

Miljøprojekt Nr. 644 2001

Teknologiudviklingsprogrammet for
jord- og grundvandsforurening

Fytoremediering af forurening med olie- og tjæreprodukter

Ulrich Karlson og Mette Nielsen
Danmarks Miljøundersøgelser

Stefan Trapp
Danmarks Tekniske Universitet

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling.

Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter.

Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Indhold

FORORD	5
SAMMENFATNING OG KONKLUSIONER	7
SUMMARY AND CONCLUSIONS	9
1 INDLEDNING	11
2 GENERELLE ASPEKTER: PLANTER, MIKROORGANISMER OG FYTOREMEDIERING	13
2.1 VEGETATIONENS EFFEKT PÅ FORURENET JORD	13
2.1.1 <i>Transpiration</i>	13
2.1.2 <i>Afdampning</i>	13
2.1.3 <i>Iltforsyning til jorden</i>	13
2.1.4 <i>Rodudsondringer</i>	14
2.2 BEGREBERNE OMKRING FYTOREMEDIERING	14
2.2.1 <i>Biotilgængelighed</i>	15
2.2.2 <i>Rhizosfære mikrobiota</i>	17
2.2.3 <i>Optag af organiske stoffer i planter</i>	18
2.2.4 <i>Erfaringer med fytoremediering</i>	20
2.3 FORSKELLIGE FYTOREMEDIERINGSTEKNIKKER	20
2.3.1 <i>Fytoekstraktion</i>	20
2.3.2 <i>Rhizofiltrering</i>	21
2.3.3 <i>Fytostabilisering</i>	21
2.3.4 <i>Hydraulisk kontrol</i>	21
2.3.5 <i>"Pump and tree"</i>	21
2.3.6 <i>Fytoafdampning</i>	21
2.3.7 <i>Fytoneedbrydning</i>	22
2.3.8 <i>Rhizoneedbrydning</i>	22
2.3.9 <i>Andre teknikker</i>	22
2.4 KRITERIER FOR ANVENDELSE AF FYTOREMEDIERING	22
2.5 RISIKOVURDERING	24
2.6 IDEER TIL AT GØRE FYTOREMEDIERING MERE EFFEKTIV	25
2.6.1 <i>Genetiske modifikationer</i>	25
2.6.2 <i>Nedbrydning ved hjælp af svampe</i>	26
3 PAH'ER	28
3.1 FYSISKE OG KEMISKE EGENSKABER	28
3.2 TYPISKE KONCENTRATIONER I JORD	30
3.2.1 <i>Diffus forurening</i>	30
3.2.2 <i>Punktkilder</i>	31
3.3 BIOTILGÆNGELIGHED	31
3.4 MIKROBIEL METABOLISME I RHIZOSFÆREN	31
3.5 OVERFØRSEL FRA JORD TIL PLANTE	33
3.6 METABOLISME I PLANTER	35
3.7 TOKSICITET FOR PLANTER	35
3.8 NYESTE FYTOREMEDIERINGSPROJEKTER	36
4 BENZEN, TOLUEN, ETHYLBENZEN OG XYLENER (BTEX)	38

4.1	FYSISKE OG KEMISKE EGENSKABER	38
4.2	TYPISKE KONCENTRATIONER I JORD	38
4.3	BIOTILGÆNGELIGHED OG OPTAG I PLANTER	39
4.4	MIKROBIEL METABOLISME AF BTEX I RHIZOSFÆREN	39
4.5	METABOLISME I PLANTER	39
4.6	TOKSICITET FOR PLANTER	39
4.7	NYESTE FYTOREMEDIERINGSPROJEKTER	40
5	ALKANER	42
5.1	FYSISKE OG KEMISKE EGENSKABER	42
5.2	TYPISKE KONCENTRATIONER I JORD	42
5.3	BIOTILGÆNGELIGHED OG OPTAG I PLANTER	42
5.4	MIKROBIEL METABOLISME I RHIZOSFÆREN	43
5.5	METABOLISME I PLANTER	43
5.6	TOKSICITET FOR PLANTER	43
5.7	NYESTE FYTOREMEDIERINGSPROJEKTER	44
6	METHYL TERTIÆR-BUTYL ÆTER, MTBE	46
6.1	FYSISKE OG KEMISKE EGENSKABER	46
6.2	DANSKE FUND I GRUNDEVAND OG OVERFLADEVAND	46
6.3	NEDBRYDES MTBE AF PLANTER ?	47
6.4	MIKROBIEL METABOLISME	47
6.5	TOKSICITET FOR PLANTER	48
6.6	NYESTE FYTOREMEDIERINGSPROJEKTER	48
7	DISKUSSION	50
8	STIKORDSREGISTER	51
9	LITTERATURLISTE	44

Bilag A: Forkortelser

Bilag B: Alfabetisk oversigt over nævnte planter

Bilag C: Tabel over udvalgte fyto remedieringsprojekter

Forord

Dette projekt er udført under Teknologiudviklingsprogrammet for jord- og grundvandsforurening. Projektet omhandler en gennemgang og vurdering af den publicerede litteratur om emnet. Fytoremediering er en teknologi til at oprense lokaliteter for forurening ved hjælp af planter. Der er dels lagt vægt på at udrede begreber og redegøre for relevante processer, og dels er der lagt vægt på at opridse de seneste års udvikling på området og de resultater, der er opnået. Der beskrives både laboratorieforsøg og feltforsøg.

Projektet omhandler olie- og tjæreprodukter. Således er der medtaget afsnit om PAH, BTEX, alkaner og desuden et mindre afsnit om MTBE, da dette stof også er en problematisk bestanddel i benzin. Denne fokusering i projektet betyder ikke, at man kun bruger fytoremediering til oprensning af organisk forurening, da teknologien ligeledes er forsøgt anvendt til at oprense uorganiske forbindelser herunder tungmetal. Det er også bevidst undladt at fokusere på oprensning af andre organiske stoffer, så som pesticider, selvom teknologien er anvendelig til formålet. Sidst i projektet opridses perspektiverne for den fremtidige forskning og der redegøres dermed også for, hvor der er huller i den nuværende viden.

Arbejdet med dette projekt er et samarbejde mellem Afdeling for Mikrobiel Økologi og Bioteknologi på Danmarks Miljøundersøgelser og Institut for Miljøteknologi på Danmarks Tekniske Universitet. Tak til Steward Strand, University of Washington, for hjælp med afsnit om MTBE.

Sammenfatning og konklusioner

Fytoremediering er en eksperimentel bioteknologi, som har til formål at rense forurenede jord og grundvand ved hjælp af planter. De planter, der har været mest anvendt til formålet, er træer (poppel og pil), græsser (især rajgræs) og bælgplanter (især lucerne). Planterne ændrer de fysiske, kemiske og biologiske forhold i rodzonen. De påvirker vandbalancen gennem deres transpiration. Forskellige typer af organisk forurening har vist sig at kunne elimineres fra jorden ved hjælp af planter. De pågældende oprensningsmekanismer varierer fra mikrobiel nedbrydning til optag i planter og afdampning. I mange tilfælde er den gældende mekanisme ikke identificeret med sikkerhed. Ved hjælp af matematiske modeller er det dog muligt at pege på en sandsynlig hovedårsag til elimineringen. De bestemmende faktorer i disse modeller er stoffernes fysisk-kemiske egenskaber.

De fleste studier af fytoremediering er blevet udført i USA, men der er dog også lavet undersøgelser i Danmark og andre europæiske lande. Selvom fytoremediering er en *in situ* teknik, er der ikke ét enkelt *in situ* forsøg, som har vist en remedieringsproces med start fra forurenede jord og slutresultatet ren jord (ren i betydningen: opfylder jord-kvalitetskriterierne). Tilsyneladende er teknologien endnu nyere end det tidsrum, der er påkrævet for en komplet remediering. Dette giver et hul i den nuværende viden, eftersom laboratoriekontroller af jord ikke er ubehandlede (jorden er blevet bearbejdet), og derfor vil nedbrydningen uden tilstedeværelse af planter foregå hurtigere end ved *in situ*. På den anden side er det muligt, at vegetationens effekt på nedbrydningen er overestimeret i laboratoriemodeller, eftersom biotilgængeligheden *in situ* er mindre, hvilket skyldes kontaminanternes alder, en større sorption samt en uens rumlig fordeling i jorden. Indtil resultater fra *in situ* er tilgængelige, kan resultatet af fytoremediering ikke forudsiges med sikkerhed.

Kun meget få undersøgelser omhandler oprensning af BTEX og kortkædede alkaner. Disse forbindelser er ikke vedvarende i miljøet og kan hurtigt nedbrydes af bakterier, hvis iltforsyningen er tilstrækkelig. Vegetation vil øge eliminationshastigheden af BTEX gennem en øget lufttilførsel i jorden samt ved planteoptag og ved afdampning fra planter.

Elimineringen af MTBE, en forbindelse der er sværere at omsætte, kan stimuleres af vegetation, hvor den primære omsætningsrute er planteoptag og evapotranspiration. Hvis afdampning af MTBE til atmosfæren anses for at være miljømæssigt acceptabel, kan denne forbindelse være en lovende kandidat for fytoremedieringsprocesser, eftersom planter kan fungere som pumper, der fjerner MTBE-forurenede vand. Begrænsningen for denne teknologi er naturligvis den maksimale dybde for pælerødder.

I flere projekter er det beskrevet, at eliminationshastigheden for PAH fra jord kan accelereres med beplantning. Elimineringen af de lavmolekylære PAH-forbindelser, som også er lettest bionedbrydelige, er signifikant forøget af vegetation. Derimod er fjernelsen af de højmolekylære PAH-forbindelser, som f.eks. benzo(a)pyren, der er bio-utilgængelige og mindre bionedbrydelige, kun forstærket af vegetation i meget få tilfælde.

Olieforurening i de øverste jordlag kan tilnærmelsesvist reduceres med 40% på to år. Særligt ved oliespild er der blevet set en nedbrydning ved hjælp af bakterier, der lever på rødderne af *Compositae* planter (kurvblomstfamilien).

En af de største ulemper ved fyto Remediering er, at den kræver lang tid: i størrelsesordenen år. For det første varer etableringen af vegetativt dække mindst én vækstsæson, og målelige effekter bør ikke forventes at kunne registreres, før det andet år. For det andet kan hastighederne for fjernelse af forurening fra jorden i alle tilfælde forventes at være så små, at det vil vare adskillige vækstsæsoner, før jorden opnår en kvalitet, som kan opfylde kvalitetskriterierne for ren jord.

En anden principiel begrænsning for fyto Remediering er relateret til planters rod dybde. I praksis bør man vælge den planteart, der får rødder, der når ned i den dybde, som forureningen befinder sig i. Det betyder, at træer og lucerne vil være egnede til dybereliggende forurening. Den maksimale dybde for effektiv jordrensning må anses at ligge omkring 2 meter. I fremtiden er det dog tænkeligt, at vandopløselige forbindelser som MTBE og BTEX kan vise sig at være mulige at ekstrahere med pælerødder, som rækker 10 meter ned i jorden.

Der ser ikke ud til at være en biologisk forlignelighed for forskellige plantearter overfor de enkelte grupper af kemiske kontaminanter. Derfor bør valget af planteart til et fyto Remedieringsprojekt styres af agronomiske overvejelser og kendskab til rod dybder. Alle hidtidige virkningsfulde fyto Remedieringsstudier har udnyttet lokalt dyrkede afgrøder eller skovbrugsplanter, eller alternativt: vilde planter tilpasset til jord og klima. I Danmark er pil den hurtigst voksende plante, men denne plantes vækst kan begrænses af utilstrækkelig vandforsyning på visse lokaliteter. I så fald kan man overveje at benytte pilens nære slægtning, poppeltræet. Adskillige succesfulde Remedieringsprojekter med PAH-forurening ser dog ud til at pege på lucerne som en brugbar plante-kandidat.

Summary and conclusions

Phytoremediation is an experimental biotechnology for cleaning polluted soil and groundwater. Plants mainly used are trees (poplar, willow), grasses (ryegrass) and legumes (alfalfa, *Medicago sativa*). The plants change the physical, chemical and biological conditions in the soil surrounding their roots, and impact the site's water balance through their transpiration. Various organic pollutants have been shown to be eliminated from soil using plants. The mechanisms responsible range from enhanced microbial degradation to plant uptake and volatilization, and have not been identified in all cases reported. However, mathematical modelling allows to pinpoint the main route of contaminant elimination, their physico-chemical properties of the individual contaminant being the decisive parameters.

Most of the studies have been performed in the US, but work has also been done in Denmark and other European countries. Although phytoremediation is an *in situ* technique, not a single controlled *in situ* study has shown remediation starting from "contaminated" down to "clean" (meeting soil quality criteria). Apparently the technology is still younger than the time span required for complete remediation. This leaves an important gap of knowledge, as laboratory "controls" are not nontreated (soil has been manipulated) and, therefore, degradation in the absence of plants will be faster than *in situ*. On the other hand, the effect of vegetation may also be overestimated in laboratory models, as bioavailability *in situ* is less, due to the contaminants' age, higher sorption and uneven spatial distribution. Until results from *in situ* studies are available, the outcome of phytoremediation cannot be predicted with certainty.

Only a few studies target the phytoremediation of BTEX and light-chain alkanes. These compounds are not persistent in the environment and can be quickly degraded by bacteria, if oxygen supply is sufficient. Vegetation will accelerate elimination of BTEX by improving aeration, and by uptake and volatilization.

The elimination of MTBE, a quite recalcitrant compound, can be stimulated by vegetation, the major route of dissipation being plant uptake and evapotranspiration. If volatilization of MTBE is considered environmentally acceptable, this contaminant may be the most promising candidate for phytoremediation, as plants simply serve as a pump removing the contaminated water. The limitation of the technology is, of course, the maximum depth of tap roots.

In numerous projects, accelerated elimination of PAH from soil in the presence of vegetation has been shown. The elimination of the low molecular weight PAHs, which also are more biodegradable, is significantly enhanced by vegetation, while the removal of high molecular weight PAHs (e.g., benzo(a)pyrene), which tend to be bio-unavailable and less biodegradable, was only improved in a few cases.

Oil pollution in top soil is approximately reduced by 40% in two years. In a particular oil spill on surface soil, degradation of the oil residues was by bacteria living on the roots of *Compositae* plants.

One of the major disadvantages of phytoremediation is that it requires large time spans in the order of years. For one, establishing a vegetation cover in the field takes at least one growing season, and measurable effects should not be expected before the second year. And secondly, removal rates shown have in all cases extrapolated to several seasons for reaching soil quality criteria.

Another principal limitation of phytoremediation relates the rooting depth of plants. In practice one would choose the plant species according to the depth of the contamination, e.g., grasses and other small plants for surface soil, deep-rooting species, e.g., trees and alfalfa, for subsoil contamination. The maximum depth of effective soil decontamination presently should be considered to be about 2 m. In the future, however, water-soluble compounds, e.g., MTBE and BTEX, may be shown to be extractable by tap roots, exceeding 10 m in depth.

There does not appear to be a biological "compatibility" of plant species to chemical contaminant classes. Therefore, the choice of plant for a phytoremediation project should be guided by agronomic considerations and rooting depth. All successful studies utilized locally grown crop or forestry plants, or wild plants adapted to soil and climate. In Denmark willow is the fastest growing plant, but may be limited by insufficient water supply at some sites, in which case its close relative, the poplar, should be considered. However, several successes with PAHs seem to point at alfalfa as the plant of choice.

1 Indledning

Fytoremediering er en eksperimentel teknologi til remediering af forurenede jord ved anvendelse af planter og hertil hørende mikroorganismer. (Fyto-: plante-, og remediere: gøre noget godt igen, (EPA, 2000)). Teknologien har generelt nogle fordele: Den er billig, den ser ud til at virke, den er *in situ* (dvs. kan anvendes uden at opgrave jorden), og den er "grøn" (Flathman og Lanza 1998, Schnoor et al. 1995). En særlig fordel ved fytoremediering, sammenlignet med andre teknologier, er, at jordens naturlige funktion opretholdes på den pågældende lokalitet, og liv i jorden genaktiveres. Efter "mere end halvandet årti med videnskabelige undersøgelser", er fytoremediering "på grænsen til kommerialisering" (Watanabe 1997), og den får et hurtigt stigende markedspotentiale (Flathman og Lanza 1998). For organiske forbindelser "eksisterer der dog endnu ikke tilstrækkelige data, der kan understøtte en kommerialisering" (Watanabe 1997), selvom der er kommerciel efterspørgsel. Fytoremediering siges at være bedst egnet til oprensning over store områder, med forurening i lave til middel koncentrationer i overfladejord.

Adskillige pilotprojekter om fytoremediering er blevet udført eller er i gang på nuværende tidspunkt (Schnoor et al. 1995, Newman et al. 1998, Flathman og Lanza 1998). Studierne inkluderer laboratorieforsøg, der skal klarlægge, hvad der sker med kemikalier i planter. Metabolisme, fytoafdamning og stabilisering anses for at være væsentlige processer i denne sammenhæng (Flathman og Lanza 1998).

2 Generelle aspekter: Planter, mikroorganismer og fytoremediering

2.1 Vegetationens effekt på forurennet jord

2.1.1 Transpiration

Udplantning af træer og andre planter har flere forskellige effekter på jorden og de kemiske forbindelser, der er her i. Lukket vegetation med træer har en større transpiration end blandinger af urter, græsser og buske, som vil udvikle sig i de første år af den naturlige succession (Larcher 1995). Større transpiration betyder reduceret infiltration (vandring af stof til grundvandet). Det medfører også et sænket grundvandsspejl og en mere gennemluflet jord. Evapotranspirations-delen af vandbalancen er omkring 2/3 for en løvskov i den tempererede zone og omtrent det samme for en nåleskov (Larcher 1995). Pil groet i det sydlige Sverige evapotranspirerede mellem 365 og 495 mm vand per år, hvilket svarede til mellem 60% og 85% af den gennemsnitlige årlige nedbør (Perrson 1995). I vinterhalvåret sker der dog ingen evapotranspiration, da der er tale om løvfældende træer.

2.1.2 Afdampning

Afdampning fra jord til luft er en væsentlig proces for flygtige forbindelser (Jury et al. 1983, 1987, 1990, Sanders & Stern 1994). Afdampningen kan reduceres med vegetation pga. den yderligere modstand, som planter og deres nedfaldne blade og løv giver mellem jordoverfladen og atmosfæren (Trapp & Matthies 1997). Planteoptag og translokering efterfulgt af afdampning er dog en potentiel rute til at fjerne visse forbindelser fra jord (se afsnit 2.3.6 om fytoafdampning).

2.1.3 Iltforsyning til jorden

Iltforsyning til jorden anses for at være den vigtigste begrænsende faktor for biologisk nedbrydning af størstedelen af organiske kontaminanter. Nogle planter ændrer jordmiljøet ved at skabe mulighed for ilttransport nedad (Grosse et al. 1996). Biologisk forstærket transport af ilt ned i iltfrie zoner kan være ganske effektiv: Tagrør, *Phragmites australis*, transporterer op til 11 L O₂ m⁻² h⁻¹ til sediment (Brix et al. 1996). Båndpil, *Salix viminalis*, er kendt for at kunne gro under forhold med periodisk eller permanent oversvømmelse (Ellenberg 1979, Jackson & Attwood 1996). Grunden til, at båndpil kan gro under disse forhold, er, at piletræer generelt er tilpasset til iltmangel i jorden ved hjælp af et ventilerende væv (aerenchyma), som har store intercellulære hulrum (op til 60%). Disse porer gør det muligt for ilten at diffundere nedad. Iltforsyning til rødderne via diffusion gennem jorden virker kun over korte afstande. Nogle arter, der kan gro i sumpområder (herunder pil, *Salix*), er i stand til effektivt at pumpe luft til aerenchyma porene ved at udnytte trykforskelle, der er forårsaget af solopvarmning (Grosse et al. 1996). Bævreasp, *Populus tremula*, har ligeledes evnen til at tilføre ilt til sine rødder (Grosse et al. 1992). Denne træart kan øge ilttilførslen med 44%

(sammenlignet med ilttilførsel via diffusion om natten). Nåletræet *Taxodium distichum*, som vokser i sumpområder, kan øge ilttilførslen med 77%, hvorimod lind (*Tilia*), birk (*Betula*), ask (*Fraxinus*) og løn (*Acer*) kun kan øge tilførslen med mindre end 20%.

2.1.4 Rodudsondringer

Udsondring fra planterødder er defineret som frigivelse af substanser fra roden til den omgivende jord, rhizosfæren. Denne frigivelse sker via diffusion langs en elektrokemisk gradient. Det er en almindeligt forekommende proces i alle levende planter (Curl & Truelove 1986).

