesker ikke må være betydelig. I DHI's arbejde med udarbejdelse af et foreløbigt kriterie for ethylurethan, er allokeringfaktoren (den mængde, der må komme fra forurening) sat til 10 % og da TDI i forvejen er lav, fås et kriterie på kun 5 ng/l for badning i Vesterhavet.

I industrien har stoffet været anvendt til fremstilling af lægemidler, pesticider, desinfektionsmidler og kosmetik /1/ og det er på baggrund af anvendelsen indenfor lægemiddelproduktion, at stoffet har været anvendt i produktionen på det tidligere Grindstedværket. Da stoffet har en bedøvende og sløvende effekt, bliver det i dag forsat anvendt til dyr. Dyrestudier har vist, at stoffet er kræftfremkaldende og på denne baggrund vurderes stoffet også kræftfremkaldende i mennesker /1/.

Stoffet har en opløselighed i vand på 480.000 mg/l ved 15°C og en densitet på 0,98 g/cm<sup>3</sup>. Da stoffet hverken er let-bionedbrydning, har en log Kow på -0,15 og en estimeret Koc-værdi på under 20 l/kg, vil stoffet ikke have tendens til at binde sig til organisk materiale og derfor være mobilt og primært at finde i grundvandet /1, Bilag C/. Dette understøttes af de lokaliteter, hvor stoffet hidtil er påvist. På Grindsted gl. losseplads, hvor der tidligere er blevet deponeret kemikalieaffald indeholdende ethylurethan fra det tidligere Grindstedværket, udførte COWI i 2021-2022 undersøgelser /2/, hvor der blev etableret boringer ca. 2.000 meter nedstrøms lossepladsen. Der blev i flere af boringerne påvist indhold af stoffet og da dette ikke har andre kendte kilder, vurderes det at stamme fra den opstrøms beliggende losseplads. Det samme gør sig gældende i Kærgård Klitplantage, hvor stoffet bliver fundet i grundvandsprøver 1 meter nede i havbunden 100 meter fra kysten, flere hundrede meter fra de gruber, hvor det oprindeligt blev deponeret, se snittet i Figur 2-1.



Figur 2-1 Snit i Kærgård Klitplantage. I øst er placeret to af affaldsgruberne 2 og 3 og mod vest er Vesterhavet. Det ses fra snittet at der er påvist indhold af ethylurethan 1 meter nede i havbunden 100 meter fra kysten samt 20 meter nede i formationen ved klitfoden. Ethylurethan er altså mobilt og bevæger sig med grundvandsstrømmen.

Det vurderes at stoffet er tæt knyttet med produktionen på det tidligere Grindstedværket, da et opslag i Region Syddanmarks GeoGIS database viser, at stoffet er fundet på lokaliteter, hvor det er kendt at det tidligere Grindstedværket har haft aktiviteter eller deponeret affald. Det vides ikke, hvorvidt stoffet findes i relation til andre aktiviteter, da det ikke almen udbredt at analysere herfor. De højeste indhold af stoffet er set i 2012 i boring DGU 114.2121 på Grindsted gl. losseplads, hvor der blev påvist 39.000 µg/l. På Kærgård Klitplantage er de højeste indhold påvist i klitterne, hvor der i boring DGU 111.194 er påvist 6.700 µg/l.

## 2.1 Formål

Formålet med projektet er at belyse følgende problemstillinger:

- > Der forelægger ingen muligheder for at dokumentere, at sundhedskvalitetskriteriet på 0,005 µg/l i Vesterhavet er mødt grundet den høje detektionsgrænse
- > Det vides ikke, hvorvidt afværgetiltagene med kemisk oxidation i Kærgård Klitplantage har effekt på ethylurethan
- > Det er ukendt, om der eventuelt findes alternative in-situ metoder til oprensning af ethylurethan

## 2.2 Indledende forslag til kriterier

Med udgangspunkt i en række opstillede risikoforhold har DHI /1/ for oprensningen i Kærgård Klitplantage udarbejdet forslag til specifikke sundheds- og miljøkvalitetskriterier. Kriterierne er endnu ikke godkendt af Miljøstyrelsen og skal derfor ses som indledende forslag. For ethylurethan fremgår kriterierne af Tabel 2-1 nedenfor, mens kriterierne for de øvrige stoffer med relation til det tidligere Grindstedværket fremgår af /1/.

Tabel 2-1 *Indledende forslag til kvalitetskriterier for ethylurethan til beskyttelse af miljø og mennesker. \*: Det generelle årsmiddelkrav*

Stof	<b>Sundhedskvalitetskriterie, <math>\mu\text{g/l}</math>: Risiko ved ophold på stranden fx. gåture</b>	<b>Sundhedskvalitetskriterie, <math>\mu\text{g/l}</math>: Risiko ved leg og badning i strand render/strandsøer</b>	<b>Sundhedskvalitetskriterie, <math>\mu\text{g/l}</math>: Risiko ved badning i havet</b>	Miljøkvalitetskriterie for Vesterhavet, $\mu\text{g/l}$ *
Ethylurethan	0,4	0,1	0,005	50

### 3 Udvikling af ny analysemetode

Med det forelagte sundhedskvalitetskriterie på 0,005 µg/l og den nuværende detektionsgrænse på 0,1 µg/l er det udfordrende for den pågående kildeoprensning i Kærgård Klitplantage at konkludere, hvorvidt oprensningskriterierne i kilderne er mødt. Der er derfor et betydeligt behov for at forbedre detektionsgrænsen for stoffet.

I Bilag A findes en rapport udarbejdet af Højvang Laboratorier A/S omkring deres bestræbelser på at optimere og udvikle en analysemetode med en lavere detektionsgrænse end den, der er tilgængelig hos de tilgængelige danske laboratorier i dag.

Der er anvendt to forskellige analytiske instrumenter, som i rapporten omtales hhv. GC/MS og LC/MS/MS. Se ordlisten nedenfor for en grundlæggende gennemgang af de to metoder.

#### ORDLISTE

GC/MS: Gas-chromatografi masse-spektrometri (GC/MS) er en analysemetode, som gør brug af høje temperaturer til opvarmning af en given prøve, således prøven kan analyseres på gasform. Metoden forudsætter at det analyserede stof kan overføres fra prøven til et organisk opløsningsmiddel. Metoden gør brug af en inert-gas som mobil-fase (ofte helium), som transporterer prøven igennem kolonnen i gas chromatografen. Når prøven når masse-spektrometret, som er detektoren, vil prøven blive ioniseret via kemisk eller elektron ionisering og analyseret.

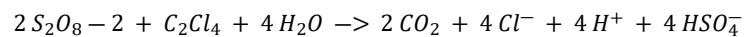
LC/MS/MS: Væske-chromatografi masse-spektrometri ved anvendelse af to massespektrometre (LC/MS/MS) gør brug af mobiliseringen af en given prøve igennem en stationær fase. Den stationære fase vil have samme polaritet som det ønskede analyserede stof, som separerer prøvens komponenter, hvor den mobile fase (en passende væske, med modsat polaritet) vil mobilisere en given prøve igennem den stationære fase og videre ind i de dobbelt koblede massespektrometre, som fungerer som beskrevet i GC/MS metoden ovenfor. Forskellen udgøres af præcisionen, hvor dobbelt koblede masse spektrometre ioniserer prøven af to omgange. Instrumentet giver dermed mulighed for at analysere direkte på vandprøven.

#### 3.1 Fund

Højvang Laboratorier viser i rapporten, at de har eksperimenteret med forskellige ekstraktionsmetoder og instrumentopsætninger på både GC/MS og LC/MS/MS. Resultaterne viser at det er teoretisk, men ikke for nuværende praktisk, muligt at opnå en detektionsgrænse på 0,005 µg/l med GC/MS, og at der er behov for en effektiv metode til ekstraktion af ethylurethan fra en større vandmængde. For LC/MS/MS viser resultaterne, at det er muligt at opnå

tilfredsstillende ekstraktion og analyse af stoffet i vandmatricer ved hjælp af en kombination af SPE oprensning og LC/MS/MS. Metoden overholder dog ikke den ønskede detektionsgrænse på 0,005 µg/l, men halverer den nuværende grænse fra 0,1 µg/l til 0,05 µg/l.

Laboratorieforsøgene er blevet udført på både postevand kunstigt beriget med ethylurethan samt forskellige vandprøver fra Kærgård Klitplantage. Derudover er metoden anvendt på forskellige prøver produceret ved laboratorieforsøget omhandlende kemisk oxidation med persulfat (udført af COWI). Det faktum at metoden også skulle kunne anvendes til analyse af prøverne fra forsøget med kemisk oxidation, gav en udfordring som følge af den lave pH værdi i forhold til LC/MS/MS-metoden. Som beskrevet nedenfor, afsnit 4, tilsættes der ved kemisk oxidation en større mængde persulfat og hydrogenperoxid, som reagerer og danner brintioner, hvilket giver et fald i pH. Desuden skabes der ved aktivering af persulfaten en række frie radikaler, som starter en kædereaktion, der kan nedbryde en lang række problematiske stoffer (se Bilag B og Bilag C). I Kærgård Klitplantage haves der et stort indhold af chlorerede opløsningsmidler og derfor ser vi normalt en reaktion ved kemisk oxidation mellem tetrachlorethylen (PCE) og persulfat, som danner svovlsyre og som ligeledes sænker pH i grundvandszonen:



Analysemetoden blev på baggrund heraf testet med to forskellige analysekolonner og for at sikre en robusthed i forhold til lav pH, relationen ovenfor in mente, blev der valgt en såkaldt Hypercarb kolonne. Udfordringen med Hydrocarb kolonnen er, at der er set et responstab på især de lavere koncentrationsniveauer og derfor sætter kolonnen en naturlig begrænsning for detektionsgrænsen. Sammenlignes der med den anden kolonne, en såkaldt HSS kolonne, haves der ikke samme responstab på de lavere niveauer, men denne ville ikke kunne håndtere de lavere pH niveauer. Det er derfor muligt, at der yderligere kan optimeres på kolonnemateriale og derved opnå en endnu lavere detektionsgrænse. HSS kolonnen ville f.eks. kunne anvendes nedstrøms gruberne i vandprøver udtaget på stranden eller i havet, hvor pH ikke er påvirket af kildeoprensningen.

Tabel 3-1 Tabellen viser en sammenstilling mellem de nye analyser udført af Højvang Laboratorier med deres nye analysemetode og tidligere analyser udført af ALS på andre prøver. Det gælder for alle fem prøver at de nye resultater ligger i samme niveau som tidligere påvist.

	KP-BV-5	111.194-1	111.259-3	111.338-4	111.343-1
Højvang Laboratorier Ethylurethan [ $\mu\text{g/l}$ ] DL: 0,05 $\mu\text{g/l}$	0,09	4.696	38	2,46	208
Dato for analyse	30-05-2024	30-05-2024	30-05-2024	30-05-2024	30-05-2024
ALS Danmark Ethylurethan [ $\mu\text{g/l}$ ] DL: 0,1 $\mu\text{g/l}$	<0,1	5.700	10	<0,1	170
Dato for analyse	06-05-2024	14-09-2022	29-04-2021	14-09-2022	27-04-2021

Tabel 3-1 ovenfor viser analyseresultaterne udført af Højvang Laboratorier for fem vandprøver udtaget i Kærgård Klitplantage i relation til indeværende projekt og fem tidligere analyseresultater udført af ALS Danmark. Det er fra sammenligningen tydeligt, at vandprøverne på tværs af analyselaboratorier er påvist i samme niveau.

De fem prøvelokaliteterne er udvalgt med formål at teste metoden på vand med forskellig kemi. Således er KP-BV-5 udtaget i havvand, 111.194-1 og 111.259-3 er udtaget i klitterne, hvor påvirkningen af den pågående kildeoprensning er vurderet minimal og hvor der også er et højt indhold af andre forureningskomponenter. 111.194-1 er desuden boringen, hvor der historisk er påvist de højeste indhold af ethylurethan i Kærgård Klitplantage. Og modsat er 111.338-4 og 111.343-1 udtaget nedstrøms hhv. grube 2 og 3 for maksimal påvirkning fra den pågående oprensning. I grube 2 foregik, på tidspunktet for prøvetagning, oprensning med kemisk oxidation, mens der i grube 3 foregår biologisk oprensning ved stimuleret reduktiv deklorerer. Samlet viser sammenligningen på tværs af laboratorier og forskellige grundvandskemier, at metoden udviklet af Højvang Laboratorier kan producere fornuftige og troværdige resultater for vand fra naturlige og forurenede miljøer.

### 3.2 Delkonklusioner og anbefaling

Arbejdet havde til formål at reducere detektionsgrænsen for ethylurethan i vand for at opfylde sundhedskriteriet på 0,005  $\mu\text{g/L}$ . Den nuværende GC/MS-metode har en detektionsgrænse på 0,1  $\mu\text{g/L}$ , mens fødevarerindustriens standarder giver en detektionsgrænse, der er meget højere. Følgende konklusioner blev draget igennem arbejdet:

- > Stoffet har vist sig udfordrende at udtrække fra vand på grund af dets høje opløselighed og polaritet.
- > På trods af omfattende test af forskellige ekstraktionsmetoder blev effektiv ekstraktion af ethylurethan fra store vandvolumener til GC/MS-analyse ikke opnået.
- > En ny metode, der kombinerer SPE med LC/MS/MS, blev udviklet og nåede en detektionsgrænse på 0,05 µg/L - en halvering i forhold til den nuværende GC/MS-metode, men stadig over den ønskede grænse.
- > Yderligere optimering, ved brug af f.eks. HSS - analysekolonne, kan forventeligt reducere detektionsgrænsen til det ønskede niveau på 0,005 µg/L.

Det anbefales på baggrund af arbejdet, at der udføres en række optimeringer med andre kolonner for at komme nærmere en detektionsgrænse på 0,005 µg/l. Formålet med optimeringerne bør være at kunne opnå en acceptable detektionsgrænse i grund- og havvand med tilnærmelsesvist neutral pH.

## 4 Undersøgelse af ISCO som rensemetode

Da der ikke tidligere har været fokus på ethylurethan i jord- og grundvandsforureningsregi, har stoffet ikke fået opmærksomhed i tidligere teknologiudviklingsstudier, som har haft til formål at undersøge, hvilke in-situ metoder der kunne anvendes i Kærgård Klitplantage til at oprense den komplekse forurening med blandt andet farmastoffer, chlorerede opløsningsmidler og kulbrinter. Det vides derfor ikke på nuværende tidspunkt, hvorvidt den valgte oprensingsmetode; in-situ kemisk oxidation (ISCO) ved persulfat aktiveret med Fentons reagens kan nedbryde ethylurethan. Da stoffet udgør en risiko ved badning i Vesterhavet, er det af største vigtighed at sikre, at stoffet bliver nedbrudt for at opnå acceptable forureningsniveauer i havet i fremtiden.

COWI har derfor udført en række laboratorieforsøg for at undersøge, hvorvidt stoffet nedbrydes ved in-situ kemisk oxidation. Det komplette arbejde kan findes afrapporteret i Bilag B. Nedenfor gennemgås de væsentligste fund og konklusioner fra arbejdet.

### 4.1 Forsøgsopstilling

Der er i forbindelse med arbejdet udført tre forskellige laboratorieforsøg. Indledningsvist blev der udført forsøg med rent postevand, som var kunstigt beriget med ethylurethan. På baggrund heraf fulgte to forskellige forsøg med vand fra Kærgård Klitplantage, hvoraf det sidste endte med ligeledes at blive kunstigt beriget med ethylurethan.

Grundlæggende gælder det for metoden med ISCO ved persulfat aktiveret med Fentons reagens, at der tilsættes natriumpersulfat, 35 % hydrogenperoxid, natriumcitrat og ferrosulfat. Natriumpersulfat og hydrogenperoxid er begge oxidationsmidler, natriumcitrat anvendes som en stabilisator af hydrogenperoxiden og ferrosulfat anvendes som en katalysator. Når stofferne blandes i grundvandszonen, dannes en meget reaktiv opløsning, se Bilag C, som har vist stor effekt i forhold til nedbrydning af chlorerede opløsningsmidler, kulbrinter, sulfonamider, barbiturater mv. Metoden har været anvendt med succes i Kærgård Klitplantage, hvor store mængder forurenende stoffer gennem injektioner af ISCO-kemikalierne er blevet nedbrudt/oxideret.

Tabel 4-1: Kemikaliedosering ved forsøgene i første runde.  
\*Omtrentlig dosering ved fuldskalaoprensning i Kærgård Klitplantage

Kemikalier	Høj dosering	Lav dosering	Kærgård*
Natriumpersulfat, g/l	20	10	40-75
35% hydrogenperoxid, ml/l	20	10	40-75
Natriumcitrat, mg/l	133	66,5	270
Ferrosulfat, FeSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O, mg/l	107	53,5	240
Ethylurethan, µg/l	5.000	5.000	-

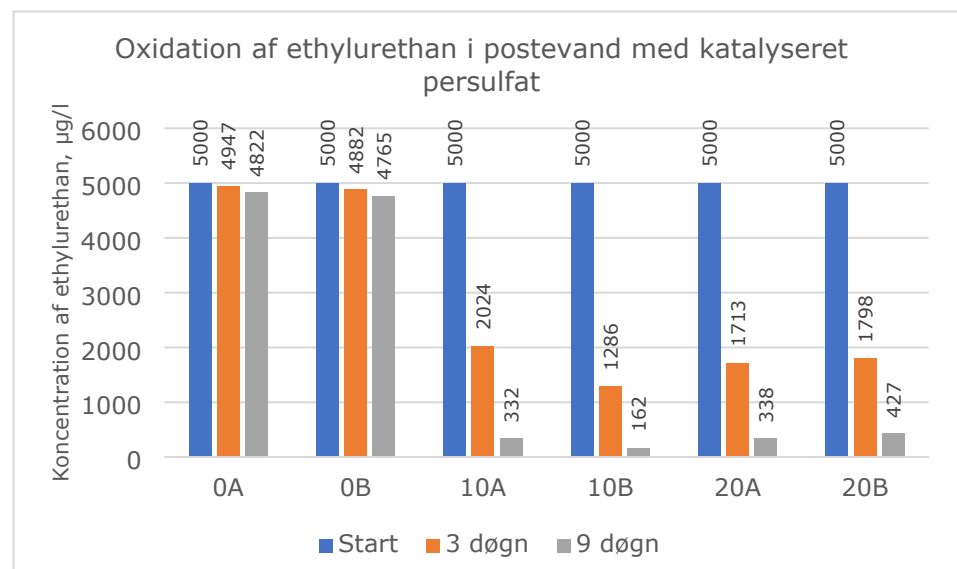
For første runde blev der anvendt to forskellige koncentrationer af oxidationsmidlerne for at vurdere, hvor stor mængde der var behov for i forhold til at nedbryde ethylurethan. Doseringerne fremgår af Tabel 4-1. I tabellen fremgår også den omtrentlige dosering af kemikalierne anvendt i Kærgård Klitplantage. Indholdet anvendt i laboratorieforsøgene er bevidst markant lavere, da der er en sikkerhedsrisiko ved at anvende høje koncentrationer i laboratoriet.

For de efterfølgende forsøg blev der udtaget grundvandsprøver fra Kærgård Klitplantage. I runde 2 blev der lavet målinger på 4 prøver fra boringen med DGU nummer 111.343 samt 5 prøver fra boring med DGU nummer 111.194 og i runde 3 blev der anvendt vand fra boring med DGU nummer 111.334. For alle forsøg med vand fra Kærgård Klitplantage blev der fortrinsvist anvendt en dosering, som svarer til lav dosering jf. Tabel 4-1. Der blev sideløbende også udført enkelte forsøg med højere dosering.

Alle forsøg blev udført som duplikat forsøg og med en blind referenceprøve. Gennem forsøgsperioderne blev der målt diverse parametre, herunder pH, redox og indhold af hydrogenperoxid.

## 4.2 Resultater

For forsøgene med postevand beriget med ethylurethan forløb reaktionerne som forventet; pH faldt og ledningsevnen og redox steg. Figur 4-1 viser indholdet af ethylurethan efter 3 og 9 døgn ved både høj (20A og 20B) og lav (10A og 10B) dosering af kemikalier.

