

# **Fytoremediëring: Klaar voor gebruik in Nederland?**

**J. Japenga**

**RAPPORTEN PROGRAMMA GEÏNTEGREERD BODEMONDERZOEK**

**DEEL 24**



**J. Japenga**

**RAPPORTEN PROGRAMMA GEÏNTEGREERD BODEMONDERZOEK**

**DEEL 24**

Gegevens: Fytoremediëring: Klaar voor gebruik in Nederland? - J. Japenga - Wageningen: Programmabureau Geïntegreerd Bodemonderzoek (Rapporten Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek; deel 24) - 34 p., E. summ. - ISBN 90-73270-39-1.

Trefwoorden: bodemsanering, fytoremediëring, waterbodemsanering.

Verantwoording:

Fytoremediëring kan in bepaalde gevallen worden beschouwd als een aantrekkelijk alternatief of als aanvullende maatregel bij de sanering van met zware metalen en organische stoffen verontreinigde gronden en baggerspecies. Op basis van literatuurgegevens wordt de huidige stand van zaken in het onderzoek weergegeven en worden de toepassingsmogelijkheden in Nederland verkend. Er wordt aandacht besteed aan de verschillende mechanismen die hierbij een rol spelen (fyto-extractie, rhizofiltratie, fytotransformatie, rhizosfeer-bioremediëring, fytostabilisatie en fytotranspiratie). Na verder onderzoek lijkt toepassing in Nederland met name van belang in gebieden en op locaties die worden gekenmerkt door een diffuse verontreiniging met zware metalen, voor de reiniging van grondwater en drainwater dat is verontreinigd met bepaalde organische verbindingen, voor procesversnelling in bijvoorbeeld landfarms en voor de vastlegging van verontreiniging aan de bodem, zodat uitspoeling en opname door planten worden tegengegaan.

Het rapport is verkrijgbaar bij het Programmabureau Bodemonderzoek in Wageningen à f 40,--.

Projectleiding en uitvoering:

Dr. J. Japenga, Alterra, Research Instituut voor de groene ruimte, Droevendaalsesteeg 3, Postbus 125, 6700 AC Wageningen; telefoon: 0317-474200; e-mail: J.Japenga@ab.dlo.nl.

Dankwoord:

De leiding van het programma dankt dr.ir. K.P. Groen (RIZA/AKWA) en ir. R. van den Berg (RIVM-LBG) voor de begeleiding van het project namens de Programmacommissie Geïntegreerd Bodemonderzoek. Extra dank is verschuldigd aan dr. M.M.A. Ferdinandy (RIZA) voor haar reactie op het concept-eindrapport.

©1999. Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek. Postbus 37, NL-6700 AA Wageningen; telefoon: 0317-484170; telefax: 0317-485051; e-mail: office pgbo@spbo.beng.wau.nl.

omslag: Ernst van Cleef  
druk: Grafisch Service Centrum van Gils B.V., Wageningen

## Inhoud

Samenvatting	i
Summary	iii
1. Inleiding	1
2. Doelstelling	3
4. De stand van zaken in het fyto-remediëringsonderzoek	4
3.1 Fyto-extractie van zware metalen	4
3.2 Rhizofiltratie van zware metalen	13
3.3 Fytotransformatie en rhizosfeer-bioremediëring	15
3.3.1 Rhizosfeer-bioremediëring	15
3.3.2 Fytotransformatie	16
3.4 Fytostabilisatie	20
3.5 Fytotranspiratie	21
4. Toepassingsmogelijkheden van fyto-remediëring in Nederland	22
4.1 Fyto-extractie van zware metalen	22
4.2 Rhizofiltratie van zware metalen	26
4.3 Fytotransformatie en rhizosfeer-bioremediëring	27
4.4 Fytostabilisatie	29
5. Conclusie	31
6. Referenties	33

Tabel 1	Verwachte omzet fyto-remediëringsprojecten in de USA tussen 1999 en 2005 (in M\$)	2
Figuren		
1.	Bio-accumulatie van Zn en Cd in drie plantensoorten	6
2.	Opname van Pb door jonge maïs- en peul-planten onder invloed van chelatoren	8
3.	Invloed van de pH, zonder en met toevoeging van chelatoren op de opname van Pb door <i>Brassica juncea</i>	9
4.	Opname van Pb door <i>Brassica juncea</i> in een watercultuur	14
5.	De opname van atrazine uit de bodem door populieren-stekken en omzetting in de plant	17
6.	De opname van TNT in een watercultuur van myriophyllum en afbraak in de plant	18

## Samenvatting

In de Verenigde Staten en Canada bedraagt het budget voor fyto-remediëring, i.e. de toepassing van planten bij de sanering van verontreinigde bodems, sedimenten en afvalwaterstromen, voor 1999 circa M\$ 40 en wordt een verdere exponentiële stijging verwacht [19]. Dit is overigens nog steeds slechts 0,1% van de totale inspanning op het gebied van bodem- en watersanering aldaar. In Europa komt de toepassing van fyto-remediëring slechts langzaam op gang: een geschat budget van M\$ 1-2 in 1999. In de rest van de wereld wordt fyto-remediëring op dit moment nagenoeg niet toegepast.

Een analyse van de toekomstmogelijkheden en vooral ook van de beperkingen van de toepassing van fyto-remediëring in Nederland op korte en langere termijn is daarom belangrijk. Uitgangspunt hierbij is, dat fyto-remediëring niet een algemeen toepasbare methode (“wondermiddel”) is, maar eerder een aantrekkelijk alternatief in bepaalde verontreinigingssituaties. Voor welke verontreinigingssituaties en onder welke omstandigheden is op dit moment niet altijd duidelijk. Deze publicatie poogt hierin meer duidelijkheid te scheppen.

Het meest in het oog springende voordeel van fyto-remediëring is het feit dat er sprake is van “groene bodemsanering” en dat de methode relatief goedkoop is. Het belangrijkste nadeel is de doorgaans langere saneringsduur bij fyto-remediëring.

In hoofdstuk III wordt een indruk gegeven van de huidige stand van zaken in het onderzoek naar de mogelijkheden van fyto-remediëring. Het betreft hier geen uitputtende literatuurstudie (hiervoor zijn overzichtsartikelen voorhanden) maar meer een globaal overzicht. Sommige onderzoeksresultaten worden ter illustratie meer in detail voor het voetlicht gebracht. Het betreft hier met name onderzoeksresultaten waarin de fundamentele mogelijkheden van fyto-remediëring worden afgetast en waarin de grenzen van de toepasbaarheid worden aangegeven. Aan resultaten van toepassingen op veldschaal wordt bewust minder aandacht geschonken, met name omdat resultaten vaak met elkaar in tegenspraak zijn, soms onvoldoende wetenschappelijk zijn onderbouwd en er derhalve op basis hiervan een verkeerd beeld kan ontstaan. Door slechts succesverhalen te noemen worden de mogelijkheden overschat, door de nadruk op mislukkingen te leggen (voor zover gepubliceerd!) worden de mogelijkheden onderschat. Fyto-remediëring is helaas nog te zeer een zaak van er al dan niet in “geloven”, hetgeen tot uitdrukking komt in de interpretatie van (veld)onderzoeksresultaten.

In hoofdstuk IV wordt nagegaan voor welke verontreinigingssituaties in Nederland het zinvol is om op korte termijn de praktische mogelijkheden van fyto-remediëring verder te exploreren door middel van meer grootschalige tests. Geconcludeerd wordt dat in Nederland de volgende situaties op korte termijn het meest kansrijk zijn:

1. Matig met zware metalen verontreinigde gebieden, waar de duur van de sanering minder belangrijk is (uiterwaarden, EHS-gronden *etc.*);

2. Lokaal met organische stoffen, zoals TCE-verontreinigd grondwater;
3. Het versnellen van de natuurlijke afbraak van organische verontreinigingen (bijvoorbeeld PAK's) in landfarms;
4. Het toepassen van vegetatie als integraal onderdeel van het actief beheer van verontreinigde bodems zoals bijvoorbeeld in de Brabantse Kempen, maar ook bijvoorbeeld als integraal onderdeel van landfarming.



## **Abstract**

Phytoremediation: Ready for use in The Netherlands?

Author: J. Japenga, Alterra, Green World Research, Wageningen, The Netherlands.

In the USA and Canada the estimated 1999 budget for phytoremediation (the use of plants to clean-up polluted soils, sediments, and waste waters) amounts to around US\$ 40 Million. A further rapid market growth is expected. Nevertheless this accounts for only 0.1% of total clean-up efforts (1999 figures) in the USA and Canada. In Europe the introduction of phytoremediation as a practically applicable clean-up technique is very slow: an estimated budget of only US\$ 1-2 Million in 1999. In the rest of the world phytoremediation at the moment is hardly used.

Therefore, it is important to analyse the short term and long term prospects and limitations of phytoremediation in the Netherlands. In this context it must be stressed that phytoremediation is not expected to become a generally applicable method, but rather can be seen an attractive alternative for certain polluted sites. This publication is meant to evaluate whether or not phytoremediation is a viable alternative for the clean-up of specific polluted sites.

The most important advantage of phytoremediation in comparison with other clean-up techniques is the fact that the methodology is relatively cheap and can be characterised as a “green technology”. On the other hand, the generally longer cleaning-up period can be considered a disadvantage.

After a short introduction, the first main chapter gives an overview of the state-of-the-art in phytoremediation research, both fundamental and applied. This chapter does not pretend to give a comprehensive literature review, as these are elsewhere available. A few interesting research results are shown in more detail, mainly regarding the exploration of the scope and limitation of the applicability of different phytoremediation types. Results of field tests are not put forward in detail, as these results are frequently contradictory and scientifically insufficiently documented. Focusing on success stories or focusing on failures (when published) leads to different conclusions. This is dangerous, as phytoremediation is too often a question of “to believe or not to believe”.

The second chapter indicates the pollution sites in the Netherlands, which are promising to such an extent that broad-scale field tests are considered appropriate. The following types of polluted sites are considered the most promising in this respect:

1. Areas which contain moderately high heavy metal concentrations, and where the longer duration of phytoremediation is considered less important (floodplains, reforestation areas *etc.*);
2. Local point source organic pollution sites, e.g. TCE-polluted groundwater;
3. Optimisation of “natural attenuation” of organic pollutants like PAH’s in landfarms;
4. The use of vegetation for the physical and chemical stabilisation of polluted soils, integrated in a broader stabilisation protocol, e.g. Cd- and Zn-polluted soil in SE Netherlands.

## 1. Inleiding

Fytoremediëring wordt in de meest brede zin van het woord gedefinieerd als het gebruikmaken van planten bij het verwijderen, immobiliseren en anderszins onschadelijk maken van milieuverontreinigingen in grond, sediment, slib en afvalwater.

De volgende soorten fyto-remediëring kunnen worden onderscheiden:

### ◆ **Fyto-extractie en rhizofiltratie**

Bij deze sterk verwante technieken wordt de verontreinigende stof door de wortelstelsels van planten opgenomen uit de bodem (fyto-extractie) dan wel uit het water (rhizofiltratie). Na accumulatie in de plant wordt de verontreinigende stof met de biomassa afgevoerd en vervolgens nuttig gebruikt dan wel verder behandeld als chemisch afval. Door fyto-extractie en rhizofiltratie wordt de *potentieel* beschikbare fractie van de verontreinigende stof verwijderd. De potentieel beschikbare fractie is gedefinieerd als de fractie die bij veranderende omstandigheden (pH, redoxpotentiaal) en hernieuwde evenwichtinstelling beschikbaar kan komen voor bijvoorbeeld plantopname, interactie met het bodemleven en uitspoeling. Deze fractie bedraagt voor zware metalen doorgaans 20-90% van het totaal (zie o.a. [4]). De potentieel beschikbare fractie wordt in de praktijk operationeel gedefinieerd, bijvoorbeeld als de fractie die door een EDTA-oplossing kan worden geëxtraheerd. Het verwijderen van alleen de potentieel beschikbare (uitloogbare) fractie van een bodemverontreinigende stof wordt in het huidige Nederlandse milieubeleid steeds meer gezien als een acceptabele saneringsdoelstelling.