Der er ikke helt overensstemmelse mellem jord-mikrobiologer og botanikere angående den præcise definition af rhizosfære. Rhizo- kommer fra det græske ord for rod, men "sfære" kan fortolkes på flere forskellige måder. En måde at definere rhizosfæren på er: Det volumen af jord, der sidder fast på rødderne. Mere specifikt kan den defineres som det lille område af jorden, der påvirkes af tilstedeværelsen af levende rødder; en påvirkning, der sker via lækage eller udsondring af substanser, som påvirker den mikrobielle aktivitet (Curl & Truelove 1986).

Udsondringen kan være gavnlig for planten af mange forskellige årsager, heriblandt tiltrækning af insekter, frastødning af herbivorer og forsvar mod infektion (Larcher 1995). Udsondringer kan både virke hæmmende og fremmende på mikrobiel vækst (Curl & Truelove 1986). Den gavnlige effekt opnås, f.eks. hvis udsondringen kan stimulere væksten af de bakterier, som kan nedbryde forurening i rhizosfærejorden. Dette menes at være tilfældet ved frigivelse af fenol-forbindelser, som fremmer væksten af PCB-nedbrydende bakterier (Fletcher & Hegde 1995).

Rodudsondringer fra planter kan også ændre opløseligheden af forbindelser, der ellers ville være uopløselige i jorden og fast bundne til partikler i jorden eller til planterødder. Kompleksbindende molekyler i udsondringen kan danne opløselige komplekser f.eks. med metalioner (Larcher 1995). Courgetter (*Cucurbita pepo*) og græskar (*Cucurbita maxima*), begge græskararter, kan opløse og optage lipofile stoffer som f.eks. polyklorerede dibenzodioxiner og -furaner (Huelster et al. 1994). Årsagen til dette er sandsynligvis et kompleksdannende protein, som findes i rod- og xylem-udsondring og også i plantesaft fra courgetter (Huelster & Marschner 1995, Neumann et al. 1996). I vedplanter er der fundet glykosid og glukuron konjugater af 1-hydroxypyren (Nakajima et al. 1996). Konjugater er det normale produkt af fase II reaktioner i planter (Komossa et al. 1995), og mange af dem er opløselige i jorden. Den ændrede opløselighed kan påvirke optag og transport ind i planter, men også nedbrydning i jord og transport til grundvand (Se også afsnit 2.2.1 om biotilgængelighed).

2.2 Begreberne omkring fyto Remediering

Fyto Remediering er blevet defineret som: „Anvendelsen af grønne planter og disses mikrobiota, jordtilsætninger, og agronomiske teknikker til at fjerne, indeholde eller uskadeliggøre uønskede kemiske stoffer i miljøet “ (Cunningham et al. 1996). Det vides, at planter kan optage mange forurenende forbindelser, især dem med middel lipofilitet og/eller svage elektrolytter (Briggs et al. 1982, Briggs et al. 1987, Trapp & Pussemier 1991, Burken & Schnoor 1998, Hsu et al. 1991, Trapp 2000). Fyto Remediering kan virke i kraft af mange faktorer, heriblandt vegetationens påvirkning af fysiske (vandbalance, transportprocesser), kemiske (redox potentiale, pH,

kompleksdannende stoffer) og biologiske (enzymmer, rødder, bakterier og svampe) parametre i jorden.

2.2.1 Biotilgængelighed

En stor udfordring, der må overkommes i fyto Remedieringsprojekter, er at sikre forureningens tilgængelighed for planter (især rødder) og bakterier (Alexander 1994).

2.2.1.1 Biotilgængelighed for mikroorganismer

Betegnelsen bioremediering er i litteraturen blevet anvendt om processen, hvor mikroorganismer i jorden omsætter forurening. Bioremediering kan derfor godt være en del af fyto Remedierings-processerne. For forbindelser med ringe opløselighed i vand er det diffusive flow af kontaminanter til bakterieceller begrænset (Koch 1990, Bosma et al. 1997, Harms & Zehnder 1994, Harms 1996, Harms & Bosma 1996, Rijnaarts et al. 1990, Volkering et al. 1993), og optagelsesgraden kan blive ubetydelig, hvis bakterierne ikke er i direkte fysisk kontakt med forureningen. I bioremedieringsprojekter er det blevet forsøgt at forøge bakteriers optag ved jævnligt at blande jorden rundt og derudover inokulere jorden med et stort antal bakterier. Mikrobiel nedbrydning i rhizosfærejord har fordele overfor ren bakteriel nedbrydning i utilplantet jord. Af disse fordele kan nævnes:

- Nedbrydende mikroorganismer og kontaminering bringes i tættere kontakt
- Øget biotilgængelighed gennem opløsning af kontaminanter via stoffer i rodudsøndringen eller via overfladeaktive stoffer dannet af rhizobakterier
- Øget tilstrømning af kontaminanter til rodens overflade gennem et øget vandforbrug
- Øget diffusion forårsaget af tilstedeværelsen af makroporer og luftfyldte porer

2.2.1.2 Biotilgængelighed for rødder

En forudsætning for succesfuld nedbrydning i rhizosfæren er et godt rodnet, da rodtykden bestemmer den jorddybde, hvori fyto Remedieringen kan ske. Sædvanligvis befinder rødder sig mest i de øverste jordlag. Det er sjældent at finde rødder under 3 meters dybde. Ifølge Dobson & Moffat (1995) er den gennemsnitlige rodtybde for træer 1–2 m (poppeltræer 0,8–2,43 m), hvilket er meget mindre end det almindeligvis forventes, og næsten 90% af antallet af alle træer rødder befinder sig i de øverste 60 cm af jorden. Ringe gennemluftning af jorden vil medføre en mindre roddensitet. Selvom piletræer kan overleve permanent oversvømmelse og vandmættet jord, vil rødderne ikke gro dybere ned i grundvandet (Larcher 1995), og over 60% af de tyndeste rødder vil ikke ligge dybere end 20 cm (Rytter & Hansson 1996). Der findes dog teknikker, hvormed man kan tvinge rødderne til at vokse dybere ned i jorden, f.eks. gennem en tildækning af jorden, hvilket medfører udtørring i de øvre jordlag, eller ved at vikke plastictape omkring stiklinger, før de plantes ud (Lars C. Larsen, Hedeselskabet, personlig meddelelse).

'Effektiv rodtybde' defineres som dybden med en rodtæthed større end 0,1 cm rod/cm³. For pil blev den målt på grovsandet jord og lerblandet sandjord til henholdsvis 65–95 cm og 115–125 cm (Mortensen et al 1998, Jørgensen & Schelde 2001). Der er dog enkelte rødder, som går dybere. Iritz (1996) angiver rodtykden af pil (ikke nærmere defineret) til 50 cm i begyndelsen af vækstsæsonen stigende til 1,3 m per 1. juli.

Det er oplagt, at planter med dybtvoksende rødder ville være at foretrække til *in situ* fyto Remediering af organisk kontaminering, fordi denne oftest findes flere meter under overfladen. Derudover ville det være at foretrække at

benytte flerårige planter. Almindelige træer, buske eller afgrøde planter ville være fordelagtige m.h.t. tilgængelighed af frø eller stiklinger.

Udover rodtybden kan rodens struktur være en bestemmende faktor for resultatet af en remedieringsproces. I et studie af PAH nedbrydning i rhizosfærejord blev det konkluderet, at et meget forgrenet rodnet med tynde rødder tilsyneladende var mere effektivt end pælerødder til at øge nedbrydningen (Schwab et al. 1995).

Det er muligt at få planter til at øge deres antal af tynde rødder. Dette er vist med polejmynte (*Mentha pulegium*). Disse planter blev inokulerede med *Agrobacterium rhizogenes* (Kalidas Shetty, personlig meddelelse). Det samme er blevet observeret for johannesbrød træ *Robinia pseudoacacia* L. (Han et al. 1993). Hårfine rødder blev dannet udfra segmenter inokuleret med *Agrobacterium rhizogenes* R1601 på under en uge.

Opsamlende kan det påpeges, at der er en mangel på viden om planteroddybde. Det er mest agronomer, der beskæftiger sig med afgrøde planter som korn og kartofler, der har undersøgt emnet. For træer peger de få undersøgelser, der findes, på, at de fleste træers rodtybde er yderst ringe for størsteparten af roden. Dette udelukker dog ikke, at nogle træarter har rødder i dybereliggende jordlag. Indtil dette er blevet nøjere undersøgt, må det dog antages, at omkring 2 m dybde er grænsen for rhizo- og fytonekbrydning. Hydraulisk kontrol er dog mulig til større dybder, eftersom flere forskere har påpeget, at de har fundet pælerødder fra forskellige planter i forbavsende dybder, f.eks. lucernerødder ned til 18 m (G. Gissel-Nielsen, personlig meddelelse) og tilsvarende dybder for individuelle tilfælde for andre planter (tabel 1).

Tabel 1: Maksimal rodtybde for forskellige plantearter (EPA, 2000). Må ikke forveksles med den generelle rodudbredelse.

Plante	Rod, maksimal dybde i jorden
Bælgplanter: lucerne	Generelt: 1,2–1,8 m, maksimalt ned til 9,2 m; ifølge Kutschera (1960): generelt 1–4 m, vild lucerne (Kutschera et al., 1992): op til 4 m.
Græsser	Fibrøse rødder ned til 2,5–3,0 m; ifølge Miljøstyrelsen (2001b) dog generelt op til 1m
Buske	For freatofytiske*: ned til 6 m
Træer	Poppel: 4,5 m; "mesquit" (<i>Prosopis</i>) pælerødder: 12–30 m; flod birk pælerødder: 27–30 m; pil: til det øvre grundvandsspejl (maksimal dybde ikke afgjort); poppel ifølge Macpherson (1995): 28 m.
Serapta sennep	Generelt: 15–23 cm, maksimalt: ned til 30 cm

* freatofytisk betyder, at rødderne kan nå grundvandet (Jordahl et al., 1997)

Det ser ud til, at planterodens morfologi er kraftigt påvirket af miljømæssige forhold. Nogle af disse faktorer kan favorisere at bringe rødderne i nærheden af kontaminering, mens andre faktorer kan have den modsatte effekt. Størstedelen af de hårfine rødder forventes at være i den jordzone, som er fugtig og næringsrig. Dette er sædvanligvis de øverste jordlag af landbrugsjord, men ikke nødvendigvis på forurenede jord. Enkelte pælerødder til at sikre vandforsyning må nødvendigvis nå ned til overfladen af grundvandsspejlet, hvilket vil sige ca. 2–20 m, men disse rødder vil ikke sprede sig så meget ud i jorden. Eftersom det meste forurening forekommer

ujævnt fordelt i jorden, er det muligt, at planterødderne vil prøve at undgå den kontaminerede jord, hvis denne er toksisk for planten. Pælerødder vokser dog overvejende i revner og sprækker pga. den mindre mekaniske modstand. Hovedparten af de i moræneler udsivende stoffer på olie- og tjæreforurene lokaliteter befinder sig ligeledes i sprækkerne (Klint & Fredericia 1995, Jakobsen & Klint 1999). Dette bør medføre, at de dybe rødder vokser i umiddelbar nærhed af de dybtliggende jordforureninger.

2.2.2 Rhizosfære mikrobiota

Rhizosfæren er en zone med høj mikrobiel aktivitet (Cunningham et al. 1996). Bakterier vokser i kolonier, der dækker 4 til 10% af rodens overflade (Shimp et al. 1993). I rhizosfæren er antallet, diversiteten og størrelsen af bakterierne større end i den øvrige jord, hvilket formodentlig afspejler deres bedre ernæring (Campbell & Greaves 1990). Per vægtenhed af jord indeholder rhizosfæren af de fleste planter typisk 10 til 20 gange så mange bakterier som den omgivende jord, men der kan være helt op til 100 gange så mange (Bazin et al. 1990). Som eksempel på dette er det vist, at mikrobielle koncentrationer af denitrificerende bakterier, pseudomonader og monoaromatiske kulbrinte-nedbrydere var signifikant højere i jordprøver fra rhizosfæren af poppeltræer end i den nærliggende landbrugsjord (Jordahl et al. 1997). Dette formodes at være forårsaget af bakteriel vækst på rodudsodringer (Boyle & Shann 1995), som dannes af unge rødder. Estimerer for den årlige produktion af rhizoaflejring (substanser, der kommer fra henfald af dødt plantevæv) og rodudsodringer varierer fra 7 til 27% af den totale producerede plantemasse (Moser & Haselwandter 1983). Da rodudsodringer primært ikke dannes som respons på stimuli men nærmere er et resultat af rodcellelækage, er udsondringernes kemiske sammensætning udefinerbar og mangfoldig, hvilket afspejler planternes primære og sekundære metabolisme. Primære metabolitter (kulhydrater, aminosyrer) kan forstærke den uspecifikke heterotrofe mikrobiota (Newman 1985), hvorimod de sekundære metabolitter (fenoler, terpenoider, steroider) tilsyneladende er i stand til specifikt at stimulere aktiviteten af bakterielle nedbrydere. F.eks. er det vist, at fenoler er i stand til at stimulere aktiviteten af PCB-nedbrydende bakterier (Fletcher & Hegde 1995), og planteafledte terpenoider som l-carvon (der dannes af grøn mynte, *Mentha spicata*) kan være gavnlige for at øge nedbrydning af PCB ved hjælp af *Arthrobacter*. Stimuleringen formodes at være baseret på strukturel analogi mellem plantens metabolitter og kontaminanter (Gilbert & Crowley 1997, Boyle & Shann 1995, Siciliano & Germida, 1998). Man kunne forestille sig, at bakterielle nedbrydere kunne blive hæmmet af katabolitter i et miljø med god forsyning af kulstof (Yuste et al. 1998). Selvom højt bakterietal i rhizosfæren er blevet beskrevet mange gange i litteraturen, står det mindre klart, om den metaboliske aktivitet er højere i rhizosfærejord end i den omgivende jord. Nogle undersøgelser af den cellulære aktivitet af *P. fluorescens* har indikeret, at den metaboliske aktivitet hos rodkoloniserende bakterier er lav (sammenlignelig med aktiviteten hos sultede celler) (Normander et al. 1999). I jord vil bakterielle nedbrydere, specielt i sultet tilstand, ikke omsætte en enkelt kulstofkilde ad gangen, men er derimod i stand til samtidigt at nedbryde sukkerstoffer og miljøfremmede stoffer (Bally et al. 1994, Egli 1995, Kovarova et al. 1997). Matematisk modellering af kulstofstrømning i en typisk forurennet jord viser, at nedbrydning af forurening alene (pga. den ringe masseoverførselshastighed) ikke er nok til at understøtte vækst og vedligeholdelse af en stor biomasse af mikrobielle nedbrydere (Harms 1999).

2.2.3 Optag af organiske stoffer i planter

2.2.3.1 Rodkoncentrationsfaktor, RCF

Optag af organiske forbindelser i rødder afhænger af egenskaberne for stoffet og planten. Generelt sker optaget hurtigt, indtil ligevægt er opnået. Ligevægten er blevet beskrevet med rodkoncentrationsfaktoren (RCF) (Shone & Wood 1974):

$$RCF = \frac{\text{Koncentration i rod (g/g)}}{\text{Koncentration i opløsning (g/mL)}}$$

Enheden for RCF er ud fra denne definition: mL opløsning optaget per g rod. Når optaget sker fra en vandig opløsning (f.eks. i forsøg med hydroponiske opløsninger som vækstmedie), vil RCF for ikke-elektrolytter stige med værdien af $\log K_{ow}$. Ved kemisk ligevægt vil koncentrationerne af lipofile forbindelser i rødderne være tusind gange højere end i det omgivende vand. K_{ow} er fordelingskoefficienten mellem n-oktanol og vand (koncentration i oktanol divideret med koncentration i vand). Afhængigheden af $\log K_{ow}$ kan forklares med lipofil adsorption af stoffet til plantens lipider i røddernes endodermis-celler. Begrebsmæssigt er rodoptag forskellig fra translokering til ledningsvævet (xylemet) (Shone & Wood 1974).

Når optag sker fra jord, vil koncentrationerne i rødderne sjældent overstige koncentrationerne i jorden, fordi adsorption til rodlipider konkurrerer med adsorption til humuspartikler. Disse har en adsorptionskapacitet, der ligner røddernes, hvilket ikke er overraskende, eftersom de er udviklet primært af plantepolymerer. Ved kemisk ligevægt vil koncentrationerne i rod og jord derfor være ens. Kemisk ligevægt opnås dog kun for de tynde rødder, ikke for de tykke rødder eller for rodfrugter som f.eks. gulerod (se figur 5 i afsnit 3.5), idet stofferne ikke trænger ind igennem de yderste cellelag (Trapp 1995).

2.2.3.2 Transpirations-strømnings-koncentrations-faktor, TSCF

Translokering ind i plantens skud kan beskrives med transpirations-strømnings-koncentrations-faktoren, TSCF:

$$TSCF = \frac{\text{Koncentration i xylem saft (kg/m}^3\text{)}}{\text{Koncentration i opløsning (kg/m}^3\text{)}}$$

Denne faktor er uden enhed, da den beskriver et volumen opløsning per volumen af xylem-saft. TSCF repræsenterer ideelt set koncentrationsforholdet mellem xylem-saften og den eksterne opløsning. Eftersom dette er vanskeligt at måle direkte, bestemmes TSCF ofte eksperimentelt ud fra den stofmasse, der translokeres til plantens skud (Shone & Wood 1974):

$$TSCF = \frac{\text{Mængde i skud (g)}}{\text{Koncentration i opløsning (g/mL) * transpire ret volume n af vand (mL)}}$$

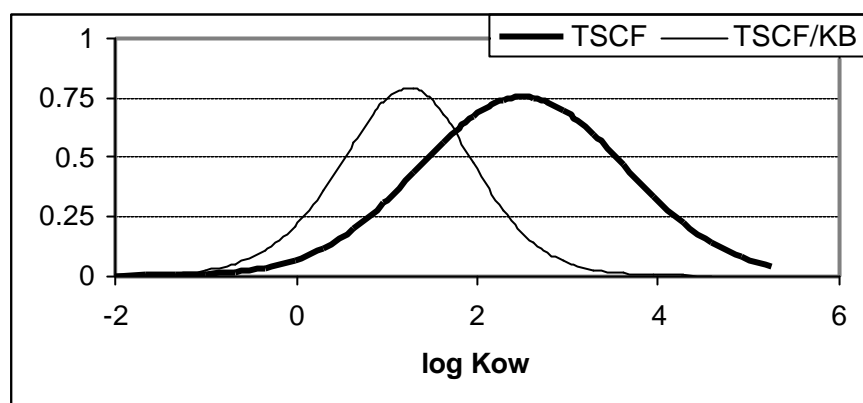
I denne model er det antaget, at der ikke sker hverken nedbrydning eller andre tab fra skuddene i løbet af måleperioden, og at transporten tilbage til rødderne er ubetydelig. Hvis dette alligevel foregår, er det nødvendigt at korrigere de eksperimentelle data.

Translokeringen af ikke-dissocierbare kemikalier er mest effektiv for forbindelser med middel lipofilitet (Briggs et al. 1982). En regressionsformel

for TSCF for poppeltræer er udarbejdet af Burken og Schnoor (1998) (vær opmærksom på en fejl i originalartiklen):

$$\text{TSCF} = 0.756 e^{\left\{-(\log K_{ow} - 2.50)^2 / 2.58\right\}}$$

For at få udtrykt koncentrationsforholdet mellem xylem og jord, må man dividere TSCF med fordelingskoefficienten mellem jord og vand, her kaldet K_B . Lipofile forbindelser med en høj $\log K_{ow}$ adsorberes til jord og vil ikke opløses i vand. Derved vil optimum på figur 1 flyttes mod venstre (figur 1).



Figur 1: TSCF og TSCF/ K_B (xylem i forhold til jord) relateret til $\log K_{ow}$; regressioner udført af Burken & Schnoor (1998) og Karickhoff (1981).

RCF og TSCF for elektrolytter afhænger af pH i den eksterne opløsning (Shone & Wood 1974, Briggs et al. 1987, Rigitano et al. 1987, Inoue et al. 1998). Dette skyldes pH-forskelle mellem den eksterne opløsning og planteceller. Hvis et molekyle dissocierer i det fysiologisk relevante interval, vil det påvirke både optageshastigheden og -niveauet. Generelt vil optag af svage baser øges med den eksterne pH, mens optag af svage syrer vil sænkes. Modellen bør derfor ikke benyttes til dissocierede forbindelser. En model, der kan benyttes for elektrolytter, er blevet publiceret for nyligt (Trapp 2000).