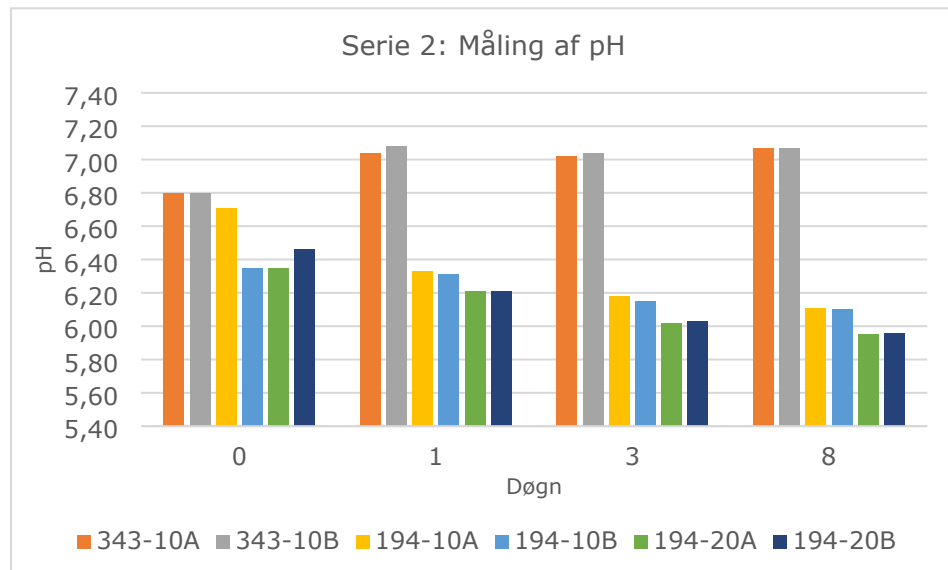


Figur 4-1 Vandprøvernes indhold af ethylurethan i blindprøven samt efter 3 og 9 døgn.

Herfra er det tydeligt at der sker en nedbrydning af ethylurethan og at der efter 9 døgn haves et indhold, som mere er end 10 gange lavere end udgangspunktet. Det viser sig, at nedbrydningen af ethylurethan er lige effektiv,

hvad enten man har den lave eller den høje tilsætning af oxidationskemikalierne.

På baggrund af forsøgene med postevand blev der opstartet forsøg med vand fra Kærgård Klitplantage. Grundvandet blev udtaget i boring 111.194 filter 1, som tidligere har vist det højeste indhold af ethylurethan i Kærgård Klitplantage og som fra test med analysemetoden blev målt til 4.696 µg/l og fra en boring med et betydeligt lavere indhold, ca. 200 µg/l og en placering, hvor det ikke blev forventet at finde rester af den pågående oprensning (111.343-1).



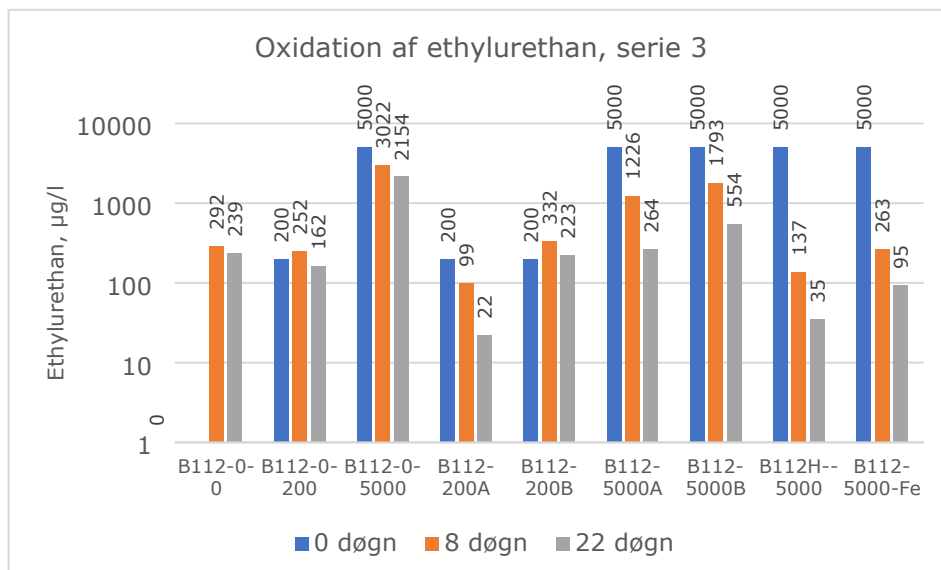
Figur 4-2 Måling af pH i løbet af de 8 døgn, hvor reaktionen har fundet sted.

Modsat for det kunstigt berigede postevand blev der ikke observeret store ændringer i hverken pH, se Figur 4-2, og redox og i prøven efter 8 døgn var der ikke set et fald i indholdet af ethylurethan.

Årsagen hertil blev undersøgt og det blev vurderet at skyldes, at vandprøverne fra Kærgård Klitplantage har en meget højere alkalinitet end postevandet. Alkaliniteten er efterfølgende målt, og resultatet er her angivet som mg/l bikarbonat:

- > Postevand: Bikarbonat = 207 mg/l
- > 111.343: Bikarbonat = 2230 mg/l
- > 111.194: Bikarbonat = 7740 mg/l

Der blev derfor udtaget et nyt sæt prøver i boringen med DGU nummer 111.334, hvor der tidligere er set lavere alkalinitet. Udfordringen med boringen var dog, at indholdet af ethylurethan er meget lavt, hvorfor prøven blev kunstigt beriget med ethylurethan. Allerede efter 1 døgn blev det observeret, at der ikke skete det forventede pH fald og derfor blev pH sænket ved tilsætning af svovlsyre.



Figur 4-3 Analyseresultater for ethylurethan i alle prøve fra serie 3.

Figur 4-3 ovenfor viser resultater for tredje og sidste runde med laboratorieforsøg. Her er både udført test med et højt og et lavt indhold af ethylurethan på hhv. 200 og 5.000 µg/l. Der er desuden både lavet et forsøg med ekstra ferrosulfat tilsat, da dette skulle kunne accelerere processerne og et forsøg med ekstra mængder af alle kemikalier tilsat. Efter både 8 og 22 dage ses indholdet af ethylurethan at være blevet reduceret fra udgangskoncentrationen i grundvandet. Efter 22 dage er der for det bedst præsterende forsøg, B112H-5000, opnået koncentrationer, som blot er 0,7 % af udgangskoncentrationen og faktisk bedre end for forsøgene med postevand. For det omtalte forsøg blev der anvendt en større dosis af alle kemikalierne; 20 g/l natriumpersulfat, 20 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 600 mg/l ferrosulfat og 700 mg/l natriumcitrat.

### 4.3 Delkonklusioner

Laboratorieforsøgene havde til formål at belyse, hvorvidt ethylurethan kan nedbrydes med in-situ kemisk oxidation tilsvarende den metode, der i dag bliver anvendt i Kærgård Klitplantage. Gennem forskellige forsøgsopsætninger er det projektholdets klare overbevisning, at metoden er i stand til at nedbryde stoffet. De væsentligste refleksioner og konklusioner er givet her:

- > Metoden har vist sig at være sårbar overfor vand med høj alkalinitet. Det er set, at oxidationen ikke går i gang af sig selv, når pH ikke falder ved tilsætning af persulfat og hydrogenperoxid. Her kan tilsættes f.eks. svovlsyre, hvorved reaktionen startes. Dette er ikke set i fuldskalaoprensningen, hvor der konsekvent opnås lave pH værdier ved injektion af kemikalierne. Det bemærkes, at fuldskalaoprensningen kun er sket i toppen af grundvandsmagasinet, hvor der er lav alkanitet. Der er således ikke udført kemisk oxidation i Kærgård Klitplantage i dybere lag med højere alkanitet.

- > Nedbrydningshastigheden er større ved forsøg med postevand kontra forsøg med grundvand fra Kærgård Klitplantage. Dette kan muligvis tilskrives den større alkalinitet i grundvandet.
- > Nedbrydningen og nedbrydningshastigheden kan optimeres ved at tilsætte større mængder kemikalier. Forsøget har generelt anvendt lavere kemikaliedoseringer, end der er anvendt i Kærgård Klitplantage. Det må derfor forventes at reaktioner forløber hurtigere i fuldskalasystemet.
- > På baggrund af nedbrydningen observeret ved forsøgene, beregnes det at tage mellem 50-100 dage at få nedbrudt produktet til en restkoncentration under 0,01 µg/l. Beregningen forudsætter tilgængelige mængder af persulfat og hydrogenperoxid i hele perioden. Dette er oversat til mellem 5 og 10 injektionsrunder baseret på erfaringen fra fuldskalaoprensningen. De nyeste data fra grube 4 indikerer dog, at der efter 9 runder med kemisk oxidation fortsat er et medianindhold af ethylurethan på mellem 2 og 6 µg/l for de respektive lag i gruben. Dertil tilskrives at fuldskalasystemer selvfølgelig er mere komplekse.

Det er ikke projektholdets anbefalinger, at der udføres yderligere forsøg med nedbrydning af ethylurethan, da der i indeværende studie er påvist en acceptable effekt og da det ikke vurderes vigtigt for projektet i Kærgård Klitplantage at fastslå optimale kemikaliedoseringer målrettet ethylurethan.

## 5 Litteraturstudie om rensemetoder

Eftersom ethylurethan er et relativt ukendt stof indenfor jord- og grundvandsforurening, er der ikke umiddelbart kendskab til tilgængelig erfaring i ind- og udland, når det kommer til nedbrydning og generelt afværge overfor stoffet. Projektet omkring forskellige avanceret oxidations processer på vand fra fabriksgrundsfanen i Grindsted /3/ er det bedst kendte projekt. Projektet er opsummeret i afsnit 5.1 nedenfor. Her blev der testet fire forskellige processer (ozon, ozon+H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ozon+UV, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+faststof katalysator), hvor tre af disse viste utilstrækkelig nedbrydning af ethylurethan. Metoden faststof katalysator + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> viste den bedste effekt og her lykkedes det i enkelte forsøg at nedbryde stoffet til under detektionsgrænsen på <0,1 µg/l. Der er dog betydelige videnshuller i forhold til forskellige afværgeteknikker, og trods indeværende projekt her rapporterer positiv effekt fra behandling af ISCO, er det af stor interesse at undersøge, hvorvidt der findes hidtil ukendt litteratur, som beskriver effekten af forskellige afværgeteknikker herunder ISCO. Derfor er der i projektet inkluderet et litteraturstudie af tilgængelig litteratur på området.

Det har som udgangspunkt ikke været forventet, at der findes mange studier, der viser erfaring med metoder til nedbrydning af ethylurethan. Derfor er der i litteratursøgningen også lagt vægt på en vurdering af potentielle metoder til in-situ oprensning af ethylurethan ud fra de fysiske kemiske egenskaber af ethylurethan. Formålet har således været flerdelt; 1) at vurdere, hvorvidt ethylurethan kan nedbrydes med ISCO ud fra stoffets fysiske kemiske egenskaber, 2) at undersøge om ISCO har været forsøgt som metode til nedbrydning af ethylurethan og 3) at undersøge om andre metoder har været anvendt til nedbrydning af ethylurethan. Studiet er udført af Geosyntec Consultant og et komplet memorandum (på engelsk) er fundet i Bilag C.

Litteratursøgningen har anvendt forskellige online databaser som Elsevier, Springer Nature, Google Scholar og andre databaser gennem United States Environmental Protection Agency (USEPA) og Health Canada. Endvidere er der lavet mere generelle søgning på ethylurethan og diverse synonymmer.

### 5.1 Laboratorieforsøg med AOP, Grindsted

Studiet som projektholdet har bedst kendskab til, er de laboratorieforsøg med AOP, der er udført på vand fra det tidligere Grindstedværkets forureningsfane i 2020. Formålet med studiet var at undersøge, hvilken metode der var bedst til at behandle den lange og komplekse række af forureningskomponenter i grundvandsfanen. Der blev testet fire forskellige processer, herunder:

- > Ozonoxidation
- > Oxidation med ozon + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- > Oxidation med H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + UV
- > Oxidation med H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + en fast katalysator

De første 3 metoder blev testet af Suez Water i Schweiz. Den fjerde metode blev testet af det hollandske firma Water IQ International, som har specielt udstyr, der oprindeligt blev implementeret til behandling af forurenede vand i hollandske drivhuse.

Der blev analyseret 95 parametre i vandet, herunder grundlæggende vandparametre, tungmetaller, BTEX, chlorerede opløsningsmidler og nedbrydningsprodukter, kulbrinter og en komplet Grindstedpakke. Resultater med relation til ethylurethan er gengivet i Tabel 5-1, nedenfor.

Tabel 5-1 Analyseresultater med relation til ethylurethan i forbindelse med AOP-projektet på vand fra fanen på det tidligere Grindstedværket.  
\*Efterbehandling med kul

Prøve ID	Oxidant: Ozon	Oxidant: H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	UV [mJ/cm <sup>2</sup> ]	Reaktionstid minutter	Dosering af Fe salt	Resultat [µg/l]	Resultat [µg/l]
	mg/l	mg/l				Efter AOP	Efter GAC*
Råvand: Baseline Grindsted						315	200
Ozon: TA6-SF optimum	13,1					100	150
Ozon: TA7-SF o-dosage	22,6					77	140
Ozon: TA8-SF u-dosage	7,6					90	150
Ozon + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : Test B 1 optimum	11,9	2,0				66	130
Ozon + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : Test B 2 o- dosage	22,9	4,1				64	110
Ozon + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : Test B 3 u- dosage	5,8	1,2				76	130
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + UV: TC6-SF optimum		19,6	5.211			48	37
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + UV: TC7-SF o- dosage		30,4	6.367			23	9,7
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + UV: TC8-SF u- dosage		17,9	2.289			36	39
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + faststof katalysator: Run A WIQ		0		0	No	312	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + faststof katalysator: Run B, High HO <sub>2</sub>		825		7,5	Yes	<0,10	<0,10
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + faststof katalysator: Run C WIQ		825		5	Yes	207	
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> + faststof		825		5	Yes	124	

<i>katalysator: Run D WIQ</i>					
<i>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + faststof</i>	100	10	No	6,5	1,9
<i>katalysator: Run E, Optimum</i>					
<i>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + faststof</i>	100	20	No	0,44	<0,10
<i>katalysator: Run F, Long time</i>					

Der blev undersøgt 3 forskellige doseringer for hver test. En optimal dosering, en dosering under optimal dosering (underdosering) og en dosering over optimal dosering (overdosering). For testen med den faste katalysator blev både doseringen og reaktionstiden undersøgt, og i 2 tests blev der også tilsat jernsalt som en supplerende katalysator.

Behandling ved tilsætning af pulveriseret aktivt kul (PAC) blev også undersøgt på forskellige måder. I én test blev der kun anvendt kulbehandling, mens der for alle de andre tests blev anvendt PAC som behandlingsproces efter AOP (angivet som GAC i Tabel 5-1). For testene med ozon og testene med ozon + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> blev der fundet højere koncentrationer af ethylurethan efter PAC end før PAC, hvilket der ikke kunne findes en pålidelig forklaring på.

Nogenlunde acceptable AOP-resultater blev opnået ved at bruge H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + UV ved overdosering, hvor resultat sandsynligvis kunne forbedres, hvis UV-doseringen og H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-doseringen blev yderligere øget. Dog blev det allerbedste resultat opnået ved faste katalysator + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hvor det lykkedes at fjerne ethylurethan til under detektionsgrænsen på 0,1 µg/l. De resterende test med hhv. ozon alene samt ozon + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> viste grundlæggende ret skuffende resultater og kunne ikke nedbryde ethylurethan.

## 5.2 Fund fra litteratursøgningen

Nedenfor gengives de vigtigste fund fra litteratursøgningen, Bilag B.

### 5.2.1 Indikationer på mulighed for nedbrydning

Geosyntec har på baggrund af de fysisk-kemiske egenskaber for ethylurethan samt stoffer der fysisk-kemisk minder om stoffet vurderet stoffets muligheder for at blive nedbrudt med ISCO. Først og fremmest vil ethylurethan findes i vandfasen, hvorfor det er tilgængeligt for injektion af vandige opløsninger som ISCO. Baseret på enkelte studier af stoffer med lignende kemiske strukturer vurderes det ligeledes sandsynligt, at ethylurethan kan nedbrydes.

### 5.2.2 Bevis for nedbrydning med ISCO

Der er i arbejdet ikke fundet studier, som har anvendt ISCO til nedbrydning af ethylurethan i praksis. Der er således ikke fundet studier, der kan bakke resultaterne fra indeværende projekt op eller på anden måde anvendes til at

forstå doseringsbehov, nedbrydningshastighed eller udfordringer som f.eks. pH-afhængighed af metoden, som er belyst i arbejdet beskrevet ovenfor.

### 5.2.3 Alternative metoder til nedbrydning

Der er i forbindelse med litteraturstudiet også gennemgået forventelige gevinster ved alternative nedbrydningsmetoder end ISCO ved persulfat aktiveret med Fentons reagens. Tabel 5-2, nedenfor opsummerer fundene, se Bilag B for yderligere information.

Tabel 5-2 Vurdering af alternative metoder til nedbrydning af ethylurethan. Tabellen gennemgår hhv. naturlig nedbrydning, forskellige ex-situ processer og in-situ kemisk oxidation (ISCO)

Metode	Vurdering	Fund
Naturlig nedbrydning	Det forventes, på baggrund af den kemiske opbygning af stoffet, ikke, at nedbrydning forekommende i naturlige miljøer er af stor effekt.	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Der er set en andenordens nedbrydningsrate på 3.300 og 330 år for hhv. en pH på 7 og 8.</li> <li>&gt; Der er i et QSAR-studie modelleret en stor sandsynlighed for aerob biologisk nedbrydning af ethylurethan. Især vurderes det, at lave koncentrationer kan nedbrydes. Ved høje koncentrationer er stoffet toksisk og derfor forløber nedbrydningen langsommere hvis overhovedet.</li> </ul>
Ex-situ processer	Det forventes at stoffet ved høje koncentrationer er svært at nedbryde med biologiske processer.	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Flere studier har testet nedbrydning af ethylurethan i spildevand. Der er fundet studier, som tester koncentrationer på hhv. 100 mg/l og 500 mg/l og begge konkluderer, at der ikke sker betydelig nedbrydning.</li> <li>&gt; Studier viser at stoffet stort set ikke er bionedbrydeligt.</li> </ul>
In-situ kemisk oxidation	Det vurderes sandsynligt, at forskellige ISCO-metoder med anvendelse af persulfat kan nedbryde stoffet.	<ul style="list-style-type: none"> <li>&gt; Flere studier har anvendt forskellige metoder, hvor persulfat har indgået som et aktiv til nedbrydning af stoffer med lignende strukturer som ethylurethan. Der er i et studie set nedbrydning på op til 99,5 % af et tilsvarende stof.</li> </ul>

### 5.3 Delkonklusioner

Der er i forbindelse med litteratursøgningen lavet en lang række konklusioner, nedenfor er valgt et uddrag af de væsentligste:

- > Ethylurethan er stærkt blandbart i vand. Det har en meget lav  $K_{ow}$  og  $K_{oc}$  og har tendens til at forblive i grundvandet frem for at være bundet til jorden.
- > Behandling af ethylurethan er ikke bredt beskrevet i litteraturen.
- > Naturlig nedbrydning af ethylurethan forventes ikke at forekomme i betydelige mængder, da stoffet ikke indeholder funktionelle grupper, der kan nedbrydes under naturlige forhold.
- > Lave koncentrationer af ethylurethan i vand kan modelleringsmæssigt biologisk nedbrydes; dog bliver ethylurethan giftigt for mikroorganismer ved højere koncentrationer. Der er i Kærgård Klitplantage ikke observeret naturlig nedbrydning af hverken høje eller lave indhold og det vurderes, at det i praksis ikke vil forekomme. Der er ikke i litteraturen angivet, hvad høje og lave koncentrationer henviser til, hvorfor koncentrationerne i Kærgård Klitplantage kan være for høje. Studierne giver dog heller ikke et entydigt svar på, hvorvidt stoffet faktisk er bionedbrydeligt.
- > Der observeres ingen væsentlig nedbrydning af ethylurethan ved kontakt med aktiveret slam.
- > Ethylurethan er en reduceret forbindelse med grupper/molekylstrukturer (f.eks. carbonyl- og aminogrupper), der muligvis kan oxideres.
- > Forbindelser med lignende funktionelle grupper som ethylurethan er blevet påvist at være modtagelige for kemisk oxidation. Disse data tyder på potentiale for, at ethylurethan også kan behandles med kemisk oxidation.
- > Yderligere kemiske oxidations metoder, herunder STP kombineret med persulfat/ $Fe^{2+}$ /ultralyd, har vist sig at være effektiv ved behandling af carbofuran, et pesticid med en carbamatbaseret struktur.

Fundene i AOP-projektet /3/, hvor det lykkedes med en enkelt oxidationsmetode at fjerne stoffet fra grundvand til under den tidligere detektionsgrænse på 0,1  $\mu\text{g/l}$ , indikerer at det, som det konkluderes på baggrund af litteraturstudiet, netop er muligt at oxidere ethylurethan, hvilket stemmer overens med projektets resultater for laboratorieforsøgene med ISCO. Det vurderes på baggrund af både DHIs arbejde /1/ og observationer i Kærgård Klitplantage at stoffet ikke i dette miljø er bionedbrydeligt og i litteraturen er der desuden endnu ikke set faktiske data, der indikerer, at stoffet kan nedbrydes naturligt, selv ved lave koncentrationer. Dette er kun baseret på forventninger og QSAR-modelleringer.