### ◆ **Rhizosfeer-bioremediëring en fytotransformatie**

Organische verontreinigingen in bodem, sediment, slib en (afval)water kunnen daar microbiologisch en enzymatisch worden afgebroken. Indien deze afbraak in enigerlei vorm versneld wordt door de aanwezigheid van planten is er sprake van fyto-remediëring. Vindt de versnelde afbraak in de bodem plaats onder directe invloed van wortels, dan spreekt men van rhizosfeer-bioremediëring. Wordt de verontreiniging eerst door de plant opgenomen (fyto-extractie, rhizofiltratie) en daarna in de plant zelf gemetaboliseerd, dan is er sprake van fytotransformatie. Veelal vinden de processen naast elkaar plaats. Ook hier geldt, dat fyto-remediëring slechts kan voortgaan tot de potentieel beschikbare fractie is afgebroken. Net als bij fyto-extractie en rhizofiltratie wordt dit in Nederland tegenwoordig niet meer als een nadeel gezien.

### ◆ **Fytostabilisatie**

Bij deze techniek draagt vegetatie actief bij aan het immobiliseren van verontreinigende stoffen in de bodem. Immobilisatie betekent, dat de verontreiniging niet wordt verwijderd, maar dat de risico's van ecologische effecten voor langere tijd (of zelfs geheel irreversibel) worden teruggedrongen, veelal door chemische omzettingen en adsorptie aan de vaste fase in de bodem.

#### ◆ Fytotranspiratie

In sommige gevallen kan de plant verontreinigingen uit de bodem opnemen (fyto-extractie of rhizofiltratie) en deze vervolgens, al of niet na (bio)chemische omzettingen in de plant, als vluchtige stoffen via de bladeren uitscheiden naar de atmosfeer. Voorbeelden zijn organische verontreinigingen (trichloorethyleen) en metalen/metalloïden die vluchtige verbindingen kunnen vormen (selenium, arsen, kwik).

De snelle grootschalige introductie van fyto-remediëring in Nederland als erkende saneringstechnologie is afhankelijk van een grotere duidelijkheid omtrent de mogelijkheden en onmogelijkheden van de methode. Deze hangen af van (i) de huidige stand van zaken binnen het wetenschappelijk onderzoek, (ii) intrinsieke beperkingen en (iii) de specifieke eigenschappen van verontreinigde terreinen in Nederland. Met deze publicatie wordt beoogd hierover meer duidelijkheid te verschaffen en de kansen zo goed mogelijk in kaart te brengen op basis van (i) een kritische beschouwing van voorhanden zijnde onderzoeksresultaten en (ii) kennis van de saneringsproblematiek in Nederland.

Onderstaande tabel [19] geeft aan dat de markt voor fyto-remediëring sterk groeiende is, met name in de Verenigde Staten en Canada. Hierbij moet worden opgemerkt dat het bedrag van circa M\$ 40 voor 1999 overeenkomt met niet meer 0,1% van het totale budget voor bodem- en afvalwatersanering aldaar. Duidelijk zichtbaar is, dat sommige soorten fyto-remediëring al meer praktisch toepasbaar zijn dan andere. Tijdens de IBC-conferentie over fyto-remediëring (Toronto, juni 1999) kwam tevens naar voren dat de marktontwikkeling in Europa minder voorspoedig verloopt en dat in Europa (in tegenstelling tot de situatie in de Verenigde Staten en Canada) vooral aandacht bestaat voor fyto-remediëring van zware metalen.

Tabel 1: *Verwachte omzet fyto-remediëringsprojecten in de USA tussen 1999 en 2005 (in M\$)*

	1998	1999	2000 globaal	2002 globaal	2005 globaal
• Organische verontreinigingen					
grondwater	5.0 - 10.0	7.0 - 12.0			
afvalwater	2.0 - 3.0	1.0 - 2.0			
bodems	2.0 - 3.0	5.0 - 7.0			
	<b>9.0 - 16.0</b>	<b>13.0 - 21.0</b>			
• Zware metalen					
grondwater	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2			
afvalwater	0.1 - 0.2	0.1 - 0.2			
bodems	3.0 - 5.0	4.5 - 6.0			
	<b>3.2 - 5.4</b>	<b>4.7 - 6.4</b>			
• Overige anorganische verontreinigingen	---	<b>4.0 - 7.0</b>			
• Radionucliden	<b>0.5 - 1.0</b>	<b>0.5 - 1.0</b>			
• "Landfill leachates"	<b>3.0 - 5.0</b>	<b>5.0 - 8.0</b>			
• Overig	<b>0.8 - 2.1</b>	<b>1.9 - 3.8</b>			
TOTAAL	<b>16.5 - 29.5</b>	<b>30.0 - 49.0</b>	<b>70</b>	<b>135</b>	<b>320</b>

## 2. Doelstelling

Deze publicatie heeft de volgende doelstellingen:

1. *Het geven van een globaal overzicht van de stand van zaken in het wetenschappelijk onderzoek naar de mogelijkheden van fytoremediëring. Hieraan wordt in hoofdstuk 3 aandacht besteed.*
2. *Het, op basis van de literatuur, indicatief aangeven waar, op welke termijn en met welke slagingskans fytoremediëring in Nederland een bijdrage kan leveren aan bodemsanering en aan het zuiveren van sedimenten, slib en afvalwaterstromen. Hieraan is hoofdstuk 4 gewijd.*

Het is niet de bedoeling een volledig literatuuroverzicht te geven. In de eerste plaats is het onderzoek zo divers en wordt het vanuit zoveel invalshoeken uitgevoerd, dat een volledig literatuuronderzoek moeilijk leesbaar wordt voor niet-ingewijden in de diverse relevante vakgebieden. In de tweede plaats is er recent een aantal overzichtsartikelen verschenen, waarin met verschillende accenten een gedetailleerd overzicht wordt gegeven van de stand van zaken in het onderzoek. Recente overzichten zijn gepubliceerd door Schnoor (1998) [1], Salt et al. (1998) [2] en Cunningham et al. (1996) [3].

Ter illustratie wordt een aantal voorbeelden van recent laboratoriumonderzoek in meer detail weergegeven. Het betreft hier met name grensverleggende ontwikkelingen, die op langere termijn de toepasbaarheid van fytoremediëring bepalen. Resultaten van veldexperimenten worden niet in detail besproken, met name omdat - naar de mening van de schrijver - de conclusies veelal onvoldoende zijn onderbouwd en resultaten van vergelijkbare proeven elkaar frequent tegenspreken. Op veldexperimenten wordt slechts globaal ingegaan en de resultaten worden in voorzichtige bewoordingen weergegeven. Bij de indeling van de gepresenteerde resultaten wordt in grote lijnen uitgegaan van de in de inleiding weergegeven indeling in typen fytoremediëring.

### 3. De stand van zaken in het fyto-remediëringsonderzoek

#### 3.1 Fyto-extractie van zware metalen

*Fyto-extractie van zware metalen is hier gedefinieerd als een in potentie praktisch toepasbare bodemsaneringstechnologie, waarbij planten zware metalen opnemen uit de bodem en vervolgens transporteren naar hun bovengrondse (oogstbare) delen. Na oogsten van deze bovengrondse delen wordt de biomassa economisch gebruikt dan wel vanwege hoge zware metaal gehalten als chemisch afval verder behandeld. In bepaalde gevallen is zelfs terugwinning van zware metalen uit de biomassa mogelijk.*

Het belangrijkste probleem bij het toepasbaar maken van deze vorm van fyto-remediëring is het gegeven, dat zelfs bij hoge gehalten aan zware metalen in een gewas met een hoge biomassa-productie, slechts maximaal enige honderden kilogrammen zwaar metaal per hectare en per groeiseizoen kunnen worden verwijderd. Bij zwaarder verontreinigde terreinen leidt dit voor de meeste zware metalen tot een langdurige fyto-remediëringsoperatie, die de methode politiek en economisch minder aantrekkelijk maakt. Een bijkomend probleem is de afhankelijkheid van de opnamecapaciteit van een plant van de actuele concentratie van het zware metaal in de biologisch beschikbare fractie in de bodem (de bodemoplossing). Lopend onderzoek bij Alterra, Research Instituut voor de groene ruimte wijst op een constante verhouding tussen gehalten in de plant en in de bodemoplossing bij relatief lage verontreinigingsniveaus. De concentratie in de bodemoplossing is weer een functie van het totale (of beter: potentieel beschikbare) gehalte in de bodem en van bodemkenmerken [5]. Dit totaalgehalte neemt af bij voortschrijdende fyto-extractie, zodat het in de rede ligt te veronderstellen dat de opname per groeiseizoen gedurende de duur van fyto-remediëring afneemt. Dit leidt tot een verdere verlenging van de voor fyto-remediëring benodigde tijd.

Het is daarom essentieel om de “*verwijdercapaciteit*” per groeiseizoen van fyto-remediëringgewassen te optimaliseren, zodat fyto-extractie van zware metalen aantrekkelijk wordt, ook voor zwaarder verontreinigde terreinen. Om de verwijdercapaciteit van een fyto-remediëringsgewas in voldoende mate te kunnen verhogen dient aan een tweetal voorwaarden te worden voldaan.

In de eerste plaats is het noodzakelijk de beschikking te krijgen over gewassen, die worden gekenmerkt door een drietal eigenschappen:

1. een hoge *biomassa-productie* en een hoge *gewasgroeisnelheid*, zodat eventueel meerdere oogsten per groeiseizoen kunnen worden gerealiseerd. Het is bij fyto-extractie overigens niet noodzakelijk dat het gewas tot volle rijping komt; het kan voordelig zijn om meerdere malen per groeiseizoen een onrijp gewas te oogsten;
2. een hoge *tolerantie* voor zware metalen;
3. een hoge *opnamecapaciteit* en een hoge *opnamesnelheid* voor zware metalen.

Naast deze eigenschappen is het van belang dat geselecteerde dan wel via genetische modificatie verkregen gewassen kunnen worden gebruikt op grond, maar vooral ook op sediment dat niet aan optimale landbouwkundige voorwaarden voldoet. Grondbewerking, bemesting en gebruik van pesticiden werken kostenverhogend.

In de tweede plaats is het noodzakelijk in de verontreinigde bodem condities te creëren, die leiden tot een hoge *biologische beschikbaarheid* van zware metalen, zodat planten die beschikken over de juiste eigenschappen om effectief zware metalen uit de bodem op te nemen, dat onder veldcondities ook daadwerkelijk doen.

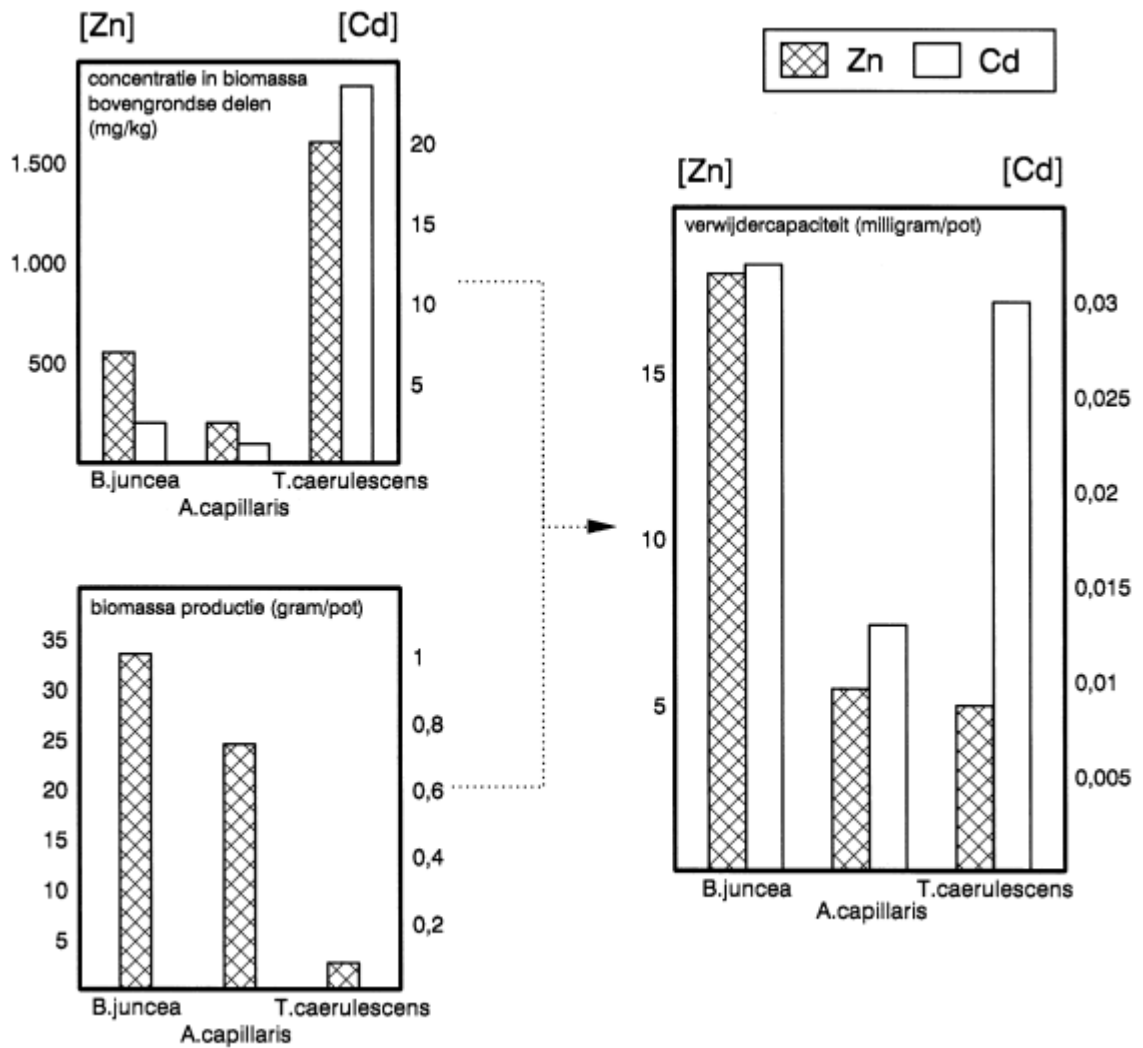
Normale *landbouwproductiegewassen* beschikken doorgaans in voldoende mate over de eerstgenoemde eigenschap, maar hebben veelal slechte tolerantie- en opname-karakteristieken voor zware metalen.