2.2.3.3 Overførselsfaktor, (transfer factor) TF

Overførselsfaktoren, TF, er defineret som koncentrationsforholdet mellem plantevæv på høsttidspunktet divideret med koncentrationen i vækstmediet. Ofte er koncentrationen i planter på høsttidspunktet relateret til den initiale eller den nominelle koncentration i jord eller opløsning. I så fald kan den reelle overførselsfaktor blive underestimeret. Desuden er TF ofte givet for tørvægt, som er større end for våd vægt af planterne. I almindelighed har overførselsfaktoren ikke noget at gøre med kemisk ligevægt, men refererer sædvanligvis til steady-state situationer (balance mellem optag og frigivelsesprocesser).

2.2.3.4 Hvem nedbryder – plante eller bakterie?

Ud fra fysisk-kemiske data kan der drages nogle konklusioner angående hvilke kemiske forbindelser, der vil blive påvirket mest af planter tilstedeværelse i en forurenede jord. De relativt vandopløselige forbindelser, som har en relativt høj TSCF/ K_B (figur 1), vil forholdsmæssigt hurtigt blive optaget med transpirations-strømmingen, og vil blive ført opad mod stænglen/stammen og bladene. Der kan de enten blive akkumuleret, omdannet, nedbrudt, eller afdampet fra bladene. Sidstnævnte proces afhænger af damptrykket. Planter kan også påvirke de mere lipofile forbindelser, som ikke føres op i planten. Disse forbindelser kan i stedet blive adsorberet til eller optaget i

rødderne, forudsat at forbindelsen er biotilgængelig. I så fald vil plantens metabolisme konkurrere med mikroorganismernes. Hvis man antager, at biomassen af rødder og mikroorganismer er omtrent ens, bliver det et spørgsmål om nedbrydningshastigheder, hvilken organisme, der vil dominere nedbrydningsprocesserne. Hvis nedbrydningen inden i planten er hurtigere end den mikrobielle nedbrydning i jorden, vil der være en konstant koncentrationsgradient mellem inder- og ydersiden af rodcellerne. De forurenende molekyler vil diffundere langs denne gradient, enten i vandfasen eller i gasfasen. Diffusion i gasfasen er ca. 10000 gange hurtigere end i vandfasen. Derfor, hvis fordelingskoefficienten mellem luft og vand, K_{AW} , er større end 10^{-4} , vil diffusion i gasfasen normalt dominere transporten. Der kan kun siges lidt om nedbrydningshastigheden i planterødder sammenlignet med hastigheden for mikrobiel omsætning. Årsagen til dette er, at de rent eksperimentelt er så godt som umulige at skelne. Under reduceret iltryk (anoxiske forhold) vil plantens metabolisme ikke spille nogen rolle. Planter kan overleve under sådanne forhold i en hviletilstand, men de er ikke metabolsk aktive (Jackson & Attwood 1996). Tabel 2 viser nogle tilfælde, hvor det kunne dokumenteres, at enten planter eller bakterier forårsagede nedbrydningen.

Tabel 2: Dokumenterede tilfælde hvor enten planter eller bakterier er blevet identificeret som nedbrydere af forurening i et fytoremedieringsprojekt.

Forbindelse	Skala	Nedbryder	Kilde
TCE, triklorethen	Pilotprojekt	Poppel	Newman et al. (1999)
Råolie	Stor feltskala	Bakterier, der gror på planterødder	Radwan et al. (1995)
Cyanid	Laboratorieforsøg	Pil	Trapp og Christiansen (2001)

2.2.4 Erfaringer med fytoremediering

Den lange tabel, der udgør bilag C viser udvalgte resultater fra fytoremedieringsprojekter med organisk forurening, især med vægt på PAH'er, olie-kulbrinte og forbindelser i bilbrændstof. Den angivne mekanisme, hvis der er angivet en, kan godt være én ud af flere.

2.3 Forskellige fytoremedieringsteknikker

Adskillige fytoremedieringsteknikker er blevet beskrevet (EPA 2000, Lombi & Wenzel 1999, Flathman & Lanza 1998): Fytoekstraktion, rhizofiltrering, fytostabilisering, rhizonekbrydning, fytonekbrydning, fytoafdampning, hydraulisk kontrol, vegetativt dække og bufferstriber. Alle disse teknikker er baseret på ekstraktion, tilbageholdelse i planten, nedbrydning eller en kombination af disse. Beskrivelserne af de forskellige teknikker bør ikke opfattes som fuldstændigt forskellige, da der kan forekomme overlap af betydninger.

2.3.1 Fytoekstraktion

Betegnelsen for optag (translokering) og akkumulering af forurenende forbindelser er fytoekstraktion. Denne teknik anvendes mest til oprensning af

tungmetal. Kontaminanterne fjernes fra en foruren lokalitet, når planterne, som har groet i den forurenede jord, høstes (EPA, 2000).

2.3.2 Rhizofiltrering

Rhizofiltrering involverer adsorption af kontaminanter til rødder, eller deres udfældning i rodzonen. F.eks. kan tungmetaller eller lipofile forbindelser ekstraheres fra vand med denne teknik (EPA, 2000).

2.3.3 Fytostabilisering

Fytostabilisering beskriver immobilisering af forbindelser i jorden, eller stabilisering af jorden i sig selv for at hindre jorderosion. Immobilisering kan gøres ved at fjerne transportvejene: vand eller vind. Immobilisering kan også opnås ved, at kontaminanterne kemisk ændres fra en opløselig form til en uopløselig (udfældning i rodzonen). Kontaminanterne kan også blive bundet til jordens humuspartikler eller til lignin i plantecellevæggen. Endelig kan immobiliseringen skyldes en adsorption til planterødder (EPA 2000, Cunningham et al. 1996).

2.3.4 Hydraulisk kontrol

En særlig slags fytostabilisering, som ikke inkluderer ekstraktion af forurenende forbindelser fra jorden, er hydraulisk kontrol. Denne teknik bruges til at påvirke niveauet eller bevægelsen af grundvand, overfladevand eller vand i jorden. Hydraulisk kontrol er fjernelse af vand via plantens normale optag, for at hindre udsivning, vandring og dermed spredning af kontaminering (EPA 2000).

2.3.5 "Pump and tree"

En af de almindeligt anvendte remedieringsteknikker til grundvand er "pump og rens" (pump and treat): Oppumpning af vand med efterfølgende teknisk rensning (stripning, adsorption, bioreaktor osv.). En ny idé er at bruge det oppumpede vand på tidspunkter med negativ vandbalance (sommer) til vanding f.eks. af et skovområde. Teknikken er også blevet benævnt "Træmediering" (Gatliff 1994). En hektar piletræer kan transpirere op til 3000 m³ vand gennem juli måned (Larcher 1995). Skovjord har en høj metabolisk kapacitet og kan måske nedbryde mange forbindelser relativt hurtigt. Derfor kan i det mindste noget af vandet renses ved hjælp af træer. Kemikalier, som kan oprenses fra grundvand på denne måde, er organiske opløsningsmidler (f.eks. triklorethen), MTBE, olieprodukter, næringsstoffer og muligvis flere endnu. Nogle forhold er endnu ikke afklarede. F.eks. kender man ikke den optimale dosering af vand (skovdød forårsaget af toksiske effekter bør undgås).

2.3.6 Fytoafdampning

Efter optag i planter kan kontaminanterne i nogle tilfælde (afhængig af forbindelse og plante) blive transporteret til plantedele over jorden, blive metaboliseret, opbevaret eller fordampe fra bladene (Trapp 1995). Processen har vist sig relevant for *m*-xylene (Trapp & Christiansen 2001), klorbenzen (Baeder-Bederski et al. 1999), triklorethen (Orchard et al. 2000) og andre flygtige forbindelser (Burken & Schnoor 1998), og selv organisk bundet kviksølv (EPA 2000). Teknikken er relevant for alle forbindelser, som hurtigt translokeres ($\log K_{ow} < 3.5$), og som har et højt damptryk eller en høj Henrys

lov-konstant (enhedsløs $K_{AW} \gg 10^5$). Afdampning flytter kun forureningsproblemet fra et sted til et andet, og den kan derfor opfattes som en uønsket sideproces. De resulterende koncentrationer i atmosfæren er dog normalt ikke over baggrundsniveauet i byområder (Trapp et al. 2000a). Translokering gennem planten, og dermed også afdampning, sker hovedsageligt, når solen skinner, hvilket giver mulighed for fotolyse.

2.3.7 Fytonebrydning

Fytonebrydning er metabolisme i planter. Omsætningen kan ske internt i planten, efter at forbindelsen er optaget fra jorden. Den kan også ske eksternt, eftersom bl.a. enzymer, der produceres af planten, kan muliggøre nedbrydning ude i jorden (Cunningham et al. 1996). Velegnede kandidater til fytonebrydning er moderat hydrofobe, organiske forbindelser med log K_{ow} mellem 0,5 og 3, da disse forbindelser let optages og translokeres i planter (Schnoor et al. 1995, Cunningham et al. 1997). Identificering af metabolitter i planten bekræfter, at omsætning af forureningen er en realitet.

2.3.8 Rhizonebrydning

Rhizonebrydning er defineret som nedbrydningen af organiske forbindelser i jorden gennem mikrobiel aktivitet, som er forøget pga. rodzonen (EPA 2000). Rodudsondringer fra planter påvirker (og øger i flere tilfælde) den mikrobielle aktivitet i nærheden af rødderne. De fleste planter lever i symbiose med bakterier og/eller svampe. Mikroorganismetætheden omkring rødderne er meget større end i jord uden rødder (Crowley et al. 1997). Mikroorganismer kan også migrere til dybereliggende jordlag, mens de sidder fast på planterødder. Fyto- og rhizonebrydning anvendes til oprensningen af organisk kontaminering, heriblandt forurening med olie, PAH, BTEX, TNT, klorerede opløsningsmidler og pesticider (EPA 2000, Newman 2000).

2.3.9 Andre teknikker

En rensningsmetode, der er baseret på nedbrydning i rodzonen, er landfarming med bestemte afgrøder. Denne metode kan f.eks. bruges til olieforurenede slam. Slammet hældes på jorden, marken gødes og lucerne, *Medicago sativa*, eller græs (som regel rajgræs, *Lolium*) sås ud. Affaldsdepoter er ofte tilplantet med græs, både fordi det ser bedre ud, men også for at hindre erosion (altså en form for vegetativt dække). Andre gavnlige aspekter af tilplantningen: Forurening af grundvand reduceres, og mindre mængder udslippende gas kan adsorberes af planterne (større mængder gas er toksiske for planter) (EPA 2000). Kun i få tilfælde tillader myndighederne at tilplante med træer, på trods af at træer kan transpirere mere. Det frygtes, at rødderne kan gennemtrænge dækkende membraner under affaldsdepoter og derved skade dem. I følge Dobson og Moffat (1995) er der ingen basis for disse bekymringer.

Tilplantning med træer langs med floder som bufferstriber er ikke nogen ny idé. Det vides, at disse striber skaber barrierer for afløb af næringsstoffer fra landbrugsjord (EPA 2000).

2.4 Kriterier for anvendelse af fytoremediering

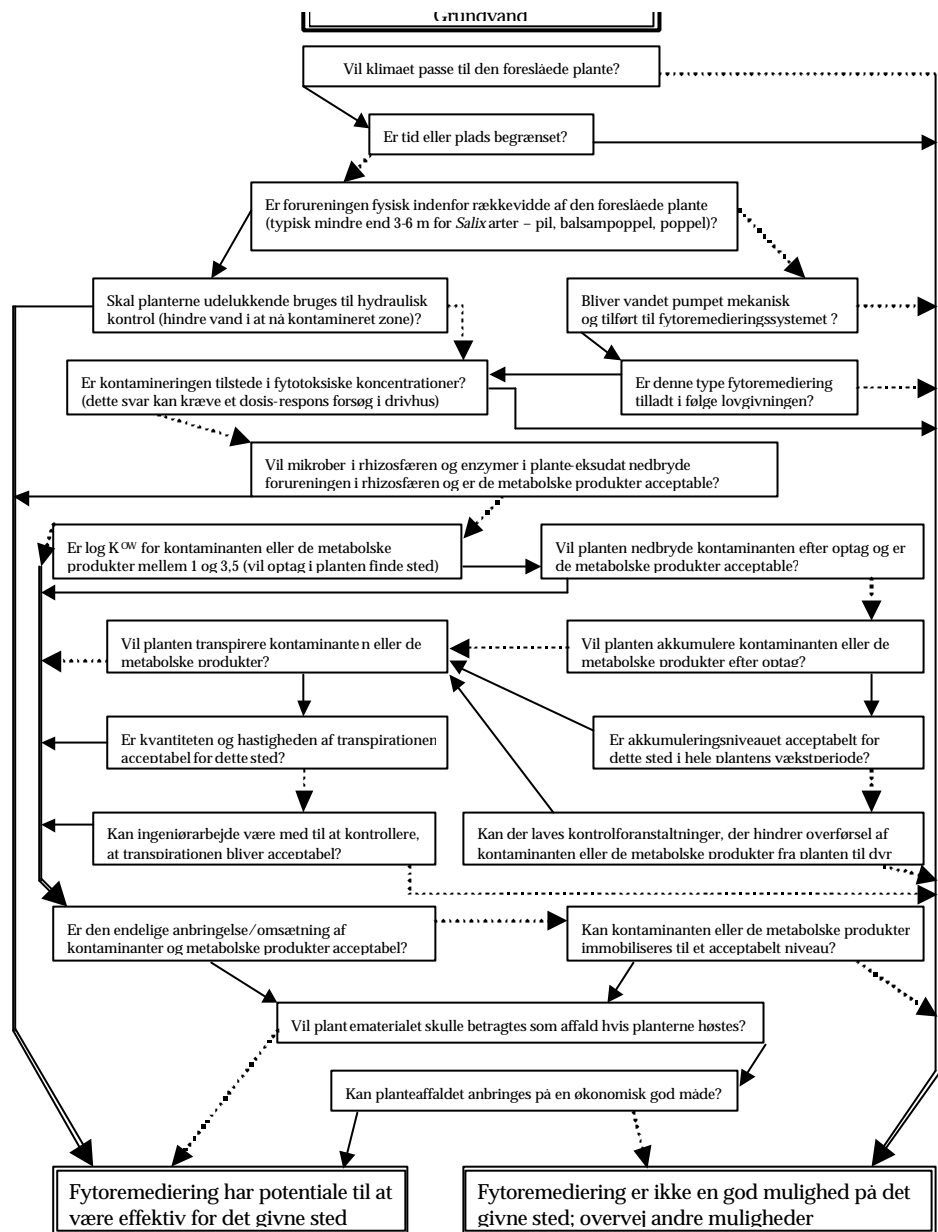
En af årsagerne til, at fytoremediering ikke er så kendt, kan være, at teknologien er ny. Remedieringen kræver mange år eller måske tiår. Der kan ikke siges at være mange gode resultater, fordi størstedelen af projekterne er

startet for relativt kort tid siden. Omkostningerne lader sig heller ikke endeligt evaluere, selvom der eksisterer oplysninger for nogle teknikker, der kan sammenlignes med konventionel behandling (EPA 1998). For tungmetalforurenet jord er omkostningerne ved fytoremediering omkring 1/3 af konventionelle teknikker, for bly under 1/20 og for olie under 1/10 (EPA 1998). Mere end halvdelen af omkostningerne skyldes monitorering af jord, grundvand og vegetation.

Til at beslutte, om fytoremediering kan være anvendelig i praksis på en bestemt lokalitet med en bestemt type forurening, er der udviklet en metode til at lette overvejelserne. Resultatet er fytoremedierings-beslutningstræet, se figur 2 (ITRC, 1999).

I mange tilfælde er det nødvendigt at måle på fytotoksicitet, planteoptag og metabolisme, før et feltforsøg igangsættes. Dette kræver forudgående eksperimenter udført i laboratoriet. Der er blevet udviklet en hurtig 4-trins test til

dette formål. Testen medtager optag og toksicitetstest for træer (pil og poppel) i forurenet jord eller i opløsning (Trapp et al. 2000), en ^{14}C -metabolisme-test, samt en model for langtidsprognose (efter Trapp et al. 1994).



Under nedbrydning dannes metabolitter, og ikke alle af disse er uskadelige. Der kan også dannes mere vandopløselige og dermed mere biotilgængelige forbindelser. Dette aspekt bør overvejes, inden feltanvendelse igangsættes. Når der kan ske afdampning fra plantens blade, kan det tænkes, at giftige forbindelser frigives til atmosfæren i uønskede koncentrationer. Herved ville en forurening blive spredt mere, end den vil blive begrænset. Toksicitetstest kan hjælpe med at fastslå, om toksiske metabolitter dannes. Test af denne type er udviklet på Berlins Universitet (projektbeskrivelse kan ses på <http://dechema.de/biotech/brosch/einleit.htm>), men også på Institut for Miljøteknologi på Danmarks Tekniske Universitet (Ole Kusk, Økotoksikologi).

2.6 Ideer til at gøre fyto Remediering mere effektiv

2.6.1 Genetiske modifikationer

Anvendelsen af genteknologi afhænger af de naturligt forekommende mikroorganismer og deres evne til at kolonisere planterødder. Rodkolonisering er et kritisk trin i spiringsfasen, hvilket skyldes, at når rodoverfladen én gang er blevet koloniseret med en bestemt type bakterie, kan andre typer blive ekskluderet (David Dowling, personlig meddelelse).

Tilførsel af specifikke bakterier, der kan nedbryde miljøfremmede stoffer, kan være en strategi for at gøre fyto Remediering mere effektiv. En udvidet strategi kunne være at isolere, oprense og karakterisere specifikke gener, der er ansvarlige for nedbrydningen. Det pågældende gen kunne herefter indføres i en værtsorganisme, som efterfølgende blev podet på overfladen af steriliserede frø. Dette forudsætter, at nedbrydende mikroorganismer kan identificeres, og at de er lige så gode til at kolonisere rødder som de typiske rodkoloniserende bakterier, der bruges som mikrobiel plantebeskyttelse i landbruget. Til dato er der kun begrænset viden om fyto Remediering med anvendelse af kendte rhizosfære mikrobiota.

PCB-nedbrydende gener er blevet indsat i en rodkoloniserende *Pseudomonas fluorescens* ved at opnå ekspresion af genet i rhizosfæren af en sukkerroe, *Beta vulgaris* (Brazil et al. 1995).

For nyligt er det blevet vist, at det bionedbrydende potentiale af organiske forbindelser er øget for *P. putida* (pWW0) i rhizosfæren (E. Duque og J.L. Ramos, personlig meddelelse).

Et humant gen, der i leveren koder for et særligt enzym, er blevet indført i tobak, *Nicotiana tabacum*. Enzymet oxiderer flere forskellige halogenerede, organiske forbindelser, heriblandt TCE, ethylen bromid, tetraklorkulstof, kloroform og vinylklorid. Transgene tobaksplanter var i stand til at nedbryde TCE 640 gange hurtigere end ikke-modificerede planter (Doty et al. 2000). Macek et al. (2000) peger ligeledes på anvendelsen af genmodificerede planter for at øge effektiviteten ved fyto Remediering. Strategier for modifikationer være transformerede planter, der danner specifikke proteiner, der kan binde og transportere xenobiotika. Man kunne også forsøge at øge plantens udsondring af f.eks. enzymer, der i sig selv kan nedbryde xenobiotika; man kunne også forsøge at øge udsondring af forbindelser, der stimulerer bakteriel vækst i rhizosfæren og dermed rhizonebrydning.

I EU projektet ENDEGRADE (ENdophytic DEGRADER bacteria for improving phytoremediation of organic xenobiotics: Endofytiske nedbrydende bakterier til at forbedre fyto Remediering af organiske miljøfremmede forbindelser), bliver endofytiske bakterier modificeret til at udtrykke gener ansvarlige for nedbrydning af forbindelser, der kan translokere via xylem.

Endofytiske bakterier er dem, som lever inden i planter. For yderligere information om projektet, se websitet: <http://www.ENDEGRADE.dmu.dk> Muligvis er det slet ikke nødvendigt med genetiske modifikationer. Kun en meget lille del af alle planter (omkring 400000 karplanter kendes i dag) er blevet undersøgt for deres evner til at omsætte kemiske forbindelser. Planter sekundære metabolisme varierer fra familie til familie, fra art til art og endda mellem varieteter (Frohne & Jensen 1985), og der findes et enormt antal forskellige enzymer. Det må derfor forventes, at når flere planter er blevet undersøgt, vil man finde flere plantearter, som kan være egnede til fytoremediering.