## 6 Resume og konklusioner

Gennem dette udviklingsprojekt har der været fokus på stoffet ethylurethan, som generelt er et stof, hvor der er en hel del videnshuller i forhold til arbejdet indenfor jord- og grundvandsforurening. DHI har for Region Syddanmark udarbejdet indledende forslag til både miljø- og sundhedskvalitetskriterier for ethylurethan, hvor sundhedskvalitetskriteriet for badning i Vesterhavet er på 0,005 µg/l. Dette meget lave kriterie giver udfordringer for den pågående oprensning i Kærgård Klitplantage, blandt andet da der ikke findes analysemetoder til at måle i dette koncentrationsniveau og da der ikke er evidens for, at de valgte oprensningsmetoder kan nedbryde stoffet.

Projektet har derfor fokuseret på at udvikle en analysemetode, som kan måle ethylurethan ned til 0,005 µg/l samt at undersøge, hvorvidt det er muligt at nedbryde stoffet ved brug af ISCO ved persulfat aktiveret med hydrogenperoxid. Der har desuden gennem et litteraturstudie været et fokus på at forstå, hvorvidt der i litteraturen er fundet alternative in- eller ex-situ metoder til nedbrydning af stoffet.

De vigtigste konklusioner fra projektet er:

- > Det har været muligt at sænke detektionsgrænsen fra 0,1 µg/l til 0,05 µg/l og Højvang Laboratorier kan nu tilbyde kommercielle analyser med denne detektionsgrænse.
- > Det vurderes, at det ved yderligere optimering af analysekolonner er muligt at sænke detektionsgrænsen yderligere og at 0,005 µg/l vurderes muligt at opnå. For Kærgård Klitplantage gælder, at metoden skal være robust på analyser af grundvand og havvand med en pH på omkring 7 og til dette bør der være tilgængelige analysekolonner, der kan anvendes.
- > Fra litteraturstudiet er det vurderet at stoffet bør være behandlingseget og især muligt at oxidere. Det er modelleringsmæssigt muligt, at stoffet også kan omsættes biologisk ved lave koncentrationer, men dette er der ikke fundet klar evidens for, sker i praksis heller ikke i Kærgård Klitplantage.
- > Tidligere er det vist muligt at nedbryde stoffet til under 0,1 µg/l ved en avanceret oxidations proces, hvor der er anvendt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> og en faststof katalysator.
- > Trods ovenstående er der ikke meget litteratur tilgængeligt omkring oprensningsteknikker omhandlende ethylurethan, hvorfor der er kigget på stoffer med samme fysiske- og kemiske egenskaber.
- > Stoffet vil befinde sig i vandfasen, hvorfor det vurderes tilgængeligt til nedbrydning ved injektion af en vandig opløsning som ISCO, som det gøres i Kærgård Klitplantage.
- > Det har vist sig muligt at nedbryde stoffet med ISCO ved persulfat aktiveret med Fentons reagens. Forsøgene har vist, at nedbrydningen forløber lettest

ved anvendelse af postevand beriget med ethylurethan. Ved anvendelse af vand fra Kærgård Klitplantage kan der være udfordringer med for høj alkalinitet og derfor ikke favorable pH forhold. Ved oprensning i gruberne har der ikke tidligere været udfordringer med at få pH til at falde.

- > Beregningsmæssigt vurderes nedbrydningen at skulle forløbe over 50-100 dage, vurderet til 5-10 injektionsrunder i Kærgård Klitplantage, hvis man ønsker at komme under en restkoncentration på 0,01 µg/l.
- > Samlet vurderes det, at ISCO der er udført i Kærgård Klitplantage vil have effekt på indholdet af ethylurethan, og at stoffet nedbrydes sideløbende med de andre farmastoffer, kulbrinter og chlorerede opløsningsmidler.

## 6.1 anbefalinger

Det er projektholdets anbefaling, at der kigges på yderligere optimering af analysemetoden, således der opnås en detektionsgrænse, som svarer til sundhedskvalitetskriteriet for badning i Vesterhavet på 0,005 µg/l.

## 7 Referencer

/1/ Forslag til sundheds- og miljøkvalitetskriterier; For stoffer med relation til forurening fra Grindstedværket, DHI for Region Syddanmark, 2023

/2/ Videregående forureningsundersøgelse af forureningsfanen fra Grindsted gl. losseplads, COWI for Region Syddanmark, 2023

/3/ Grindstedværkets fabriksgrund, valg af renseteknik til behandling af forurenede grundvandsfane, Region Syddanmark, 2020

## Bilag A    Udvikling af analysemetode, Højvang Laboratorier A/S

## 1 Introduktion - analyse af ethyl carbamat

I forbindelse med nye sundheds- og miljøkvalitetskriterier for forureningerne ved Kærgård plantage og Grindsted Å har stoffet ethyl carbamat (EC) fået et nyt foreslået sundhedskvalitetskriterie 0,005 µg/L. Med det nye kriterie er der opstået et behov for at undersøge om detektionsgrænsen kan sænkes, så det er tilsvarende nye sundheds- og miljøkvalitetskriterier. Den nuværende GC/MS metode til EC i vand har en detektionsgrænse på 0,1 µg/L.

EC er et kendt karcinogen der dannes som et biprodukt ved gæringsprocesser i forbindelse med fremstilling af gærede fødevarer. EC kan derfor forekomme i fødevarer som vin, diverse spiritus, samt andre fødevarer hvor gæring indgår i bearbejdningen af fødevarer. Analyse af EC er altså bredt anvendt i fødevarerbranchen til gærede fødevarer, hvor standarderne AOAC Official Method 994.07 eller (DS/EN 16852:2017) anvendes, der begge anvender en identisk GC/MS metode. Analysestandarderne DS/EN 16852:2017 er valideret ned til en detektionsgrænse på 25 µg/L i spiritus, hvilket er markant højere end den nuværende detektionsgrænse på metoden til analyse af EC i vand.

Der findes der en lang række studier der enten optimerer på kendte analysemetoder eller udvikler nye metoder til analyse af fødevarer, ofte spiritus eller gærede faste fødevarer. Analyseprincippet, der oftest anvendes i både standarderne og litteraturen, er forskellige variationer af en SPE (Solid Phase Extraction)(Jagerdeo et al., 2002; D. W. Lachenmeier et al., 2005; Leça et al., 2018; Nóbrega et al., 2015; Perestrelo et al., 2010; Ryu et al., 2015). Der har til formål opkoncentrere EC i et passende eluent, samt fjernelse af problematiske interferenser fra matricen, hvorefter prøven oftest analyseres på GC/MS eller LC/MS/MS. Ved metoderne anvendt til fødevarer afrapporteres der ofte markant højere detektionsgrænser end den ønskede på 0,005 µg/l. Derudover er Højvang Laboratorier A/S ikke bekendt med analysestandarder eller anden litteratur til analyse af EC i rene vand matricer.

EC er et lille polært molekyle med en høj opløselighed i vand og med en  $\text{Log}(K_{ow})$  værdi på -0,15 kan det være problematisk at ekstrahere EC fra en ren vand fase. Det har derfor været nødvendigt i projektets forløb at undersøge, hvorvidt elementer fra forskellige studier og standardmetoder til analyse af fødevarer kunne anvendes til udvikling af en metode til effektiv ekstraktion i vand.

Højvang laboratorier A/S indgår i projektet med udviklingen af en optimeret analysemetode med bedre følsomhed. Højvang vil blandt andet undersøge, hvorvidt det er muligt at udvikle en metode til LC/MS/MS, der kombinerer elementer fra den beskrevne litteratur for analyse af fødevarer, hvor der samtidig opnås en forbedret detektionsgrænse.

## 2 GC-MS/MS

### 2.1 Baggrund

Gaskromatografiske metoder er bredt anvendt til analyser af EC, i diverse fødevarer matricer, hvor der anvendes AOAC Official Method 994.07 eller DS/EN 16852:2017 (Begge standarder anvender det samme princip). Analyseprincippet i standarderne er baseret på en SPE oprensning med "diatomaceous earth" ofte solgt kommercielt under navnet Extrelut®. Hvor en prøvemængde inkuberes i 20 g Extrelut® kolonner i 15 minutter, hvorefter kolonnen først vaskes med et upolært opløsningsmiddel (pentan) for at fjerne en stor del af upolære interferenser fra fødevarer. Hvorefter elueres med en større mængde (100 ml) semi polært opløsningsmiddel Ethylacetat. De 100 ml eluent inddampes på rotationsfordamper til en volumen på ca. 1 ml der analyseres ved GC/MS, hvor EC beregnes overfor forholdet mellem en tilsat deuterium mærket EC-D5 internstandard.

Standardmetoden med rotationsfordamper er både tidskrævende og forbruger store mængde opløsningsmiddel. Af den grund, er der publiceret en lang række studier, der undersøger hvordan ekstraktion og analyse af EC kan optimeres til diverse spiritus og fødevarer matricer via gaskromatografisk analyse. Her er det ofte forskellige typer af enten SPE oprensning eller væske til væske ekstraktioner der anvendes (Jagerdeo et al., 2002; Kim et al., 2013; D. Lachenmeier et al., 2009; D. W. Lachenmeier et al., 2005; Nóbrega et al., 2015; Perestrelo et al., 2010; Ryu et al., 2015).

Højvang har undersøgt litteraturen der anvender GC/MS som analyse instrument for at have et større grundlag til udviklingen af en optimeret gaskromatografisk metode i vandmatricer til opnåelse af den ønskede detektionsgrænse. Fælles for analysestandarderne og litteraturen er at der oftest rapporteres markant højere detektionsgrænser end den ønskede på 0,005 µg/l. Det skyldes både at fødevarer matricerne kan være problematiske med interferenser kombineret med at GC/MS ikke har samme følsomhed, sammenlignet med andre analysemetoder f.eks. LC/MS/MS.

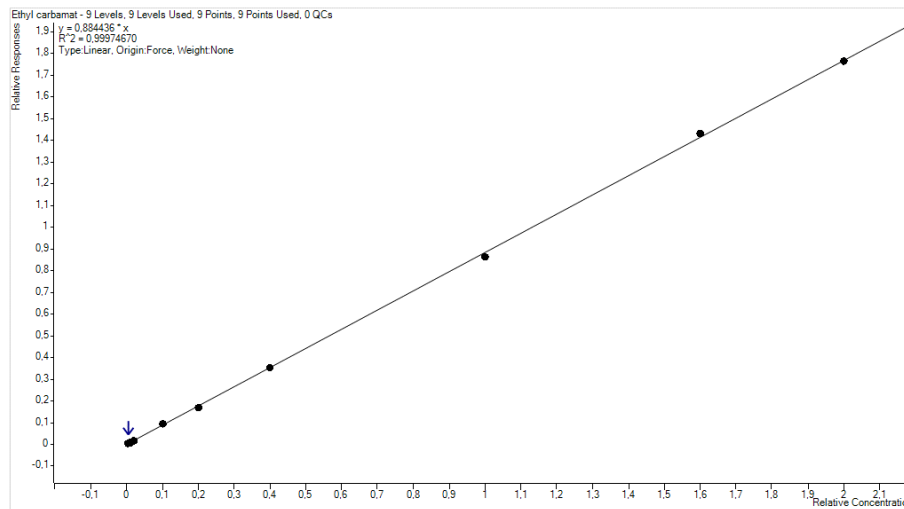
### 2.2 Metode

Instrumentopsætning af GC'en er opsat efter DS/EN 16852:2017, med den ændring at der anvendes en ZB-WAXplus kolonne 30m x 0.25mm x 0.25µm (Phenomenex).

Højvang har undersøgt en række ekstraktionsmetoder, baseret på kendte principper se tabel 1.

### 2.3 Resultater

Ved den indledende indkøring på GC/MS er der foretaget identifikation af EC ved match mellem kvantifier og kvalificer ionerne samt retentionstiden på standarden. Der er opnået linearitet i intervallet 0,005 – 50 µg/L (teoretisk beregnet på baggrund af 1000 ml prøve som udgangspunkt) med en  $R^2=0,9997$ . Figur 1 viser et eksempel på en kalibrationskurve fremstillet i forbindelse med ekstraktionsforsøgene. Det er undersøgt hvorvidt der kan laves standarder under 0,250 µg/l; her bliver responset dog for svagt. Det betyder, at hvis der skal beregnes overfor kalibreringskurven til den ønskede detektionsgrænse, vil det kræve det en pålidelig ekstraktions metode til en større vandmængde (omkring 1000 ml) f.eks. ved væske til væske ekstraktion hvor EC ekstraheres til et GC/MS analyserbar organisk fase.



Figur 1: Et typisk eksempel på en 9 punkts kalibrationskurve i intervallet 0,250 – 100 µg/L til GC/MS. Hvor der er opnået  $R^2=0,9997$ .

Højvang har afprøvet en lang række ekstraktions metoder (tabel 1), hvor der har været store udfordringer med effektiv ekstraktion af EC på spikede hanevandsprøver. Forsøgene har ikke resulteret i en ekstraktion, der viste en tydelig forskel mellem en matrix blind og prøvens spikede indhold, selv med prøver på koncentrationer langt over den ønskede detektionsgrænse. Derfor giver der ikke mening at præsentere data her. I tabel 1 ses en række forskellige forsøgsopsætninger Højvang har undersøgt under projektets forløb, baseret på kendte metoder der anvendes af Højvang til andre parametre.

Ekstraktions type undersøgt	Vand mængde taget i brug	Ekstraktions eller eluering middel	Udrystnings tid	Inkubations tid	Opkoncentration af ekstrakt	Mængde kolonne materiale.
Væske til væske udrystning	1000 ml	Der er undersøgt hhv. dichlormethan og ethyl acetat med 5 ml.	120 minutter	Ej relevant	Ej relevant	Ej relevant
Udrystning med større mængde dichlormethan	900 ml	100 ml dichlormethan	120 minutter	Ej relevant	Opkoncentration ved rotationsfordamper til 1 ml	Ej relevant
SPE oprensning ved Extrelut	1000 ml	Eluering med ethylacetat	Ej relevant	Prøven køres igennem kolonnen under vakuum	Ej relevant	1, 5 og 10 g
SPE oprensning ved ENV	25 ml	Eluering med ethylacetat	Ej relevant	Prøven køres igennem kolonnen under vakuum	Ej relevant	500 mg
SPE oprensning ved ACA	25 ml	Eluering med ethylacetat	Ej relevant	Prøven køres igennem kolonnen under vakuum	Ej relevant	200 mg
Oprensning efter DS16852	25 ml	Eluering med 100 ml af en 50/50 blanding af cyclohexan/ethyl acetat	Ej relevant	Der er undersøgt inkubations tid på hhv. 15, 30, 60 minutter på pakkede extrelutkolonner	Opkoncentration ved rotationsfordamper til 1 ml	20 g

Tabel 1: Viser en oversigt over forskellige ekstraktion metoder Højvang har forsøgt anvendt til ekstraktion af EC på spikede hanevands prøver.

## 2.4 Diskussion

Ved den indledende indkøring på GC/MS blev det hurtigt klart at der kan laves et lineært område ned til omkring 0,250 µg/l, hvorefter responset bliver for svagt. Hvis der skal beregnes ned til den ønskede detektionsgrænse på 0,005 µg/l overfor denne kalibrationskurve, skal der tages en større mængde vand i brug f.eks. via udrystning ved væske til væske ekstraktion.

Problematikken opstår i at opnå pålidelig ekstraktion på en større vandmængde, der samtidig får stoffet over i et GC analyserbart ekstrakt. Som det fremgår af tabel 1, har Højvang forsøgt med en lang række ekstraktionsmetoder baseret på forskellig litteratur og kendte teknikker. Det har ikke lykkedes ved nogle af ekstraktionsmetoderne at opnå en tilfredsstillende ekstraktion med prøver spiked til høje koncentrationer. Ved væske til væske udrystningen, tages der en større mængde vand i brug (1000 ml) der potentielt kunne beregnes overfor Kalibreringskurve vist i figur 1. Det er ikke lykkedes at opnå tilfredsstillende ekstraktion af EC, ved velkendte ekstraktionsprincipper til en GC/MS analyserbar fase.

En anden problematik der opstod ved brug af Extrelut, ENV og ACA SPE kolonnerne, var at der ofte er en mindre vandmængde tilbage i ekstraktet ved eluering med ethylacetat. Det førte til fase dannelse i prøverøret, da der kun kan udtages af ethylacetat fasen til videre analyse på GC/MS, er der en risiko for at EC bliver tilbage i den mindre mængde vandfase.

## 2.5 Konklusion – GC/MS

Teoretisk vil det være muligt at anvende GC/MS til en lavere detektionsgrænse formentlig også ned til de ønskede 0,005 µg/l, hvis der kan findes en pålidelig metode til at ekstraktion af EC fra en større vandmængde (1000 ml), hvor der kan beregnes overfor kalibrationskurven det lineære område 0,250 - 100 µg/l. Med de erfaringer præsenteret her, hvor især problemerne med effektiv ekstraktion var afgørende for at Højvang gik i gang med at undersøge mulighederne ved analyse på LC/MS/MS.

## 3 LC-MS/MS

### 3.1 Baggrund

Der beskrevet enkelte analysemetoder til EC på LC/MS/MS til forskellige fødevarer og andre matricer (Alberts et al., 2011; Leça et al., 2018; McAdam et al., 2018). Højvang er ikke bekendt med litteratur til analyse af EC i vand. Analyse ved LC/MS/MS til fødevarer involverer ofte en SPE oprensning der kan fjerne en stor del af matricer effekter, samtidig med at analytten bliver opkoncentreret for øget følsomhed. Der er store fordele ved LC/MS/MS der både har høj følsomhed og kan analysere SPE ekstrakter med vandindhold. Der findes umildbart ingen publicerede studier eller standarder der analyserer EC direkte på vandmatricer ved LC/MS/MS. Der findes dog et enkelt publiceret studie der analyserer EC i vandekstrakter lavet på faste matricer. (McAdam et al., 2018) har publiceret en metode til analyse af EC i tobaks produkter, hvor EC ekstraheres ved en simpel udrystning med vand hvorefter der efterfølgende analyseres direkte på vandekstraktet. LC/MS/MS analysemetoden beskrevet i *McAdam et. al 2018* kan overføres til analyse af EC i vand, for at muliggøre målsætningen med en detektionsgrænse på 0,005 µg/L, vil det være nødvendigt med opkoncentration af prøven via en SPE oprensning.

Højvang præsenterer her en nyudviklet metode der kombinerer en typisk SPE oprensning med en analyse på LC/MS/MS af et vandholdigt ekstrakt, baseret på en kombination af (McAdam et al., 2018) (LC opsætning) og (Jagerdeo et al., 2002) SPE oprensningen, der benyttes her, er beskrevet i (Jagerdeo et al., 2002). Kort beskrevet er dette en oprensning på vin, hvor ethanolen først afdampes fra en 25 ml prøve, hvorefter den afdampede mængde ethanol tilsættes som vand så prøven igen har et slutvolumen på 25 ml der tages i brug til analyse. Denne prøve kan dermed sammenlignes med en vandmatrice. Herefter oprenses prøven på SPE ENV+ kolonner, hvor fast fasen består af en crosslinked poly styrene divinylbenzen, udviklet til retention af polære stoffer i vand. Bemærk at der i metoden beskrevet her anvendes Isololute® ENV+ 200 mg fra Biotage, hvor der i tabel 1 (GC afsnittet) er blevet brugt 500 mg ENV kolonner fra Agilent, hvor det ikke er lykkedes at opnå en tilfredsstillende ekstraktion.

## 3.2 Metode

### 3.2.1 Prøveforberedelse

En prøvemængde på 50 ml tages i brug, hvor der inden oprensning tilsættes 500 µl deuteriummærket EC Ethyl carbamat – D5 internstandard opløsning på 1 µg/ml. Prøven oprenses herefter på ISOLUTE® ENV+ 200 mg SPE kolonner. Kolonnerne med 60 ml reservoirs placeres på en vakuummanifold, hvorefter de konditioneres med hhv. 5 ml metanol og 5 ml milli-Q vand før prøven påføres på kolonnerne. Prøven tvinges igennem kolonnen under minimalt vakuum, hvorefter kolonnen vaskes med 5 ml pentan inden eluering. Der elueres med 5 ml ethylacetat over i nye 15 ml centrifuge rør. Efter eluering er der fortsat en mindre vandmængde sammen med ethylacetat i prøverøret. Prøven inddampes under nitrogen flow til ethylacetaten er helt afdampet, så der kun er en mindre vandmængde tilbage i røret. Prøven resuspenderes med 1 ml milli-Q vand, hvorefter prøven overføres til LC vials for analyse. Indholdet i prøven bergrenes overfor den deuterium mærkede interne standard, hvor kurven svarer til en koncentration i en 50 ml prøve.