Bekende *hyperaccumulatoren* (planten met een hoge natuurlijke tolerantie voor zware metalen en een hoge opnamecapaciteit voor zware metalen) groeien daarentegen veelal langzaam en hebben soms ook een lage biomassa-productie per groeiseizoen. Bovendien zijn hyperaccumulatoren bijna altijd specifiek toegerust voor de opname van één of twee zware metalen en derhalve niet geschikt voor de fyto-remediëring van met een mengsel van zware metalen verontreinigde grond of sediment.

In een potexperiment van Ebbs *et.al.* [6] (figuur 1) zijn opnamecapaciteit en verwijdercapaciteit voor een aantal gewassen onderling vergeleken. Het blijkt dat *Brassica juncea* ondanks een lagere opnamecapaciteit voor Zn en Cd een betere verwijdercapaciteit heeft (over een periode van zes weken) dan de bekende Zn-hyperaccumulator *Thlaspii caerulescens*. Eenvoudige berekeningen leren bovendien dat het gebruik van alle drie door Ebbs *et al.* onderzochte gewassen zonder additionele maatregelen leidt tot een fyto-remediëringduur van enige tientallen jaren, indien een bodem terug moet worden gesaneerd van bijvoorbeeld tweemaal de norm tot juist onder de norm. Het is dus duidelijk dat de netto verwijdercapaciteit per groeiseizoen van fyto-remediëringsgewassen dient te worden verhoogd teneinde fyto-extractie concurrerend te maken met bodemsaneringstechnieken zoals “soil extraction” (Phytotech Technical Summary, 1997).

Voor het verhogen van de verwijdercapaciteit per groeiseizoen zijn in principe drie benaderingen mogelijk:

1. uitgaan van *normale landbouwgewassen* en bij deze gewassen de opnamecapaciteit van zware metalen verhogen;
2. uitgaan van bestaande *hyperaccumulatoren* en bij deze gewassen de groeisnelheid en de biomassa-productie verhogen;
3. uitgaan van snel groeiende gewassen met een hoge biomassa-productie en door *genetische modificatie* deze gewassen voorzien van hyperaccumulerende eigenschappen.



Figuur 1: *Bio-accumulatie van Zn en Cd in drie plantensoorten (naar: Ebbs et al., 1997)*  
*Toelichting: Na zes weken groei op verontreinigde grond zijn de concentraties van Zn en Cd in de bovengrondse delen van de bekende hyperaccumulator Thlaspii caerulescens zeer veel hoger dan in het geval van Brassica juncea (een landbouwgewas met een zekere neiging tot tolerantie voor en accumulatie van Zn en Cd) en een tolerante grassoort Agrostis capillaris. Als gevolg van de lage biomassa-productie van Thlaspii caerulescens blijkt de totaal verwijderde hoeveelheid Zn en Cd na zes weken gewasgroei echter het hoogst te zijn voor Brassica juncea.*



### *Normale landbouwgewassen*

Normale landbouwgewassen kunnen in principe worden gebruikt voor fyto-extractie van zware metalen indien (i) variëteiten met een hoge biomassa-productie worden geselecteerd die beschikken over goede fyto-remediëringseigenschappen en (ii) de beschikbaarheid voor gewasopname van zware metalen in de bodem wordt verhoogd. De combinatie van deze twee benaderingen kan leiden tot een optimalisering van de “verwijdercapaciteit” per groeiseizoen van normale landbouwgewassen.

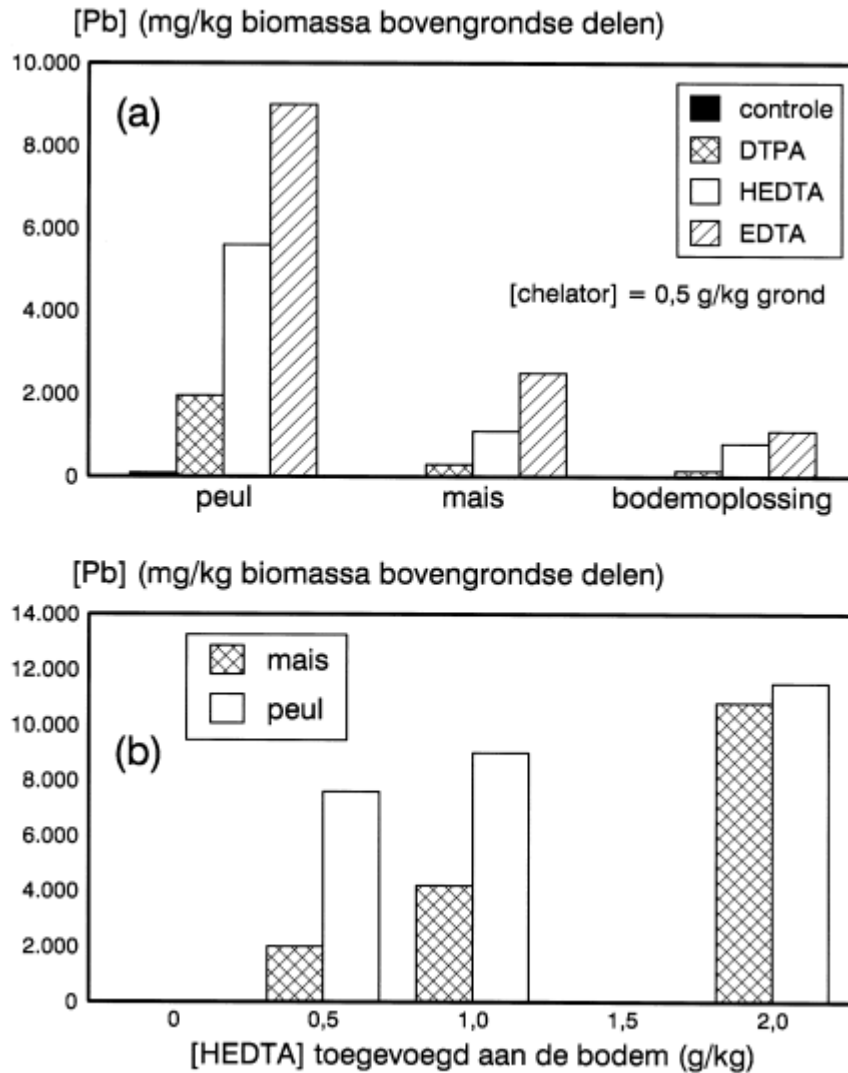
*Selectie van variëteiten* met een verhoogde tolerantie en opnamecapaciteit voor zware metalen, blijkt snel tot verrassende resultaten te kunnen leiden. Zo worden bijvoorbeeld in Polen wilgen aangetroffen, wier natuurlijke habitat hoge gehalten aan zware metalen in de bodem bevat. Dit heeft geleid tot een hoge tolerantie en dito opnamecapaciteit. De wilgen hebben een hoge biomassa-productie en kunnen dus als efficiënt fyto-remediëringsgewas worden gebruikt, terwijl zij tevens kunnen worden gebruikt voor de productie van bio-energie. Kleinschalige veldexperimenten met klonen van dergelijke wilgenvariëteiten vinden op dit moment plaats in Zweden (bijdrage tijdens een bijeenkomst in Lausanne in januari 1999 van de EU-COST actie “Phytoremediation”).

*Verhogen van de biologische beschikbaarheid* van zware metalen in de bodem kan worden bereikt door de instelling van hierop gericht beheer van de bodem, veelal bestaande uit het toevoegen van chemische stoffen aan de bodem. Deze technieken hebben op laboratoriumschaal reeds tot veelbelovende resultaten geleid. Veel onderzoek is verricht aan het verhogen van de biologische beschikbaarheid van zware metalen in de bodem door het toevoegen van zogenaamde chelatoren (de bekendste is EDTA) en door het gecontroleerd verlagen van de pH van de bodem. Vooral het combineren van chelatoren en pH-verlagende stoffen blijkt succesvol.

Zware metalen worden door chelatoren losgemaakt uit de vaste bodemmatrix en komen als chelaat-complexen in de bodemoplossing terecht. Deze chelaat-complexen kunnen in veel gevallen direct door de wortels van planten worden opgenomen. Ook indien directe opname van de chelaat-complexen niet optreedt, verhogen chelatoren in de wortelzone de actueel beschikbare concentratie van zware metalen in een biologisch beschikbare, “vrije” ionische vorm. Dit is het gevolg van een snelle nalevering van zware metaal-ionen uit de chelaat-complexen. Deze nalevering is sneller dan de nalevering door desorptie vanuit de vaste bodemmatrix in afwezigheid van de chelator.

Verlagen van de pH veroorzaakt desorptie van zware metalen van de vaste bodemmatrix of soms ook het in oplossing gaan van zouten van zware metalen die bij hogere pH niet oplossen in water. Eenmaal aanwezig in de bodemoplossing zijn zij biologisch beter beschikbaar voor gewasopname.

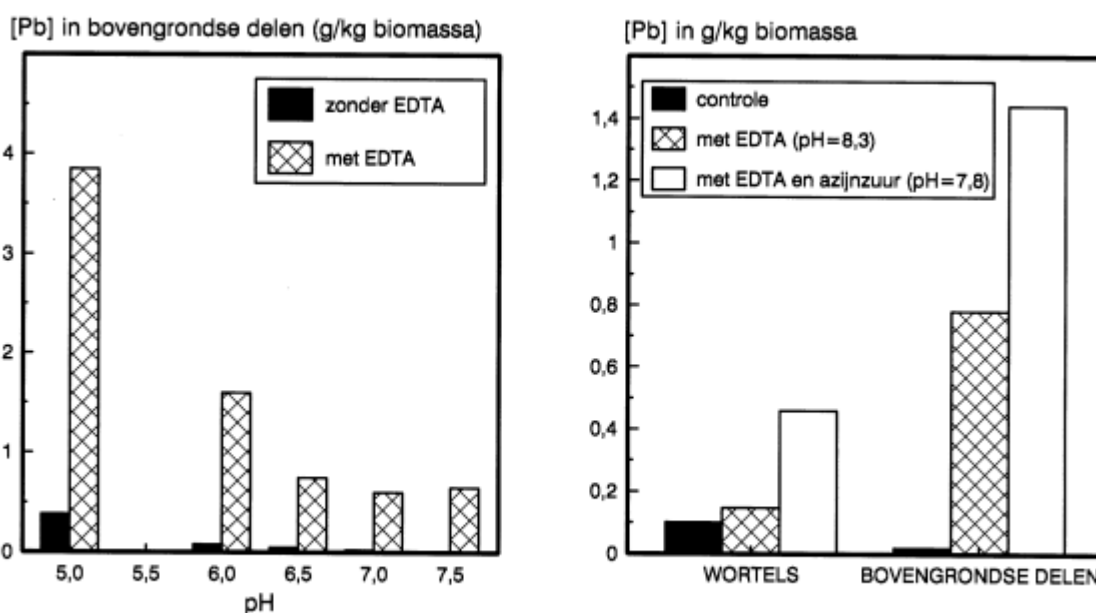
Bij sommige zware metalen leidt de toevoeging van chelatoren (veelal in combinatie met het verlagen van de pH) tot een verhoogde biologische beschikbaarheid en een verhoogde gewasopname. Dit is bijvoorbeeld het geval bij Pb en Cu. Bij andere zware metalen is de



Figuur 2: Opname van Pb door jonge maïs- en peul-planten onder invloed van chelatoren (naar: Huang et al., 1997). a: reactie van peul en maïs op chelator-addities; b: de invloed van de chelator-concentratie (HEDTA).