2.6.2 Nedbrydning ved hjælp af svampe

Anvendelse af svampe til at nedbryde forurening er blevet detaljeret studeret. Med svampe udnyttes kapaciteten af uspecifikke ekstracellulære enzymer til at angribe xenobiotika. Indtil videre ser det ud til, at der er mulighed for dannelse af uønskede, toksiske metabolitter, polymeriserede slutprodukter, og desuden ufuldstændig mineralisering af kontaminanter (Aiken & Logan 1996, Dietrich et al. 1995, Öberg et al. 1990, Svenson et al. 1989, Lamar & Dietrich 1990). Dette tyder på, at der er behov for yderligere grundlæggende forskning på nuværende tidspunkt.

Der er ved laboratorieforsøg opnået gode resultater med PAH nedbrydning vha. hvidmuldsdannende svampe fremdyrket på halm. Disse svampe udskiller enzymer, der i svampenes naturlige miljø, træ, nedbryder lignin.

Undersøgelserne har vist, at det er svært at overføre resultaterne fra laboratoriet til stor skala, da det var vanskeligt at opnå tilstrækkelig vækst af de fleste hvidmuldsdannende svampe. Dette skyldes dels, at de er relativt langsomt voksende, og dels at der uundgåeligt i denne skala kommer vækst af skimmelsvampe i halmen. Sidstnævnte kan yderligere medføre forringet vækst af de hvidmuldsdannende svampe (Miljøstyrelsen 1998c).

I Tyskland evalueres muligheden for at nedbryde TNT *in situ* med svampe (*Basidiomycetes*). De første forsøg viste, at svampene brugte TNT som kulstof- og nitrogenkilde og derefter sultede. Nye forsøg udføres med symbiotiske svampe. De symbiotiske partnere, f.eks. hyld, *Sambucus nigra*, og skovfyr, *Pinus sylvestris*, er blevet udplantet (personlig meddelelse, Dr. W. Heyser, se også <http://dechema.de/biotech/brosch/einleit.htm>). Resultaterne forventes at ligge klar til næste år, og de vil blive publiceret i *Umweltwissenschaften und Schadstoff-forschung (UWSF)* i fytoremedieringsserien, som redigeres af U. Karlson og S. Trapp.




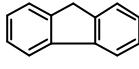
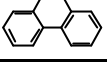
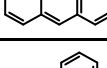
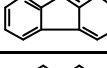
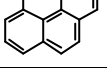
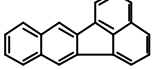
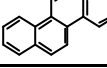
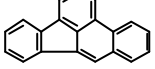
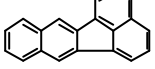
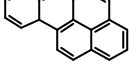
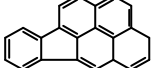
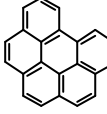
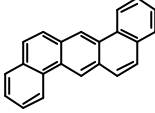
3 PAH'er

3.1 Fysiske og kemiske egenskaber

PAH er forkortelsen for polycykliske aromatiske hydrocarboner. Denne betegnelse dækker over alle forbindelser med op til 7 kondenserede cykliske ringe. Ringene kan være benzenringe med 6 kulstofatomer eller ringe med 4 eller 5 kulstofatomer. Der kan være substituenten på en eller flere ringe. Teoretisk set er der derfor tusindvis af forbindelser, der hører under betegnelsen PAH. I praksis undersøger man kun et lille udvalg af PAH'erne. US-EPA (United States Environmental Protection Agency) har foreslået at fokusere på 16 forbindelser i to officielle analytiske metodebeskrivelser (HPLC og GC-FID) (US-EPA standard metode 8100 og 8310). Disse 16 forbindelser inkluderer de viste i tabel 3, også betegnet de 16 US-EPA-PAH'er.

Benzo(a)pyren, en 5-ringet forbindelse, er en af de mest omtalte PAH'er, hvilket skyldes dens meget høje carcinogene potentiale. Benzo(a)pyrens kræftfremkaldende egenskab skyldes dens omdannelse i leveren til et nedbrydningsprodukt, som er mutagent (Schnöder et al. 1996). Der findes ingen beviser for, at PAH'er er toksiske for planter. Tabel 3 viser de fysiske og kemiske egenskaber for de 16 US-EPA-PAH'er. Miljøstyrelsen i Danmark ser på summen af 7 enkeltstoffer, når analyseresultater med PAH-målinger vurderes. Disse er: fluoranthen, benzo(b)fluoranthen, benzo(k)fluoranthen, benzo(a)pyren, dibenzo(a,h)anthracen og indeno(1,2,3-cd)pyren (Miljøstyrelsen 1998a).

Tabel 3: Fysisk-kemiske egenskaber for PAH'er (Rippen, 1996). De viste er de 16 såkaldte US-EPA PAH'er, som er inklusiv dem, der indgår i Miljøstyrelsens PAH vurderinger.

Struktur	Navn	Molvægt	log K_{ow}	log K_{oc}	K_{AW}	P	S
	Nafthalen	128,18	3,37	3,11	0,023	11,2	0,032
	Acenafthen	154,21	4,2	3,66	0,0053	0,31	0,0037
	Acenafthylen	152,20	3,7	3,39	i.d.	3,90	0,0039
	Fluoren	166,22	4,32	3,86	0,0033	0,096	0,002
	Fenanthren	178,24	4,46	4,15	$6,4 \cdot 10^{-4}$	0,014	0,0016
	Anthracen	178,24	4,45	4,14	0,0015	$4,3 \cdot 10^{-4}$	$4,4 \cdot 10^{-5}$
	Fluoranthen	202,26	5,13	4,58	$2,7 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
	Pyren	202,26	4,88	4,58	$4,86 \cdot 10^{-4}$	$8,2 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$
	Benzo(a)anthracen	228,30	5,81	6,14	$2,13 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-5}$	$1,1 \cdot 10^{-5}$
	Chrysen	228,30	5,61	5,30	i.d.	$8 \cdot 10^{-7}$	$2 \cdot 10^{-6}$
	Benzo(b)fluoranthen	252,32	6,06	5,74	i.d.	$7 \cdot 10^{-5}$	$1,4 \cdot 10^{-5}$
	Benzo(k)fluoranthen	252,32	6,06	5,74	i.d.	$7 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-6}$
	Benzo(a)pyren	254,33	6,04	5,67	$1,39 \cdot 10^{-5}$	$7 \cdot 10^{-7}$	$4,5 \cdot 10^{-6}$
	Indeno(1,2,3-cd)pyren	278,36	6,5	6,20	$2,07 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-7}$
	Benzo(g,h,i)perylene	278,34	6,51	6,20	i.d.	$1 \cdot 10^{-8}$	$1 \cdot 10^{-6}$
	Dibenzo(a,h)anthracen	278,36	6,39	6,30	$5,94 \cdot 10^{-7}$	$1,3 \cdot 10^{-8}$	$2,5 \cdot 10^{-6}$

i.d.: ingen data; Molvægt i g/mol; P: mætningsdamptryk [Pa]; S: vandopløselighed [g/l]; K_{AW} : Henrys lov koefficient= fordelingskoefficient mellem luft og vand; K_{OW} : fordelingskoefficient n-oktanol til vand; K_{OC} : fordelingskoefficient organisk kulstof til vand

3.2 Typiske koncentrationer i jord

3.2.1 Diffus forurening

Diffus jordforurening er en forurening af overfladejord forårsaget af luftbåren spredning af partikler eller forårsaget af forurenede fyldmateriale (Miljøstyrelsen 1999b). PAH'er er allesteds-nærværende. De forekommer i al jord, dog i variable koncentrationer. Normalt er niveauet højere i byjord end i landjord (tabel 4). Ofte findes vidtstrakte områder med PAH-forurening langs floder, gader og motorveje og desuden i landbrugsjord, der har fået tilført spildevandsslam. De højeste PAH-koncentrationer findes i asfalt (5 til 10 g/kg), men disse er ikke biotilgængelige.

Tabel 4: Typiske koncentrationer (mg/kg TS) af fluoranthen og benzo(a)pyren i forskellige jordtyper. Data stammer fra Ruhr området i Tyskland (Knoche et al. 1995).

Jordtype	Fluoranthen (gennemsnit)	Fluoranthen (min/max)	Benzo(a)pyren (gennemsnit)	Benzo(a)pyren (min/max)
landbrugsjord (< 25 cm)				
landområde	0,22	0,10/0,34	0,06	<0,01/0,08
forstad	0,31	0,10/0,58	0,11	0,06/0,39
byområde	0,74	0,19/0,97	0,21	0,07/0,42
Havejord				
landområde	0,17	0,10/0,32	0,07	0,03/0,1
Forstad	0,69	0,26/1,12	0,25	0,16/0,82
byområde	1,27	0,64/2,53	0,68	0,22/1,19

I flere undersøgelser af diffus jordforurening i Danmark er der fundet PAH-forbindelser i koncentrationer et stykke over den minimumsgrænse, der er sat for 'ren' jord. I Danmark er der indsamlet data for diffus jordforurening fra 14 amter, herfra foreligger der 19782 analyseresultater fra PAH-målinger på jordprøver. Alle disse data er indtastet i DifJord databasen (Miljøstyrelsen 1999b). Der er netop udgivet en rapport fra Amternes Videntcenter for Jordforurening (AVJ 2000), hvori data i DifJord databasen er blevet statistisk vurderet. Da datamaterialet er enormt, er der ikke en statistisk gennemgang af samtlige analyseresultater, men derimod en række opstillede hypoteser, som forsøges besvaret. I forhold til forurening med PAH'er er det konkluderet, at der er en overbevisende sammenhæng mellem benzo(a)pyren og total PAH-koncentration i diffust forurenede jord. Denne konklusion fører til udnævnelsen af benzo(a)pyren som indikatorparameter for diffus PAH-forurening. Medianværdien for diffus jordforurening med total PAH er for Københavnsområdet på 8,825 mg/kg TS, hvilket svarer til en klassifikation som lettere forurenede. Den tilsvarende medianværdi for provinsen (resten af landet uden for Københavnsområdet) ligger under detektionsgrænsen. Et typisk eksempel på diffus jordforurening er forureningen af jord under asfaltbelægning og i vejrabatter. Tal fra en undersøgelse i Vejle viser, at vejrabatjorden kan være forurenede med PAH'er svarende til klassifikation som lettere forurenede (Hedeselskabet 2000).

Undersøgelser af 2 km² jord på Østerbro og 1 km² jord i Brønshøj ved København viste forhøjede PAH-niveauer ned til 0,5 m dybde. Især niveauet

nedbrydning af PAH'er med større molekylvægt er meget mindre (Cerniglia 1992).

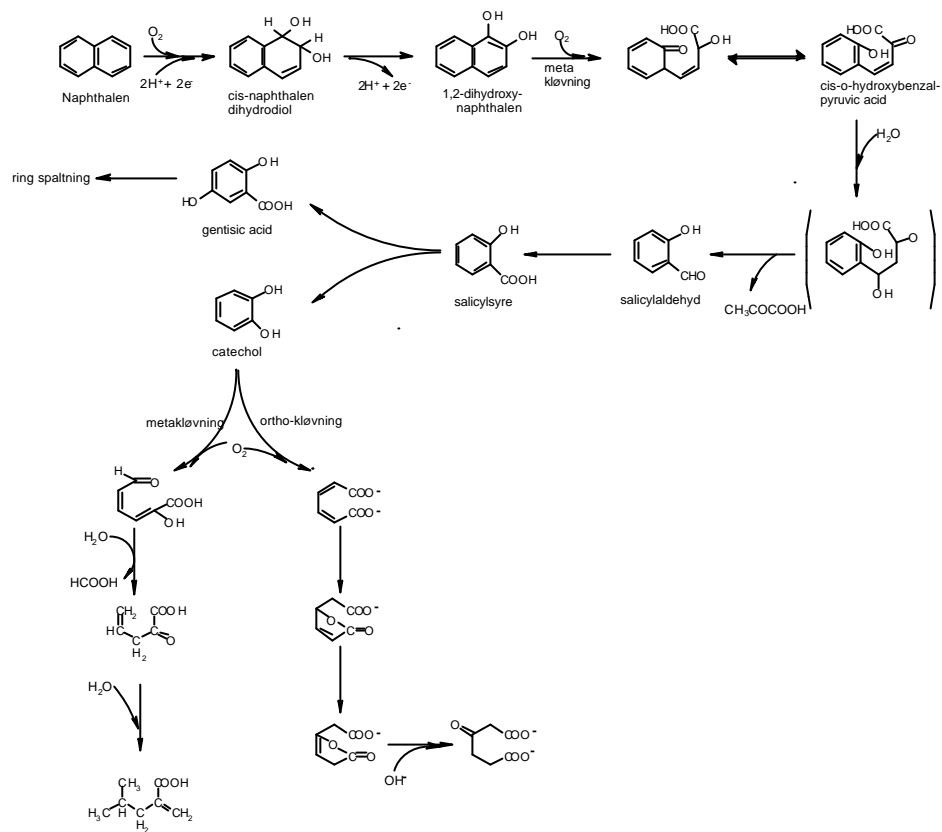
PAH'er kan blive fuldstændigt nedbrudt til CO₂ og H₂O (mineraliseret), eller de kan blive omdannet til metabolitter. Metabolitterne er mere polære end den oprindelige forbindelse. Herved skabes der en teoretisk risiko for kontaminering af grundvand, eftersom mere polære forbindelser er mere mobile i jorden. Metabolitter fra omsætning af PAH kan også være mere toksiske end den oprindelige forbindelse. Forskellige bakteriestammer, som er i stand til at nedbryde PAH'er, er blevet isoleret fra forurenede jord og sediment. Disse stammer hører til slægterne *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium* og *Sphingomonas* (Cerniglia 1992).

De fleste publicerede undersøgelser af metabolisme af PAH'er er blevet udført med en enkelt forbindelse ad gangen, og med PAH som den eneste energi- og kulstofkilde. I mange tilfælde er der benyttet renkulturer i vandige opløsninger. En ekstrapolering af resultaterne fra sådanne forsøg til forhold i forurenede jord på en åben mark kan være ganske usikker. Det er nødvendigt at evaluere en masse faktorer, heriblandt interaktioner mellem mikroorganismer, effekterne af blandinger af PAH'er og andre substanser samt forhold i jorden på den mikrobielle nedbrydning (Smith 1990).

Det er velkendt, at PAH-nedbrydende bakterier ofte udviser lav specificitet overfor substrater. Det formodes at være grunden til, at en enkelt stamme ofte er i stand til at omsætte adskillige forskellige PAH'er. I de fleste tilfælde vides det ikke, om det er det samme enzymesystem, der medvirker ved forskellige substraters omdannelse (Stringfellow & Aitken 1995).

Det første trin i den bakterielle metabolisme af PAH følger generelle nedbrydningsveje. Først bliver begge iltatomer i molekylært oxygen inkorporeret i PAH-forbindelsen. Dette trin katalyseres af dioxygenase-enzymet, og det resulterer i dannelsen af *cis*-dihydrodiol forbindelser. Disse omdannes yderligere til *cis*-dihydroxylerede metabolitter, herved gendannes den aromatiske struktur. Næste trin, hvor den aromatiske ring åbnes, er også katalyseret af dioxygenase-enzymet. For dette trin er der to mulige reaktionsveje: ortho- eller meta-kløvning. De aromatiske ringe bliver herefter med denne type kløvning nedbrudt en ad gangen. En velkendt metabolit fra bionedbrydningen af naftalen er salicylsyre. De generelle principper for PAH-nedbrydning kan ses eksemplificeret ved de velundersøgte trin i nedbrydningen af naftalen på figur 3 (Smith 1990).

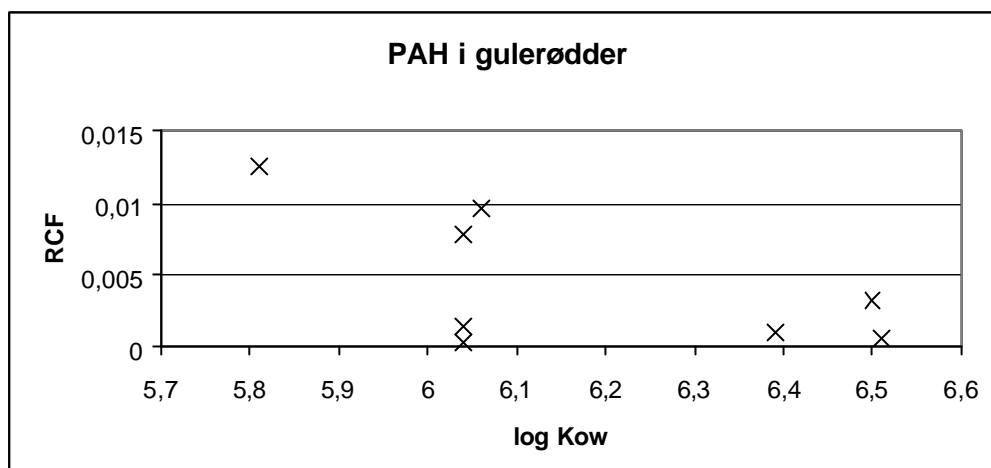
De metaboliske produkter kan blive akkumuleret (dead-end produkter) i renkulturer. I blandingskulturer, som i miljøet, vil disse produkter ofte nedbrydes yderligere af andre mikroorganismer (Boonchan et al. 2000).



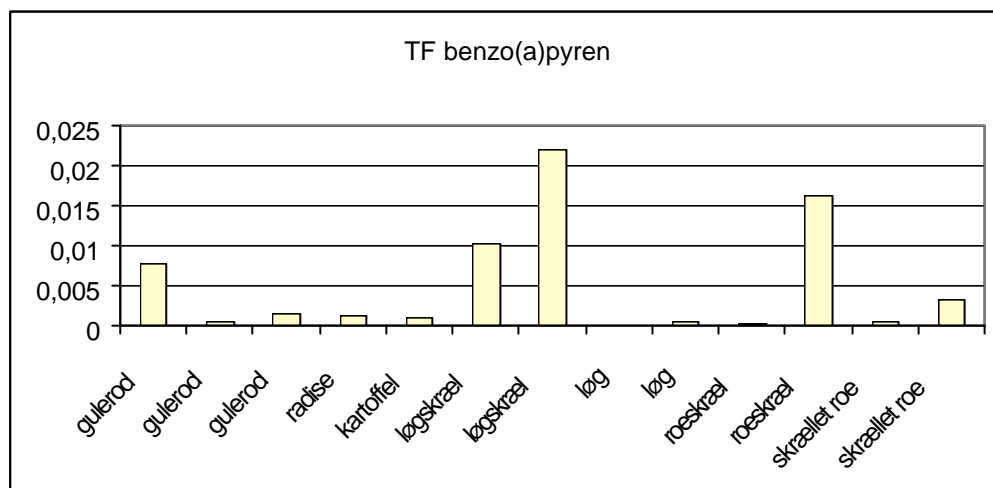
Figur 3: Bionedbrydning af naphthalen (Smith 1990)

3.5 Overførsel fra jord til plante

Overførsel af PAH'er fra jord til plante er velbeskrevet i litteraturen. Generelt er overførselsfaktorerne for PAH'er fra jord til plante lave, og de ser ud til at falde med stigende antal aromatiske ringe (Trapp et al. 1998). Overførselsfaktoren for benzo(a)pyren fra jord til plante er i de fleste tilfælde under 0,01 (tørvægtsbaseret) (Knoche et al. 1995), højst for rodfrugter og for bladgrøntsager, der vokser nær jordoverfladen (salat, *Lactuca*, og spinat, *Spinacea oleracea*). For gulerod, *Daucus carota*, falder værdien af overførselsfaktoren med stigende lipofilitet (figur 4). For rodfrugter sker overførslen hovedsageligt til de tynde rødder og til skrællen (figur 5). Bladgrøntsager kan blive kontamineret fra resuspenderede jordpartikler (støv). Translokering af benzo(a)pyren i planter anses for at være ubetydelig (Trapp et al. 1998, Knoche et al. 1995, Harms 1975).



Figur 4: Overførselsfaktor fra jord til gulerod (tørvægt) mod log K_{ow} af PAH; data fra Knoche et al. (1995) for benzo(a)anthracen, benzo(a)pyren, benzo(b)fluoranthen, dibenz(a,h)anthracen, indenopyren og benzo(g,h,i)perylene.



Figur 5: Overførselsfaktor til forskellige planter for benzo(a)pyren, TF data fra Knoche et al. 1995. Data er samlet fra forskellige eksperimenter, jorder, koncentrationer, anvendelser, høsttidspunkter osv. Dette er årsagen til, at forskellige værdier for samme grøntsag er vist.