### 3.2.2 Instrument opsætning – LC/MS/MS

Prøverne analyseres på en Agilent LC koblet til en triple quadropole MS med JetStream ESI ionisering i positiv mode. Den følgende LC-metode er tilpasset fra *Mcadam et al. 2018* med enkelte modifikationer, hvor øget flow gav forbedret kromatografi. Der er undersøgt kørsel på to analyser kolonner hhv. en Hypercarb 3µm 50 X 2.1mm column (Thermo Fisher Scientific) og Acquity UPLC HSS T3 Column 2,1x100mm (Waters), hvor der injiceres 35 µl prøve. De mobile faser er hhv. A: Vand med 0,3% myresyre, B: acetonitril, der køres ved et flow på 0,5 ml/min ved følgende gradient: 0 – 4.00 min (100 % A), 4 – 5.30 min (80% A, 20% B), 5.30 – 6.50 min (100% B) 6.50 – 9.00 min (100% A).

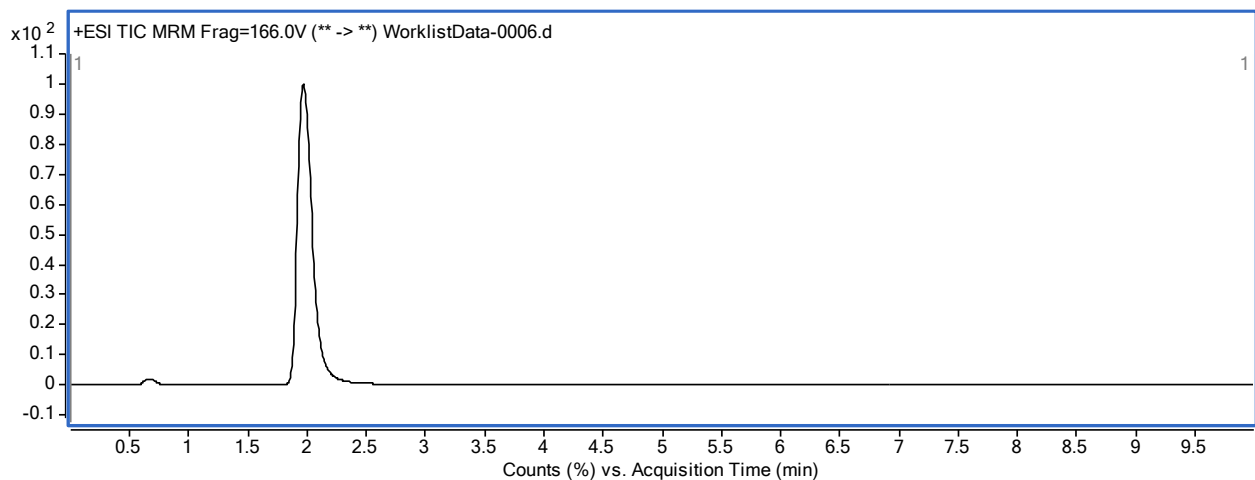
JetStream ESI ionkilden opereres i positiv MRM mode, hvor ionovergangen 90 → 62 bruges til kvantificering og 90 → 44 overgangen bruges til kvalificering, der anvendes collision energy (CE) på henholdsvis 10 og 35. Den interne standard (EC-D5) har overgangen 95 → 63.

#### 4 Resultater – LC/MS/MS.

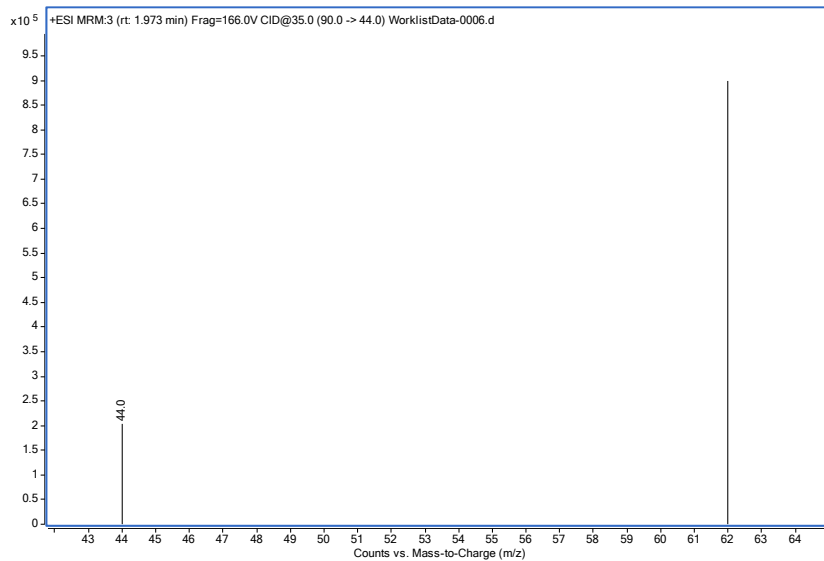
Det primære formål med dette projekt har været udvikle/optimere en pålidelig metode med høj følsomhed til ekstraktion og analyse af EC i vandmatricer LC/MS/MS. Højvang har tidligere haft en LC/MS/MS metode til EC med en detektionsgrænse på 1,0 µg/l. Denne metode var baseret på en direkte injektion af prøven, i et ældre instrument, der havde mulighed for stor injektionsvolumen på apparatet. Det er lang tid siden Højvang har udført analysen og dette apparat er siden blevet erstattet af et nyere instrument, der ikke har muligheden for store injektions volumener. Derfor har det været nødvendigt igennem projektets forløb at udføre indledende indkøring, der involverer spektrum scan efter relevante ioner, test af analysekoloner, test af ENV+ ekstraktionen og optimering af instrument parametre.

##### 4.1.1 Indledende indkøring

Den indledende indkøring til identifikation af EC foretages på standarder, hvor stoffet identificeres gennem quantifier og qualifier ionerne, samt sammenligning af retentionstiderne. Ved kørselsmetoden beskrevet her foregår retentionen ved ca. 2 minutter på Hypercarb kolonnen (figur 2). Figur 3 viser spectrummet for ionerne 44 og 62 for samme EC top.



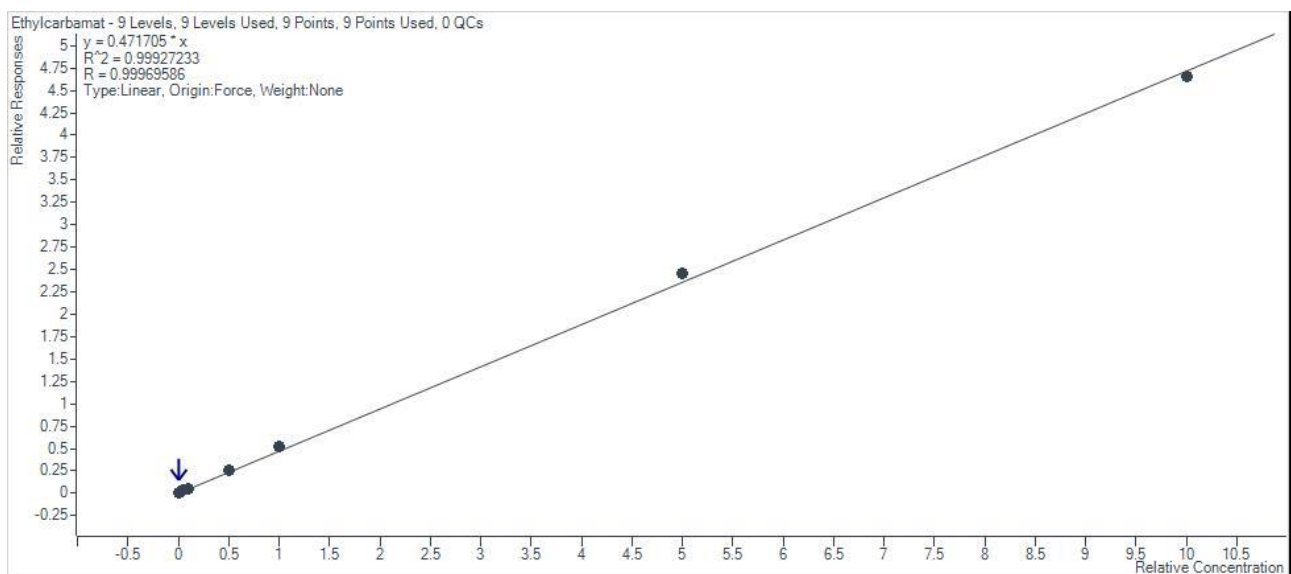
Figur 2: Viser et eksempel på TIC på en 10 µg/L standard hvor retentionstiden for EC er ca. 2 minutter på opsætningen beskrevet i metodeafsnittet kørt på Hypercarb kolonnen.



Figur 3: Viser MRM spectrummet for ionerne 44 og 62, bemærk at styrken for 44 ionen er mindre kraftig. (Spectrummet er den samme 10 µg/l standard fra figur 2)

#### 4.1.2 Kalibrering

Der er valideret en kalibrerings kurve i intervallet 0,05 – 100 µg/L svarende til koncentrationen i en 50 ml vandprøve. Der opnås linearitet i hele området.



Figur 4: Viser et eksempel på en typisk kurve kørt sammen prøverne i området 0,05 til 100 µg/l på 9 punkter, svarende til en koncentration i 50 ml prøve, med en  $R^2=0,9993$ . Der opnås linearitet i hele området.

Det er undersøgt, hvorvidt der kunne bruges en anden analysekolonne beskrevet i (Mcadam et al. 2018) for at tage højde for den matriceeffekt der eventuelt kunne være ved de behandlede Kærgård prøver. Her er det undersøgt forskellen mellem HSS T3 kolonne (Waters) mod Hypercarb™ (ThermoFisher Scientific). Hypercarb kolonnen er udviklet til at være stabil i hele pH området 0 – 14, samt har god retention af

polære molekyler. I tabel 2 ses forskellen mellem de to kolonner, der opnås en tilfredsstillende genfinding ned til de 0,05 µg/l på begge. Dog observeres et responstab ved brug af Hypercarb kolonnen.

Acquity HSS T3 Column 2,1x150mm, 1,8µm				Hypercarb 50X2.1mm, 3 µm			
Kontrol koncentration µg/L	Response	Resultat µg/L	Genfinding %	Kontrol koncentration µg/L	Response	Resultat µg/L	Genfinding %
10	3233190	10,52	105,2	10	2189657	10,60	106,0
0,5	161060	0,52	104,5	0,5	100183	0,50	100,3
0,05	15350	0,054	107,1	0,05	10216	0,051	102,5

Tabel 2: Sammenligning mellem analysekolonnerne Acquity HSS T3 Column 2,1x100mm og Hypercarb 3µm 50 X 2.1mm column. I forskellige koncentrations niveauer, ved kontrolprøver oprenset på 50 ml hanevand. Bemærk response tab. Ved injektion på den samme vial.

Igennem projektperioden er der kørt kontrolprøver sammen med Kærgård prøverne, der giver et større datagrundlag for metodens robusthed. I tabel 3 ses resultaterne af kontroller i koncentrations niveauer hhv. 0,05 og 10 µg/l. Niveaet på 0,05 µg/l repræsenterer en kontrol på den forslåede detektionsgrænse på 0,05 µg/l. Alle kontroller er kørt på Hypercarb kolonnen, og spiket i 50 ml hanevand.

nominel koncentration af kontrollen (µg/l)	n	Gennemsnit µg/l	Genfinding %	Beregnet LD µg/l	Uabs µg/L	RSD %
0,05	10	0,052	103,9	0,022	0,073	-
10	4	9,61	96,1	-	-	29,7*

Tabel 3: Resultat af 50 ml spikede kontrolprøver analyseret sammen med Kærgårds prøver. Alle er kontroller er kørt på Hypercarb kolonnen, LD og Uabs er beregnet jf. bekendtgørelse om kvalitetskrav til miljømålinger – BEK nr. 811 af 19/06/20224. RSD er beregnet, da der ikke var datagrundlag til beregning af Urel.

## 5 Diskussion

Forsøgene præsenteret her viser, at det er muligt at opnå tilfredsstillende ekstraktion af EC i vand via SPE oprensning ved anvendelse af ENV+ på hanevand samt naturlige vand prøver fra Kærgård plantage. En af problematikker ved anvendelse af ENV+ kolonnerne er at mindre vandmængde overføres ved eluering, hvis ekstraktet skal anvendes til en gaskromatografisk metode, skal vandet fjernes først, ved LC/MS/MS er vandet ikke et problem. Dernæst kan vandet nemt resuspenderes, overføres til vials og indgå i analysen. Dernæst beregnes EC overfor forholdet mellem den interne standard (EC-D5) og analytten, herved er den mindre vandmængde ikke problematisk for analysen.

Ved kontroller på 0,05 µg/l bliver MRM ionovergangen 90 → 44 svag. På dette niveau begynder det at blive problematisk at skelne mellem interferens og en reel top. Da denne overgang anvendes som kvalifier, betyder det en større usikkerhed på kvalificeringen af stoffet, ved lavere niveauer. Det er undersøgt om det var muligt at optimere på nogle af ioniseringsparametrene via Agilents optimerings værktøj, det har ikke lykkedes at forbedre responset for 90 → 44 overgangen.

Det fremgår af de kørte kontroller igennem projektperioden, at det er muligt at opnå tilfredsstillende genfinding for kontroller i niveauer hhv. 0,05 µg/l og 10 µg/l. Kontrolprøverne er lavet på spikede 50 ml hanevands prøver der har været igennem alle analyse trin. Der er beregnet LD, U<sub>abs</sub> og U<sub>rel</sub> efter (Bekendtgørelse om kvalitetskrav til miljømålinger - BEK nr. 811 Af 19/06/2024). For kontroller på det lave

niveau beregnes LD til 0,022 µg/l (Tabel 3). Dermed overholder metoden præsenteret her den nye foreslåede detektionsgrænse for EC på 0,05 µg/l.

Bemærk at den lave kontrol er kørt på et niveau, der svarer til den afrapporterede nye detektionsgrænse. Bekendtgørelse om kvalitetskrav til miljømålinger angiver at en lav kontrol må ligge på niveau der er ca. 5×LD (her 0,25 µg/l). Måleusikkerheden på det lave koncentrationsniveau (Uabs) bestemmes til 0,073 µg/l, hvilket er relativt lavt og indikerer at metoden er robust på det lave koncentrationsområde. Værdien er bestemt på baggrund af 10 datasæt.

Den høje kontrol giver anledning til en relativ standard afvigelse (%RSD) på 29,7 % baseret på fire målinger. Der er ikke beregnet en relativ ekspanderet måleusikkerhed (Urel) som følge af det lave antal datasæt. Men data indikerer at Urel ville lande på max 30 %. For begge kontroller vil lavere værdier formentlig være opnået, hvis der var kørt flere datasæt.

Af de to testede analysekolonner har Hypercarb kolonnen et respons tab sammenlignet med HSS kolonnen. Hypercarb kolonnen er alligevel valgt til at analysere af prøverne fra Kærgården, da den er udviklet til at være robust i forhold til pH. På sigt bør man undersøge om HSS kolonnen eller lignende kunne bruges, og dermed øge responset på lavere niveauer.

Ekstraktion med ENV+ kolonnerne har vist sig at have en høj grad af robusthed i forhold til matriceeffekter. Ved SPE oprensningen vil en stor del af de upolære stoffer der måtte være i naturlige prøver blive udvasket, derved reduceres mængden af interferenser. Derudover har det vist sig at ENV+ kolonnerne kan anvendes til de behandlede prøver fra Kærgården med en pH <2.

## 6 Konklusion

Højvang har udviklet en robust metode til ekstraktion og bestemmelse af ethyl carbamat i vand ved LC/MS/MS. Der er nuværende opnået en detektionsgrænse på 0,05 µg/l på den matrice som prøver fra Kærgården plantage repræsenterer, hvilket er en halvering af den nuværende GC/MS metode på 0,1 µg/l. Dermed opfylder metoden, præsenteret her, ikke målsætningen om en ønsket detektionsgrænse på 0,005 µg/l. Med yderligere optimering, skal det ikke udelukkes at detektionsgrænsen kan forbedres.

## 7 Referencer

- Alberts, P., Stander, M. A., & de Villiers, A. (2011). Development of a novel solid-phase extraction, LC-MS/MS method for the analysis of ethyl carbamate in alcoholic beverages: Application to South African wine and spirits. *Food Additives and Contaminants - Part A*, 28(7), 826–839. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.568010>
- Bekendtgørelse om kvalitetskrav til miljømålinger - BEK nr 811 af 19/06/2024.* (n.d.).
- DS/EN 16852:2017. (n.d.). *DS/EN 16852:2017 - Fødevarer - Bestemmelse af ethylcarbamat i frugtbrændevin med sten, frugtbrændevin af presserester og andre spirituosa - GC-MS-metode.*
- Jagerdeo, E., Dugar, S., Foster, G. D., & Schenck, H. (2002). Analysis of ethyl carbamate in wines using solid-phase extraction and multidimensional gas chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 5797–5802. <https://doi.org/10.1021/jf025559s>
- Kim, J. H., Park, J. M., Choi, G. H., & Kim, Y. W. (2013). Development of easy and efficient methods for quantitative analysis of ethyl carbamate using GC-MS in various fermented foods. *Food Science and Biotechnology*, 22(3), 599–603. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0120-y>
- Lachenmeier, D., Kuballa, T., Pereira Lima, M., Nóbrega, I., Kerr-Correa, F., Kanteres, F., & Rehm, J. (2009). Ethyl Carbamate Analysis in German Fruit Spirits and Brazilian Sugarcane Spirits (Cachaca): Improved Sample Cleanup with Automated Parallel Evaporation. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau: Zeitschrift Für Lebensmittelkunde Und Lebensmittelrecht*, 105(8), 507–512. <https://www.researchgate.net/publication/200174374>
- Lachenmeier, D. W., Frank, W., & Kuballa, T. (2005). Application of tandem mass spectrometry combined with gas chromatography to the routine analysis of ethyl carbamate in stone-fruit spirits. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(2), 108–112. <https://doi.org/10.1002/rcm.1755>
- Leça, J. M., Pereira, V., Pereira, A. C., & Marques, J. C. (2018). A Sensitive Method for the Rapid Determination of Underivatized Ethyl Carbamate in Fortified Wine by Liquid Chromatography-Electrospray Tandem Mass Spectrometry. *Food Analytical Methods*, 11(2), 327–333. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1002-3>
- McAdam, K., Vas, C., Kimpton, H., Faizi, A., Liu, C., Porter, A., Synnerdahl, T., Karlsson, P., & Rodu, B. (2018). Ethyl carbamate in Swedish and American smokeless tobacco products and some factors affecting its concentration. *Chemistry Central Journal*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0454-x>
- Nóbrega, I. C. C., Pereira, G. E., Silva, M., Pereira, E. V. S., Medeiros, M. M., Telles, D. L., Albuquerque, E. C., Oliveira, J. B., & Lachenmeier, D. W. (2015). Improved sample preparation for GC-MS-SIM analysis of ethyl carbamate in wine. *Food Chemistry*, 177, 23–28. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.031>
- Perestrelo, R., Petronilho, S., Câmara, J. S., & Rocha, S. M. (2010). Comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry combined with solid phase microextraction as a powerful tool for quantification of ethyl carbamate in fortified wines. The

case study of Madeira wine. *Journal of Chromatography A*, 1217(20), 3441–3445.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.03.027>

Ryu, D., Choi, B., Kim, E., Park, S., Paeng, H., Kim, C. Il, Lee, J. Y., Yoon, H. J., & Koh, E. (2015).  
Determination of ethyl carbamate in alcoholic beverages and fermented foods sold in Korea.  
*Toxicological Research*, 31(3), 289–297. <https://doi.org/10.5487/TR.2015.31.3.289>

## Bilag B      Undersøgelse af rensemetoder, ethylurethan, COWI A/S

# UNDERSØGELSE AF RENSEMETODE, ETHYLURETHAN

## INDHOLD

1	Indledning	1
2	Serie 1: Renseforsøg med persulfat	2
2.1	Diskussion	6
3	Serie 2: Renseforsøg	8
4	Serie 3: Renseforsøg	12
4.1	Ændring af pH under forsøget:	13
4.2	Ændring af ledningsevnen	14
4.3	Måling af hydrogenperoxid	15
4.4	Måling af redoxpotentiale	15
4.5	Analyse af ethylurethan	16
5	Resume og konklusion	19

## 1 Indledning

Region Syddanmark har i 2020 udført en række laboratorietest med behandling af forureningsfanen fra fabriksgrunden i Grindsted med test af fire avancerede oxidationsprocesser (AOP). Forsøgene viste utilstrækkelig nedbrydning af ethylurethan. Metoden faststof katalysator + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> viste den bedste effekt. I forbindelse med teknologiudviklingen udført for Region Syddanmark og Miljøstyrelsen i 2009-2012, som havde til hensigt at finde den bedst egnede metode til oprensning i Kærgård Plantage, indgik ethylurethan ikke i analyseprogrammet. Derfor vides det ikke med sikkerhed, hvorvidt den valgte oprensningsmetode med kemisk oxidation ved persulfat aktiveret med Fentons reagens (FR-ASP) har en effekt på ethylurethan.