Toelichting: In potexperimenten werden jonge maïs- en peul-planten uitgezet in zwaar met Pb verontreinigde grond (2550 mg/kg), waaraan complexerende stoffen (chelatoren) in verschillende concentraties waren toegevoegd. Na een week werden de Pb-gehalten in de bovengrondse delen van de planten bepaald, alsmede de Pb-concentraties in de bodemoplossing. In alle gevallen werd een zeer forse toename van de opname van Pb geconstateerd in afhankelijkheid van de aard (figuur 2a) en van de concentraties (figuur 2b) van de toegepaste chelatoren. Bovendien werd een zeer goede relatie gevonden tussen aangetroffen gehalten in de bodemoplossing en in de plant, onafhankelijk van de aard van de chelator (figuur 2a). Geconcludeerd kan worden dat de waargenomen maximum-gehalten van 1,2% Pb in de bovengrondse delen (op basis van drooggewicht) vanuit fytoremediëringsstandpunt interessant zijn.

invloed van het toevoegen van chelatoren minder duidelijk en is een pH-verlaging voldoende om de biologische beschikbaarheid in de bodem te verhogen (bijvoorbeeld Zn en Cd). Ook zijn er grote verschillen tussen commercieel beschikbare chelatoren voor wat betreft hun vermogen om bepaalde zware metalen in de bodem biologisch beschikbaar te maken. Uit experimenten van Huang et al. [7] (figuur 2) en van Blaylock et al. [8] (figuur 3) blijkt duidelijk, dat de invloed van het toevoegen van chelatoren, al of niet onder gelijktijdige verlaging van de pH, kan leiden tot een verhoging van de opname van zware metalen met enige orden van grootte.



Figuur 3: *Invloed van de pH, zonder en met toevoeging van chelatoren op de opname van Pb door Brassica juncea (naar: Blaylock et al., 1997)*

*Toelichting: Toevoeging van zuren (azijnzuur) naast chelatoren leidt tot concentraties van > 1,5% in de bovengrondse biomassa. Er blijkt derhalve synergie op te treden tussen beide manieren om de biologische beschikbaarheid van zware metalen in de bodem te verhogen.*

Potentiële problemen bij de toepassing van bodemmanipulatie (toevoegen van chelatoren, verlagen van de pH) zijn:

- Toxiciteit van hoge chelator-concentraties dan wel toxiciteit van hoge concentraties van metaal-chelaatcomplexen voor bodemorganismen en planten;
- Verlaagde biomassa-productie (en derhalve tevens een verlaagde fytoremediëringsefficiëntie) als gevolg van een landbouwkundig ongewenste hoge zuurgraad en zoutspiegel van de bodem, nog afgezien van de directe en indirecte toxische respons van gewassen op de lage pH (bijvoorbeeld Al-toxiciteit);

- Verhoogde uitspoeling van zware metalen als gevolg van de verhoogde concentratie in de bodemoplossing. Dit kan leiden tot een afnemende kwaliteit van het grondwater, die uiteindelijk een toxische respons kan veroorzaken bij aquatische organismen in oppervlaktewateren en daarnaast voor problemen kan zorgen bij de drinkwaterwinning.

Een oplossing voor eerstgenoemde problemen, een *toxische respons van het gewas* en een *verlaagde biomassa-productie*, wordt gezocht in het combineren van bodemmanipulatie (verhogen van de biologische beschikbaarheid door het gebruik van chelatoren en door het verlagen van de pH in de bodem) met *selectie van geschikte variëteiten en genetische modificatie*. Door zowel selectie als genetische modificatie kunnen gewassen worden verkregen die, (i) een hoge biomassa-productie hebben bij een lage pH en (ii) tolerant zijn voor zware metalen, chelatoren en zware metaal-chelaatcomplexen.

Onderzoek dat op dit moment in Spanje wordt uitgevoerd (bijdrage tijdens een bijeenkomst in Lausanne in januari 1999 van de EU-COST actie “Phytoremediation”) toont aan, dat selectie van bepaalde *Lupulus*-variëteiten leidt tot fyto-remediëringgewassen, die op zure grond landbouwkundig goed kunnen functioneren bij hoge biologisch beschikbare concentraties van zware metalen in de bodem. Ook indien dergelijke gewassen niet kunnen worden geselecteerd dan wel door genetische modificatie kunnen worden verkregen, bestaat de mogelijkheid om bodemmanipulatie “schoksgewijs” uit te voeren in de periode van maximale gewasgroei. Voorwaarde hierbij is een *vertraagde* toxische respons, waarbij het gewas eerst nog wel efficiënt zware metalen opneemt en transporteert naar de oogstbare delen en pas daarna afsterft; fyto-extractie kan in een dergelijke situatie nog wel efficiënt verlopen.

Het laatstgenoemde probleem, *verhoogde uitspoeling*, is in zoverre ernstig, dat dit wanneer het daadwerkelijk optreedt slechts door fysieke maatregelen (zoals het aanleggen van drains en vervolgens terugpompen van het drainwater op het vervuilde terrein) kan worden tegengegaan. Hierdoor wordt fyto-extractie in combinatie met het gebruik van bodemadditieven aanzienlijk duurder en dientengevolge minder concurrerend met andere bodemsaneringstechnieken. Dit geldt overigens in mindere mate in situaties, waar fyto-extractie plaatsvindt in speciaal daarvoor aangelegde faciliteiten. Een voorbeeld hiervan is de fyto-extractie van zware metalen uit verontreinigde baggerspecie in depots met vooraf aangelegde drain-faciliteiten; deze faciliteiten kunnen na elke fyto-remediëring worden hergebruikt. In een aantal gevallen is nagegaan of deze verhoogde uitspoeling werkelijk optreedt. Blaylock et al. [8] vonden wat dit aangaat geen verhoogde uitspoeling van EDTA en Pb bij hun fyto-remediëringsexperimenten. Toepassing van oppervlakte-actieve stoffen [16] en van nieuwe, snel in de bodem afbreekbare chelatoren (bijvoorbeeld op basis van cyclodextrinen) [9], kan dit probleem elimineren. Dit houdt verband met het feit dat bij het gebruik van dergelijke additieven de verhoogde biologische beschikbaarheid beperkt blijft tot de bewortelde zone en daaruit na korte tijd ook weer verdwijnt als gevolg van microbiële afbraak van de toegevoegde stoffen.

### *Hyperaccumulatoren*

Voor een aantal zware metalen (met name Zn en Ni) zijn reeds lange tijd natuurlijk voorkomende hyperaccumulerende planten bekend, die tot meer dan 1% van hun biomassa van deze metalen kunnen opnemen. Ook voor selenium bestaan dergelijke hyperaccumulatoren. De hyperaccumulatoren hebben deze eigenschappen waarschijnlijk ontwikkeld, doordat hun natuurlijke habitat verhoogde concentraties van deze elementen bevat. Voorbeelden zijn natuurlijk nikkelhoudende gronden (“serpentine soils”) in Toscane en zinkhoudende gronden in het Geuldal in Nederland. De nadelen van het gebruik van hyperaccumulatoren bij de fyto-extractie van zware metalen zijn de lage groeisnelheid en in veel gevallen de lage biomassa-productie per groeiseizoen. Hierdoor is bij een hoge opnamecapaciteit de verwijdercapaciteit toch laag (zie ook figuur 1). Een ander nadeel is hun vergaande specialisatie zodat zij ongeschikt zijn voor het fyto-remediëren van terreinen die verontreinigd zijn met een “cocktail” van zware metalen. Tenslotte zijn voor een aantal milieukundig prioritaire zware metalen geen hyperaccumulatoren bekend (Pb, Cd, As, U).

Ontwikkelingen in het onderzoek, gericht op het efficiënt inzetten van hyperaccumulatoren bij de fyto-extractie van zware metalen gaan in de richting van (i) het selecteren van variëteiten binnen bekende hyperaccumulerende soorten die een hogere biomassa-productie hebben en vooral (ii) het opsporen van tot nu toe onbekende hyperaccumulatoren. Dat dit laatste succes kan hebben, blijkt bijvoorbeeld uit de recente ontdekking dat *Berkheya coddii*, een plant met een hoge biomassa-productie die voorkomt in Zuid-Afrika, tot 3,7% Ni in zijn biomassa kan accumuleren [10].

### *Genetische modificatie*

Er kan ook indirect gebruik worden gemaakt van hyperaccumulatoren, namelijk door hun hyperaccumulerende eigenschappen door middel van genetische modificatie in te bouwen in landbouwgewassen met een hoge groeisnelheid en een hoge biomassa-productie.

Het wordt steeds duidelijker dat de beste strategie hierbij is om te beginnen met het door genetische modificatie verhogen van de tolerantie van deze landbouwgewassen voor zware metalen. Zo blijkt *Arabidopsis thaliana* na het inbouwen van een verhoogde bacteriële Hg-reductaseactiviteit tevens een sterk verhoogde opnamecapaciteit voor  $Hg^{2+}$ -ionen te vertonen in hydrocultures [11].

Om de tolerantie van planten voor bepaalde zware metalen door genetische modificatie te kunnen verhogen, dient eerst inzicht te worden verkregen in de mechanismen die een rol spelen bij de intra-cellulaire detoxificatie van deze zware metalen. Hiervoor heeft de plant een viertal onderscheiden processen ter beschikking die in principe biotechnologisch gemanipuleerd kunnen worden.

Deze processen zijn:

- *activiteit van natuurlijke chelatoren* (metallothioninen, fytochelatinen). Deze kunnen door complexering de “vrije” (en dus toxische) concentratie van zware metalen in de plant verminderen;
- *selectief intra-cellulair transport naar de vacuolen*. In het geval van bijvoorbeeld een verstoord Cd-transport naar de vacuolen neemt de Cd-tolerantie van de plant af;
- *biochemische omzettingen in de plant*. Zware metalen (bijvoorbeeld Cr, As) en Se kunnen in de plant worden gereduceerd dan wel vastgelegd in organische verbindingen. Ook blijken Se-tolerante planten over een mechanisme te beschikken dat de vorming van toxisch selenomethionine voorkomt;
- *herstelmechanismen voor beschadigde celmembranen*. Metallothioninen lijken een cruciale rol te spelen bij dergelijke processen, bijvoorbeeld in het geval van Cu.

Een verhoogde tolerantie voor zware metalen leidt overigens op zichzelf niet altijd tot een verhoogde accumulatie in de plant, maar creëert daarvoor in principe wel de randvoorwaarden. Voor een succesvolle fyto-extractie is het ook noodzakelijk dat (i) het wortelstelsel effectief zware metalen kan opnemen uit de bodemoplossing en dat (ii) er effectief transport optreedt vanuit de wortels naar de bovengrondse delen. Dit laatste is noodzakelijk omdat indien dit niet het geval is ook de wortels geogost moeten worden. Dit is lastig en werkt sterk kostenverhogend.