I artiklen af Wild & Jones (1992) beskrives optag af PAH fra slambehandlet jord i gulerødder, *Daucus carota*. Gulerodstoppene var upåvirkede af slambehandlingen, hvorimod koncentrationen i skrællen varierede med slam- (og dermed PAH) tilførslen. Koncentrationerne i rødderne var dog signifikant lavere end i toppene. PAH-indholdet i toppene menes at komme fra optag af PAH fra atmosfæren, og ikke en påvirkning med støv fra jorden som i ovennævnte artikel. Optag af PAH fra atmosfæren er bekræftet (Wild et al. 1992) gennem forsøg, hvor planteprovér helt tilbage fra år 1900 er analyseret for PAH-indhold. Planterne stammer fra et græsningsområde, der ikke var blevet tilført gødning eller anden jordforbedring gennem alle årene. Ligeledes er PAH-optag fra atmosfæren foreslået med baggrund i forsøg med byg, *Hordeum* (Kirchmann & Tengsved 1991). Byg blev sået i jord med og uden forskellige typer gødning. Jorden og gødningen blev analyseret separat og indeholdt ikke PAH over detektionsgrænsen. PAH kunne derimod findes i lave koncentrationer ($\mu\text{g}/\text{kg}$ niveau) i de høstede bygkorn, hvilket menes at være et resultat af PAH-optag fra atmosfæren.

Nogle planter af græskarfamilien, *Cucumis*, kan mobilisere og effektivt translokere PAH'er (Th. Delschen, personlig meddelelse). Når den er opløst i

olie, kan benzo(a)pyren optages i hvede, *Triticum aestivum*, og rug, *Secale cereale*, og herefter blive translokeret til plantedele over jorden. Ingen gavnlige eller skadelige effekter af optaget blev observeret. Der blev ikke observeret optag fra en næringsopløsning eller fra jord, når PAH'erne var tilstede i en uopløselig form (Dörr 1970).

I en undersøgelse af planterødders affinitet for naftalen (og dermed også et studie af muligheden for efterfølgende optag og / eller nedbrydning) blev adsorption til rødder kvantificeret i forskellige plantearter (Schwab et al. 1998). Udfra undersøgelseerne blev det konkluderet, at rodens lipidindhold er en kontrollerende faktor for adsorptionen. Lucernerødder viste sig at have et større lipidindhold end rødder fra svingel, *Festuca*, og de havde ca. dobbelt så stor affinitet for naftalen på trods af, at svingelrødder har et større overfladeareal per masseenhed af roden.

3.6 Metabolisme i planter

I plantecellekulturer omsættes PAH'er hurtigt. I sojabønne, *Glycine max*, cellekulturer blev 80,6% af den tilførte mængde benzo(a)pyren metaboliseret på 2 dage. Metabolitterne var enten polære (49,7% af den tilførte mængde) eller bundne restforbindelser (15,6% af den tilførte mængde). I hvede, *Triticum aestivum*, cellekulturer blev 48,3% af den tilførte mængde benzo(a)pyren nedbrudt. 22,7% af den tilførte mængde blev omdannet til polære metabolitter og 9% til bundne restforbindelser (Harms & Langebartels 1986).

Nakajima et al. (1996) observerede, at pyren omsættes i træagtige planter til hydroxypyren-glykosid konjugater, som er mobile i planter.

Harms et al. (1977) identificerede metabolitter af benzo(a)pyren i gåsefods-, *Chenopodium*, cellekulturer. Sammenlignet med metabolitter fra human lever, er metabolitterne i planteceller generelt mere polære. De identificerede metabolitter var benzo(a)pyren-3,6-quinon, benzo(a)pyren-1,6-quinon og 7,8-dihydro-7,8-dihydroxybenzo(a)pyren. Nogle af metabolitterne kunne først ekstraheres efter hydrolysering og blev isoleret som polære forbindelser eller i proteinfraktionen. Dette indikerer, at metabolitterne er koblet til proteiner og nukleinsyrer. Dette fund er bemærkelsesværdigt, fordi bindingen af benzo(a)pyren metabolitten 7,8-dihydrodiol-9,10-epoxid-2-benzo(a)pyren til DNA forårsager kræft hos dyr og mennesker.

Edwards (1986) bestemte omsætningsvejene af ¹⁴C-mærket anthracen i buskbønneplanten, *Phaseolus vulgaris*. På høsttidspunktet blev 60% af den samlede ¹⁴C dosis genfundet i rødderne, 3% i stænglerne, 3% i bladene, 0,1% i skuddene, 17% i næringsopløsningen og 16% kunne ikke genfindes. Udfra kemiske analyser blev 8,7% af den tilførte anthracen genfundet uændret i rødder, 1,5% i næringsopløsningen, 0,53% i stænglerne og 0,03% i bladene. Mere end 90% af metabolitterne blev fundet i plantevæv.

3.7 Toksicitet for planter

For salat blev EC₅₀ (50% reduceret vækst) bestemt til 25 til 37 mg/kg jord for acenafthen og 100 mg/kg til >100 mg/kg jord for naftalen (Hulzebos et al. 1993).

PAH'er med mere end 3 ringe er ganske toksiske for akvatiske planter men ikke overfor terrestriske planter. Årsagen til dette er sandsynligvis en nedsat biotilgængelighed forårsaget af en stærk adsorption til partikler i jorden. For eksempel har fluoranthen en EC₅₀ værdi (for vækst) overfor grønalgen, *Scenedesmus subspicatus*, på kun 0,012 mg/l. EC₅₀ værdien for havre, *Avena sativa* og majroe, *Brassica rapa*, er i jord over 1000 mg/kg (Rippen 1999).

Gräf & Novak (1966) fandt, at små mængder benzo(a)pyren i vand (10 µg/l) stimulerer væksten af grønkål, *Brassica oleracea L. var. sabellica*, tobak, *Nicotiana tabacum*, og rug, *Secale cereale*, op imod 20%. Det samme resultat blev fundet for dibenzo(a,h)anthracen og benzo(a)anthracen. Hele undersøgelsen er dog tvivlsom, fordi vandopløseligheden af disse forbindelser er under den dosering, som artiklens forfattere påstår at have benyttet. Trapp og Christiansen fandt dog, at poppel, *Populus*, og piletræer, *Salix*, som voksede i jord med 45 mg/kg PAH'er (primært 4 til 6 ringede forbindelser), voksede bedre end kontrolplanter (indberetning til Hedeselskabet Miljø og Energi, upubliceret iagttagelse). Mange planter kan selv danne PAH-lignende forbindelser gennem deres sekundære metabolisme. F.eks. har alkaloider fra valmue, *Papaver*, en fenanthrenlignende struktur. Orkidéer, *Orchis*, kan ligeledes danne et fenanthrenlignende derivat, orchinol, for at beskytte planten mod bakteriel infektion (Larcher 1995).

3.8 Nyeste fytoremedieringsprojekter

Pradhan et al. (1998) har testet seks forskellige plantearter for deres evne til at rense op på en tidligere gasværksgrund kontamineret med PAH'er i total koncentrationer på 200 mg/kg til 1000 mg/kg. Lucerne, *Medicago sativa*, og skærmaks, *Panicum virgatum*, kunne fjerne 57% af den totale mængde PAH på seks måneder, sammenlignet med en elimination på 26% på kontroljord uden planter.

Reilley et al. (1996) sammenlignede ændringerne i PAH- koncentrationerne i jord med og uden beplantning i et drivhusforsøg. Elimineringen af anthracen fra jord skete hurtigt, og blev bedst stimuleret (op til 44% større nedbrydning) med lucerne, *Medicago sativa*, sammenlignet med svingel, *Festuca arundinacea*, og to skærmaks, *Sorghum vulgare* og *Panicum virgatum*, og desuden sammenlignet med jord uden beplantning. Elimineringen blev formodet at være forårsaget primært af nedbrydning i rhizosfæren.


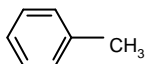
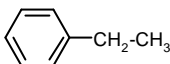
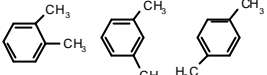
En undersøgelse foregik i lerjord på et område, hvor der var blevet produceret alkener (Qiu et al. 1997). For bøffelgræs, *Buchloe dactyloides*, blev der efter 3 år observeret en signifikant reduktion af naphthalen-indhold sammenlignet med utilplantet jord. Skærmaks-planten *Panicum coloratum* blev dog vurderet at være klart overlegen sammenlignet med alle andre plantearter og utilplantet jord. De målte PAH-koncentrationer i jord, hvor denne plante havde groet, var enten under detektionsgrænsen eller én til to størrelsesordner mindre end i utilplantet jord og i jord, hvor andre græsarter havde groet. Skærmaksplanten groede også bedre end de andre undersøgte græsarter. Undersøgelserne fra Qiu viser, at det kan betale sig at undersøge planterne for deres overlevelsessevner og metaboliske kapacitet, før man tager dem i anvendelse ved fytoremediering. Der bør bemærkes, at koncentrationen af PAH ved eksperimentets start kun var på 0,1 til 5 mg/kg. De anvendte græsarter er ikke umiddelbart anvendelige i Danmark.

4 Benzen, toluen, ethylbenzen og xylener (BTEX)

4.1 Fysiske og kemiske egenskaber

BTEX er forkortelsen for benzen, toluen, ethylbenzen og (*o,m,p*-)xylen. Disse forbindelser er alle bestanddele af benzin. De fysiske og kemiske egenskaber for fire af forbindelserne er vist i tabel 5. Forbindelserne er alle meget flygtige. Vandopløselighed og log K_{ow} værdierne strækker sig over et bredt interval.

Tabel 5: Fysisk-kemiske egenskaber ved BTEX (Rippen 1999).

	Benzen	Toluen	Ethylbenzen	<i>o,m,p</i> -xylener data for <i>m</i> -xylen
Struktur				
CAS-nummer	71-43-2	108-88-3	100-41-4	108-38-3
Sumformel	C_6H_6	C_7H_8	C_8H_{10}	C_8H_{10}
Vandopløselighed (mg/l) 20 °C	1760	550	170	160
Mætningsdamptryk (Pa) 20 °C	10100	2890	940	800
Henrys Lov konstant (enhedsløs)	0.2	0.23	0.25	0.22
log K_{ow} (enhedsløs)	2.17	2.66	3.20	3.18
Halveringstid i luft (timer)	350	63	51	17

4.2 Typiske koncentrationer i jord

Man vil især kunne forvente at finde jord forurenet med BTEX på lokaliteter, hvor der ligger eller har ligget asfalt- og tjærevirksomheder, gasværker, metalstøberier, jern- og stålværker, olie- og benzinanlæg (servicestationer) samt olie- og benzinoplæg (raffinaderier) (Miljøstyrelsen 1998a).

De to værste brancher mht. BTEX forurening er i følge en omfattende undersøgelse i landets amter autoværksteder og metalforarbejdende virksomheder. En sum af de gennemsnitlige BTEX koncentrationer i disse to brancher viste hhv. 90 og 1014 mg/kg TS (AVJ. 1997).

I en undersøgelse af en gammel tjærefabrik i Vassingerød (Skude & Jacobsen 2000) blev jorden også analyseret for BTEX. På denne lokalitet kunne BTEX generelt genfindes ned i dybder på ca. 5,5 m under terræn. Nogle boringer til knapt 2 m under terræn viste kraftigt forurenet jord, mens de øvrige boringer ved 1,4 m, 3,9 m og 4,9 m under terræn viste jord, der var "ren" eller lettere forurenet.

Lokaliteter med benzinformuring (og dermed BTEX) kunne, hvis den hidrører fra detailhandel med autobrændstoffer, indtil den 1. april 1999 tilmeldes Oliebranchens Miljøpulje. Pengene i denne pulje benyttes til undersøgelser af forurening samt oprensning. I år 2000 var der i alt tilmeldt 9660 lokaliteter til denne miljøpulje. Fra 1993 til april 2000 er 1975 grunde blevet oprenset (Oliebranchens Miljøpuljes hjemmesider 2001).

4.3 Biotilgængelighed og optag i planter

På grund af deres fysiske og kemiske egenskaber forudsiger modelberegninger generelt, at BTEX vil blive optaget hurtigt og herefter translokeret til blade (Computerprogram: "PlantX", Trapp et al. 1994). Et hurtigt tab via afdampning vil følge, og der vil ikke forekomme akkumulering i plantevæv.

4.4 Mikrobiel metabolisme af BTEX i rhizosfæren

Bakterier foretrækker BTEX og lavmolekylære alkaner frem for langkædede alkaner (Wiedemeier et al. 1999). De fleste af de aromatiske kulbrinter nedbrydes først til katekol (dihydroxybenzen) eller protokatekolat (dihydroxybenzoesyre). Mange svampe og bakterier er i stand til at kløve den aromatiske ring og mineralisere kulstofskelettet. I mange tilfælde er molekylært ilt påkrævet, for at en nedbrydning kan ske (Schlegel 1986). For nyligt er det blevet vist, at BTEX også kan nedbrydes uden ilt men med tilstedeværelse af nitrat og sulfat. Under visse forhold kan selv methanogen nedbrydning forekomme (Wiedemeier et al. 1999). Disse fund er dog i modstrid med BTEX-forbindelsernes modstand mod nedbrydning under anaerobe forhold, som er blevet observeret i mange feltstudier (Rippen 1999). Det kan konkluderes, at BTEX-forbindelser er nemme at nedbryde biologisk, hvis der er oxygen tilstede. Anaerob nedbrydning kan undtagelsesvis forekomme, men denne nedbrydning vil kun ske langsomt (Rippen 1999). Desværre er de zoner i jorden, hvor forureningsniveauet er højest, ofte også områder uden ilt, eftersom ilt forbruges i samme tempo, hvormed det tilføres.

4.5 Metabolisme i planter

I et laboratorieforsøg blev mere end 99% af ^{14}C -mærket benzen metaboliseret i byg, *Hordeum*, på en uge. 62% af det totale benzenindhold i testsystemet blev genfundet som CO_2 og 20% blev tabt i gasfasen. De resterende 17% af ^{14}C blev genfundet i former, der antyder fuldstændig nedbrydning af benzen og dannelse af plante- eller bakteriecellemateriale. (Topp 1985). Dette indikerer, at benzen i høj grad vil blive omsat i planter.

4.6 Toksicitet for planter

EC_{50} for *o*-xylen i salat er under 3,2 mg/l opløsning, men over 1000 mg/kg jord (Hulzebos et al. 1993), se tabel 6. Samme tendens blev set for toluen, som i opløsning har en EC_{50} værdi på 16 mg/l, men over 1000 mg/kg når den blev tilført til jord. Det står ikke klart, hvorvidt den lave toksicitet i jordtest skyldes fordampning, adsorption til partikler i jorden eller en hurtig nedbrydning.

Når bælgplanter som stregbælg, *Galega orientalis*, podes samtidigt med den mikrobielle symbiont *Rhizobium galegae* (nitrogenfixerende) og *Pseudomonas*-bakterier (nedbryder toluen og derivater heraf), kan op til 10 gange så høje doser af toluen tolereres (op til 1000 mg/kg) (Suominen et al. 2000).

Tabel 6: Toksicitetsdata (EC₅₀, salatvækst) for toluen og o-xylen (Hulzebos et al. 1993). Der findes tilsyneladende ikke andre plantetoksicitetsdata for BTEX.

Forbindelse	mg/l opløsning tid = 16 til 21 dage	mg/kg jord tid = 7 dage	mg/kg jord tid = 14 dage
Toluen	16	> 1000	> 1000
o-xylen	< 3.2	> 1000	> 1000

4.7 Nyeste fyto Remedieringsprojekter

I et forsøg udført med radioaktivt mærket *m*-xylen blev optag i pil, *Salix*, og nedbrydning undersøgt (Trapp et al., under forberedelse). Optag skete primært i rodvæv, hvor der blev fundet koncentrationer af *m*-xylen (ekstraheret og målt som den upolære fraktion), der var 6,6 og 8,8 gange højere end i jord. Koncentrationerne, der blev fundet i stammen, var 1,5 til 3,1 gange så høje som i jord. I modsætning hertil var koncentrationerne i bladene 8 til 20 gange lavere end i jorden. Stoffet blev dog påvist i luften. Stiklinger af hybrider af pil, *Salix schwerinii x viminalis*, blev brugt til forsøget. Piletræer forøger hastigheden for eliminering af *m*-xylen i jord, men det sker primært pga. en øget afdampning.

5 Alkaner

5.1 Fysiske og kemiske egenskaber

C_8 til C_{28} alkaner er hovedbestanddelen i dieselbrændstof. Benzin indeholder nogle af de kortkædede alkaner, C_4 - C_{12} , mens råolie er en blanding af kulbrinte fra C_2 og opefter (Merck 1996). Fysiske og kemiske egenskaber af to alkaner ses i tabel 7. De er begge flygtige.

Tabel 7: Egenskaber for to alkaner (Mackay et al. 1993).

	<i>n</i> -dodecan	<i>n</i> -decan
CAS-nummer	112-40-3	124-18-5
Sum formel	$C_{12}H_{26}$	$C_{10}H_{22}$
Vandopløselighed (mg/l) 20 °C	0,0034-0,0084	<0,001-0,05
Mætningsdamtryk (Pa) 20 °C	15,4-32,5	170-238
Henrys Lov konstant (enhedsløs)	30	12-28
log K_{ow} (enhedsløs)	5,64-7,2	4,82-6,7
Halveringstid i luft (timer)	ingen data	2,4-24

5.2 Typiske koncentrationer i jord

I de fleste forureningsundersøgelser skelnes der ikke mellem kort- og langkædede kulbrinter, alkaner og alkener. I stedet angives typisk koncentrationer af total kulbrinte, der medtager C_3 - C_{35} forbindelser. Der findes dog særskilte grænseværdier for olieprodukter med indhold af C_{10} - C_{25} forbindelser (de langkædede kulbrinte).

I en større erfaringsopsamlings-undersøgelse på 8 brancher (AVJ 1997) blev der fundet gennemsnitlige koncentrationer af total kulbrinte i jorden på over 300 mg/kg TS i de 6 branchegrupper: autoværksteder, jern- og metalstøberier, metalforarbejdende virksomheder, produkthandlere og autoophug, træimprægnering samt varmegærker. I det værste tilfælde (gennemsnittet for varmegærker) svarer koncentrationen af total kulbrinte til knapt 60 gange værdien for jord, der kan betegnes som kraftigt forurenede og rensningskrævende.

Også diffus forurening bidrager til, at der findes kulbrinte i jorden. I to undersøgelser af landeveje på i Vejle (Hedeselskabet 2000), blev der fundet rabatjord forurenede med kulbrinte i koncentrationer svarende til et sted mellem lettere og kraftigt forurenede jord.

5.3 Biotilgængelighed og optag i planter

Alle alkaner omsættes let af mikroorganismer i jorden. Den begrænsende faktor er i de fleste tilfælde tilstedeværelse af en elektronacceptor (ilt, nitrat, sulfat). Adsorption til jordpartikler kan nedsætte biotilgængeligheden, især af de langkædede alkaner (Ellis 1994).

Der findes ingen eksperimentelle data vedrørende optag af alkaner i højere planter. Simuleringer med en planteoptags model (Trapp et al. 1994) peger

på, at langkædede alkaner vil blive hurtigt optaget i de tynde rødder. Desuden forudsiger modellen, at translokering til stængler og blade vil være begrænset pga. den meget lave vandopløselighed og høje adsorption til rødder og rodpartikler. Kortkædede alkaner er mere mobile, men har et meget højt damptryk. Selv hvis de optages i træer og translokeres, vil de enten hurtigt blive metaboliseret eller afdampet til den omgivende atmosfære. Kortkædede alkaner opfører sig som monoaromatiske forbindelser, de langkædede alkaner opfører sig mere som PAH-forbindelser.

5.4 Mikrobiel metabolisme i rhizosfæren

Langkædede alkaner kan udnyttes af et stort antal bakterier. Nedbrydningen starter med oxidation af det endestillede kulstofatom. Når partialtrykket af ilt er lavt, akkumulerer intermediære forbindelser (fedtsyrer) (Schlegel 1986). Molekylært ilt er påkrævet, for at en nedbrydning kan finde sted (Schlegel 1986). For nyligt er det blevet vist, at alkaner også kan nedbrydes under iltfrie forhold men med tilstedeværelse af nitrat og sulfat. Under bestemte forhold kan selv methanogen nedbrydning finde sted (Wiedemeier et al. 1999). Disse fund er dog i modstrid med den meget ringe nedbrydning af alkaner under anaerobe forhold, som er blevet set i flere feltstudier (Rippen, 1999). Det må konkluderes, at de fleste forbindelser i benzin og dieselbrændstof er lette at nedbryde biologisk, når der er ilt tilstede. Anaerob nedbrydning kan forekomme, men den er særdeles langsom.