På den baggrund har Region Syddanmark bevillet penge til at undersøge, om oprensningsmetoden med aktiveret persulfat kan destruere ethylurethan.

PROJEKTNR.

DOKUMENTNR.

A272570

003

VERSION

UDGIVELSESDATO

BESKRIVELSE

UDARBEJDET

KONTROLLERET

GODKENDT

1.0

16-09-2024

Notat

FDLX/BAGE

TJR

BAGE

## 2      Serie 1: Renseforsøg med persulfat

Renseforsøgene laves efter planen i laboratoriet i to omgange. I første omgang undersøges rensemetoden på prøver af almindeligt postevand, hvor der er tilsat en kendt mængde ethylurethan. I anden omgang undersøges rensemetoden på udvalgte grundvandsprøver fra Kærgården Klitplantage, idet man vælger de forsøgsbetingelser, som gav den bedste rensning i første omgang

Ved forsøgene tilsættes følgende kemikalier: natriumpersulfat, 35% hydrogenperoxid, natriumcitrat og ferrosulfat. Der køres dels forsøg med en lav dosering af persulfat (10 g/l) og dels forsøg med en høj dosering af persulfat (20 g/l). De øvrige kemikalier doseres i forhold til persulfatkoncentrationen i samme forhold, som man anvender i praksis i Kærgård Klitplantage. Kemikaliedoseringen ved forsøgene fremgår af Tabel 2-1. De omtrentlige doseringer anvendt i Kærgård Klitplantage er også givet i tabellen. Doseringen svarer til kemikalie-mængden holdt op imod behandlingsvolumenet i formationen.

Tabel 2-1:      *Kemikaliedosering ved forsøgene i første runde.*  
                   *\*Omtrentlig dosering ved fuldskalaoprensning i Kærgård Klitplantage*

<i>Kemikalier</i>	<i>Høj dosering</i>	<i>Lav dosering</i>	<i>Kærgård*</i>
<i>Natriumpersulfat, g/l</i>	20	10	40-75
<i>35% hydrogenperoxid, ml/l</i>	20	10	40-75
<i>Natriumcitrat, mg/l</i>	133	66,5	270
<i>Ferrosulfat, FeSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, mg/l</i>	107	53,5	240
<i>Ethylurethan, µg/l</i>	5.000	5.000	-

Desuden laves der 2 blindprøver bestående af postevand og ethylurethan uden kemikalietil-sætning.

Ved forsøgene måles ledningsevne, pH, redoxpotentiale samt koncentrationen af H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ved start samt efter 1, 2, 3 og 8 døgn. Koncentrationen af ethylurethan måles hos Højvang Labo-ratorier efter 3 og 9 døgn.

Blindprøven benævnes 0, og den ene hedder A og den anden hedder B. Prøverne med lav dosering hedder 10 (svarende til 10 g/l natriumpersulfat) samt A og B for de to parallel-prø-ver. Prøverne med høj dosering hedder 20 (svarende til 20 g/l natriumpersulfat) samt A og B for de to parallel-prøver.

Alle måle- og analyseresultater fremgår af Tabel 2-2.

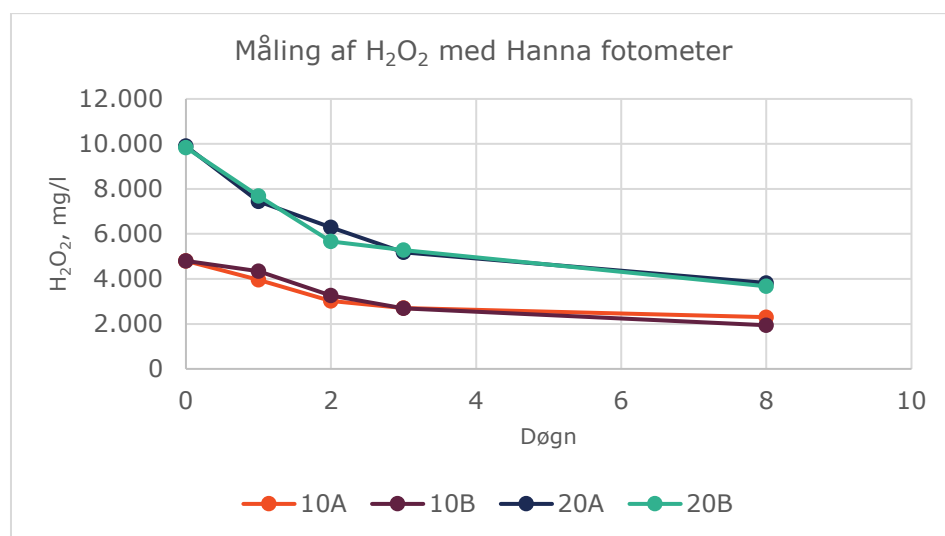
Tabel 2-2 Måle- og analyseresultater fra første forsøgsrunde. Til alle 6 prøver er der fra start tilsat 5.000 µg/l ethylurethan.

Døgn	Parameter	0A	0B	10A	10B	20A	20B
0	EC, mS/cm	0,527	0,527	9,12	8,96	15,68	15,94
	pH	7,69	7,69	6,96	6,90	6,67	6,69
	Redox, mV	218	218	256	257	266	2,64
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> tilsat, mg/l			3955	3955	7910	7910
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			4.800	4.800	9.900	9.840
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , stick, mg/l				3.000	6.000	6.000
1	EC, mS/cm	0,650	0,514	13,39	11,28	45,6	47,0
	pH	7,48	7,67	2,05	2,32	1,79	1,75
	Redox, mV	265	255	387	483	497	503
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			3.960	4.340	7.440	7.680
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , stick, mg/l			2.500	3.000	4.000	5.000
2	EC, mS/cm	0,501	0,523	18,31	15,72	54,8	55,6
	pH	7,74	7,67	1,78	1,90	1,60	1,60
	Redox, mV	354	362	496	495	505	499
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			3.020	3.260	6.290	5.660
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , stick, mg/l			1.600	2.000	3.600	3.000
3	EC, mS/cm	0,546	0,524	37,8	18,3	67,2	69,3
	pH	7,77	7,78	1,72	1,78	1,49	1,45
	Redox, mV	381	359	491	495	505	505
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			2.710	2.690	5.180	5.280
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , stick, mg/l			1.000	1.200	3.000	2.500
	Ethylurethan, µg/l	4.947	4.882	2.024	1.286	1.713	1.798
8	EC, mS/cm	0,543	0,497	43,4	42,3	76,3	77,0
	pH	7,68	7,80	1,56	1,54	1,34	1,33
	Redox, mV	349	354	510	508	515	514
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			2.300	1.940	3.820	3.670
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , stick, mg/l			800	800	2.000	2.000
9	Ethylurethan, µg/l	4.822	4.765	332	162	338	427

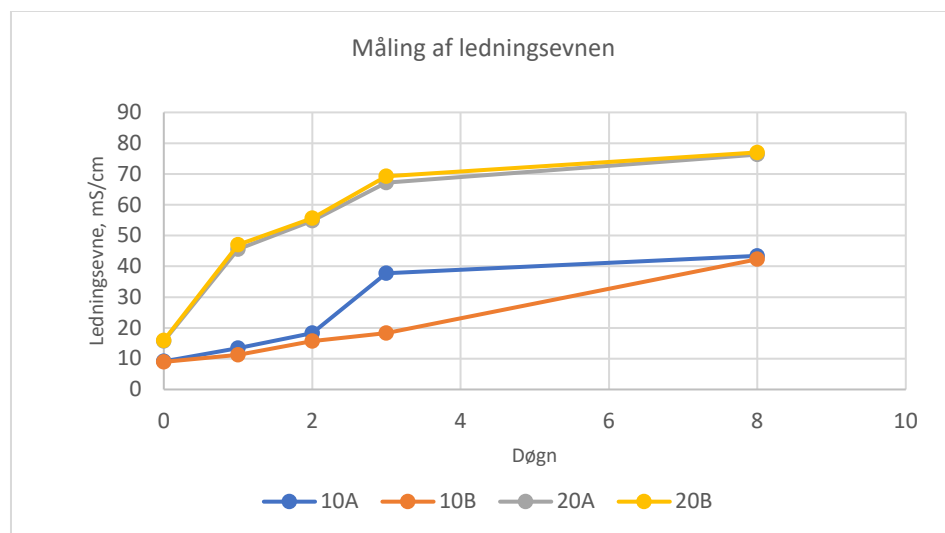
Det skal nævnes, at der ikke er målt persulfat med test-rør, fordi persulfat ikke kan måles korrekt, da den foreliggende målemetode også påvirkes af vandets indhold af hydrogenperoxid. Hydrogenperoxid er målt med en kolorimetrisk metode på et Hanna fotometer. Det er tidligere undersøgt, at denne målemetode ikke giver udslag for natriumpersulfat. Når der måles højere koncentration af hydrogenperoxid, end der er tilsat, skyldes det sandsynligvis, at der ved den katalytisk oxidation med persulfat frigives noget peroxid fra natriumpersulfat.

Der er også anvendt en anden simplere målemetode for hydrogenperoxid. Her er anvendt målestrimler (fra Marcherey-Nagel), der er præpareret med et farvereagens. Metoden er grov, da farveskalaen kun indeholder 5 farver for et måleområde, der går fra 0 til 100 mg/l. Som det fremgår af resultaterne, Tabel 2-2 hhv. "Hanna" og "stick", måles der generelt lavere værdier med disse målestrimler (stick) end ved den fotometrisk målemetode (Hanna).

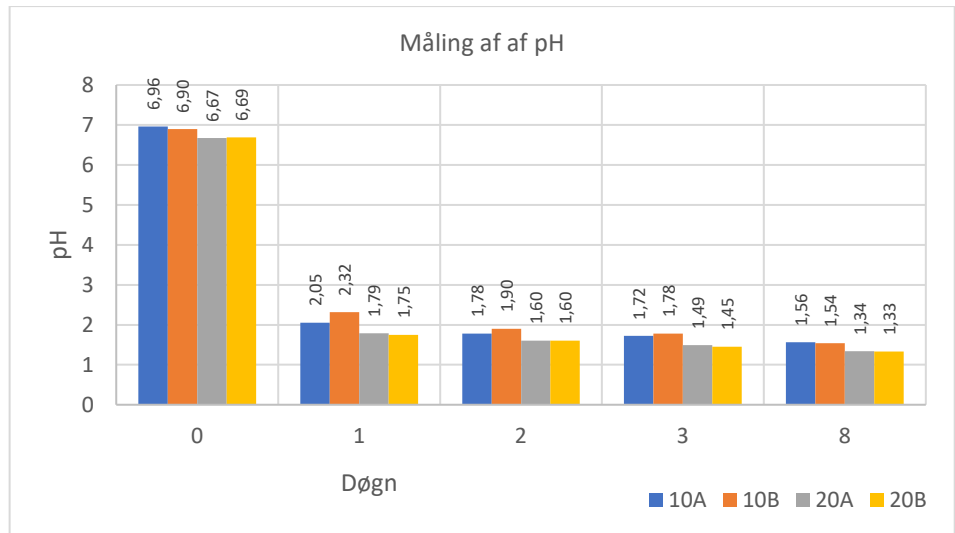
Resultaterne fra forsøgene er afbildet grafisk på de følgende fire figurer.



Figur 2-1      Koncentration af hydrogen peroxid som funktion af tiden.

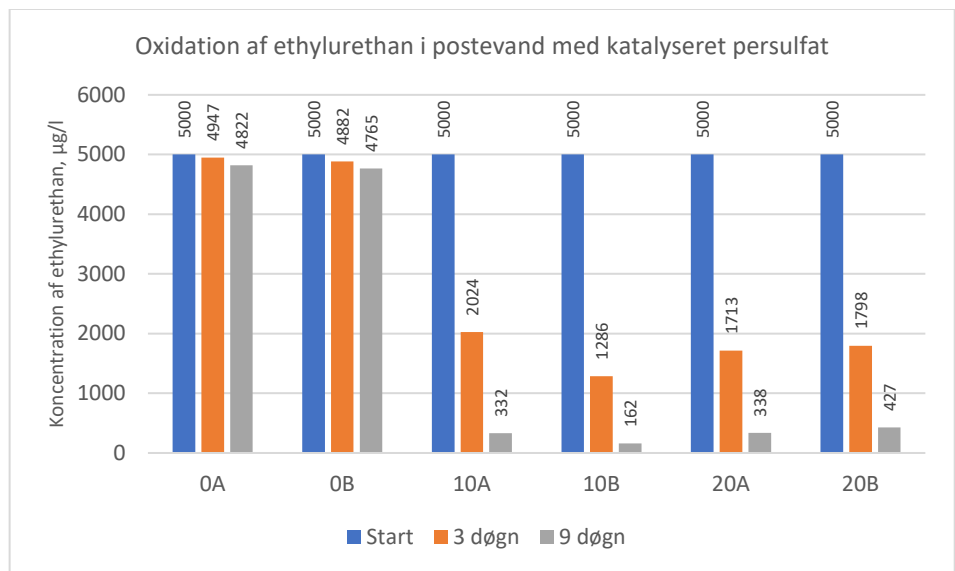


Figur 2-2      Prøvernes ledningsevne som funktion af tiden.



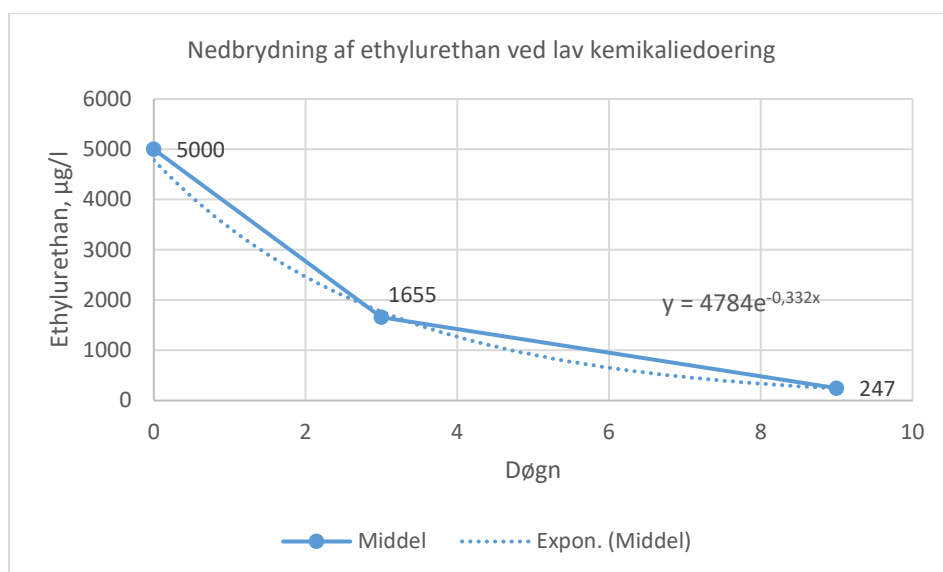
Figur 2-3 Prøvernes pH-værdi som funktion af tiden.

Som det fremgår af Figur 2-3, falder pH hurtigt fra neutral (ca. 7) til en lav værdi på ca. 2 efter 1 døgn i alle prøver, hvor der er tilsat kemikalier. Efter 2 døgn er pH i alle kemikalieholdige under 2 og efter 8 døgn ligger pH mellem 1,33 og 1,56 med de laveste værdier i prøverne med størst kemikaliindhold. Faldet i pH medfører samtidig helt som ventet en stigning i ledningsevnen, da de dannede brintioner i prøverne, giver en høj ledningsevne.



Figur 2-4 Vandprøvernes indhold af ethylurethan i blindprøven samt efter 3 og 9 døgn.

Ser vi på nedbrydningsforløbet af ethylurethan med lav kemikaliedosering, så er forløbet for prøve 10 vist grafisk i Figur 2-5, hvor den eksponentielle trendkurve er vist med formlen  $Y=4784 \cdot e^{-0,332x}$ , idet man kan forvente, at nedbrydningen tilnærmelsesvis følger en eksponentialkurve, forudsat at der er de nødvendige oxidationskemikalier til stede.



Figur 2-5 Grafisk afbildning af nedbrydningsforløbet for gennemsnittet af 10A og 10B.

Ud fra formelen for trendkurven kan teoretiske restkoncentrationen af ethylurethan beregnes som funktion af antal reaktionsdøgn som vist i Tabel 2-3.

Tabel 2-3 Beregnet restkoncentration af ethylurethan ved en startkoncentration på 5.000 µg/l.

Antal døgn	Ethylurethan, µg/l
3	1.767
9	241
14	46
20	6,3
25	1,19
30	0,22

## 2.1 Diskussion

Som det fremgår af resultaterne, genfinder man ved den anvendte analysemetode mindst 95% af den tilsatte mængde ethylurethan i blindprøverne. Den meget lille forskel der ses mellem koncentrationerne efter 3 og efter 9 døgn i blindprøverne ligger inden for metodens målesikkerhed på 30%.

Som ventet falder koncentrationen af hydrogenperoxid i løbet af de 8 døgn. Faldet er størst de første par døgn, hvor der sker en lille gasudvikling i prøveflaskerne. Gasudviklingen aftager dog efterhånden.

Der er et kraftigt fald i pH-værdien det første døgn, og faldet forsætter de resterende 7 døgn. Faldet i pH er et udtryk for, at der dannes syre ved reaktionen mellem de tilsatte kemikalier, og det er også forklaringen på, at ledningsevnen stiger kraftigt under forsøget.

Nedbrydningen af ethylurethan går langsommere end forventet. Det var på forhånd ventet, at nedbrydningen ville være meget hurtig de første 2-3 døgn. Selv om godt halvdelen af ethylurethan blev nedbrudt de første 2-3 døgn, så blev der ikke nedbrudt så meget ethylurethan de næste 6 døgn. På den baggrund må vi konstatere, at forsøget burde have været i

længere tid, så man kunne få en vurdering af, hvor effektivt ethylurethan kan nedbrydes med den undersøgte oxidationsmetode. Derfor bør reaktionstiden forlænges i næste forsøgsrunde. Hvis nedbrydningen følger den trendkurve, som er vist i Figur 2-5, vil ethylurethan restkoncentrationen være nede på 0,22 µg/l efter 30 reaktionsdøgn.

Tilsyneladende er nedbrydningen af ethylurethan lige effektiv, hvad enten man har den lave eller den høje tilsætning af oxidationskemikalier. Derfor er der ingen grund til at bruge en unødvendig høj kemikaliedosering i næste forsøgsrunde.

### 3      Serie 2: Renseforsøg

I serie 2 er der udtaget vandprøver i Kærgård Klitplantage i borerne med DGU-numrene 111.343-1 og 111.194-1. De to borer er valgt, fordi vi dels ønsker en vandprøve med lav koncentration af ethylurethan (111.343), og dels en vandprøve med høj koncentration af ethylurethan (111.194). I 111.343 er der tidligere målt en ethylurethan-koncentration på 208 µg/l, og i 111.194 er der tidligere målt en koncentration på 4696 µg/l.

Der er lavet målinger på 4 prøver fra 111.343 samt 5 prøver fra 111.194:

- › **343-B1 og 343-B2:** Blindprøver fra 111.343
- › **343-10A og 343-10B:** Vandprøver fra 111.343 tilsat: 10 g/l natriumpersulfat, 10 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 53,5 mg/l ferrosulfat og 66,5 mg/l natriumcitrat
- › **194-B:** Blindprøve fra 111.194
- › **194-10A og 194-10B:** Vandprøver fra 111.194 tilsat: 10 g/l natriumpersulfat, 10 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 53,5 mg/l ferrosulfat og 66,5 mg/l natriumcitrat
- › **194-20A og 194-20B:** Vandprøver fra 111.194 tilsat: 20 g/l natriumpersulfat, 20 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 600 mg/l ferrosulfat og 700 mg/l natriumcitrat

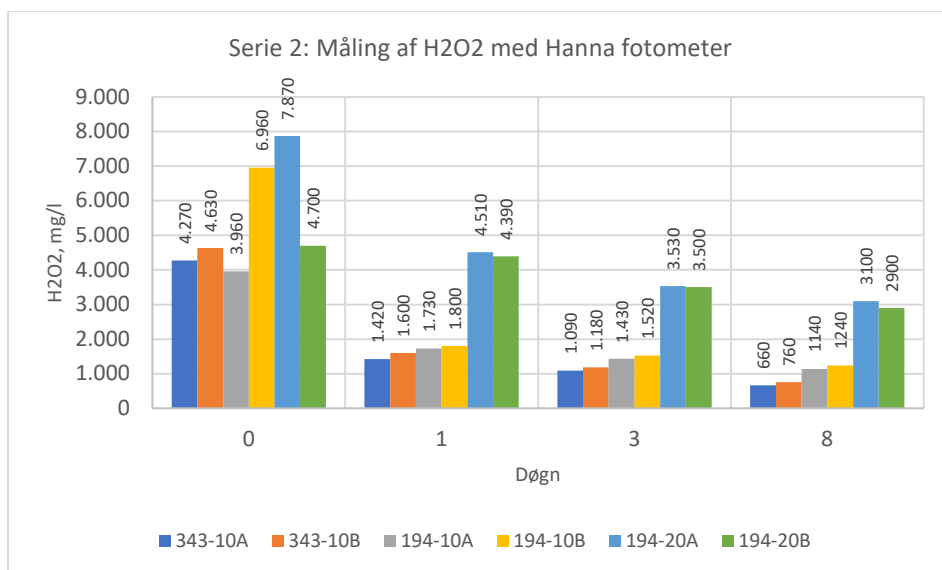
343-10 og 194-10 er lavet med samme kemikaliedosering som de lave koncentrationer i serie 1. 194-20 er derimod lavet med en lidt anderledes dosering af kemikalier, end hvad det blev anvendt ved den høje kemikaliedosering i serie 1. Denne dosering med ekstra jernsulfat og ekstra natriumcitrat er valgt, fordi Højvang Laboratorier ved et parallelforsøg i serie 1, opnåede en meget høj reduktion af ethylurethan med netop denne dosering.