Een meer effectieve opname van zware metalen door het wortelstelsel kan worden bereikt door manipulatie van de bodem (zie hierboven) door middel van het toevoegen van synthetische chelatoren en/of pH-verlaging. De plant zelf beschikt echter ook over mechanismen om de biologische beschikbaarheid van bepaalde elementen in de wortelzone te verhogen. Deze mechanismen kunnen door genetische modificatie worden geactiveerd. Aanknopingspunten vormen hierbij de vele resultaten van landbouwkundig onderzoek uit het verleden dat gericht was op het begrijpen en kunnen sturen van de opname van essentiële sporenelementen door landbouwgewassen. Bij de opname van Fe, Cu, Zn en Mn spelen wortellexudaten (met name fyto-sideroforen) een rol, doordat zij als natuurlijk voorkomende chelatoren complexen kunnen vormen met deze elementen. De plant beschikt vervolgens over mechanismen om de chelaat-complexen via de plasma-membranen op te nemen. Ook is bekend dat wortels verzurende stoffen afscheiden, hetgeen leidt tot een verhoogde biologische beschikbaarheid van zware metalen in de wortelzone. Het blijkt dat wortellexudaten op dezelfde wijze als synthetische chelatoren en toegevoegde zuren de biologische beschikbaarheid van zware metalen kunnen verhogen. Gebruikmaken van dergelijke door genetische modificatie versterkte eigenschappen van de wortelstelsels zelf heeft als voordelen boven bodemmanipulatie dat (i) de chelator en/of de verzurende stof selectief aanwezig is in de wortelzone en niet in de “bulk” van de bodem en (ii) dat de chelatoren uit de wortellexudaten weer effectief worden verwijderd door de plant zelf of door middel van microbiële afbraak in de bodem. Deze voordelen leiden waarschijnlijk tot een veel geringer risico van uitspoeling.

Een interessante toekomstige mogelijkheid is het gebruik van gehomogeniseerd wortelmateriaal als bron van chelatoren ter vervanging van de uit milieukundig oogpunt veelal meer problematisch geachte synthetische chelatoren.

Het transport van zware metalen van de wortels naar de bovengrondse delen vindt voornamelijk plaats in het xyleem. Een efficiënt transport wordt bevorderd door de binding van zware metalen aan stoffen die het xyleem-membraan kunnen passeren. Zo wijst recent onderzoek op de functie van Ni-histidine-complexen als vehikel voor het trans-membraan transport van Ni in bepaalde nikkel-hyperaccumulatoren [12]. De celwanden van het xyleem hebben een hoge CEC (“cation exchange capacity”), zodat kationen een sterke neiging hebben om te accumuleren in de wortels dan wel in de stengels. Komen zware metalen echter voor in de vorm van neutrale of anionische complexen en niet als kationen, dan vervalt de neiging van de zware metalen om te adsorberen aan de celwanden van het xyleem. Ze worden dan efficiënter getransporteerd naar de oogstbare delen. Met name complexering met citroenzuur en andere organische zuren schijnt een essentiële rol te spelen bij het transport van bijvoorbeeld Ni en Cd in het xyleem.

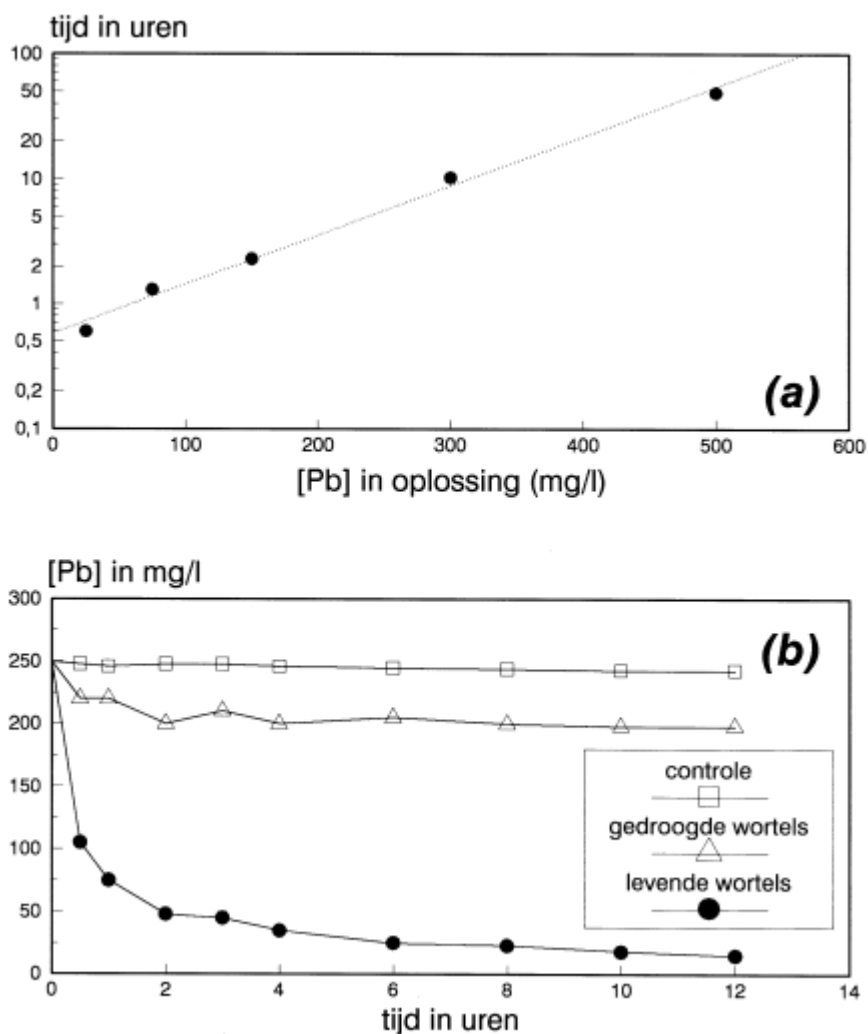
### **3.2 Rhizofiltratie van zware metalen**

*Rhizofiltratie van zware metalen is gedefinieerd als een potentieel toepasbare saneringstechnologie voor afvalwater, waarbij planten zware metalen opnemen uit verontreinigd water. Na oogsten van de gehele plant wordt de biomassa economisch gebruikt dan wel vanwege hoge zware metaalgehalten als chemisch afval verder behandeld. In bepaalde gevallen is zelfs terugwinning van zware metalen uit de biomassa mogelijk.*

Rhizofiltratie verloopt in principe volgens dezelfde mechanismen als fyto-extractie uit de de bodem-matrix. Fyto-extractie kan zelfs worden beschouwd als niets anders dan “rhizofiltratie” van de bodemoplossing. De beschikbaarheid voor opname door planten is bij rhizofiltratie echter doorgaans hoger dan bij fyto-extractie omdat bij rhizofiltratie in veel geringere mate een adsorberende fractie aanwezig is (zwevend slib) en evenwichten tussen de vaste en vloeibare fase zich sneller instellen. Ook diffusie van zware metalen naar de wortelzone verloopt sneller in het waterige milieu.

Bij rhizofiltratie is het niet nodig dat de opgenomen zware metalen via het xyleem naar stengels en bladeren worden getransporteerd: watercultures kunnen eenvoudig in hun geheel worden geoogst.

Als voorbeeld van de fyto-remediëringsefficiëntie die bij rhizofiltratie kan worden gerealiseerd kan onderzoek van Dushenkow *et al.* (1995) [13] worden genoemd (figuur 4). Meer dan 10% Pb kan accumuleren in de biomassa van *Brassica juncea* in watercultures, zij het onder optimale condities van bio-beschikbaarheid.



Figuur 4: Opname van Pb door *Brassica juncea* in een watercultuur (naar: *Dushenkow et al., 1995*). a: de relatie tussen de oorspronkelijke Pb-concentratie en de tijd die *Brassica juncea* nodig heeft om de Pb-concentratie in oplossing te halveren; b: een vergelijking tussen de effectiviteit van dood plantenmateriaal en levende planten.

*Toelichting: In het laboratorium zijn rhizofiltratie-experimenten uitgevoerd waarin watercultures van Brassica juncea Pb onttrokken aan loodnitraatoplossingen van verschillende (hoge) concentraties. De bovenste figuur geeft een indruk van de "performance" van B. juncea bij sterk uiteenlopende Pb-concentraties in water. De onderste figuur laat zien, dat er sprake is van actieve opname en niet alleen van sorptie. Bovendien wordt aangetoond dat rhizofiltratie in dit geval een snel verlopend proces is, waarschijnlijk als gevolg van snel diffuus transport uit de "bulk" naar de wortelzone. Ondanks het feit, dat het experiment weinig van doen heeft met praktische afvalwaterproblemen (alleen Pb als verontreiniging, geen concurrerende stoffen, geen opgelost organisch materiaal, een lage pH) is de opnamecapaciteit van het wortelstelsel van B. juncea zodanig, dat rhizofiltratie in potentie grote mogelijkheden biedt. In de eerste uren speelt toxiciteit blijkbaar geen enkele rol.*



Het voornaamste probleem bij het toepassen van rhizo-filtratie is de afweging van kosten: in hoeverre kan rhizo-filtratie (en vervolgens afvalverwerking van het wortelmateriaal) concurreren met conventionele afvalwaterzuiveringsmethoden. Dit betekent dat rhizofiltratie mogelijkwijze alleen goede praktische mogelijkheden biedt voor nazuivering van afvalwaterstromen, die daarna direct kunnen worden geloosd op oppervlaktewater en waar logistieke beperkingen een *in situ* behandeling vereisen. Indien rhizofiltratie efficiënt kan worden gecombineerd met de verwijdering van fosfaat, nitraat en water-oplosbare organische verontreinigingen, ontstaat een grotere markt door een betere concurrentiepositie ten opzichte van conventionele afvalwaterzuivering.

### 3.3 Fytotransformatie en rhizosfeer-bioremediëring

*Bij rhizosfeer-bioremediëring wordt de natuurlijke microbiële afbraak van organische verontreinigingen in de bodem versneld door plantgestuurde rhizosfeer-processen met mogelijkwijze additionele invloeden van enzymatische processen, mycorrhiza etc. Fytotransformatie is in feite fyto-extractie of rhizofiltratie van organische verbindingen gevolgd door veelal enzym-gestuurde afbraak in de plant zelf. Rhizosfeer-bioremediëring en fytotransformatie treden veelal samen op. Het netto-effect van de processen tezamen is een versneld elimineren van organische bodemverontreinigingen als gevolg van een samenspel van sneller verlopende microbiële en enzymatische processen in de plant en de rhizosfeer. Veelal is moeilijk onderscheid te maken tussen de naast elkaar optredende processen.*

#### 3.3.1 Rhizosfeer-bioremediëring

Wortelexudaten stimuleren in belangrijke mate de groei en metabole activiteiten van schimmels en bacteriën in de rhizosfeer. De bacteriedichtheid in de rhizosfeer is veelal 2-4 orden van grootte hoger dan in de “bulk” van de bodem en bovendien beschikken bacteriepopulaties in de rhizosfeer veelal over meer mogelijkheden om omzettingen van organische verbindingen te bewerkstelligen dan populaties in de “bulk” van de bodem, ook van bijvoorbeeld persistente organische verontreinigingen. Hierbij moet worden aangetekend dat tegenover onderzoeksresultaten die wijzen op een versnelde afbraak van dergelijke verbindingen onder invloed van vegetatie ook wordt gerapporteerd over de afwezigheid van effecten. Zelfs zijn er aanwijzingen dat in sommige gevallen de afbraak wordt vertraagd onder invloed van vegetatie, wellicht omdat wortelexudaten de verontreinigende stoffen immobiliseren en minder biologisch beschikbaar maken (fytostabilisatie). Indien deze immobilisatie echter zo irreversibel is dat er sprake is van humificatie (“bound residues”) dan leidt vegetatie toch tot sanering van de bodem omdat deze verontreinigingen niet meer tot toxische effecten kunnen leiden. Een interessant voorbeeld hiervan is het gebruik van *Armoracia rusticana* als potentieel fyto-remediëringsgewas. Deze plant produceert peroxidases in de wortel die organische verbindingen kunnen omzetten in instabiele radicalen, die snel polymeriseren en *de facto* dus leiden tot humificatie [17]. Op dit moment wordt in Ierland veldonderzoek verricht naar het mogelijk gebruik van gemalen wortels van *Armoracia rusticana* als bodemtoevoeging bij het saneren van verontreinigde bodems (bijdrage tijdens een bijeenkomst in Lausanne in januari 1999 van de EU-COST actie “Phytoremediation”). Een soort fyto-remediëring zonder directe rhizosfeer-activiteit derhalve.