5.5 Metabolisme i planter

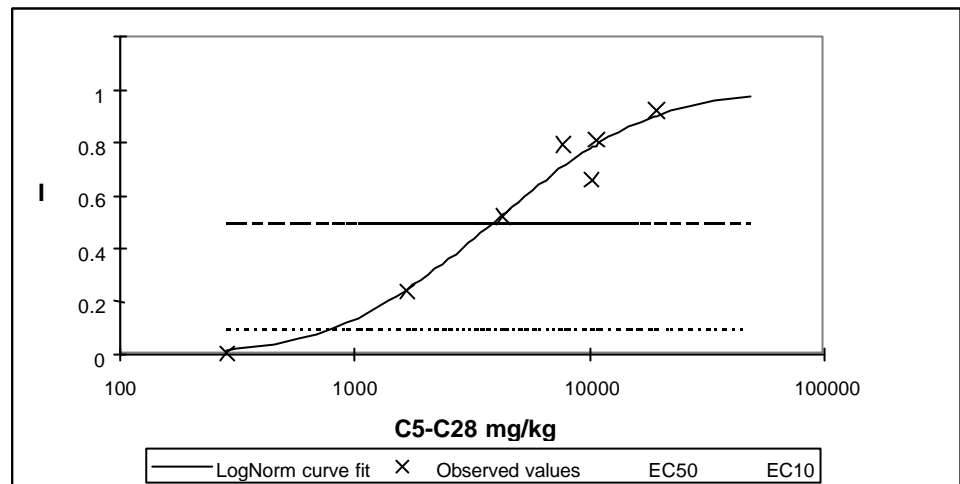
Der findes ingen data om metabolisme af langkædede alkaner i planter. Man kunne dog have en formodning om, at planternes oxidaser, som katalyserer nedbrydning af fedtsyrer, også kan katalysere den initiale nedbrydning af alkaner (Komossa et al. 1995). Produkterne fra alkanoxidation, fedtsyrer, er meget almindelige i planteriget, f.eks. som palmeolie, olivenolie, solsikkeolie, rapsolie osv., og planterne kan bruge dem som energikilde.

5.6 Toksicitet for planter

Kun meget få toksicitetsdata af alkaner overfor planter er tilgængelige. Data for optag fra opløsning og fra jord er meget forskellige. I en test med vækst af salat viste ingen af de undersøgte benzin- eller dieselbrændstof komponenter målelig toksicitet (over 1000 mg/kg jord) for optag fra jord. De metaboliske produkter af alkanednbrydning, fedtsyrer, har en mindre toksicitet og en større vandopløselighed og biotilgængelighed end alkanerne selv. I sur jord er det sandsynligt, at der vil ske en akkumulering i rødderne via ion-fælde-mekanismen (neutrale molekyler diffunderer ind i cellen, hvor de dissocierer pga. ændret pH; herved kan de ikke diffundere ud igen) (Briggs et al. 1987). Oktadecansyre (stearinsyre, $C_{18}H_{36}O_2$) har en EC_{50} værdi for vækst af grønalger mellem 10 og 50 mg/l (Rippen 1996).

I et projekt udført af Trapp et al., (under forberedelse), blev toksiciteten af frisk og forvitret benzin og dieselolie for hybrid piletræer, *Salix viminalis x schwerinii*, og pyramide-poppel, *Populus nigra*, undersøgt ved at måle transpiration fra træerne. Jord blev opsamlet fra den forladte benzintank. Koncentrationer af summen af kulbrinte (C_5 til C_{10} (benzin) og C_{12} til C_{28} (dieselolie)) i jorden blev målt. Koncentrationerne i jorden varierede fra 145–

921 mg benzin/kg tørvægt og 143–18231 mg dieselolie/kg tørvægt. Der var en signifikant sammenhæng mellem koncentrationer i jord og den nedsatte transpiration hos piletræerne, vurderet ud fra dieselbrændstof ($r^2=0,81$, $n=19$) samt vurderet ud fra summen af kulbrinte ($r^2=0,84$, $n=19$). Værdien af EC_{50} (50% hæmning af transpiration) for summen af kulbrinte blev bestemt til at være 3910 mg/kg. Sammenhængen mellem kulbrintekonzentrationen og hæmningen fulgte en log-normalfordelt sigmoid kurve, se figur 6. Værdien af EC_{10} (10% reduceret transpiration) var mindre sikker, med et gennemsnit på 810 mg/kg.



Figur 6: Piletræers toksiske respons på indhold af dieselbrændstof i jord fra Axelved med kurve til pasning; I er inhibition af transpiration (Trapp et al., under forberedelse).

Resultaterne blev bekræftet gennem forsøg med jord forurenet med kunstigt blandet dieselolie og benzin og to pilearter, båndpil, *S. viminalis* og hvid pil, *S. alba*, samt pyramidepoppel, *Populus nigra*. Frisk dieselolie i jorden i koncentrationer på omkring 1000 mg/kg havde ingen effekt på hvid pil. Poppelen var mere følsom. 10000 mg/kg påvirkede alle arters transpiration mærkbart, dog var hvid pil den mindst følsomme. Dieselolie i fri fase dræbte alle træer i løbet af nogle dage. Frisk benzin gav letale effekter allerede i koncentrationer på 1000 mg/kg for alle træerne, og det var mere toksisk end forvitret benzin (delvist publiceret i Larsen og Trapp, 2000).

5.7 Nyeste fyto Remedieringsprojekter

Radwan et al. (1995) har beskrevet, at Kuwaitiske ørkenplanter (de fleste af dem var planter af kurvblomstfamilien) kan overleve oliekoncentrationer i sandet på op imod 10% (!). Disse planters rødder var altid fri for olie, på trods af forureningen. Grunden til dette var sandsynligvis, at bakterier (primært *Arthrobacter*) og svampe levede i nærheden af rødderne, og disse var i stand til at omsætte olien hurtigt. Det blev derfor foreslået at dyrke disse planter på olieforurenet jord i Kuwait.

Vadegræs, *Spartina* sp., blev benyttet til at evaluere den samlede effekt af rhizonebrydning og fytoekstraktion som en måde at rense en lokalitet med gammelt oliespild (Lin & Mendelssohn 1998). Planterne døde ved oliekoncentrationer på 8 l/m². Ved lavere koncentrationer blev væksten stimuleret. Elimineringen af olie fra jorden var signifikant forstærket med tilførsel af gødning og udplantning af vadegræs.

I en undersøgelse af Banks et al. (1997a) blev der fokuseret på reduktionen af kulbrinte på kysten af den Persiske Golf. Forskellige planter blev benyttet,

heriblandt skærmaks, *Sorghum*, og andre græsser. Nedbrydningen af råolie gennem 21 måneder var øget fra 17% nedbrydning i utilplantet jord til 34% i jord tilplantet med *Sorghum*, 43% i jord tilplantet med bælgplanter og 46% i jord tilplantet med græs. Mekanismerne for elimineringen af olieforureningen blev ikke opklaret.

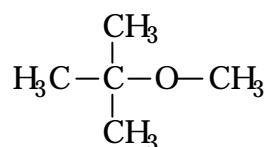
På et raffinaderi i Californien var den initiale oliekoncentration på mellem 2211 og 13588 mg/kg jord (Kulakov et al. 1998). Reduktionen i jordens olieindhold gennem 29 måneder blev ikke signifikant påvirket af beplantning. I jord beplantet med græsser, der naturligt vokser på stedet, blev 37% af olien elimineret. Med svingel, *Festuca*, var elimineringen på mellem 31 og 62%; med en vegetationsblanding til at hindre jorderosion var elimineringen på 55% og i utilplantet jord på 44%.

Bionedbrydning af flybrændstof (JP-8), med indhold af C₆ til C₁₈-kulbrinte, blev undersøgt med tilplantning med lucerne, *Medicago sativa*, af Karthikeyan et al. (1999). Konklusionen fra dette forsøg er, at flybrændstof med planters tilstedeværelse kan oprenses effektivt, hvis kulbrinterne befinder sig i de øverste jordlag (0-20 cm).

6 Methyl *tertiær*-butyl æter, MTBE

På verdensplan er det blevet estimeret, at der i år 2000 blev produceret fra 16 til 25 millioner ton MTBE. Stoffet bruges som tilsætningsstof i benzin i koncentrationer på mellem 0,2% (92 oktan, blyfri) og 7,7% (98 oktan) (Rippen 2000). Methyl *tertiær*-butyl æter (MTBE) og beslægtede forbindelser som ethyl *tertiær*-butyl æter og *tertiær*-amyl methyl æter bruges i USA til at reducere emissionen af kulmonooxid og andre flygtige organiske forbindelser til atmosfæren. I USA indeholder mere end 1/3 af al benzin disse oxygenerede forbindelser, hvoraf den mest anvendte er MTBE, som tilsat udgør op til 15% af det samlede volumen (EPA 1994, Steffan et al. 1997). På grund af den udbredte anvendelse og problemer med undergrundsbeholdere, der får lækager, er MTBE blevet den næst mest almindelige kontaminant i bymæssigt grundvand i USA (Squillace et al. 1996, Steffan et al. 1997). I Danmark er der planer om at udfase brugen af MTBE. Initiativet til dette kommer fra olieindustrien. Fra Miljøstyrelsens side er der i december 2000 udsendt et høringsudkast til bekendtgørelse med skærpede miljøkrav til benzinstationernes tankanlæg.

6.1 Fysiske og kemiske egenskaber



MTBE

MTBE har en høj vandopløselighed: 50 g/l og et højt damptryk (33,33 kPa ved 20–25 °C). Fordelingskoefficienten mellem luft og vand er på 0,02. Stoffet har derfor en tendens til at fordampe fra benzin, men ikke fra en vandig opløsning. MTBE har en værdi for $\log K_{ow}$ på ca. 1,2. Normal jord har et indhold af organisk kulstof på omkring 2%. Det betyder, at næsten alt MTBE vil være opløst og biotilgængeligt i jorden (Arvin & Broholm 1999). Halveringstiden i luft for fotolyse (reaktion med OH, hydroxyl-radikaler) er omkring 5,5 dage og en fordelingskoefficient mellem organisk kulstof og vand K_{oc} på 11 (Rippen 2000). Den udbredte benyttelse, sammen med de fysiske og kemiske egenskaber og modstand mod nedbrydning, forklarer, hvorfor MTBE så ofte findes i grundvand. MTBE vil kun i mindre grad adsorberes til organisk stof i jord og grundvand sammenlignet med kulbrinte i benzin, og især sammenlignet med BTEX. Dette er grunden til, at MTBE bevæger sig hurtigere end BTEX i grundvandet, og det repræsenterer derfor en trussel mod drikkevandsressourcerne. Ligesom andre ætere ser MTBE ud til at være svært nedbrydelig i de fleste grundvandsmiljøer, da den nedbrydes langsommere end BTEX forbindelser. I Danmark er der fastsat en grænseværdi for MTBE i drikkevand på 0,03 mg/l (Miljøstyrelsen 1998b).

6.2 Danske fund i grundvand og overfladevand

I sommeren 1997 blev der rettet henvendelse fra Miljøstyrelsen til amterne i Danmark om oplysning vedrørende MTBE fund. Tilbagemeldingerne var

sparsomme, kun 6 af 16 myndigheder meldte tilbage. Af de 6 amter havde 4 påvist MTBE i analyserede prøver. De højeste koncentrationer var i prøver fra Århus. Der ventes at blive udført væsentlig flere analyser i de kommende år (Miljøstyrelsen 1998b).

6.3 Nedbrydes MTBE af planter ?

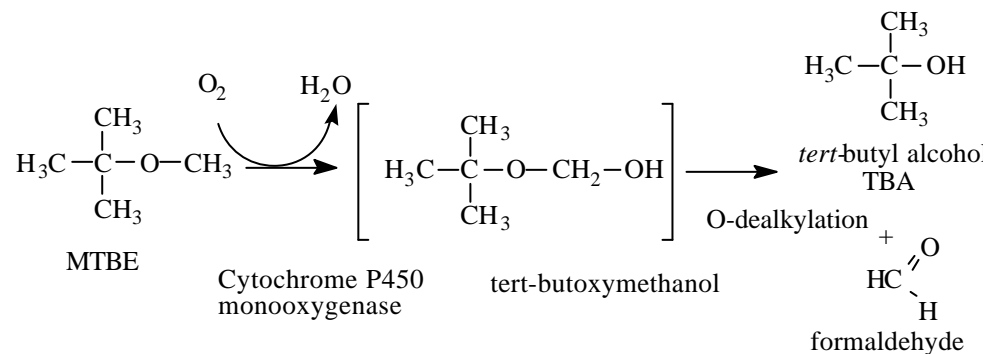
Cytokrom P450 monooxygenase enzymer er typiske fase I metabolisme enzymer i karplanter (Komossa et al. 1995). Det er derfor muligt, at planter har kapaciteten til at nedbryde MTBE. Der er publiceret en del studier om planters MTBE nedbrydning, heriblandt arbejde fra Dr. I. Scheunerts arbejdsgruppe (Dörfler et al. 2001, under forberedelse). I forsøg med ^{14}C -mærket MTBE i et jord/plante system blev der set en hurtig eliminering (nedbrydning og/eller fordampning) både for radise, *Raphanus*, og salat, *Lactuca* (halveringstid på 2–3 dage). *Tertiær*-butanol, den typiske metabolit i animal metabolisme, blev ikke fundet. Dette kan skyldes, at MTBE blev fuldstændigt mineraliseret i planterne, eller bare fordampet fra planterne. I forsøg med ^{14}C -mærket MTBE blev det bestemt, at poppel, *Populus deltoides x nigra*, optager og fordamper MTBE i forbindelse med evapotranspirationen (Hong et al. 2001).

MTBE optages let i planter. Fra jorden er MTBE næsten komplet biotilgængelig, og værdien af $\log K_{ow}$ er præcis i det interval, der giver optimal translokering fra jord til blade (se også afsnit 2.2.3.2 om TSCF). Der er behov for forskning omkring MTBE's optag i og nedbrydning ved hjælp af planter.

6.4 Mikrobiel metabolisme

Minimal eller ingen anaerob nedbrydning af MTBE er set (Suflita & Mormile 1993, Yeh & Novak 1994), og det beskrives jævnligt, at nedbrydning af MTBE hæmmes af tilstedeværelse af andre organiske forbindelser. Brug af MTBE som eneste kulstof- og energikilde ses sjældent og sker kun langsomt (Mo et al. 1997).

Nedbrydning af MTBE er ofte ufuldstændig, sandsynligvis fordi kun en del af molekylet benyttes (Mo et al. 1997). Aerobe bakterier kan være i stand til at nedbryde MTBE fuldstændigt (Salanitro et al. 1994). Alle beskrivelser i litteraturen af MTBE nedbrydning involverer oxidation katalyseret af monooxygenase enzymer, oftest cytokrom P450 enzymer (figur 7):



Figur 7: Nedbrydningsreaktioner for MTBE for bakterier (S.Strand)

6.5 Toksicitet for planter

Den akutte toksicitet af forskellige koncentrationer af MTBE overfor hvid pil, *Salix alba*, er blevet undersøgt. Disse træer var relativt upåvirkelige: Niveauer op til 1 g/l kunne tåles i en uge uden ændring i vækst (figur 8).

Figur 8: Vækst af hvid pil, *Salix alba*, i opløsninger med forskellige koncentrationer af MTBE. 1 g svarer til cirka 2% af plantevægten (Upublicerede resultater, K. Miglioranza, IMT/DTU laboratorierne).

6.6 Nyeste fyto Remedieringsprojekter

Muligheden for fyto remediering af grundvand forurenet med MTBE er blevet undersøgt eksperimentelt af Zhang et al. (1999). Elimineringen var signifikant forøget, når der voksede planter i jorden sammenlignet med eliminering i ubeplantet jord. Hurtigst eliminering af MTBE blev set, når planter samtidigt blev inokuleret med bakterier, som er i stand til at nedbryde dette stof.

I et feltstudie med poppel blev det vist, at beplantningen allerede i den første sæson opsugede og fordampede forurenet grundvand svarende til cirka 180 mm nedbør (Hong et al. 2001). I parallelforsøg i laboratoriet blev fytoafdampning af MTBE bestemt til at være den overordnede mekanisme for MTBE fjernelse.

7 Diskussion

Det fremgår af litteraturen, at der er stor interesse for anvendelsen af fytoremediering. Metoden kan formodentlig udvikle sig til en økonomisk og økologisk fordelagtig teknologi for visse forureningssituationer. Der er dog stadig nogle praktiske spørgsmål, der må besvares, og nogle grundlæggende mekanismer der må undersøges nøjere:

- Hvor anvendelig er teknologien til at anvende som *in situ* jordbehandling?
- Nedbrydningskinetik: Hvor lang tid tager nedbrydningen, og hvad er slutresultatet?
- Anvendeligheden af fytoremediering til forskellige forureningstyper i forskellige jordtyper og under forskellige klimaforhold. Her vil der være forskellige lokale problemer verden over.
- Den rumlige udbredelse af rødder i jord. Hertil hører flere forskellige typer undersøgelser:
 - Udvikling af rødders dybde og densitet over tid
 - Den mikrobielle aktivitets variation med roddybden
 - Hvordan rødderne gror gennem eller omkring forurenede lag eller klumper i jorden
 - Hvordan rødderne kan kompensere for iltmangel i de dybereliggende jordlag
- Funktionen af rhizosfærens mikrobiota. Det må undersøges nærmere, i hvor høj grad mikroorganismer i jorden medvirker i fytoremediering. Det ville også være interessant at klarlægge årsagerne til (og mekanismer for), at bakterier, der lever af rodudsondring, tilsyneladende stimuleres til at nedbryde toksiske kontaminanter. Hvis man har en klar forståelse for de involverede mekanismer, er det måske muligt at gå ind og udnytte, dvs. stimulere, en plantebaseret bioremediering.
- Biokemiske reaktionsveje for nedbrydning af kontaminanter i planter bør undersøges nøjere, herunder også forskelle mellem plantearterne. Planter metaboliske reaktionsveje er forskellige fra bakteriers og ligner mere reaktionsvejene hos dyr (Sandermann 1994). Der vides kun ganske lidt om forskelle mellem plantearter.

I øjeblikket udvælges planter til fytoremediering primært ud fra deres anatomiske egenskaber. For eksempel vælges rug for et stort rodnet, poppel for en hurtig vækst, pil for evnen til ilttransport og lucerne for sin stærke rodvækst og symbiosen med nitrogenfixerende bakterier. En alternativ angrebsvinkel kunne være at udvælge de arter, som har en speciel metabolisk kapacitet til fytonedbrydning. I øjeblikket er dette sjældent muligt, fordi de metaboliske reaktionsveje for xenobiotika i planter ikke er undersøgt systematisk, undtagen for pesticider.