Tabel 3-1 Måle og analyseresultater fra serie 2.

Døgn	Parameter	343-B1	343-B2	343-10A	343-10B	194-B	194-10A	194-10B	194-20A	194-20B
0	Tilsat Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> , g/l	0	0	10	10	0	10	10	20	20
	Gl. analyse, ethylurethan, µg/l	208	208	208	4.696	4.696	4.696	4.696	4.696	4.696
	EC, mS/cm	9,88	9,90	16,51	16,99	51,1	60,6	68,1	67,6	60,8
	pH	6,92	6,96	6,80	6,80	6,71	6,53	6,35	6,35	6,46
	Redox, mV	-207	-226	294	288	-267	246	269	293	285
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> tilsat, mg/l			3.955	3.955		3.955	3.955	7.910	7.910
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			4.270	4.630		3.960	6.960	7.870	4.700
1	EC, mS/cm	9,91	9,91	16,63	16,93	51,5	61,5	61,7	70,2	71,1
	pH	6,93	6,96	7,04	7,08	6,73	6,33	6,31	6,21	6,21
	Redox, mV	-112	-151	277	283	-238	283	284	306	307
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			1.420	1.600		1.730	1.800	4.510	4.390
3	EC, mS/cm	9,76	9,90	16,52	17,01	50,9	60,4	60,7	69,3	70,2
	pH	6,95	7,00	7,02	7,04	6,77	6,18	6,15	6,02	6,03
	Redox, mV	-91	-125	291	302	-176	304	309	327	332
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			1.090	1.180		1.430	1.520	3.530	3.500
8	EC, mS/cm	9,65	9,77	16,26	16,80	49,7	58,8	59,5	67,1	67,8
	pH	7,04	7,09	7,07	7,07	6,87	6,11	6,10	5,95	5,96
	Redox, mV	-101	-126	303	323	-182	306	307	345	347
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l			660	760		1140	1240	3100	2900
	Ethylurethan, µg/l	177	183	191	192	4.910	4.980	4.870	4.860	4.820

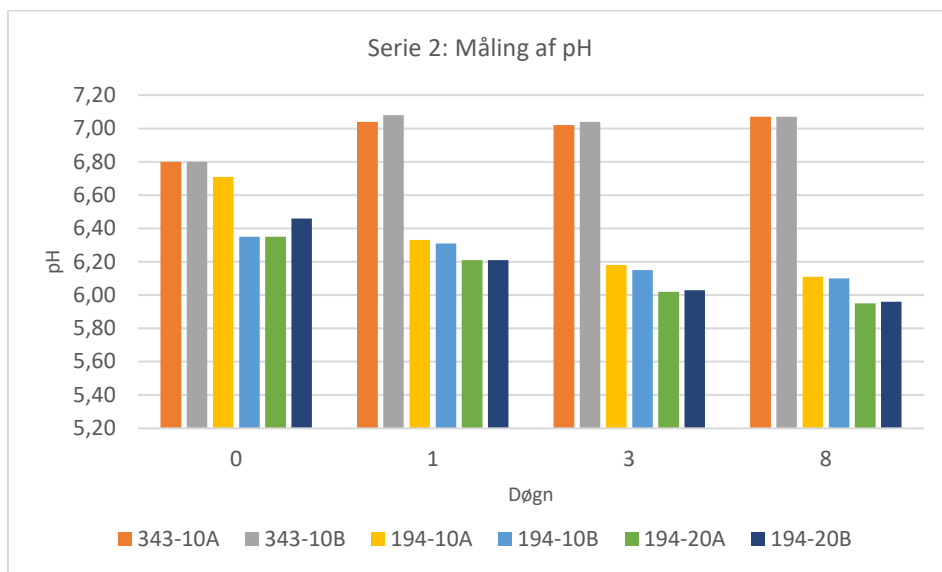
Ethylurethananalysen efter 8 døgn viser, at der stort set ikke er sket nogen reduktion af ethylurethan i forhold til den forventede startkoncentration, hvilket umiddelbart forekommer ganske overraskende. Det fremgår desuden, at den målte koncentrationer i blindprøverne ligger en anelse lavere end forventet.

Ser vi på forbruget af hydrogenperoxid (Figur 3-1) i undersøgelsesperioden, så reduceres koncentrationen på samme måde, som blev observeret i serie 1. Vi kan således konstatere, at der har været en acceptabel mængde hydrogenperoxid i vandprøverne i hele reaktionsperioden.



Figur 3-1 Måling af hydrogenperoxid i løbet af de 8 døgn, hvor reaktionen har fundet sted.

Ser vi på pH-udviklingen i prøverne i reaktionsperioden (Figur 3-2), så fremgår det klart, at pH kun falder ganske lidt sammenlignet med serie 1, og det er med stor sandsynligvis forklaringen på den dårlige fjernelse af ethylurethan. Oxidationen foregår bedst ved lav pH.



Figur 3-2 Måling af pH i løbet af de 8 døgn, hvor reaktionen har fundet sted.

Vi har undersøgt årsagen til, at pH kun falder meget lidt. Det skyldes med stor sandsynlighed, at vandprøverne fra Kærgården har mere alkalinitet end det postevand, som blev anvendt i serie 1. Alkaliniteten er efterfølgende målt med et Hanna fotometer, og resultatet er angivet som mg/l bikarbonat:

- › Postevand: Bikarbonat = 207 mg/l
- › 111.343: Bikarbonat = 2230 mg/l
- › 111.194: Bikarbonat = 7740 mg/l

Det fremgår, at alkaliniteten i 111.343 er ca. 11 gange højere end i det postevand, som blev anvendt i serie 1. Alkaliniteten i 111.194 er ca. 37 gange højere end i postevandet. Det er forklaringen på, at pH kun falder ganske lidt under forsøget, idet den dannede syremængde ikke kan neutralisere det høje bikarbonatindhold. Det er sandsynligvis årsagen til den ringe nedbrydning af ethylurethan.

Vi besluttede derfor at afbryde forsøget. Herefter skulle der udtages ny prøver fra Kærgård Klitplantage med lav alkalinitet.

## 4 Serie 3: Renseforsøg

Der blev udtaget nye grundvandsprøver fra Kærgården Klitplantage i B112 (DGU 111.334), 15-17 m dybde. Tidligere målinger har vist en noget lavere alkalinitet i B112 end i 111.194 og 111.343. Efter modtagelsen blev der målt alkalinitet på en af prøverne, og den viste en koncentration af bikarbonat på 1.110 mg/l. Det var noget lavere end der blev målt i 111.194 og 111.343, og vi vurderede i første omgang, at vandprøverne kunne anvendes til de planlagte forsøg.

Ved kontrolmålinger efter 1 døgn reaktion observerede vi imidlertid, at pH kun var faldet meget lidt sammenlignet med de kraftige pH-fald, som vi målte efter 1 døgn i serie 1. Alkaliniteten blev herefter også målt på de 3 blindprøver, hvor vi fandt følgende bikarbonatkoncentrationer: B112-0-0 = 2.170 mg/l, B112-0-200 = 1.420 mg/l, B112-0-5000 = 1.830 mg/l. Det blev derfor besluttet at sænke pH til ca. 1,9 i alle prøver med kemikalier ved tilsætning af svovlsyre, idet vi forventede, at oxidationsprocessen herefter ville gå i gang.

Tabel 4-1 Måle og analyseresultater fra serie 3.

Døgn	Parameter	B112-0-0	B112-0-200	B112-0-5000	B112-200A	B112-200B	B112-5000A	B112-5000B	B112H-5000	B112-5000-Fe
0	Tilsat Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> , g/l	0	0	0	10	10	10	10	20	10
	Tilsat ethylurethan, µg/l	0	200	5000	200	200	5000	5000	5000	5000
	EC, mS/cm	7,23	5,35	6,25	12,34	14,34	13,11	13,80	19,51	39,0
	pH	6,84	6,71	6,80	6,50	6,72	6,54	6,61	6,27	1,87
	mV	-83	-113	-231	325	300	309	303	320	523
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> tilsat, mg/l				2955	2955	2955	2955	7910	2955
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l				3620	4080	4210	4420	8760	3860
1	EC, mS/cm	7,34	5,41	6,42	12,46	14,56	13,06	13,76	19,42	
	pH	6,89	6,78		6,53	6,90	6,59	6,69	6,74	
	mV	-101	-107		303	294	314	311	311	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l				3600	3500	3720	3580	2830	3940
1A (pH)	EC, mS/cm (efter pH-justering)				37,0	39,6	37,1	38,6	49,5	40,90
	pH (efter justering)				1,87	1,90	1,89	1,89	1,90	1,83
2	EC, mS/cm	7,34	5,41	6,42	36,8	41,0	37,7	39,0	55,3	
	pH	6,96	6,81	6,90	1,88	1,89	1,91	1,90	1,75	
	mV	-103	-140	-219	520,0	524,0	528,0	523,0	577,0	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l				2150	2630	4220	3380	2140	
3	EC, mS/cm									45,0
	pH									1,75
	mV									566
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l									2500
4	EC, mS/cm				37,1	41,1	37,7	39,3	58,0	
	pH				1,91	1,92	1,91	1,91	1,72	
	mV				519	517	522	522	595	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l				3420	2000	3340	3010	1400	
6	EC, mS/cm	7,35	5,42	6,46	38,1	41,6	38,7	40,2	60,5	
	pH	7,01	6,81	6,93	1,86	1,89	1,86	1,87	1,69	
	mV	30	-111	-249	527	528	531	531	593	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l				3340	1920	3170	3020	1460	
8	Ethylurethan, µg/l	292	252	3022	99	332	1226	1793	137	263
17	EC, mS/cm									55,3
	pH									1,58
	mV									276
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l									260
19	Ethylurethan, µg/l									95
20	EC, mS/cm	7,4	5,46	6,43	52,9	45,5	49,7	50,4	64,8	
	pH	7,12	7,01	7,06	1,53	1,71	1,62	1,62	1,60	
	mV	326	289	272	524	512	529	531	598	
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , Hanna, mg/l				1020	1070	1370	1180	920	
22	Ethylurethan, µg/l	239	162	2154	22,1	223	264	554	35,0	

Vandprøverne er fremstillet således:

- > **B112-0-0:** Blindprøve uden kemikalietilsætning
- > **B112-0-200:** Blindprøve tilsat 200 µg/l ethylurethan
- > **B112-0-5000:** Blindprøve tilsat 5.000 µg/l ethylurethan
- > **B112-200A og B112-200B:** Vandprøver tilsat 200 µg/l ethylurethan samt 10 g/l natriumpersulfat, 10 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 53,5 mg/l ferrosulfat og 66,5 mg/l natriumcitrat.
- > **B112-5000A og B112-5000B:** Vandprøver tilsat 5.000 µg/l ethylurethan samt 10 g/l natriumpersulfat, 10 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 53,5 mg/l ferrosulfat og 66,5 mg/l natriumcitrat.
- > **B112H-5000:** Vandprøve tilsat 5.000 µg/l ethylurethan samt 20 g/l natriumpersulfat, 20 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 600 mg/l ferrosulfat og 700 mg/l natriumcitrat
- > **B112-5000-Fe:** Vandprøve tilsat 5.000 µg/l ethylurethan samt 10 g/l natriumpersulfat, 10 ml/l 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 300 mg/l ferrosulfat og 66,5 mg/l natriumcitrat.

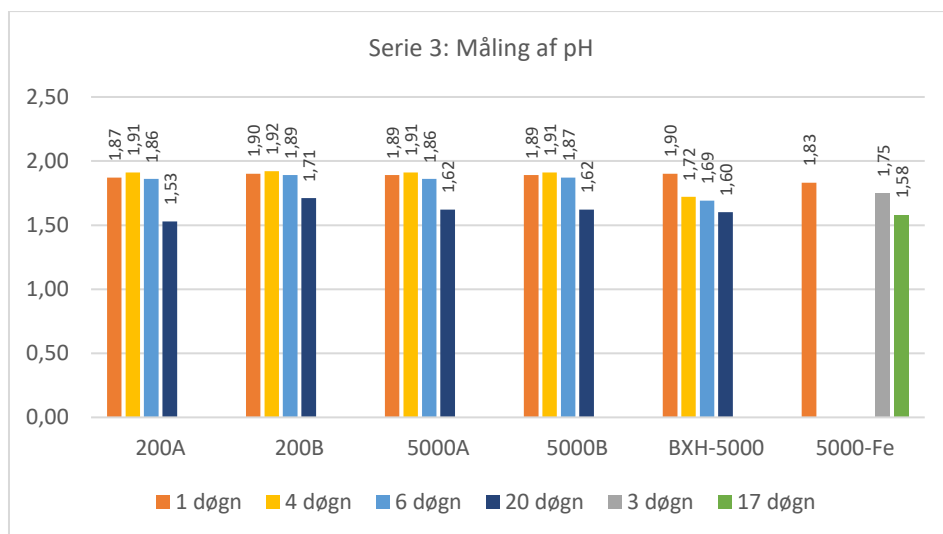
Alt tyder på, at oxidationen først finder sted ved lav pH-værdi, og det bekræftes i forsøgene. Desuden tyder noget på, at oxidationen forløber noget hurtigere, når jernkoncentrationen øges. Derfor valgte vi at lave et forsøg med ekstra stor dosering af jern, B112-5000-Fe. Dette forsøg blev dog først påbegyndt 3 døgn senere end de øvrige forsøg.

#### 4.1 Ændring af pH under forsøget:

pH-måleresultaterne er vist i Tabel 4-2 og Figur 4-1 for de 6 prøver, hvor der er tilsat kemikalier. Som det fremgår, er pH i prøverne uden ekstra jern stadigvæk > 1,8 efter 6 døgn. Efter 17-20 ligger alle prøver noget lavere – typisk på ca. 1,6. B112-200A og B112-200B har meget forskellige pH-værdier, hvilket er overraskende, da disse prøver har ens kemikaliedosering. Forskellen i indholdet af ethylurethan efter 22 dage indikerer dog også, at der kan have været forskelle mellem prøverne. I de 3 blindprøver uden kemikalietilsætning ser man i Tabel 4-1, at der langsomt sker en pH stigning på 0,2 til 0,3 pH-enheder over 20 dage.

Tabel 4-2 Måling af pH i serie 3 forsøg.

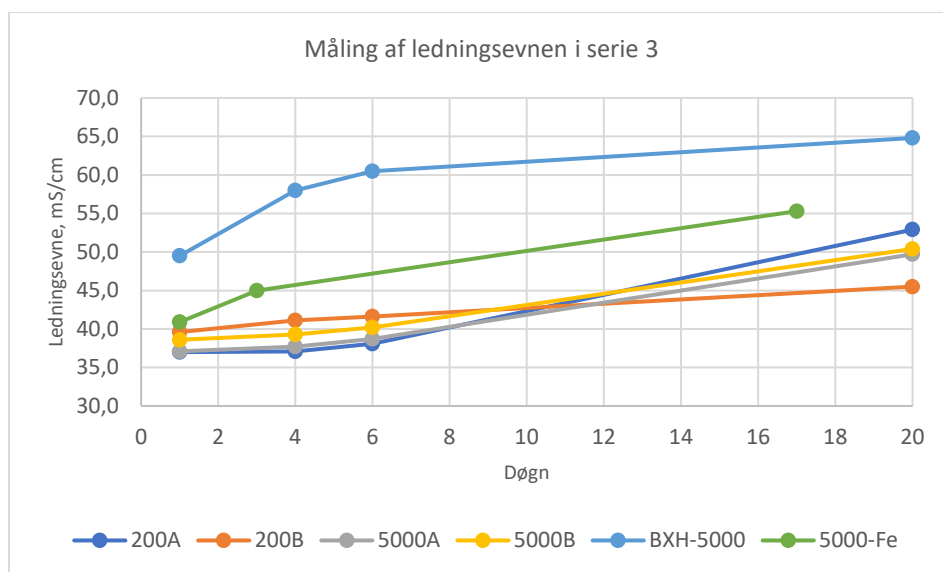
Døgn	200A	200B	5000A	5000B	BXH-5000	5000-Fe
1	1,87	1,90	1,89	1,89	1,90	1,83
3						1,75
4	1,91	1,92	1,91	1,91	1,72	
6	1,86	1,89	1,86	1,87	1,69	
17						1,58
20	1,53	1,71	1,62	1,62	1,60	



Figur 4-1      Måling af pH i serie 3 forsøg.

## 4.2 Ændring af ledningsevnen

I løbet af forsøget stiger ledningsevnen i samtlige prøver, hvilket formentlig skyldes fald i pH-værdien, idet de dannede brintioner har en ret høj ledningsevne sammenlignet med andre ioner. B112H-5000 har dobbelt indhold af oxidationskemikalier, så derfor må man også forvente den højeste ledningsevne i denne prøve. Prøve B112-5000-Fe har do også en markant højere ledningsevne end de tilsvarende prøver B112-5000A og B112-5000B, hvilket må skyldes en lidt højere dosering af jernsulfat i denne prøve. Den lille ekstra dosering af jernsulfat kan dog ikke i sig selv forklare den højere ledningsevne. Forklaringer må være, at oxidationsprocessen er mere omfattende i denne prøve end i de tilsvarende prøver med samme koncentration af ethylurethan, og oxidationsprodukterne medfører åbenbart en stigning i ledningsevnen.

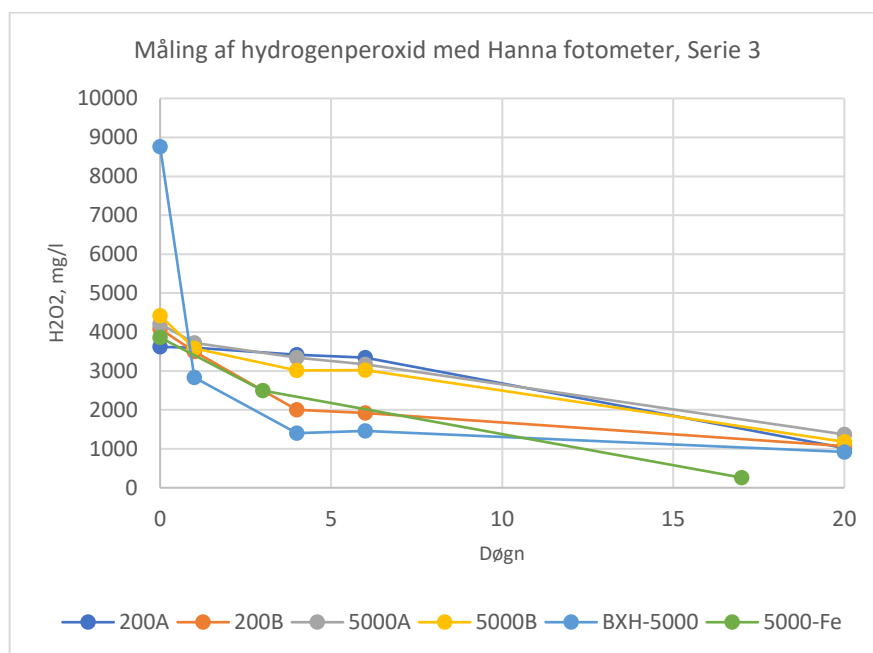


Figur 4-2      Måling af ledningsevnen i serie 3 forsøg.

### 4.3 Måling af hydrogenperoxid

Måleresultater for hydrogenperoxid i vandprøverne i serie 3 fremgår af Figur 4-3. I næsten alle prøver er der stadig en betydelig restkoncentration af hydrogenperoxid på ca. 1.000 mg/l efter 20 døgn. Dog er der en noget lavere restkoncentration i B112-5000-Fe. Det kunne tyde på, at der måske ikke er nok hydrogenperoxid i vandet, så man kan opnå en fuldstændig nedbrydning af ethylurethan i denne prøve.