Het gebruik van peroxidases uit *Armoracia rusticana* is zeker niet het enige voorbeeld van een enzymatische bijdrage aan afbraak dan wel immobilisatie van organische verontreinigingen in de rhizosfeer. Zo worden trinitrotolueen (TNT) en zijn partieel gereduceerde metabolieten (dinitro-aminotolueen en nitro-diaminotolueen) verder gereduceerd tot triaminotolueen onder invloed van nitroreductases, dat vervolgens verder wordt afgebroken onder invloed van laccases [18]. Er wordt verwacht dat enzymatische biosfeer-remediëring in de nabije toekomst verder zal worden ontwikkeld, bijvoorbeeld voor TNT en TCE.

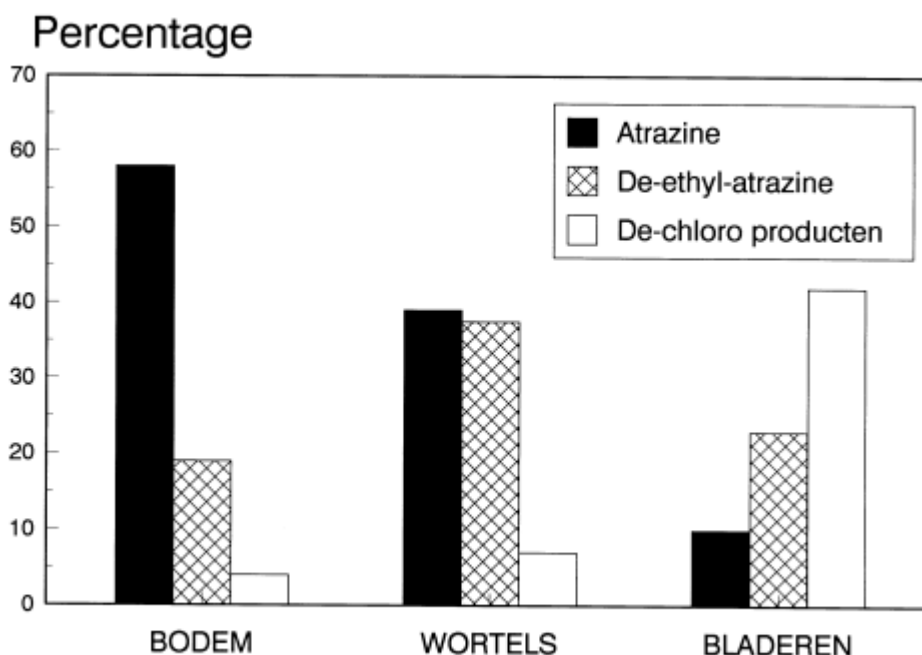
Over mechanismen van rhizosfeer-bioremediëring is zeer weinig bekend maar het is duidelijk dat rhizosfeer-bioremediëring een ingewikkeld samenspel is van biologische beschikbaarheid, stimulering van gespecialiseerde bacterie- en schimmelpopulaties, enzymatische activiteit en bodemchemische processen. Omgekeerd is het mogelijk dat niet alleen de plant rhizosfeer-bioremediëring induceert, maar dat ook de opname van zware metalen en organische verontreinigingen wordt gestimuleerd door bodemleven in de rhizosfeer.

Veelbelovend is het gebruik van planten als “additional measure” bij de afbraak van organische verontreinigingen in landfarming systemen. Afgezien van directe invloeden (fytextractie + fytotransformatie en rhizosfeer-bioremediëring) is ook van belang de invloed van begroeiing op de algemene condities voor microbiële afbraak. Zo worden door vegetatie (i) meer aërobe zones gecreëerd, (ii) erosie door wind en water en wordt derhalve verspreiding van de verontreiniging vanuit de landfarm tegengegaan en wordt (iii) een betere en snellere ontwatering bereikt van sedimenten en zuiveringsslib die in de landfarm worden gereinigd. Een bijkomend voordeel van begroeide landfarms is de betere publieke acceptatie. Interessant is ook de mogelijkheid landfarms economisch te benutten door het toepassen van energiegewassen bij rhizosfeer-bioremediëring.

### 3.3.2 Fytotransformatie

Hieronder volgt een tweetal voorbeelden van fytotransformatie, mogelijk gecombineerd met processen in de rhizosfeer. Het eerste voorbeeld, ontleend aan Burken et al., 1997 [14] (figuur 5) beschrijft de opname (fytextractie) van atrazine uit de bodem door populierenstekken en de verdere lotgevallen van atrazine in de plant. Het tweede voorbeeld, van Hughes et al., 1997 ([15]) (figuur 6) beschrijft de opname van TNT in een watercultuur van *Myriophyllum* (rhizofiltratie) en de afbraak van TNT in de plant tot gereduceerde metabolieten.

Uit het laatste voorbeeld blijkt, dat de invloed van plantenmateriaal in watercultures zeer prominent is, overigens zonder het mechanisme precies te kennen. Met name de afbraaksnelheid in aanwezigheid van wortels is zeer hoog (binnen een week is alle TNT verdwenen). Een vraag blijft in hoeverre verdere afbraak binnen een acceptabele tijdschaal optreedt: het vormen van TNT-metabolieten, waarin een of meer nitro-groepen zijn gereduceerd tot amino-groepen, betekent immers nog geen detoxificatie.



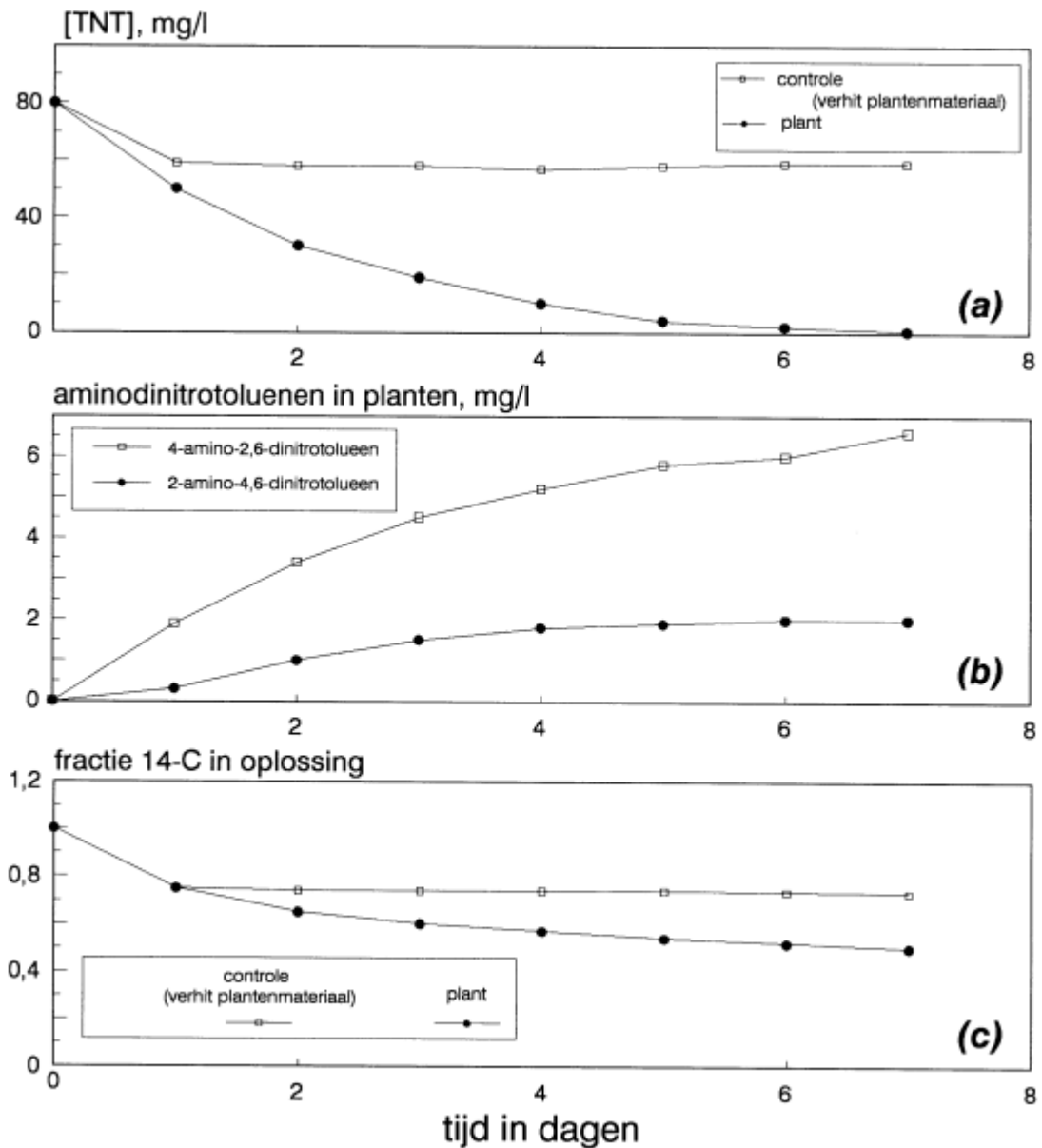
Figuur 5: *De opname van atrazine uit de bodem door populieren-stekken en omzetting in de plant (naar: Burken et al., 1997)*

*Toelichting: Een experiment werd uitgevoerd in bioreactoren gevuld met kunstmatig met radioactief gemerkt atrazine verontreinigde grond. Hierin werden stekken van populieren geplaatst. Na 80 dagen was circa 29% van alle radioactieve marker ( $^{14}\text{C}$ ) opgenomen door de plant. In de figuur is de verhouding weergegeven tussen de concentraties niet omgezet atrazine en een tweetal metabolieten in de grond, in de wortels en in de bladeren. Het blijkt dat metabolieten relatief meer in de bovengrondse plantendelen voorkomen en dat gedechloroerde metabolieten vooral in bladeren voorkomen. Het experiment wijst op omzettingen van atrazine in de plant. Andere verklaringen zijn ook mogelijk, met name omzetting in de bodem of rhizosfeer, gevolgd door een voor metabolieten meer effectief transport naar en in de plant.*

Ook al zijn er situaties waarbij de plant organische verbindingen kan opnemen vanuit de gasfase (de atmosfeer of de gasfase in de bodem), de opname verloopt vrijwel altijd via de waterfase (water dan wel bodemoplossing). Dit brengt beperkingen met zich mee ten aanzien van de praktische toepasbaarheid van fytotransformatie, aangezien de organische verontreiniging in staat moet zijn membranen in de plant te passeren.

Belangrijke factoren die hierbij een rol spelen zijn de mate van *hydrofoob karakter* van de verontreiniging en de *biologische beschikbaarheid* van de verontreiniging in de bodem.

Transport door membranen is slechts mogelijk indien de organische verontreiniging niet te zeer hydrofoob is, aangezien zeer hydrofobe stoffen (dat wil zeggen: zeer slecht in water oplosbare stoffen) neigen tot adsorptie aan organisch plantenmateriaal (inclusief de membranen).



Figuur 6: *De opname van TNT in een watercultuur van Myriophyllum en afbraak in de plant (naar Hughes et al., 1997)*

*Toelichting: Nagegaan werd in hoeverre Myriophyllum is te gebruiken bij het versnellen van de afbraak van trinitrotolueen (TNT) in afvalwater. Figuur 6a laat zien met welke snelheid 14-C-TNT uit het water verdwijnt, waarbij thermisch gedeactiveerde planten als blanco zijn gebruikt. Figuur 4b laat zien hoe, op dezelfde tijdschaal, metabolieten in het plantmateriaal verschijnen. In figuur 4c wordt getoond welk percentage 14-C in de oplossing blijft en derhalve tevens welk percentage in het plantmateriaal opgenomen is. Onderlinge vergelijking van de figuren 4a, 4b en 4c leert, dat de invloed van de plant tweeledig is: circa 1/3 wordt opgenomen en gemetaboliseerd (rhizofiltratie + fytotransformatie) en 2/3 wordt door wortelactiviteit in de oplossing afgebroken (rhizosfeer-bioremediëring).*

Onderzoek wijst uit dat in de regel slechts verbindingen met een  $pK_{ow}$  tussen 0,5 en 3,0-3,5 plantenmembranen kunnen passeren<sup>1</sup>. De  $pK_{ow}$  is een experimenteel te bepalen maat voor het hydrofobe karakter van een organische stof. De  $pK_{ow}$  is gedefinieerd als de logaritme van de verdeling van een stof tussen water en het organische oplosmiddel n-octanol. Verbindingen met een  $pK_{ow}$  tussen 0,5 en 3,0-3,5 zijn doorgaans stoffen met redelijke tot goede natuurlijke afbraakprofielen in de bodem; prioritaire persistente bodemverontreinigingen als hogere PAK's, PCB's en pesticide-residuen (bijvoorbeeld drins) hebben alle een  $pK_{ow} > 3$ . In principe zouden er plantenvariëteiten kunnen bestaan (dan wel via genetische modificatie kunnen worden ontwikkeld) met een natuurlijke neiging om ook meer hydrofobe organische verontreinigingen op te nemen en te metaboliseren in de plant. Aan het zoeken naar dergelijke variëteiten is tot nu toe echter weinig aandacht besteed.