8 Stikordsregister

- afdamning;47;53;61;64;78;79
akkumulering;60;78;82
alkaner;45;47;78;81-83
anaerob nedbrydning;78;82
Axved;82;83;53
benzo(a)pyren;67;69;70;72-74
bioremediering;55;89
biotilgængelighed;54;55;70;74;82
bufferstriber;60;62
bælgplanter;47;78;83
cytokrom P450;86
diffus forurening;81
ENDEGRADE;65
enzym;54;61;64;65;71;86
fytoafdamning;51;53;60
fytoekstraktion;60;63;83
fytonedbrydning;56;60;61;89
fytostabilisering;60;61
grundvand;44;47;50;54;61;62;71;85;87;
grønselværdier;81
græsser;47;53;64;83;84
hydraulisk kontrol;60;61
kulbrinte;57;60;78;81-85
lucerne;47;56;62;75;84;89
metabolisme;57;59-62;65;70;71;75;78;82;86
metabolitter;57;62-65;70;71;74;78
mikroorganismer;51;55;64;70;71;81;89
MTBE;44-47;49;50; 52;54;61;85-87
naftalen;71
optag i planter;47;61
PAH;27-36;45-47;49;50;54;55;60;62;63;65;67-75;82;
PCB;54;57;64;52
pesticider;45;62;89
poppel;47;63;75;82;89
Punktkilder;70
RCF;57;59
rhizofiltrering;60
rhizonedbrydning;60;62;83
rodde;55;56
rodudsondring;89
rødder;53-64;72;74;81;83;89
svampe; 50;54;62;65;78;83;
TF;59;73
TNT;62;65
toksicitetstest;63
translokering;53;58;60;81;86
transpiration;47;49;53;82;83;
TSCF;58;59;86
US-EPA;67;68;53
Vassingerød;77

9 Litteraturliste

- Aiken, B.S. & Logan, B.E. (1996): Degradation of pentachlorophenol by the white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* grown in ammonium lignosulphonate media. *Biodegradation* 7:175–182.
- Alexander, M. (1994): Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, San Diego, California
- Alvey, S. & Crowley, D.E. (1996): Survival and activity of an atrazine-mineralizing bacterial consortium in rhizosphere soil. *Environ. Sci. & Technol.*, 30: 1596–1603
- Amterne (2000): Amterne på Sjælland og Lolland-Falster samt Frederiksberg og Københavns Kommune: "Vejledning i håndtering af forurenede jord på Sjælland", januar 2000
- Amternes Videnscenter for jordforurening (AVJ) (1999): Jordforurening fra tjæring af fiskegarn. Erfaringer fra Nordjyllands Amt. *Teknik og Administration* nr. 6, 1999.
- Amternes Videnscenter for jordforurening (AVJ) (2000): Diffus jordforurening – fase 2. Statistisk bearbejdning af data. *Teknik & Administration* nr. 3, 2000
- Andersen, J. (2000): Popler skal rense gasværksgrund. *Ingeniøren* d. 3-11-2000 p. 7
- Anderson, T.A. & Walton, B.T. (1995): Comparative fate of [¹⁴C]Trichloroethylene in the root zone of plants from a former solvent disposal site. *Environ. Toxicol. Chem.*, 14: 2041–2047
- Aprill, W. & Simms, R.C. (1990): Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere*, 20: 253–265
- Arvin, E. & Broholm, K. (1999): Afværgeteknikker for MTBE-forurenede grundvand. *Miljøprojekt nr. 483*, Miljø- og Energiministeriet, Miljøstyrelsen
- Baeder-Bederski, O., Kusch, P. & Stottmeister, U. (1999): Phytovolatilization of organic contaminants. In: Heiden, S.; Erb, R.; Warrelmann, J.; Dierstein, R. (eds.): *Biotechnologie im Umweltschutz*. Erich Schmidt, Berlin, 1999, 175–183
- Bally, M., Wilberg, E., Kühni, M. & Egli, T. (1994): Growth and regulation of enzyme synthesis in the nitrilotracetic acid (NTA)-degrading bacterium *Chelatobacter heintzii* ATCC 29600. *Microbiology*, 140: 1927–1936
- Banks, M.K., Pekarek, S., Rathbone, K. & Schwab, A.P. (1997b): Phytoremediation of petroleum contaminated soils: Field assessment. *In Situ and on-site bioremediation vol 3: Papers from the Fourth International In Situ and On-site bioremediation symposium*. New Orleans, April 28–May 1, 1997, Batelle Press, USA
- Banks, M.K., Schwab, A.P. & Govindaraju, R.S. (1997a): Bioremediation of petroleum contaminated soil using vegetation – A technology transfer project. Final report Project D-93-1 to the Great Plains Rocky Mountain Hazardous Substance Research Center, Kansas State University, Manhattan
- Bauer, J.E. & Capone, D.G. (1988): Degradation and mineralization of the polycyclic aromatic hydrocarbons anthracene and naphthalene in intertidal marine sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 50: 81–90

- Bazin, M.J., Markham, P., Scott, E.M. & Lynch, J.M. (1990): Population dynamics and rhizosphere interactions". Chapter 5 pp 99–127 in: *The Rhizosphere*. Ed. by J.M. Lynch, John Wiley & Sons, New York
- Black, H. (1999): Phytoremediation: A growing field with some concerns. *The Scientist* 13, 1. March 1999, 5–6
- Bokern, M., Raid, R. & Harms, H. (1998): Toxicity, uptake and metabolism of 4-*n*-nonylphenol in root cultures and intact plants under septic and aseptic conditions. *ESPR-Environ. Sci. & Poll. Res.* 5(1): 21–27.
- Boonchan, S., Britz, M.L. & Stanley, G.A. (2000): Degradation and mineralization of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 1007–19
- Bosma, T.N.P., Middeldorp, P.J.M., Schraa, G. & Zehnder, A.J.B. (1997): Mass transfer limitation of biotransformation: Quantifying bioavailability. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 248–252
- Boyle, J.J. & Shann, J.R. (1995): Biodegradation of phenol, 2,4-DCP, 2,4-D and 2,4,5-T in field-collected rhizosphere and nonrhizosphere soils. *J. Environ. Qual.*, 24: 782–785
- Brazil, D., Kenefick, L., Callanan, M., Hara, A., de Lorenzo, V., Dowling, D.N. & O'Gara, F. (1995): Construction of a Rhizosphere *Pseudomonad* with potential to degrade PCBs: Detection of *bph* Gene Expression in the Rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 1946–1952
- Briggs, G., Bromilow, R. & Evans, A. (1982): Relationships between lipophilicity and root uptake and translocation of non-ionised chemicals by barley. *Pestic. Sci.*, 13: 495–504.
- Briggs, G., Rigitano, R. & Bromilow, R. (1987): Physico-chemical factors affecting uptake by roots and translocation to shoots of weak acids in barley. *Pestic. Sci.*, 19: 101–112.
- Brix, H., Sorrell, B.K. & Schierup, H-H. (1996): Gas fluxes achieved by in situ convective flow in *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 54: 151–163.
- Burken, J.G. & Schnoor, J.L. (1997): Uptake and metabolism of atrazine by poplar trees. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 1399–1406
- Burken, J.G. & Schnoor, J.L. (1998): Predictive relationships for uptake of organic contaminants by hybrid poplar trees. *Environ. Sci. Technol.* 32: 3379–3385.
- Campbell, R. & Greaves, M.P. (1990): Anatomy and community structure of the rhizosphere. Chapter 2 pp 11–34 in: *The Rhizosphere*. Ed. by J.M. Lynch, John Wiley & Sons, New York
- Cerniglia, C.E. (1992): Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3: 351–368
- Crowley, D.E., Alvey, S. & Gilbert, E.S. (1997): Rhizosphere ecology of xenobiotic-degrading microorganisms. In Kruger, E.L., Anderson, T.A. and Coats, J.R.: *Phytoremediation of soil and water contaminants. ACS symposium series 664*, ACS, Washington DC, pp 20–36.
- Crowley, D.E., Brennerova, M.V., Irwin, C., Brenner, V. & Focht, D.D. (1996): Rhizosphere effects on biodegradation of 2,5-dichlorobenzoate by a bioluminescent strain of root-colonizing *Pseudomonas fluorescens*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 20: 79–89
- Cunningham, S.D., Anderson, T.A., Schwab, A.P. & Hsu, F.C. (1996): Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.*, 56: 55–114
- Cunningham, S.D., Shann, J.R., Crowley, D.E. & Anderson, T.A. (1997): Phytoremediation of contaminated water and soil. Kapitel 1 pp 2–17 i: *ACS Symposium Series, vol. 664*, American Chemical Society, Washington DC

- Curl, E.A. & Truelove, B. (1986): Root exudates. Kapitel 3 pp 55–92 i: The Rhizosphere. Springer Verlag, Berlin, Germany
- Davis, L.C., Muralidharan, N., Visser, V.P., Chaffin, C., Fateley, W.G. & Hammaker, R.M. (1993): Alfalfa plants and associated microorganisms promote biodegradation rather than volatilization of organic substances from ground water. Kapitel 10 pp 112–122 i: Bioremediation through rhizosphere technology. Redigeret af T.A. Anderson & J.R. Coats. ACS Symposium series 563. Developed from a symposium at the 206'th National Meeting of the American Chemical Society, Chicago, August 23–27, 1993
- Dec, J. & Bollag, J-M. (1994): Use of plant material for the decontamination of water polluted with phenols. *Biotechnology and Bioengineering*, 44: 1132–1139
- Dietrich, D., Hickey, W.J. & Lamar, R. (1995): Degradation of 4,4'-dichlorobiphenyl, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl, and 2,2',4,4', . *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 3904–3909.
- Dobson, M.C. & Moffat, A.J. (1995): A re-evaluation of objections to tree planting on containment landfills. *Waste Management & Research*, 13: 579–600.
- Doty, S.L., Shang, T.Q., Wilson, A.M., Tangen, J., Westergreen, A.D., Newman, L.A., Strand, S.E. & Gordon, M.P. (2000): Enhanced metabolism of halogenated hydrocarbons in transgenic plants containing mammalian cytochrome P450 2E1. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 97: 6287–6291
- Doucette, W.J., Bugbee, B., Hayhurst, S., Plahen, W.A., Donney, D.C., Taffinder, S.A. & Edwards, R. (1998): Phytoremediation of dissolved phase trichloroethylene using mature vegetation. In: Wickramanayake GB, Hinchee RE (eds) 'Bioremediation and Phytoremediation, Chlorinated and Recalcitrant Compounds'. Battelle Press, 251–256
- Dörfler, U., Scheunert, I. & Trapp, S. (2001): Uptake, toxicity and metabolism of MTBE in a microecosystem with radish and lettuce. *Umweltwissenschaften und Schadstofforschung* (på tysk, under forberedelse)
- Dörr, R. (1970): Die Aufnahme von 3,4-Benzopyren durch Pflanzenwurzeln. *Landwirtsch. Forsch.* 23: 371–79
- Edwards, N.T. (1986): Uptake, translocation and metabolism of anthracene in bush bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Environ. Toxicol. Chem.*, 5: 659–665.
- Egli, T. (1995): The ecological and physiological significance of the growth of heterotrophic microorganisms with mixtures of substrates. *Adv. Microb. Ecol.*, 14: 305–86
- Ellenberg, H. (1979): Zeigerwerte der Gefäpflanzten Mitteleuropas. SCRIPTA GEOBOTANICA IX, Erich Goltze KG, Göttingen, Germany.
- Ellis, B. (1994): Reclaiming contaminated land: *In Situ/Ex Situ* remediation of creosote- and petroleum hydrocarbon-contaminated sites. Kapitel 6 pp 107–143 i: Bioremediation. Field experience. Redigeret af Flathman, P.E., Jerger, D.E. & Exner, J.H. Lewis Publishers, CRC Press, Inc., USA
- EPA Environmental Protection Agency (1994): Health risk perspective on fuel oxygenates. Washington D.C., U.S.
- EPA Environmental Protection Agency (1998): Phytoremediation of TCE in groundwater using Populus. EPA-report May at <http://clu-in.org/products/phytotce.htm>
- EPA Environmental Protection Agency (2000): Introduction to Phytoremediation. EPA-report EPA/600/R-99/107. May 2000 at <http://clu-in.org/techpubs.htm>
- Epuri, V. & Sorensen, D.L. (1997): Benzo(a)pyrene and hexachlorobiphenyl contaminated soil: Phytoremediation potential. In Kruger, E.L., Anderson,

- T.A. & Coats, J.R.: Phytoremediation of soil and water contaminants. *ACS symposium series* 664, ACS, Washington DC, pp 200-222.
- Federle, T.W. & Schwab, B.S. (1989): Mineralization of surfactants by microbiota of aquatic plants. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 2092-2094
- Ferro, A.M., Sims, R.C. & Bugbee, B. (1994): Hycrest crested wheatgrass accelerates the degradation of pentachlorophenol in soil. *J. Environ. Qual.*, 23: 272-279
- Flathman, P.E. & Lanza, G.R. (1998): Phytoremediation, current views on an emerging green technology. *Journal of Soil Contamination*, 7(4): 415 - 432.
- Fletcher, J.S. & Hegde, R.S. (1995): Release of phenols by perennial plant roots and their potential importance in bioremediation. *Chemosphere*, 31: 3009-3016
- Frohne, D. & Jensen, U. (1985): Systematik des Pflanzenreiches unter besonderer Berücksichtigung chemischer Merkmale und pflanzlicher Drogen. Gustav Fischer, Stuttgart, Germany, 1985
- Gatliff, E.G. (1994): Vegetative remediation process offers advantages over traditional pump-and-treat technologies. *Remediation*, 4: 343-352
- Gilbert, E.S. & Crowley, D.E. (1997): Plant compounds that induce polychlorinated biphenyl biodegradation by *Arthrobacter* sp. strain B1B. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 1933-1938
- Grosse, W., Frye, J. & Lattermann, S. (1992): Root aeration in wetland trees by pressurized gas transport. *Tree Physiology*, 10: 285-295
- Grosse, W., Jovy, K. & Tiebel, H. (1996): Influence of plants on redox potential and methane production in water-saturated soil. *Hydrobiologica*, 340: 93-99.
- Gräf, W. & Nowak, W. (1966): Promotion of growth in lower and higher plants by carcinogenic polycyclic aromatics. *Arch. Hyg. Bakteriol.*, 150: 513-528.
- Günther, T., Dornberger, U. & Fritsche, W. (1996): Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere*, 33: 203-215
- Haby, P.A. & Crowley, D.E. (1996): Biodegradation of 3-chlorobenzoate as affected by rhizodeposition and selected carbon substrates. *J. Environ. Qual.*, 25: 304-310
- Han, K-H., Keathley, D.E., Davis, J.M. & Gordon, M.P. (1993): Regeneration of a transgenic woody legume (*Robinia pseudoacacia* L., black locust) and morphological alterations induced by *Agrobacterium rhizogenes*-mediated transformation. *Plant Science*, 88: 149-157
- Harms, H. & Langebartels, C. (1986): Standardized plant cell suspension test systems for an ecotoxicological evaluation of the metabolic fate of xenobiotics. *Plant Science*, 45: 157-165
- Harms, H. & Zehnder, A.J.B. (1994): Influence of substrate diffusion on degradation of dibenzofuran and 3-chlorodibenzofuran by attached and suspended bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60: 2736-2745.
- Harms, H. (1975): Metabolism of benzo(a)pyrene in plant cell cultures and wheat seedlings. *Landbauforsch. Voelkenrode*, 25(2): 83-90.
- Harms, H. (1996): Bacterial growth on distant naphthalene diffusing through water, air, water-saturated, and unsaturated porous media. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 2286-2293.
- Harms, H. (1999): The use of laboratory model systems to elucidate the mechanisms of bioavailability of hydrophobic organic compounds. I: Bioavailability of Organic Xenobiotics in the Environment, pp 121-134, redigeret af P. Baveye et al., Kluwer Academic Publishers, Holland
- Harms, H. & Bosma, T.N.P. (1996): Mass transfer limitation of microbial growth and pollutant degradation. *J. Ind. Microbiol.*, 18: 97-105

- Harms, H., Dehnen, W. & Mönch, W. (1977): Benzo(a)pyrene metabolites formed by plant cells. *Z. Naturforsch.*, 32: 321–326.
- Hedeselskabet (2000): Kopi af analyseresultater: "Phyto-oprensning af rabatjord i Vejle Amt", dateret d. 28-9-2000, afsendt af Areense Nordentoft, Hedeselskabet, vedlagt analysedata fra Miljø-Kemi, Dansk Miljø Center A/S.
- Hong, M.S., Farmayan, W.F., Dortch, I.J., Chiang, C.Y., McMillan, S.K., & Schnoor, J.L. (2001): Phytoremediation of MTBE from a groundwater plume. *Environ. Sci. & Technol.*, 35: 1231-1239.
- Hsu, F.C., Marxmiller, R.L. & Yang, A.S. (1991): Study of root uptake and xylem translocation of cinmethylin and related compounds in detopped soybean roots using a pressure chamber technique. *Plant Physiol.*, 93: 1573–1578.
- Hsu, T.S. & Bartha, R. (1979): Accelerated mineralization of two organophosphate insecticides in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 37: 36–41
- Hulzebos, E.M., Adema, D.M.M., Dirven-Van Breemen, E.M., Henzen, L., Van Dis Wa, Herbold, H.A., Hoekstra, J.A., Baerselman, R. & Van Gestel Cam (1993): Phytotoxicity studies with *Lactuca sativa* in soil and nutrient solution. *Environ. Toxicol. Chem.*, 12: 1079–1094
- Hutchinson, S.L., Banks, M.K., & Schwab, A.P. (2001): Phytoremediation of aged petroleum sludge: Effect of inorganic fertilizer. *J. Environ. Qual.*, 30: 395-403.
- Hülster, A. & Marschner, H. (1995): PCDD/PCDF-complexing compounds in zucchini. *Organohalogen Compounds*, 24: 493–495.
- Hülster, A., Mueller, J.F. & Marschner, H. (1994): Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the cucumber family (*Cucurbitaceae*). *Environ. Sci. Technol.*, 28: 1110–1115.
- Höflich, G. & Günther, T. (2000): Einfluss von Pflanzen-Rhizosphären-mikroorganismen-Assoziationen auf den Abbau von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen im Boden. *Die Bodenkultur*, 51(2): 91-97.
- Inoue, J., Chamberlain, K. & Bromilow, R.H. (1998): Physico-chemical factors affecting the uptake by roots and translocation to shoots of amine bases in barley. *Pestic. Sci.*, 54: 8–21.
- Iritz, Z. (1996) Energy balance and evaporation of a short-rotation willow forest. Dissertation, Sveriges Landbrugs Universitet-report No 1, 1996.
- ITRC Interstate Technology and Regulatory Cooperation Work Group / Phytoremediation Work Team (1999): Phytoremediation Decision Tree. Homesite ITRC <http://www.itrcweb.org>. Document available at <http://www.imt.dtu.dk/courses/63190/stt/research2.htm> (October 2000)
- Jackson, M.B. & Attwood, P.A. (1996): Roots of willow (*Salix viminalis* L.) show marked tolerance to oxygen shortage in flooded soils and in solution culture. *Plant and Soil*, 187: 37–45.
- Jakobsen, P.R. & Klint, K.E.S. (1999): Fracture distribution and migration of DNAPL in a clayey lodgement till. *Nordic Hydrology*, 30: 285–300
- Joner, E.J., Hohansen, A., Loibner, A.P., Dela Cruz, M.A., Szolar, H.J., Portal, J.-M., & Leyval, C. (2001): Rhizosphere effects on microbial community structure, and dissipation and toxicity of PAH in spiked soil. *Environ. Science Technol.*, in press.
- Jordahl, J.L., Foster, L., Schnoor, J.L. & Alvarez, P.J.J. (1997): Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16: 1318–21

- Jury, W.A., Russo, D., Streile, G. & Hesham, E. (1990): Evaluation of volatilization by organic chemicals residing below the soil surface. *Wat. Resources Res.*, 26 (1): 13–20.
- Jury, W.A., Spencer, W.F. & Farmer, W.J. (1983, 1987): Behavior assessment model for trace organics in soil: I. Model description. *J. Environ. Qual.*, 12: 558–564, plus Erratum (1987) *J. Environ. Qual.*, 16: 448.
- Jørgensen, U. & Schelde, K. (2001) Energy crop water and nutrient use efficiency. Report for International Energy Agency, Paris, Bioenergy, Task 17
- Karickhoff, S.W. (1981): Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere*, 10: 833–846.
- Karlson, U. (2000): Samspil mellem planter og mikro-organismer ved fjernelse af organiske jordforureniger. ATV (eds.): ATV Vintermøde om grundvandsforurening, Vingsted, Danmark, 7.–8. marts 2000
- Karthikeyan, R., Davis, L.C., Mankin, K.R., Erickson, L.E. & Kulakow, P.A. (1999): Biodegradation of jet fuel (JP-8) in the presence of vegetation. Proc. Conference on Hazardous Waste Research, 1999: 243–256.
- Kirchmann, H. & Tengsved, A. (1991): Organic pollutants in sewage sludge. 2. Analysis of barley grains grown on sludge-fertilized soil. *Swedish J. Agric. Res.*, 21: 115–119
- Klint, K.E.S. & Fredericia, J. (1995): Sprækkeparametre i moræneler. *Vand og Jord*, oktober 1995: 208–214
- Knaebel, D.B. & Vestal, J.R. (1992): Effects of intact rhizosphere microbial communities on the mineralization of surfactants in surface soils. *Can. J. Microbiol.*, 38: 643–653
- Knoche, H., Klein, M., Kördel, W., Wahle, U., Hund, K., Müller, J. & Klein, W. (1995): Literaturstudie zur Ableitung von Bodengrenzwerten für polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK). Umweltbundesamt Berlin, report 107 03 007/14.
- Koch, A.L. (1990): Diffusion: The crucial process in many aspects of the biology of bacteria. In: *Adv. Microbial Ecol.*, vol. 11, redigeret af K.C. Marshall, Plenum Press, New York, pp 37–70.
- Komisar, S.J. & Park, J. (1997): Phytoremediation of diesel-contaminated soil using alfalfa. In *Situ and on-site bioremediation vol 3: Papers from the Fourth International In Situ and On-site bioremediation symposium*. New Orleans, April 28–may 1, 1997, Batelle Press, USA
- Komossa, D., Langebartels, C. & Sandermann Jr, H. (1995): Metabolic processes for organic chemicals in plants. I: Trapp, S. & Mc Farlane, C. (editorer), *Plant Contamination - Modeling and Simulation of Organic Chemical Processes*. Lewis Pub., Boca Raton, Florida, USA, 69–103.
- Kovarova, K., Käch, A., Zehnder, A.J.B. & Egli, T. (1997): Cultivation of *Escherichia coli* with mixtures of 3-phenylpropionic acid and glucose: Steady state growth kinetics. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 2619–24
- Kulakov, P.A., Schwab, A.P., Banks, M.K. & O'Reilly, K.T. (1998): Assessment of vegetation enhanced biodegradation of aged hydrocarbon contaminants. Draft Final Report (California Refinery site) Project D-93-1 to The Great Plains of Rocky Mountain Hazardous Substance Research Center, Kansas State University, Manhattan.
- Kutschera, L. (1960): Wurzelatlas mitteleuropäischer Ackerunkräuter und Kulturpflanzen. DLG-Verlags-GmbH, Frankfurt.
- Kutschera, L., Lichtenegger, E. & Sobotik, M. (1982): Wurzelatlas mitteleuropäischer Grünlandpflanzen. Gustav Fischer, New York.