Tilstedeværelsen af hydrogenperoxid er afgørende for, at der sker en oxidation af ethylurethan. Erfaringer fra tidligere forsøg med oxidationskemikalier har vist, at natriumpersulfat også vil bidrage lidt til måleresultaterne for hydrogenperoxid. Hydrogenperoxid vil alene give en farveudvikling på ca. 2 minutter. Aktuelt varede den 10-15 minutter ved de aktuelle forsøg af opnå fuld farveudvikling, hvilket tolkes som om, at natriumpersulfat vil afgive nogle stoffer, der reagerer som hydrogenperoxid med farvekemikalierne. Det tager blot lidt længere tid. Hvis der måles hydrogenperoxid med den fotometriske målemetode, må det forventes, at der stadigvæk er aktive oxidationskemikalier til stede i vandet.



Figur 4-3 Måling af hydrogenperoxid i serie 3.

### 4.4 Måling af redoxpotentiale

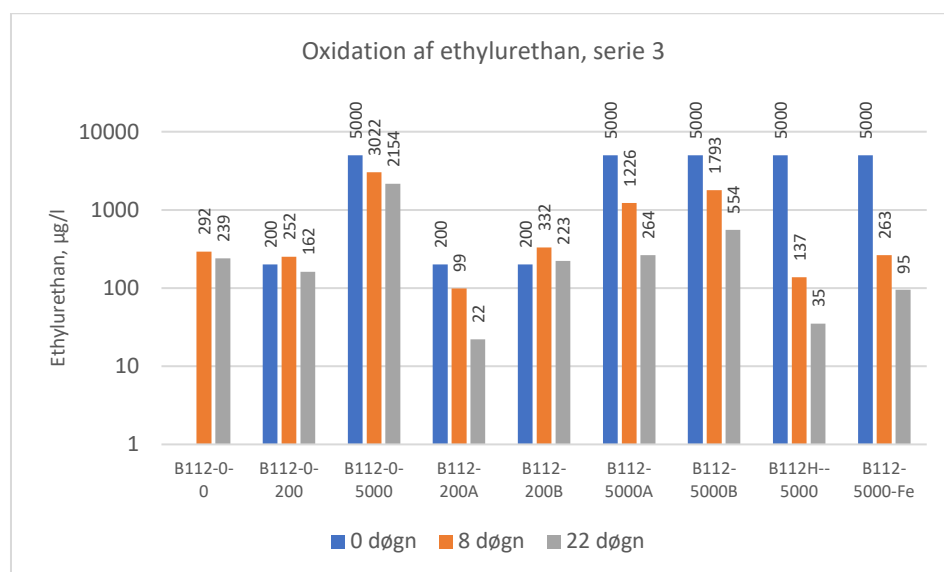
I blindprøverne er redoxpotentialet i starten af forsøget negativt i alle prøver. Efterhånden stiger redoxpotentialet langsomt. Efter 6 døgn er redoxpotentialet stadig negativt i de to blindprøver, hvor der er tilsat ethylurethan, mens blindprøven uden ethylurethan er blevet positiv. Efter 20 døgn er redoxpotentialet i alle blindprøver steget til ca. +300 mV – formentlig på grund af en langvarig reaktion med luftens ilt. I perioden mellem 6 og 20 døgn har flaskerne kun været halv fyldt med vand, og luftmængden har således været meget større end de 6 første døgn, hvor flaskerne var mindst 95% fyldte med vand. Det er nok en del af forklaringen på, at redoxpotentialet stiger kraftigt efter 6 døgn.

Redoxpotentialet er afhængig af vandets kemiske sammensætning, men det er også meget afhængig af vandets pH-værdi. Efter 1 døgn er pH i alle prøver med oxiderende kemikalier justeret til ca. 1,9, hvorefter redoxpotentialet er steget til lidt over 500 mV i alle prøver. Størst redoxpotentiale måles i B112H-5000, der har det højeste indhold af persulfat og hydrogenperoxid. Efter 17 døgn er redoxpotentialet i prøve B112-5000-Fe faldet til 260 mV, hvilket formentlig skyldes, at hydrogenperoxidkoncentrationen på dette tidspunkt er blevet ganske lav. De øvrige 5 prøver ligger stadig over 500 mV efter 20 døgn.

#### 4.5 Analyse af ethylurethan

Analyseresultater for ethylurethan er vist i Tabel 4-1. Der er i princippet lavet analyser to gange på hver prøve. Efter 8 døgn og efter 22 døgn, idet halvdelen af hver prøve er analyseret efter 8 døgn, men den resterende halvdel af hver prøve er analyseret efter 22 døgn.

Alle analyseresultaterne er samlet i Figur 4-4, hvor de tre blindprøver er vist yderst til venstre. Prøve B112-0-0 er den eneste prøve, hvor der ikke er tilsat ethylurethan. Der findes ingen gamle analyser for ethylurethan i B112, men i tidligere analyser ligger indholdet af farmastoffer lavt i B112, så derfor forventes også en lav koncentration af ethylurethan.



Figur 4-4      Analyseresultater for ethylurethan i alle prøve fra serie 3.

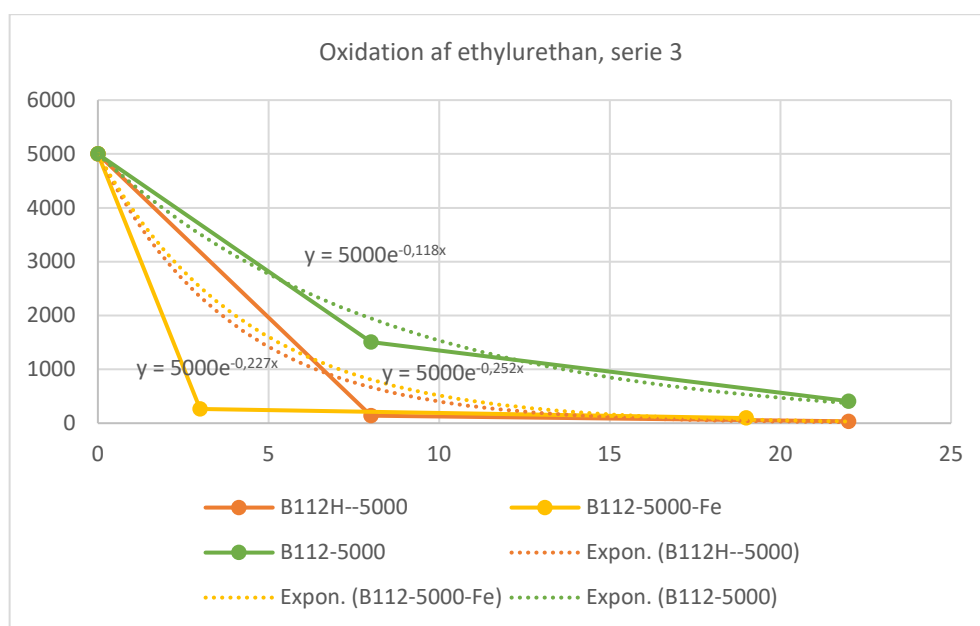
Resultaterne fra de tre blindprøver B112-0-0, B112-0-200 og B112-0-5000 er lidt vanskelige at tolke. Man ville forvente, at ethylurethan indholdet i B112-0-0 vil genfindes i alle de øvrige prøver, hvor der er tilsat ethylurethan, men sådan ser det ikke ud. Hvis koncentrationen af ethylurethan i B112-0-0 er 292 µg/l, så burde der være  $292 + 200 = 492$  µg/l i B112-0-200, men efter 8 døgn findes der faktisk kun 252 µg/l i B112-0-200, hvilket endda er mindre end i prøve B112-0-0. Efter 22 døgn er koncentrationen i B112-0-200 endda faldet til 162 µg/l på trods af, at der ikke er tilsat oxidationsmidler til blindprøverne.

Det er meget vanskeligt at forklare, hvorfor koncentration af ethylurethan falder ved henstand, når der ikke er tilsat oxiderende kemikalier. Da det er ret usikkert, hvor meget

ethylurethan, der findes i det grundvand, som er anvendt til forsøgene, vil vi derfor forudsætte, at startkoncentrationen i alle prøver svarer til den tilsatte mængde ethylurethan ved forsøgene.

I Figur 4-5 er afbildet nedbrydningsforløbet af ethylurethan på de 4 prøver, som indeholder oxidationskemikalier og har en startkoncentration af ethylurethan på 5.000 µg/l. Der er dog kun 3 kurver, idet B112-5000 er gennemsnittet af forsøg B112-5000A og B112-5000B.

For de tre kurver er der indtegnet end eksponentiel trendkurve, idet trendkurvens ligning er anført. For B112-5000 ligger trendkurven ganske fint i forhold til selve kurven. De øvrige to trendkurver ligger tilsyneladende lidt for højt i starten, men efter flere døgn er de bedre i overensstemmelse med de reelle kurver. Selv om trendkurverne ikke afspejler processen fuldt ud, så kan de være en god indikation på, hvor længe nedbrydningen af ethylurethan vil vare under de givne forhold. Her spiller det naturligvis også ind, om der er passende overskud af hydrogenperoxid, hvilket trendkurverne ikke tager højde for.



Figur 4-5 Nedbrydningsforløb af ethylurethan i prøver med startkoncentration 5000 µg/l.

I Tabel 4-3 findes en sammenligning af et teoretisk nedbrydningsforløb af ethylurethan i 3 prøver med en startkoncentration på 5.000 µg/l. Som det fremgår af tabellen, vil det tage ganske lang tid at nedbryde ethylurethan ved oxidation med aktiveret persulfat. Ønsker man en hurtig nedbrydning vil det formentlig kræve ekstra stor dosering af kemikalier – herunder en forholdsvis højere dosering af jernsulfat.

Tabel 4-3      *Sammenligning af et teoretisk beregnet nedbrydningsforløb af ethylurethan i 3 prøver med en startkoncentration på 5000 µg/l*

<i>Antal døgn</i>	<i>B112-5000</i>	<i>B112-5000-Fe</i>	<i>B112H-5000</i>
3	3510	2347	2530
9	1729	517	648
14	958	147	208
20	472	32	53
25	262	9,2	17
30	145	2,6	30
50	13,7	0,017	0,059

Sammenligner man resultaterne fra serie 3 med resultaterne fra serie 1, fremgår det, at nedbrydningen af ethylurethan forløber hurtigere i vand, som svarer til det postevand, som er anvendt i serie 1, end i grundvand fra Kærgård Klitplantage. Der kan ikke umiddelbart peges på en årsag hertil, hvilket dog heller ikke har været formålet med denne undersøgelse.

## 5 Resume og konklusion

Laboratorieforsøg har vist, at ethylurethan i grundvand kan nedbrydes ved en avanceret kemisk oxidation med persulfat, der er aktiveret med Fentons reagens, samme metode, som er anvendt til kemisk oxidation af grundvandet i Kærgård Klitplantage.

Forsøgene har vist, at nedbrydningen af ethylurethan forløber hurtigere, når vandet har samme sammensætning som typisk dansk postevand, end når man laver forsøgene i grundvand fra Kærgård Klitplantage. Meget tyder på, at nedbrydningen vil være mellem 50-100 dage, hvis man ønsker at komme under en restkoncentration på 0,01 µg/l. Det forudsætter endda en forholdsvis større dosering af jernsulfat, end man normalt anvender ved den kemiske oprensning i Kærgård Klitplantage. Desuden skal der være et passende overskud til stede af hydrogenperoxid under hele nedbrydningsforløbet. På baggrund af analyser af persulfat, der er udtaget sideløbende med injektionsarbejdet i Kærgård Klitplantage og hvor doseringerne af både oxidationsmidler og jernsulfat har været højere end i indeværende laboratorietest, er det set, at der er tilgængeligt persulfat i gruberne både 7 og 14 dage efter injektionerne. Så hvis der konservativt antages at et injektionsevent resulterer i tilgængelige oxidationsmidler i 10 dage, vil det kræve mellem 5 og 10 injektionsevents at få reduceret indholdet af ethylurethan til under en restkoncentration på 0,01 µg/l. De nyeste data fra grube 4 indikerer dog, at der efter 9 runder med kemisk oxidation er et medianindhold af ethylurethan på mellem 2 og 6 µg/l for de respektive lag i gruben. Derfor må der for virkelige, fuldskalasystemer gælde en længere nedbrydningstid, som til dels afhænger af tilgængeligheden af oxidationsmidler og dels tilgængeligheden af stoffet og hvorvidt det er fundet som frifase eller opløst i vandfasen. Desuden vurderes blandt andet tilstedeværelsen af andre forureningskomponenter med andre oxidationsbehov også at kunne have en påvirkning af nedbrydningshastigheden.

Forsøgene viste også, at det meste grundvand i Kærgård Klitplantage har så stor alkalinitet, at oxidationen ikke uden videre går i gang, når der tilsættes oxiderende kemikalier. Det skyldes, at pH ikke automatisk bliver så lav, at oxidationen fungerer. Skal oxidationen hurtigt i gang, vil det formentlig være nødvendigt at dosere en passende svovlsyremængde for at sænke pH til under 2,0. Det virkede ved forsøgene. Dette har dog ikke været nødvendigt ved kildeoprensning i gruberne, hvor alkaliniteten må forventes lavere.

Ved forsøgene med forurenede grundvand fra Kærgården Klitplantage blev det observeret, at blindprøver uden tilsætning af oxiderende kemikalier med et naturligt indhold af ethylurethan, var faldende ved henstand i en lukket flaske. Dette blev ikke observerede for blindprøverne fremstillet af postevand spiket med ethylurethan. I blindprøver, hvor der blev tilsat ethylurethan, fandt man ikke det forventede indhold af ethylurethan ved den kemiske analyse. Dog har pH i disse blindprøver under hele forsøget været så høj (ca. 7), at man ikke kan forvente en større nedbrydning af ethylurethan. Svaret hertil er ikke fundet, men en mulighed er at det forurenede grundvand fra Kærgården Klitplantage har en påvirkning på oprensningskolonnerne, der blev anvendt inden analyse på LC/MS/MS.

## Bilag C      Memorandum, Ethylurethane, Literature Review, Geosyntec Consultants

## Memorandum

**Date:** August 23, 2024  
**To:** Region Syddanmark  
Klaus Bundgaard Mortensen  
**Copies:** Bastian Germundsson, Torben Højbjerg Jørgensen; COWI  
**From:** Felipe Solano, Leah MacKinnon; Geosyntec Consultants, Inc.  
**Subject:** Ethylurethane, Literature Review

---

### 1. INTRODUCTION

Geosyntec Consultants (Geosyntec) appreciates the opportunity to submit this memorandum that presents a summary of the literature review on potential in-situ remediation methods for the treatment of ethylurethane. The literature review was conducted to explore:

- Whether in-situ chemical oxidation (ISCO) utilizing hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) activated persulfate has been investigated as a potential method to destroy aqueous ethylurethane;
- If other studies have been completed that may provide evidence on the likelihood of effective ethylurethane treatment by ISCO; and
- If other technologies have been applied to effectively degrade ethylurethane in-situ.

The literature review involved searching referred journals using on-line database such as Elsevier, Springer Nature, online database through United States Environmental Protection Agency (USEPA), Health Canada, Google Scholar, and general web research by specific terms related to ethylurethane (and synonyms), substance molecular structure (e.g.: carbonyl group), chemical properties, natural attenuation processes, treatment processes, and ethylurethane regulatory criteria.

This memorandum includes the following: a summary of the ethylurethane properties and usage, implications for treatment, and regulatory criteria (Section 2); a description of ISCO using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> activated persulfate (Section 3); a summary of the literature reviewed on ethylurethane treatment (Section 4); closing comments (Section 5); and references (Section 6).

## 2. ETHYLURETHANE

### Properties and Usage

Ethylurethane, also known as ethyl carbamate, urethane, carbamic acid, and/or ethyl ester, is a colorless, almost odorless columnar crystal solid or white granular powder at room temperature (Budavari, 2000).

The current uses of ethylurethane are limited to medical research on laboratory animals where it is used for its anesthetic (Hara and Harris, 2002; Janssen et al., 2004) or neoplastic properties (Kawano et al., 1995; Hara and Harris, 2002; Miller et al, 2003; Avanzo et al., 2004 and 2006; Minowada and Miller 2009). Ethylurethane has been historically used as a solvent for various organic materials, an active substance in pharmaceuticals, as a solubilizer and co-solvent for pesticides and fumigants, among others.

Ethylurethane is also a by-product of fermentation processes and has been detected in many types of fermented foods (JECFA 2006a, 2006b) and beverages (Conacher and Page, 1986; Sen et al., 1993; Velisek, 1995), and industrial wastewater treatment processes (online Chemical Risk Information Platform [CHRIP], 2008; Lutin et al., 1965; Keith, 1976).

As an example, ethylurethane was detected in the wastewater from two paper mills at concentrations of approximately 0.018 and 0.037 mg/L. The effluent treatment in the first paper mill consisted of a trickling biofilter and aerated lagoon, while that in the second consisted of lime treatment and holding in a storage basin (Keith, 1976). The effectiveness of ethylurethane treatment was not described in the reference.

The formation of ethylurethane in alcoholic beverages and other foods is dependent on the chemical precursors and potential catalysts available in the raw material as well as the storage conditions during fermentation (i.e., light, temperature, pH and duration). In the case of wine, for example, arginine is a naturally occurring amino acid in grapes and is a food source for yeast (Zimmerli and Schlatter, 1991). Yeast consumes arginine and produces urea, which reacts with ethanol produced during alcoholic fermentation to form ethylurethane. Ethylurethane formation from urea is favored at high temperatures (Weber and Sharypov, 2009); thus, temperatures during transport and storage can impact its levels. Hydrogen cyanide is a key precursor of ethylurethane in stone fruit brandies. Copper has been shown to be able to catalyze the formation of ethylurethane in whisky and it has been implicated in the conversion of cyanide to ethylurethane in distilled spirits (Aresta et al., 2001). It is also a natural constituent of tobacco plants and is present in mainstream tobacco smoke (Zimmerli and Schlatter, 1991; NTP, 2011).

Ethylurethane is classified as carcinogenic by the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European classification, labelling and packaging (CLP) Regulation. In 2009, worldwide production of ethylurethane was attributed to a single manufacturer located in the United States (SRI, 2009). Ethylurethane demonstrated low toxicity to aquatic organisms;

however, some genetic and biochemical effects have been observed in worms and frogs (ECCC Health Canada, 2016).

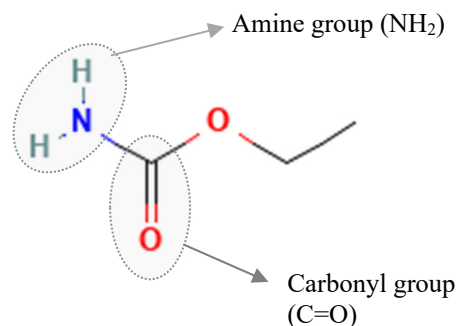
Ethylurethane is miscible in water (480,000 mg/L at 15°C) as well as in a variety of organic solvents (Speyers, 1902), and has a density of 0.98 g/cm<sup>3</sup>. It is not likely to dissociate (modelled pKa is 12), and it is expected to remain in a neutral form at environmentally relevant pH values of 6 to 9. Experimental data indicate that ethylurethane has a very low octanol-water partition coefficient (log K<sub>ow</sub> = -0.15) (Houston et al., 1974). Based on model prediction, the organic carbon-water partition coefficient is expected to be very low (modelled log K<sub>oc</sub> ~1 [Kocwin, 2010] and 20 [Hazardous Substances Data Bank, 1983]). The substance has a vapor pressure of ~0.262 mmHg at 25°C and, if released to the environment, is not expected to significantly partition into air. Based on a low Henry's Law constant (6.4x10<sup>-8</sup> atm m<sup>3</sup>/mol), ethylurethane is expected to reside in water and soil. Partitioning to sediments is expected to be limited; however, given that the substance is highly water soluble, it could be found in pore water.

### **Implications for Treatment from Physico-Chemical Properties**

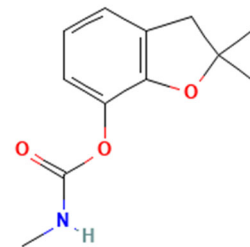
Based on the physico-chemical properties of ethylurethane, it is possible to conclude that this substance tends to remain as an aqueous phase in the subsurface and available to contact potential injectates (e.g.: oxidants). Moreover, the molecular formula of ethylurethane (C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>) shows the presence of an amide functional group (carbonyl group [C=O] and amine group [NH<sub>2</sub>]) which, based on the comparison with the molecular structure of other compounds, may be amenable to chemical oxidation using persulfate or activated persulfate.

To the best of our knowledge, there is no literature available on the *in-situ* treatment of ethylurethane; however, limited literature is available on bench-scale chemical oxidation tests of compounds containing similar chemical structural groups (Jiang et al., 2017; Buthiyappan et al., 2019; Thirumurugan et al., 2024). The successful oxidation of these compounds suggests the potential for chemical oxidation of ethylurethane, although this must be tested using bench-scale experiments to confirm treatability.