Evenals in het geval van fyto-extractie van zware metalen is ook bij organische verontreinigingen de biologische beschikbaarheid in de bodem van cruciaal belang voor het welslagen van fytotransformatie. De verontreiniging moet immers eerst door de plant worden opgenomen. In bodems met een hoog gehalte aan organische stof is de biologische beschikbaarheid van organische verontreinigingen zeer laag als gevolg van adsorptie aan de vaste fase in de bodem. Een mogelijkheid om de biologische beschikbaarheid van deze verbindingen in de bodem te verhogen is, analoog aan het gebruik van chelatoren in het geval van fyto-extractie van zware metalen, het gebruik van oppervlakte-actieve stoffen als toevoeging aan de bodem. Hiernaar is nog geen onderzoek gedaan dat zich direct richt op het verbeteren van de condities voor fytotransformatie, maar de verwachting is dat dit snel zal starten. Er zijn namelijk wel al positieve resultaten bereikt met het gebruik van oppervlakte-actieve stoffen [16] bij het verhogen van de oplosbaarheid in de bodemoplossing en het als gevolg hiervan versnellen van de microbiële afbraak van organische verontreinigingen in de bodem (vooralsnog zonder de aanwezigheid van vegetatie). Zowel synthetische stoffen (triton X-100) als natuurlijke stoffen (rhamnolipiden) zijn succesvol gebleken. Interessant in dezen is ook het potentieel van cyclodextrinen [9], aangezien deze stoffen zowel de biologische beschikbaarheid van zware metalen als die van organische verbindingen kunnen verhogen. Dit biedt perspectieven voor terreinen die met beide soorten stoffen zijn verontreinigd.

Na opname door de plant kunnen organische verbindingen (i) compleet worden afgebroken (zeldzaam), (ii) zonder verdere omzetting of na fytotransformatie via fytotranspiratie worden uitgescheiden, maar vooral (iii) worden omgezet in metabole omzettingenproducten, die irreversibel kunnen binden aan plantenvezels. De eerder genoemde onderzoeksresultaten van Burken et al. [14] en Hughes et al. [15] zijn voorbeelden van metabole omzettingen. Zoals eerder gesteld, rijst echter de vraag of dergelijke omzettingen wel tot het gewenste doel leiden, namelijk detoxificatie. Zijn de metabolieten ook toxisch en is er geen sprake van irreversibele binding aan plantenvezels dan ontstaat het probleem

---

<sup>1</sup> De  $pK_{ow}$  is een experimenteel te bepalen maat voor het hydrofobe karakter van een organische stof. De  $pK_{ow}$  is gedefinieerd als de logaritme van de verdeling van een stof tussen water en het organische oplosmiddel n-octanol.

dat het plantenmateriaal wellicht zo toxisch is dat het als chemisch afval verder moet worden verwerkt. In een dergelijk geval is wellicht rhizosfeer-bioremediëring een betere optie, aangezien microbiële omzettingen in de bodem (en rhizosfeer) veel vaker leiden tot uiteindelijke volledige afbraak.

### 3.4 Fytostabilisatie

*Bij fytostabilisatie worden verontreinigende stoffen in de bodem niet afgebroken of door de plant opgenomen, maar onder invloed van bodemchemische, microbiële en enzymatische processen in de rhizosfeer al dan niet irreversibel geïmmobiliseerd. Dit leidt tot vermindering*

De eerder genoemde humificatie van organische verontreinigingen onder invloed van enzymatische processen in de rhizosfeer is een voorbeeld van fytostabilisatie, waarbij de verontreinigende stof irreversibel wordt geïmmobiliseerd. In andere gevallen is de fytostabilisatie reversibel en vormt derhalve een minder aantrekkelijke optie voor bodemsanering.

Vegetatie in combinatie met het toevoegen van chemische immobilisatoren blijkt een duidelijk positief effect te hebben op het functioneren van bodemvoedselwebben, met name op het functioneren van microben en nematoden [19]. Dit kan duiden op een verder verminderen van de biologische beschikbaarheid door vegetatie naast de vermindering die het gevolg is van de chemische immobilisatoren.

Ook veranderingen in de redox-potentiaal in de rhizosfeer en in de “bulk” van de bodem onder invloed van vegetatie kunnen leiden tot omzettingen waarbij zware metalen, die eerst voorkwamen in een toxische, chemische verschijningsvorm, worden omgezet in een andere, minder toxische, chemische vorm. Onder invloed van vegetatie wordt bijvoorbeeld chromaat omgezet in driewaardig chroom met een lagere toxiciteit.

Fytostabilisatie kan optreden in combinatie met fyto-extractie van zware metalen, bijvoorbeeld onder invloed van microbiële activiteit, waarbij mycorrhiza zowel een immobiliserende werking hebben alsook de capaciteit van de plant om zware metalen op te nemen, kunnen verbeteren (persoonlijke mededeling J.C. Dodd).

Op dit moment ziet het er niet naar uit dat fytostabilisatie zelfstandig kan concurreren met het chemisch immobiliseren van zware metalen (toepassing van olivijn, beringiet, stabiel organisch materiaal) in het kader van het actief beheer van verontreinigde gronden<sup>2</sup>. Een combinatie van beide heeft meer perspectief, ook al vanwege het feit, dat vegetatie winderosie tegengaat en derhalve de verspreiding van verontreinigingen naar niet-verontreinigde terreinen. Ook de publieke acceptatie van bodemsaneringsprojecten wordt vergroot door de aanwezigheid van vegetatie (positieve belevingswaarde).

---

<sup>2</sup> Zie: Rapporten Programma Geïntegreerd Bodemonderzoek, deel 17.

### 3.5 Fytotranspiratie

*Bij fytotranspiratie wordt de verontreinigende stof door planten uit de bodem opgenomen, al dan niet gemetaboliseerd en vervolgens via de bladeren aan de atmosfeer afgegeven.*

Fytotranspiratie van organische verontreinigingen is in de voorafgaande paragrafen reeds kort genoemd. Fytotranspiratie van Hg, As en Se is ook mogelijk. De Se-hyperaccumulator *Astragalus racemosus* zet het uit de bodem opgenomen Se om in de vluchtige verbinding dimethyldiselenide, dat door de bladeren wordt uitgescheiden. Alfalfa is geen hyperaccumulator voor Se maar scheidt het opgenomen Se af via de bladeren in de vorm van dimethylselenide. Hoewel nog niet eenduidig aangetoond, zijn er aanwijzingen dat de omzetting van Se in dergelijke vluchtige organische Se-verbindingen plaatsvindt in de rhizosfeer als gevolg van bacteriële reductie. Fytotranspiratie van Se is in uitgebreide veldproeven succesvol getest en door fundamenteel onderzoek onderbouwd [18]. Enzymatische processen in de plant zelf kunnen bijvoorbeeld ook  $\text{Hg}^{2+}$  omzetten in metallisch Hg, dat via de bladeren wordt uitgescheiden [11].

De genoemde voorbeelden van fyto-extractie gevolgd door fytotranspiratie zijn enerzijds aantrekkelijk omdat het fyto-remediëringsgewas geen zware metalen en andere toxische stoffen accumuleert en derhalve niet verder als chemisch afval hoeft te worden behandeld. Anderzijds zijn er uit milieukundig oogpunt kanttekeningen te plaatsen bij het belasten van de atmosfeer met vluchtige, toxische zware metalen of verbindingen van zware metalen dan wel met toxische organische verbindingen. In veel gevallen wordt dit door plaatselijke autoriteiten echter niet als een probleem gezien, gezien de grote verdunning die in de atmosfeer optreedt.

Bovendien kunnen veel organische verbindingen in de atmosfeer onder invloed van ultraviolette straling fotolytisch afbreken.

## **4. Toepassingsmogelijkheden van fyto-remediëring in Nederland**

### **4.1 Fyto-extractie van zware metalen**

Zoals eerder werd aangegeven, is fyto-extractie van met zware metalen verontreinigde bodems slechts een reële optie indien het verschil tussen de actuele verontreinigingsgraad en het gewenste saneringsniveau niet zeer groot is. De reden hiervoor is het feit, dat zelfs onder optimale condities nooit meer dan 1-2% van de biomassa van het fyto-remediëringsgewas kan bestaan uit zware metalen, zodat zelfs bij een biomassa-productie van 20 ton/ hectare per jaar (eventueel te bereiken door meerdere oogsten) niet meer dan 200-400 kg zwaar metaal per jaar en per hectare kan worden afgevoerd. Is de verontreiniging aanwezig in de bovenste 50 cm van een bodem met een dichtheid van  $2 \text{ g cm}^{-3}$ , dan vermindert de concentratie van het zware metaal in deze laag door fyto-extractie met

20-40 mg/kg per jaar. Voor de meeste zwaardere verontreinigingssituaties en voor de meeste zware metalen leidt dit tot een fyto-remediëringduur van tientallen jaren. Hierbij moet bovendien nog worden opgemerkt, dat een dergelijke hoge fyto-remediëringsefficiëntie slechts kan worden bereikt bij een intensieve vorm van fyto-extractie die weer kan leiden tot de noodzaak van het nemen van (kostbare) additionele maatregelen, met name de aanleg van drainagesystemen en het voorkomen dat toxische fyto-remediëringsgewassen de voedselketen ingaan.

Bij het evalueren van de totale kosten van fyto-remediëring moet onderscheid worden gemaakt tussen enerzijds de aanlegkosten (inclusief eventueel noodzakelijke additionele milieubeschermingsmaatregelen) en anderzijds de operationele kosten. Belangrijke kostenposten tijdens de fyto-remediëring zijn (i) monitoring, (ii) afvoer en behandeling van gewassen en (iii) renteverliezen van de uit productie genomen grond. Op dit moment wordt op verschillende plaatsen gewerkt aan een beslismodel om op basis van een kostenanalyse na te gaan of een gegeven verontreinigingssituatie mogelijkheden biedt voor fyto-extractie.

Het is duidelijk, dat fyto-remediëringkosten zeer afhankelijk zijn van de duur van de saneringsoperatie. Beslissingen om fyto-extractie al dan niet toe te passen zullen het resultaat zijn van een afweging tussen de kosten van fyto-remediëring en de kosten van een meer technologisch gerichte aanpak. Zeker in Nederland zal met name de duur van de fyto-remediëring de kosten bepalen. Fyto-extractie zal slechts een optie kunnen zijn indien de duur van de operatie binnen de perken gehouden kan worden.

De druk op ruimtegebruik en derhalve de grondprijzen in Nederland zijn vanwege de schaarste hoog, maar hangen toch ook af van de bestemming; zo neemt de prijs van uit productie genomen landbouwgrond naar men mag verwachten af. In dergelijke situaties zou een langdurige saneringsoperatie, bijvoorbeeld in de vorm van fyto-extractie van zware metalen aantrekkelijk kunnen zijn. Voorlopig leidt het bovenstaande echter toch tot de conclusie dat fyto-extractie van zware metalen qua toepasbaarheid in de nabije toekomst beperkt blijft tot (i) extensieve fyto-remediëring (in combinatie wellicht met



energieteelt of productie van andere, niet-voedingsgewassen) van licht tot matig, diffuus verontreinigde grotere gebieden en (ii) intensieve fyto-remediëring onder gecontroleerde omstandigheden van bijvoorbeeld (gehomogeniseerde) reststoffen, zoals baggerspecie.