- Lamar, R.T. & Dietrich, D.M. (1990): In situ depletion of pentachlorophenol from contaminated soil by *Phanerochaete* spp. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 3093–3100.
- Larcher, W. (1995): Physiological plant ecology. Berlin: Springer, 3. udgave.
- Larsen, L.C. & Trapp, S. (2000): Phytoremediering af olieprodukter på en nedlagt tankstation. ATV Vintermøde om grundvandsforurening, Vingstedcentret 7.–8. marts, 2000.
- Lin, Q. & Mendelsohn, I.A. (1998): The combined effects of phytoremediation and biostimulation in enhancing habitat restoration and oil degradation of petroleum contaminated wetlands. *Ecological Engineering*, 10: 263–274.
- Liste, H.-H., & Alexander, M. (1999): Rapid screening of plants promoting phenanthrene degradation. *J. Environ. Qual.*, 28: 1376-1377.
- Lombi, E. & Wenzel, W.W. (1999): Phytosanierung: Grundlegende Prozesse und künftige Verbesserungen. In Umweltbundesamt (eds.) 'Pflanzenbelastung auf kontaminierten Standorten'. Erich Schmidt, Berlin, 157–169.
- Macek, T., Mackova, M. & Kas, J. (2000): Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. *Biotechnology Advances*, 18: 23–34
- Mackay, D., Shiu, W.Y. & Ma, K.C. (1993): Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Vol. III. Lewis Pub., Boca Raton, USA.
- Macpherson, G. (1995) Home grown energy from short-rotation coppice. Farming Press Books, Ipswich, United Kingdom.
- Mc Farlane, J.C., Pflieger, T. & Fletcher, J. (1990): Effect, uptake and disposition of nitrobenzene in several terrestrial plants. *Environ. Toxicol. Chem.*, 9: 513–520.
- Merck & Co, Inc. (1996): The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 12. udgave. Redigeret af S. Budavari, M.J. O'Neil, A. Smith, P.E. Heckelman & J.F. Kinneary. Merck Research Laboratories, USA
- Miljøkontrollen (1999): Miljøet i København. Rapport downloadet fra www.miljoe.kk.dk
- Miljøstyrelsen (1996): Projekt om jord og grundvand fra Miljøstyrelsen, Nr. 20, 1996, Kemiske stoffers opførsel i jord og grundvand.
- Miljøstyrelsen (1997), jordforureningskontoret: Kortlægning af kilder til jordforurening. Status og erfaringer. 1997.
- Miljøstyrelsen (1998a): Vejledning fra Miljøstyrelsen nr. 6 1998. Oprydning på forurenede lokaliteter
- Miljøstyrelsen (1998b): Handlingsplan for MTBE. Fundet på Miljøstyrelsens hjemmesider: www.mst.dk
- Miljøstyrelsen (1998c): Bioremediering: rensning af PAH forurenede jord med svampe. *Miljøprojekt nr. 411*, DTI, Miljø, sektion for bioteknik.
- Miljøstyrelsen (1999a): Oprensning af blandingsforurenede jord. *Miljøprojekt nr. 503*, Teknologiudviklings-programmet for jord- og grundvandsforurening, Miljø- og Energiministeriet, Miljøstyrelsen.
- Miljøstyrelsen (1999b): Opsamling af data for diffus jordforurening. Arbejdsrapport nr. 13, Miljøstyrelsen
- Miljøstyrelsen (2001a): Naturlig nedbrydning af PAH'er i jord og grundvand. *Miljøprojekt nr. 582*, Miljø- og energiministeriet, Miljøstyrelsen & RAMBØLL.
- Miljøstyrelsen (2001b): Roddybder i grønsager. *Miljøprojekt nr. 588*, Teknologiudviklings-programmet for jord- og grundvandsforurening, Miljø- og Energiministeriet, Miljøstyrelsen.

- Mo, K., Lora C.O., Wanken, A.E., Javarmardian, M., Yang, X. & Kulpa, C.F. (1997): Biodegradation of methyl t-butyl ether by pure bacterial cultures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 47: 69–72
- Mortensen, J.V., Nielsen, K.H. & Jørgensen, U. (1998): Nitrate leaching during establishment of willow (*Salix viminalis*) on two soil types and at two fertilisation levels. *Biomass and Bioenergy*, 15(6): 457–466.
- Moser, M. & Haselwandter, K. (1983): Ecophysiology of Mycorrhizal symbioses. pp 392–421 i: *Encyclopedia of plant physiology*. New Series. 12C: Physiological plant ecology. 3: Responses to the chemical and biological environment. Berlin, Springer.
- Nakajima, D., Kojima, E., Iwaya, S., Suzuki, J. & Suzuki, S. (1996): Presence of 1-hydroxypyrene conjugates in woody plant leaves and seasonal changes in their concentrations. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 1675–1679.
- Narayanan, M., Davis, L.C. & Erickson, L.E. (1995): Fate of volatile chlorinated organic compounds in a laboratory chamber with alfalfa plants. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 2437–2444
- Neumann, G., Hülster, A. & Marschner, H. (1996): Identifizierung PCDD/F-mobilisierender Verbindungen in Wurzelexudaten von Zucchini. *Veroeff. PAOe*, 16: 513–528.
- Newman, E.I. (1985): The rhizosphere: carbon sources and microbial populations. pp 107–121 i: *Ecological interactions in soil. Plants, microbes and Animals*. Redigeret af A.H. Fitter, Blackwell Scientific Publications, England
- Newman, L., Wang, X., Muiznieks, I., Ekuan, G., Ruszaj, M., Cortellucci, R., Domroes, D., Karscig, G., Newman, T., Crampton, R. S., *et al.* (1999): Remediation of trichloroethylene in an artificial aquifer with trees: A controlled field study. *Environ. Sci. Technol.*, 33: 2257–2265
- Newman, L.A. (2000): Presentation at the DHI Danish Hydraulic Institute, Hørsholm, 9th March 2000.
- Newman, L.A., Doty, S.L., Gery, K.L., Heilman, P.E., Muiznieks, I., Shang, T.Q., Siemieniec, S.T., Strand, S.E., Wang, X., Wilson, A.M. & Gordon, M.P. (1998): Phytoremediation of organic contaminants: A review of phytoremediation research at the university of Washington. *J. Soil Cont.*, 7(4): 531–542.
- Newman, L.A., Strand, S.E., Choe, N., Duffy, J., Ekuan, G., Ruszaj, M., Shurtleff, B.B., Wilmoth, J., Heilman, P. & Gordon, M.P. (1997): Uptake and biotransformation of trichloroethylene by hybrid poplars. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 1062–1067
- Normander, B., Hendriksen, N.B. & Nybroe, O. (1999): Green fluorescent protein-marked *Pseudomonas fluorescens*: Localization, viability and activity in the natural barley rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65: 4646–4651
- O'Neill, E.J., Cripe, C.R., Mueller, L.H., Conolly, J.P. & Pritchard, P.H. (1989): Fate of fenthion in salt-marsh environments: II. Transport and biodegradation in microcosms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 8: 759–68
- Oliebranchens Miljøpuljes hjemmesider (2001): <http://www.oilforum.dk/om/statistik/>
- Olsen, I., Thomsen, M., Jeppesen, A.Z. & Rand, R.H. (1997): Erfaringsopsamling på Amternes registreringsundersøgelser. Amternes Videnscenter for Jordforurening. *Teknik & Administration* nr. 3, 1997
- Olson, P.E. & Fletcher, J.S. (2000): Ecological recovery of vegetation at a former industrial sludge basin and its implications to phytoremediation. *Environ. Sci. & Poll. Res.*, 7: 195–204
- Orchard, B.J., Doucette, W.J., Chard, J.K. & Bugbee, B. (2000): Uptake of trichloroethene by hybrid poplar trees grown hydroponically in flow-through plant growth chambers. *Environ. Tox. Chem.*, 19: 895–903

- Perrson, G. (1995): Willow stands evapotranspiration simulated for Swedish soils. *Agricultural Water Management*, 28: 271–293.
- Pradhan, S.P., Conrad, J.R., Paterek, J.R. & Sristava, V.J. (1998): Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MPG sites. *J. Soil Cont.*, 7: 467–480.
- Qiu, X., Leland, T.W., Shah, S.I., Sorensen, D.L. & Kendall, E.W. (1997): Field study: Grass Remediation for Clay Soil Contaminated with Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *ACS Symposium Series* 664, ed. by Kruger, Anderson & Coats, kapitel 14: 186–199. American Chemical Society, Washington DC
- Radwan, S., Sorkhoh, N. & El-Nemr, I. (1995): Oil biodegradation around roots. *Nature*, 376: 302.
- Reilley, K.A., Banks, M.K. & Schwab, A.P. (1996): Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J. Environ. Qual.*, 25: 212–219.
- Reynolds, C.M., Koenen, B.A., Carnahan, J.B., Walworth, J.L. & Bhunia, P. (1997): Rhizosphere and nutrient effects on remediating subarctic soils. pp 297–302 i: In *Situ and On-Site bioremediation: Volume 1. Papers from the Fourth International In-Situ and On-Site Bioremediation Symposium*. New Orleans, April 28–May 1, 1997. Battelle Press, Columbus.
- Rigitano, R.L.O., Bromilow, R.H., Briggs, G.G. & Chamberlain, K. (1987): Phloem translocation of weak acids in *Ricinus communis*. *Pestic. Sci.*, 19: 113–133.
- Rijnaarts, H.H.M., Bachmann, A., Jumelet, J.C. & Zehnder, A.J.B. (1990): Effect of desorption and intraparticle mass transfer on the aerobic biomineralization of alpha-hexachlorocyclohexane in a contaminated calcareous soil. *Environ. Sci. Technol.*, 24: 1349–1354.
- Rippen, G. (1996–1999): *Handbuch Umweltchemikalien*. ecomed, Landsberg a.L., Germany (Løbende opdateret ringbindsversion).
- Rytter, R.M. & Hansson, A.C. (1996): Seasonal amount, growth and depth distribution of fine roots in an irrigated and fertilized *Salix viminalis* L. plantation. *Biomass and Bioenergy*, 11: 129–137.
- Salanitro, J.P., Diaz, L.A., Williams, M.P. & Wisniewski, H.L. (1994): Isolation of a bacterial culture that degrades methyl t-butyl ether. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60(7): 2593–2596
- Sandermann, H. (1994): Higher plants metabolism of xenobiotics: the 'green liver' concept. *Pharmacogenetics*, 4: 225–241.
- Sanders, P.F. & Stern, A.H. (1994): Calculation of soil cleanup criteria for carcinogenic volatile organic compounds as controlled by the soil-to-indoor air exposure pathway. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13: 1367–1373.
- Schlegel, H. (1993): *General microbiology*. Cambridge Univ. Press, 7. udgave.
- Schnoor, J.L., Licht, L.A., McCutcheon, S.C., Wolfe, N.L. & Carreira, L.H. (1995): Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 29: 318A–323A.
- Schnöder, F., Mittelstaedt, W. & Führ, F. (1996): Das Verhalten von ¹⁴C-Fluoranthren und -Benzo(a)pyren sowie ¹⁴C-PCB 28 und -PCB 52 im Agrarökosystem - Lysimeterversuche mit einer Parabraunerde aus Löss. In *Landesumweltamt NRW, eds, Materialien zur Ermittlung und Sanierung von Altlasten*, LUA Essen, Germany, pp 1–214.
- Schwab, A.P. & Banks, M.K. (1994): Biologically mediated dissipation of polyaromatic hydrocarbons in the root zone. Kapitel 12 pp 132–141 i: *Bioremediation through rhizosphere technology*. ACS Symposium Series 563, USA

- Schwab, A.P., Al-Assi, A.A. & Banks, M.K. (1998): Plant and environmental interactions. Adsorption of naphthalene onto plant roots. *J. Environ. Qual.*, 27: 220–224
- Schwab, A.P., Banks, M.K. & Arunachalam, M. (1995): Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Rhizosphere Soil. I: Hinchee, R.E., Anderson, D.B. og Hoeppe, R.E. (eds.): *Bioremediation of recalcitrant organics*, Battelle Memorial Institute, USA, pp 23–29
- Shiaris, M.P. (1989): Seasonal biotransformation of naphthalene, phenanthrene and benzo(a)pyrene in superficial sediments. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55: 1391–99
- Shimp, J.F., Tracy, J.C., Davis, L.C., Huang, W., Erickson, L.E. & Schnoor, J.L. (1993): Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 23: 41–77
- Shone, M.G.T. & Wood, A.V. (1974): A comparison of the uptake and translocation of some organic herbicides and a systemic fungicide by barley. I. Adsorption in relation to physico-chemical properties. *J. Exp. Botany*, 25: 390–400
- Siciliano, S.D. & Germida, J.J. (1998): Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environ. Rev.*, 6: 65–79
- Skude & Jacobsen (Rådgivende Ingeniører): Statusrapport nr. 1, Bøgevangen 14, Allerød – Phytooprensning. 27-1- 2000
- Smith, M.R. (1990): The biodegradation of aromatic hydrocarbons by bacteria. *Biodegradation*, 1: 191–206
- Squillace, P.J., Zogorski, J.S., Wilber, W.G. & Price, C.V. (1996): Preliminary assessment of the occurrence and possible sources of MTBE in groundwater in the United States, 1993–1994. *Environ. Sci. Technol.*, 30: 1721–1730
- Steffan, R.J., McClay, K., Vainberg, S., Condee, C.W. & Zhang, D. (1997): Biodegradation of the gasoline oxygenates methyl tert-butyl ether, ethyl tert-butyl ether, and tert-amyl methyl ether by propane-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63: 4216–4222
- Stringfellow, W.T. & Aitken, M.D. (1995): Competitive metabolism of naphthalene, methylnaphthalenes and fluorine by phenanthrene-degrading pseudomonads. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61: 357–62
- Suflita, J. M. & Mormile, M.R. (1993): Anaerobic biodegradation of known and potential gasoline oxygenates in the terrestrial subsurface. *Environ. Sci. Technol.*, 27(5): 976–978
- Suominen, L., Jussila, M.M., Mäkeläinen, K., Romantschuk, M. & Lindström, K. (2000): Evaluation of the *Galega-Rhizobium galegae* system for the bioremediation of oil-contaminated soil. *Environ. Pollution*, 107: 239–244
- Svenson, A., Kjeller, L.-O. & Rappe, C. (1989): Enzyme-mediated formation of 2,3,7,8-tetrasubstituted chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans. *Environ. Sci. Technol.*, 23: 900–902.
- Thompson, P.L., Ramer, L.A., Guffey, A.P. & Schnoor, J.L. (1998): Decreased transpiration in poplar trees exposed to 2,4,6-trinitrotoluene. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17(5): 902–906.
- Topp, E.M. (1985): Aufnahme von Umweltchemikalien in die Pflanze in Abhängigkeit von physikalisch-chemischen Stoffeigenschaften. Dissertation, Technische Universität München.
- Trapp, S. & Christiansen, H. (2001): Phytoremediation as in situ Treatment Method for Cyanide-Polluted Soils. I: McCutcheon, S.C. & Schnoor, J.L.

- (eds.): *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*. Optaget til publicering af John Wiley & Sons.
- Trapp, S. & Matthies, M. (1997): Modeling Volatilisation of PCDD/F from Soil and Uptake into Vegetation. *Environ. Sci. Technol.*, 31(1): 71–74.
- Trapp, S. & Pussemier, L. (1991): Model Calculations and Measurements of Uptake and Translocation of Carbamates by Bean Plants. *Chemosphere*, 22(3/4): 327–339.
- Trapp, S. (1995): Model for uptake of xenobiotics into plants. I: Trapp, S. & Mc Farlane, C. (eds.), *Plant Contamination - Modeling and Simulation of Organic Chemical Processes*. Lewis Pub., Boca Raton, Florida, USA, 107–151.
- Trapp, S. (2000): Modeling uptake into roots and subsequent translocation of neutral and ionisable organic compounds. *Pest Management Science (formerly Pesticide Science)* 56: 767–778.
- Trapp, S., Matthies, M. & Reiter, B. (1998): Transferfaktoren Boden-Pflanze. Rapporteret til det tyske Umweltbundesamt, Project No. 107 02 005, upublikeret.
- Trapp, S., Mc Farlane, C. & Matthies, M. (1994): Model for Uptake of Xenobiotics into Plants - Validation with Bromacil Experiments. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13(3): 413–422.
- Trapp, S., Zambrano, K.C., Kusk, K.O. & Christiansen, H. (under forberedelse): Laboratory studies and model calculations to the Axerved Phytoremediation Site.
- Trapp, S., Zambrano, K.C., Kusk, K.O. & Karlson, U. (2000): A phytotoxicity test using transpiration of willows. *Arch. Environ. Cont. Toxicol.*, 39(2): 154–160.
- US-EPA standard test methods 8100 and 8310. In the on-line publication SW-846: Test Methods for evaluation solid wastes. Physical chemical methods. Download via <http://www.epa.gov/epaoswer/hazwaste/test/index.htm>
- Van Zwieten, L., Sriskandarajah, S., Feng, L. & Kennedy, I.R. (1992): Plant-microbial associations: The potential for bioremediation. *Soil decontamination using biological processes*, 6–9 december 1992, Karlsruhe, DECHEMA, Frankfurt, Germany
- Volkering, F., Breure, A.M. & van An del, J.G. (1993): Effect of micro-organisms on the bioavailability and biodegradation of crystalline naphthalene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 40: 535–540.
- Walton, B.T. & Anderson, T.A. (1990): Microbial degradation of trichloroethylene in the rhizosphere: Potential application to biological remediation of waste sites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56: 1012–1016
- Watanabe, M.E. (1997): Phytoremediation on the brink of commercialization. *Environ. Sci. Technol.*, 31: 182A–186A.
- Wiedemeier, T.H., Rifai, H.S., Newell, C.J. & Wilson, J.T. (1999): Natural attenuation of fuels and chlorinated solvents in the subsurface. John Wiley & Sons, New York.
- Wild, S.R. & Jones, K.C. (1992): Organic chemicals in the environment. Polynuclear aromatic hydrocarbon uptake by carrots grown in sludge-amended soil. *J. Environ. Qual.*, 21: 217–225
- Wild, S.R., Jones, K.C. & Johnston, A.E. (1992): The polynuclear aromatic hydrocarbon (PAH) content of herbage from a long term grassland experiment. *Atmospheric Environment*, 26A: 1299–1307
- Wiltse, C.C., Rooney, W.L., Chen, Z., Schwab, A.P. & Banks, M.K. (1998): Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *J. Environ. Qual.*, 27: 169–173

- Yeh, C.K. & Novak, J.T. (1994): Anaerobic biodegradation of gasoline oxygenates in soils. *Water Environ. Res.*, 66: 744–752
- Yuste, L., Canosa, I. & Rojo, F. (1998): Carbon-source-dependent expression of the *PalkB* promoter from the *Pseudomonas oleovorans* alkane degradation pathway. *J. Bacteriol.*, 180: 5218–5226
- Zakharova, E.A., Kosterin, P.V., Brudnik, V.V., Sherbakov, A.A., Ponomaryov, A.A., Shcherbakova, L.F., Mandich, V.G., Federov, E.E. & Ignatov, V.V. (2000): Soil phytoremediation from the breakdown products of the chemical warfare agent, yperite. *Environ. Sci. & Poll. Res.*, 7: 191–194.
- Zhang, Q. (1999): Phytoremediation of methyl tert-butyl ether (MTBE) in groundwater - experimental and modeling studies. Dissertation, Department of Chemical Engineering, Kansas State University
- Zhang, Q., Davis, L.C. & Erickson, L.E. (1999): An experimental study of phytoremediation of methyl-tert butylether (MTBE) in groundwater. Proc. of the 1999 Conference on Hazardous Waste Research, 227–242.
- Öberg, L.G., Glas, B., Swanson, S.E., Rappe, C. & Paul, K.G. (1990): Peroxidase-catalyzed oxidation of chlorophenols to polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 19: 930–938.