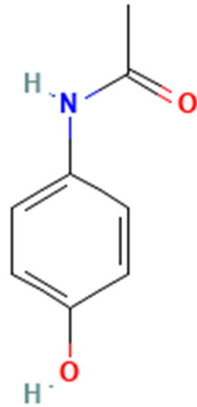
**Ethylurethane: C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>**



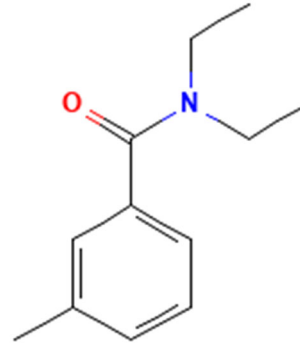
**Carbofuran: C<sub>12</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>**



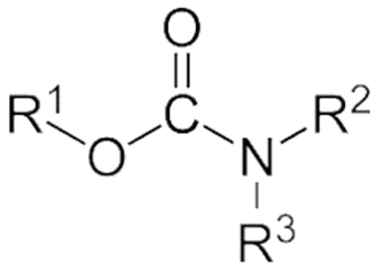
**Acetaminophen (paracetamol): C<sub>8</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub>**



**Diethyltoluamide (DEET): C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO**



### Carbamate Pesticide General Structural Diagram



### Regulatory Criteria

The following Regional Screening Levels from the United States Environmental Protection Agency (EPA) are available in North America for ethylurethane:

- Resident Soil: 0.12 mg/kg
- Industrial Soil: 2.3 mg/kg
- Resident Air: 0.0035 µg/m<sup>3</sup>
- Industrial Air: 0.042 µg/m<sup>3</sup>
- Tap Water: 0.025 µg/L

Screening levels are not available for groundwater and surface water in North America.

### 3. HYDROGEN PEROXIDE ACTIVATED PERSULFATE

Among the oxidants commonly applied during ISCO, persulfate ( $S_2O_8^{2-}$ ) demonstrates certain advantages compared to permanganate, hydrogen peroxide and ozone. This includes high oxidation potential on activation to sulfate free radicals ( $E^\circ = 2.6$  V), high solubility in water, reasonable stability, and a wide range of reactivity towards several contaminants, such as chlorinated ethenes, petroleum hydrocarbons, explosives, phenols, among others, are some of the benefits from persulfate (Huang et. al, 2002; Watts and Teel, 2006; Huling and Pivetz, 2006; Crimi and Taylor, 2007).

A number of methods can be used to activate persulfate to form powerful free radicals (, , *etc*) that increase the reaction rates and expand the range of contaminants treated. Common activation methods include the use of hydrogen peroxide, heat, chelated (or unchelated) metals, and alkaline conditions (Siegrist et al., 2001; Block et al., 2004). When activated persulfate is consumed faster, which can reduce its residence time in the subsurface.

Hydrogen peroxide can activate persulfate to potential radicals and other reactive species that are capable of destroying a wide range of organic compounds and improving the persulfate ISCO applicability (Block et al., 2004; Crimi and Taylor, 2007). This activation can be achieved through different pathways, such as peroxide reactivity with minerals present in the subsurface that may promote the formation of free radicals (,  $OH^\bullet$ ) that will then interact with persulfate to form sulfate radicals (Kwan and Voelker, 2003; Teel et al., 2007). Another potential activation pathway is through the elevation of the temperature in the subsurface due to exothermic reactions from the hydrogen peroxide (Cronk and Cartwright, 2006).

### 4. ETHYLURETHANE DEGRADATION

#### *Natural Attenuation*

Abiotic natural attenuation of ethylurethane is not expected to play a significant role as the substance contains no functional groups that can hydrolyze under natural environmental conditions. A base-catalyzed second-order hydrolysis rate was estimated and corresponded to half-lives of 3,300 and 330 years at pH values of 7 and 8, respectively (Mill et al., 1987).

Based on the literature reviewed, limited research has been conducted on natural attenuation of ethylurethane. However, a quantitative structure-activity relationship (QSAR) model (TOPKAT 2004) was used to evaluate the biodegradation potential of ethylurethane under aerobic conditions. In this study, the probability of biodegradation of ethylurethane at low concentrations in water was 1 (output is a probability score from 0 [slow] to 1 [rapid]); however, at higher concentrations ethylurethane becomes toxic to microorganisms and slower biodegradation scores were obtained.

### ***Ex-situ Treatment Processes***

Several studies evaluating ethylurethane degradation in biological wastewater treatment processes were found in the literature review. These included the following:

- A screening test where an inoculum containing activated sludge at 30 mg/L was exposed to ethylurethane at a concentration of 100 mg/L for 28 days (CHRIP, 2008). An insignificant degradation rate was reported. Based on this result, ethylurethane was considered by the authors to be *non-biodegradable* under the Chemical Substances Control Law in Japan (CHRIP, 2008).
- Ethylurethane at 500 mg/L was exposed to three activated sludge samples separately at 20°C for 144 hours. None of the tests resulted in significant oxidation of ethylurethane (Lutin et al., 1965).
- ECCC Health Canada (2016) referenced another study on wastewater treatment processes where biodegradation of ethylurethane was also reported to be slow at high concentrations (Malaney et al. 1967); however, it was not possible to obtain the original study document to review the results.

Findings in these studies suggest that the biodegradation rate of ethylurethane is dependent upon its concentration in the test media. The substance may degrade rapidly at low concentrations; however, at higher concentrations, ethylurethane is toxic to the microbes, which can slow down the biodegradation.

### ***In-Situ Chemical Oxidation***

The literature review did not identify any white or grey literature describing the application of ISCO, or other *in-situ* treatment technologies, for ethylurethane. However, comparison to bench-scale treatment tests for compounds with similar chemical structures suggests that ethylurethane may be degraded by chemical oxidants. While application *in-situ* is more complex than *ex-situ* treatment processes, the results from ISCO or *ex-situ* oxidation processes for compounds with similar structures suggests that further study of the potential for ISCO to treat ethylurethane is of value.

Potential evidence that ISCO may be feasible for ethylurethane include:

- Ethylurethane is a reduced compound with groups/molecular structures (e.g.: carbonyl and amine groups) that may be amenable to oxidants.
- High solubility (480,000 mg/L at 15°C).
- Low  $K_{oc}$  and tendency to remain as an aqueous phase in the subsurface.
- Likely to contact injectate solutions (e.g.: oxidants) in the aquifer.

Previous research conducted on bench-scale chemical oxidation of compounds containing similar molecular groups have demonstrated the capacity of different oxidation systems to destroy those compounds, with examples provided below. Many studies of pharmaceutical compounds or carbamate-based pesticide treatment using chemical oxidation approaches were found, in particular, with a few representative studies provided below.

- A bench-scale study completed by Jiang et al., 2017, showed that persulfate activated by bicarbonate has the capacity to oxidize acetaminophen ( $C_8H_9NO_2$ ), which contains a carbonyl group and an amino group. Radical scavenger tests indicated that most of the transformation of acetaminophen was due to the reaction with peroxymonocarbonate ( $HCO_4^-$ ) instead of free radicals ( $SO_4^{\bullet-}$ ,  $OH^\bullet$ ) or superoxide ( $O_2^{\bullet-}$ ).  $HCO_4^-$  oxidized acetaminophen via single-electron abstraction resulting in the generation of acetaminophen radicals which coupled to each other to form dimers and trimers.  $HCO_4^-$  also hydrolyzed to form  $H_2O_2$  which led to the formation of singlet oxygen ( $^1O_2$ ), during which  $O_2^{\bullet-}$  was an intermediate.
- Thirumurugan et al. (2024) investigated the treatment of carbofuran pesticide, a methylcarbamate pesticide, using submerged thermal plasma (STP) with and without the addition of persulfate at concentrations of 10 and 20 mg/L. The main findings of this study showed that adding 10 mg/L persulfate to STP resulted in slightly higher degradation and approximately 23% higher mineralization of carbofuran (99.5% and 65.2%, respectively) compared to plasma treatment alone and 20 mg/L persulfate. Scavenger investigation implied that  $OH^\bullet$  was the main cause of carbofuran degradation. The findings of this study implied that STP combined with persulfate for  $OH^\bullet$  radical formation is an effective technique for bio-recalcitrant compounds.
- The effective treatment of carbofuran in aqueous solution was investigated using a persulfate/ $Fe^{2+}$ /ultrasound process (Buthiyappan et al., 2019). Carbofuran treatment was evaluated as a function of persulfate and  $Fe^{2+}$  concentrations, reaction time and ultrasonic power. The results showed that after 13 minutes of reaction time up to 75% of chemical oxygen demand (COD) and 67.5% total organic carbon (TOC) were removed, demonstrating that a persulfate/ $Fe^{2+}$ /ultrasound system may have the potential to recalcitrant organic pollutants. Multiple other studies evaluating *ex situ* chemical oxidation (e.g., with peroxide, ozone or persulfate) of other carbamate pesticides were also found, which demonstrated successful reaction of these compounds.

## 5. CLOSING

The main findings from this literature review include:

- Ethylurethane is a by-product of fermentation processes and has been detected in many types of fermented foods and beverages, and industrial wastewater treatment processes.

- It is a natural constituent of tobacco plants and is present in mainstream tobacco smoke.
- The current uses of ethylurethane are limited to medical research on laboratory animals where it is used for its anesthetic or neoplastic properties. It has been historically used as a solvent for various organic materials, an active substance in pharmaceuticals, as a solubilizer and co-solvent for pesticides and fumigants.
- Ethylurethane is highly miscible in water and unlikely to dissociate. It has a very low  $K_{ow}$  and  $K_{oc}$  and tends to remain as an aqueous phase in the subsurface.
- Treatment of ethylurethane is not widely reported in the literature.
- Regulatory criteria are not available for groundwater and surface water in North America, although they are available for soil, air and drinking water in the United States.
- Hydrogen peroxide can activate persulfate to potential radicals and other reactive species that are capable of destroying a wide range of organic compounds.
- Natural attenuation of ethylurethane is not expected to occur at significant levels as the substance contains no functional groups that can hydrolyze under natural environmental conditions.
- Low concentrations of ethylurethane in water can be rapidly biodegraded; however, at higher concentrations ethylurethane becomes toxic to microorganisms.
- Insignificant ethylurethane degradation observed when exposed to activated sludge.
- Biodegradation of ethylurethane seems to be dependent upon its concentration. The substance may degrade rapidly at low concentrations; however, at higher concentrations, ethylurethane is toxic to the microbes.
- Ethylurethane is a reduced compound with groups/molecular structures (e.g.: carbonyl and amine groups) that may be amenable to oxidants.
- Compounds with similar functional groups as ethylurethane have been demonstrated to be susceptible to chemical oxidation. These data suggest the potential for ethylurethane to also be susceptible to chemical oxidation.
- Acetaminophen, which contains a carbonyl and an amino group, was effectively treated by persulfate activated by bicarbonate.
- Additional chemical oxidation methods, including STP combined with persulfate and persulfate/Fe<sup>2+</sup>/ultrasound, showed effective treatment of carbofuran, a pesticide with a carbamate-based structure, through radical formation, which is also promising for the Kaergard Plantage site.

The literature review did not identify any white or grey literature describing the application of *in-situ* treatment of ethylurethane. Therefore, the approach used to create this memorandum included a review of the readily available literature of the properties of ethylurethane and the treatment, especially chemical oxidation, of compounds that contain similar groups/molecular structure. These studies suggest that chemical oxidation processes such as H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> activated persulfate may potentially be a feasible method to degrade ethylurethane at the Kaergard Plantage site, however additional studies would be required to confirm this at the laboratory and field scale.

## 6. REFERENCES

Aresta, M., Boscolo, M., Franco, D.W. 2001. Copper(II) catalysis in cyanide conversion into ethyl carbamate in spirits and relevant reactions. *J Ag Food Chem.* 49(6):2819–2824.

Avanzo, J.L., Mesnil, M., Hernandez-Blazquez, F.J., Mackowiak, I.I., Mori, C.M.C., da Silva, T.C., Oloris, S.C.S., Garate, A.P., Massironi, S.M.G., Yamasaki, H. 2004. Increased susceptibility to urethane-induced lung tumors in mice with decreased expression of connexin43. *Carcinogenesis* 25(10):1973–1982.

Avanzo, J.L., Mesnil, M., Hernandez-Blazquez, F.J., Mackowiak, I.I., da Silva, T.C., Fukumasu, H., Mori, C.M.C., Yamasaki, H., Dagli, M.L.Z. 2006. Altered expression of connexions in urethane-induced mouse lung adenomas. *Life Sci* 79:2202–2208.

Block, P.A., Brown, R.A., Robinson, D. 2004. Novel activation technologies for sodium persulfate in situ chemical oxidation, In *Proceedings of the Fourth International Conference of Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds 2004*, Gavaskar, A.R., Chen, A.S.C., Eds., Battelle Press, Columbus, Ohio.

Budavari, S. 2000. *The Merck index: An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*, 12th ed. Whitehouse Station (NJ): Merck & Co Inc.

Buthiyappan, A., Chee, M., Raman, A., Huda, N., Ramesh, S. 2019. Degradation of carbofuran in aqueous solution using persulfate/Fe<sup>2+</sup>/ultrasound treatment system. *Desalination and Water Treatment* 176:184-164.

[CHRIP] Chemical Risk Information Platform [database on the Internet]. c2008.Tokyo (JP): National Institute of Technology and Evaluation, Chemical Management Centre (CMC). [cited 2013 May]. Available from: <http://www.safe.nite.go.jp/english/db.html>

Conacher, H.B.S., Page, B.D. 1986. Ethyl carbamate in alcoholic beverages: A Canadian case history. In: *Proceedings of Euro Food Tox II: interdisciplinary conference on natural toxicants in food*; 1986 October 15–18; Schwerzenbach, Switzerland: European society of toxicology.

Crimi, M.L., Taylor J. 2007. Experimental Evaluation of Catalyzed Hydrogen Peroxide and Sodium Persulfate for Destruction of BTEX Contaminants. *Soil Sediment Contam.*, 16, 29–45.

Cronk, G., Cartwright, R. 2006. Optimization of a chemical oxidation treatment train process for groundwater remediation, In *Proceedings of the Fifth International Conference of Remediation of Chlorinated and Recalcitrant Compounds 2006* (Monterey, CA, May 22-25, 2004), (Sass, B.M., Ed.), Battelle Press, Columbus, Ohio.

Environment and Climate Change Canada. Health Canada. May 2016. Available from: <https://www.canada.ca/en/environment-climate-change/services/evaluating-existing-substances/screening-assessment2.html#toc1>

Hara, K., Harris, R.A. 2002. The anesthetic mechanism of urethane: the effects on neurotransmitter-gated ion channels. *Anesth Analg* 94:313–318.

Houston, J.B., Upshall, D.G., Bridges, J.W. 1974. A re-evaluation of the importance of partition coefficients in the gastrointestinal absorption of nutrients. *J Pharmacol Exp Ther* 189(1):244–254.

Huang, K., Couttenye, R.A., Hoag, G.E. 2002. Kinetics of heat-assisted persulfate oxidation of methyl tertbutyl ether (MTBE). *Chemosphere*, 49, 413–420.

Huling, S.G., Pivetz, B.E. 2006. In-Situ Chemical Oxidation. USEPA, Engineering Issue. National Risk Management Research Laboratory, R.S.Kerr Environmental Research Center, Ada, Oklahoma, EPA/600/R-06/072. [http://www.epa.gov/ada/topics/oxidation\\_issue.html](http://www.epa.gov/ada/topics/oxidation_issue.html).

Janssen, B.J.A., De Celle, T., Debets, J.J.M., Brouns, A.E., Callahan, M.F., Smith, T.L. 2004. Effects of anesthetics on systemic hemodynamics in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287:H1618–H1624.

[JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2006a. Evaluation of certain food contaminants. WHO Technical Report Series 930. Sixty-fourth report of the JECFA. [cited 2012 Jul 9]. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_930\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_930_eng.pdf)

[JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2006b. Safety evaluation of certain contaminants in food. WHO Food Additives Series: 55. FAO Food and Nutrition Paper 82. Prepared by the Sixty-fourth meeting of the JECFA. [cited 2012 Jul 9]. Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660554\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241660554_eng.pdf)

Jiang, M., Lu, J., Ji, Y., Kong, D. 2017. Bicarbonate-activated persulfate oxidation of acetaminophen. *Water Research* 324:331-116.

Kawano, R., Nishisaka, T., Takeshima, Y., Yonehara, S., Inai, K. 1995. Role of point mutation of the *K-ras* gene in tumorigenesis of B6C3F1 mouse lung lesions induced by urethane. *Jpn J Cancer Res* 86:802–810.

Keith, L.H. 1976. *Environ Sci Tech* 10: 555-64. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5641#section=Environmental-Water-Concentrations>

[KOCWIN] Organic Carbon Partition Coefficient Program for Microsoft Windows [Estimation model]. 2010. Version 2.00. Washington (DC): U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pollution Prevention and Toxics; Syracuse (NY): Syracuse Research Corporation. [cited 2013 Feb 1]. Available from: <http://www.epa.gov/opptintr/exposure/pubs/episuite.htm>

Kwan, W.P., Voelker, B.M. 2003. Rates of hydroxyl radical generation and organic compound oxidation in mineral-catalyzed Fenton-like systems. *Environ. Sci. Technol.*, 37, 1150 – 1158.

Lutin, P.A., Cibulka, J.J., Malaney, G.W. 1965. Oxidation of selected carcinogenic compounds by activated sludge. *Purdue Univ Eng Bull Exit Series* 118:131–45. [cited in HSDB 1983–].

Malaney, G.W., Lutin, P.A., Cibulka, J.J., Hickerson, L.H. 1967. Resistance of carcinogenic organic compounds to oxidation by activated sludge. *J Water Pollut Control Fed* 39:2020–9. [cited in HSDB 1983–].

Mill, T., Haag, W., Penwell, P., Pettit, T., Johnson, H. 1987. Environmental fate and exposure studies. Development of a PC-SAR for hydrolysis: Esters, alkyl halides and epoxides. EPA Contract No. 68-02-4254. SRI International, Menlo Park, CA.

Miller, Y.E., Dwyer-Nield, L.D., Keith, R.L., Le, M., Franklin, W.A., Malkinson, A.M. 2003. Induction of a high incidence of lung tumors in C57BL/6 mice with multiple ethyl carbamate injections. *Cancer Lett* 198:139–144.

Minowada, G., Miller, Y.E. 2009. Overexpression of *sprouty 2* in mouse lung epithelium inhibits urethane-induced tumorigenesis. *Am J Resp Cell Mol* 40:31–37.

[NTP] National Toxicology Program (US). 2011. Urethane. National Toxicology Program 12 [Report on Carcinogens, 12th ed]: p, 1–3.

Sen, N.P., Seaman, S.W., Boyle, M., Weber, D. 1993. Methyl carbamate and ethyl carbamate in alcoholic beverages and other fermented foods. *Food Chem* 48:359–366.

Siegrist, R.L., Urynowicz, M.A., West, O.R., Crimi, M.L., Lowe, K.S. 2001. Principles and Practices of In Situ Chemical Oxidation Using Permanganate. Battelle Press, Columbus, OH, USA.

Speyers, C.L. 1902. Solubilities of some carbon compounds and densities of their solutions. *Am J Sci* 4(14):293–302.

SRI. 2009. Directory of Chemical Producers. Menlo Park (CA): SRI Consulting. Database edition [cited in NTP 2011].

Teel, A.L., Finn, D.D., Schmidt, J.T., Cutler, L.M., Watts, R.J. 2007. Rates of trace mineral-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide. *J Environ Eng* 133:853–858.

Thirumurugan, N., Nandy, N., Amarnath, P., Yugeswaran, S., Suresh, K., Sujeeth, N.K., Gnanadesigan. 2024. Expeditive carbofuran pesticide degradation by submerged thermal plasma and its accelerated mineralization by persulfate addition. *Environmental Pollution* 123779-347.

[TOPKAT] Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology [Internet]. 2004. Version 6.1. San Diego (CA): Accelrys Software Inc. Available from: <http://accelrys.com/products/discovery-studio/predictive-toxicology.html>.

Velisek, J. 1995. Ethyl carbamate. In: Natural toxic compounds of foods: formation and change during processing and storage (Davidek J, ed.). Boca Raton (FL): CRC Press, Inc. p. 249–252.

Watts, R.J., Teel, A.L. 2006. Treatment of contaminated soils and groundwater using ISCO. Pract. Period. Hazard. Toxic Radioact. Waste Manage., 2–9.

Weber, J.V., Sharypov, V.I. 2009. Ethyl carbamate in foods and beverages--a review. Sustainable agriculture reviews: climate change, intercropping, pest control and beneficial microorganisms. Vol. 2. Netherlands: Springer. p.429–452.

Zimmerli, B., Schlatter, J. 1991. Ethyl carbamate: analytical methodology, occurrence, formation, biological activity and risk assessment. Mutat Res 259(3–4):325–350.

\* \* \* \* \*

Memorandum Ethylurethane\_Literature Review\_August 23 2024