Conform het huidige milieubeleid in Nederland wordt de milieukundige geschiktheid van bodems voor bepaalde doeleinden (landbouw, recreatie, woningbouw *etc.*) steeds meer bepaald door de potentieel beschikbare fractie van het zware metaal in de bodem en niet door het totaal aanwezige gehalte. De potentieel beschikbare fractie wordt bepaald door standaard uitlogingsexperimenten en specifieke bodemextracties in het laboratorium. De achtergrond hiervan is dat slechts deze potentieel beschikbare fractie onder bepaalde omstandigheden (bijvoorbeeld na landgebruiksveranderingen) op enige termijn tot verhoogde concentraties in de bodemoplossing kan leiden en vervolgens milieurisico's kan opleveren.

Fyto-extractie van zware metalen heeft ten opzichte van sommige andere bodemreinigingstechnieken het voordeel, dat per definitie slechts de potentieel beschikbare fractie van het zware metaal kan worden verwijderd. Dit heeft weer als gevolg, dat saneringsdoelstellingen (aanzienlijk) sneller kunnen worden gehaald dan wanneer wordt gestreefd naar vermindering van totaalgehalten tot beneden de bodemnormen. Dit is een “verkoopargument” voor fyto-extractie in de concurrentie met conventionele bodemsanering.

Op grond van het bovenstaande worden door de auteur in Nederland in eerste instantie de volgende gebieden als kansrijk gezien voor de toepassing van intensieve of extensieve fyto-remediëring ter verwijdering van zware metalen (fyto-extractie):

### **1. Uiterwaarden en oevergronden**

Uiterwaarden en oevergronden langs Rijn en Maas zijn in het verleden zwaar belast met zware metalen, die werden geïntroduceerd via meegevoerd, verontreinigd rivierslib. De verdere toename van zware metaalgehalten in de sedimenten is zeer gering als gevolg van recente milieumaatregelen in Nederland en omringende landen. Als gevolg van de aanwezige belasting met zware metalen zijn de landbouwkundige gebruiksmogelijkheden van uiterwaarden op dit moment beperkt. Ook het “teruggeven” van uiterwaarden aan de rivier in het kader van natuurontwikkeling en rivierbedverruiming kan tot problemen leiden als gevolg van mogelijke remobilisatie van de aanwezige verontreinigingen. Indien om redenen van herinrichting van de uiterwaarden wordt besloten veranderingen in het (water-)beheer van de uiterwaardgronden op te nemen, lijkt extensieve fyto-remediëring gedurende een tiental jaren een veelbelovende manier om de potentieel beschikbare fractie zware metalen zodanig terug te dringen, dat beletselen voor gewenste gebruiksvormen worden weggenomen. Met name energieteelt in de fyto-remediëringperiode lijkt een goede optie, temeer daar op basis van recente informatie gewasvariëteiten (bijvoorbeeld wilgen) ter beschikking komen met een relatief hoge natuurlijke opnamecapaciteit voor zware metalen, zoals hiervoor is besproken.

## **2. “EHS-gronden” en natuurontwikkeling op landbouwgronden**

Bij het realiseren van de Ecologische Hoofd Structuur stuit het beleid vaak op de noodzaak hierin arealen op te nemen, die gedurende een langere periode onderworpen zijn geweest aan intensieve landbouw. Afhankelijk van de wijze van bemesten heeft in deze gebieden een niet onaanzienlijke accumulatie van cadmium en koper, afkomstig uit fosfaathoudende meststoffen dan wel dierlijke mest, plaatsgevonden. Ook al zijn de gehalten doorgaans niet zeer hoog, de tijdens natuurontwikkeling optredende uitspoeling van calcium en verlaging van de pH kan met name de cadmium-concentraties in het grondwater doen toenemen tot waarden ruim boven de huidige normen [21]. Extensieve fyto-remediëring gedurende een tiental jaren kan hier uitkomst bieden, mede omdat in potentie een belangrijk bijkomend positief effect is te verwachten. Dit betreft de mogelijkheid om tegelijk met het terugdringen van de potentieel beschikbare fractie van cadmium in de bodem ook de fosfaattoestand van de bodem meer te doen aansluiten bij het gewenste natuurdoeltype. Fyto-remediëring kan gecombineerd worden met een dergelijke verarming van de bodem, doordat de fyto-remediëringsgewassen worden afgevoerd. Voor het welslagen van een dergelijke operatie is het noodzakelijk fyto-remediëringsgewassen te selecteren met een combinatie van voor het doel geschikte eigenschappen, namelijk (i) voldoende economische gebruikswaarde, (ii) voldoende potentie om in landbouwkundige zin adequaat te functioneren op een langzaam verzurende bodem met een in de tijd afnemend beschikbaar fosfaatgehalte, (iii) voldoende opnamecapaciteit voor cadmium en koper en (iv) geen of weinig eigenschappen, die het langzaam ontstaan van het gewenste natuurdoeltype op termijn verhinderen. Specifieke wilgenvariëteiten als energiegewas zijn in dezen veelbelovend. Indien de economische gebruikswaarde van het gewas tijdens de fyto-remediëring minder van belang wordt geacht, lijkt ook lupine goede mogelijkheden te bieden.

## **3. Gebieden met verhoogde diffuse input van zware metalen in het verleden**

Niet onaanzienlijke oppervlakten in Nederland zijn in het verleden belast met aanzienlijke hoeveelheden zware metalen. Voorbeelden hiervan zijn het gebruik van toemaak in het westelijk veenweidegebied, het gebruik van licht verontreinigd afval voor erfophoging en atmosferische depositie van zware metalen in de omgeving van chemische industrie. Bekende “hot spots” in dezen zijn de Krimpenerwaard en de Kempen. In het algemeen kan worden gesteld, dat voor dergelijke relatief uitgestrekte gebieden bepaalde vormen van actief bodembeheer (het gebruik van chemische immobilisatoren) en aangepaste bestemmingsplannen wellicht het meeste perspectief bieden, dit in combinatie met technologisch saneren van lokale zwaar verontreinigde terreinen (sommige gedempte sloten in de Krimpenerwaard en zinkassenwegen in de Kempen). Grootschalig fyto-remediëren zou een te grote druk opleveren voor de economie van de betreffende regio's. In bepaalde situaties, waarbij op grond van economische dan wel landinrichtingsgeoriënteerde overwegingen een specifieke bestemming wordt overwogen, kan intensieve dan wel extensieve fyto-remediëring een oplossing bieden. Voorbeelden zijn privé-tuinen, tuinderijen en volkstuinen in de Brabantse Kempen. Technologische bodemsanering is hier onbetaalbaar, maar intensieve fyto-remediëring zou de potentieel beschikbare gehalten terug kunnen dringen

tot een voor de productie van bijvoorbeeld groenten veilig niveau. Extensieve fyto-remediëring lijkt geen goed alternatief, gezien de economische waarde van dergelijke terreinen.

#### **4. Verontreinigde baggerspecie**

Baggerspecie komt in grote hoeveelheid beschikbaar in verschillende “verontreinigingsklassen”. Hoe lager de verontreinigingsgraad, hoe groter de afzetmogelijkheden voor hergebruik, met als gevolg een hogere marktwaarde. Fyto-remediëring zou een goede mogelijkheid kunnen zijn voor het terugbrengen van het gehalte aan uitloogbare (en dus potentieel beschikbare) zware metalen en vergroting van de hergebruikswaarde. Zowel intensieve als extensieve fyto-remediëring horen hier tot de mogelijkheden, waarbij met name in het geval van extensieve fyto-remediëring de teelt van energiegewassen in een landfarming-setting goede perspectieven biedt. Intensieve fyto-remediëring biedt niet zozeer het perspectief van een economisch gebruik van de fyto-remediëringsgewassen, maar heeft als voordeel een snellere sanering. Het gebruik van bassins en depots voor dit doel biedt de mogelijkheid van het aanleggen van drainagesystemen en systemen voor de automatische monitoring van de voortgang van de sanering. Een probleem bij fyto-remediëring van verontreinigde baggerspecie zou kunnen zijn dat door de weerbarstige bodemfysische en bodemchemische eigenschappen van het materiaal, landbouwkundige voorwaarden voor het functioneren van fyto-remediëringsgewassen niet optimaal zijn. Ook de verontreiniging met een mengsel van zware metalen naast PAK's en andere organische verontreinigingen beperkt de mogelijkheden van fyto-remediëring. Hyperaccumulatoren zijn specifiek voor één of twee zware metalen en het gebruik van bodemadditieven (chelatoren) verhoogt de biobeschikbaarheid van de verschillende zware metalen niet in dezelfde mate.

In de bovenstaande situaties (met name bij uiterwaarden en baggerspecie-depots) is veelal sprake van een complex mengsel van verontreinigende stoffen, waaronder ook organische verontreinigingen zoals PAK's en chemisch persistente, gechlorideerde organische verbindingen. Bij organische verontreinigingen speelt fyto-extractie gevolgd door enzymatische afbraak in de plant geen rol, tenzij er sprake is van niet zeer hydrofobe verbindingen (atrazine, TNT *etc.*). Deze stoffen vormen in Nederland echter geen milieuprobleem van grote omvang. Voorzover deze stoffen voorkomen op kleinschalige verontreinigde locaties, zullen hoge concentraties veelal leiden tot een voorkeur voor snelle technologische bodemsanering. Versnelde afbraak van de organische verontreinigingen in de wortelzone (“rhizosfeer-bioremediëring”) kan ook optreden op locaties, waar ities in eerste instantie zijn gericht op het optimaliseren van de fyto-extractie van zware metalen. Op termijn kan het gebruik van bijvoorbeeld cyclodextrinen [9] soelaas gaan bieden als middel om de biologische beschikbaarheid van zowel organische als anorganische verontreinigingen te verhogen.

In het bovenstaande is de aandacht vooral gericht op “normale” gewassen met een hoge biomassa-productie, zonder speciale eigenschappen in relatie tot de opname van zware metalen. Zogenaamde hyperaccumulatoren worden voor praktische toepassingen op dit moment nog als minder voor de hand liggend gezien als gevolg van de veelal lage biomassa-

productie en de lage groeisnelheid. Uiteraard kan hierin in de toekomst verandering komen, indien hetzij de landbouwkundige eigenschappen van hyperaccumulatoren worden verbeterd, hetzij gewassen beschikbaar komen met een hoge biomassa-productie die een hoge opname-efficiëntie voor zware metalen combineren met een hoge tolerantie voor zware metalen. De laatste mogelijkheid lijkt het snelst tot resultaten te kunnen leiden, vooral door de selectie van variëteiten, die afkomstig zijn uit gebieden met hoge natuurlijke gehalten aan zware metalen in de bodem. Bij de wilg en de lupine zijn dergelijke variëteiten reeds beschikbaar.

## 4.2 Rhizofiltratie van zware metalen

Voorwaarden voor de toepassing van rhizofiltratie zijn (i) de beschikbaarheid van *geschikte planten* (opnamecapaciteit, tolerantie), (ii) voldoende *contacttijd* van hun wortelstelsels met de opgeloste verontreiniging en (iii) een geschikte *chemische vorm*, waarin de verontreiniging zich bevindt. Daarnaast is het van groot belang na te gaan of onder de gegeven omstandigheden rhizofiltratie economisch concurrerend is dan wel kan worden met andere waterzuiveringstechnieken, zeker indien hierbij tevens de kosten worden betrokken van het verwerken van de planten, die een hoog gehalte aan zware metalen kunnen bevatten. Toepassing dient niet in eerste instantie gezocht te worden in industriële afvalwaterzuivering, maar in het nabehandelen van bijvoorbeeld licht verontreinigd (drain)water, dat daarna direct geschikt geloosd kan worden op het oppervlaktewater.

Mede gezien de concurrentie van conventionele afvalwaterreinigingstechnieken moeten de mogelijkheden van rhizofiltratie in de Nederlandse context als beperkt worden beschouwd, zeker voor de reiniging van industrieel afvalwater. Dit ondanks het feit dat rhizofiltratie van zware metalen in potentie zeer effectief kan zijn (zie ook figuur 6). In een aantal situaties zijn wellicht zodanig grote voordelen verbonden aan een extensieve “*in situ*” sanering van afvalwaterstromen, dat rhizofiltratie een reële optie wordt. Een interessante optie is de toepassing van rhizofiltratie van zware metalen in combinatie met het verwijderen van fosfaat en nitraat uit het afvalwater (vgl. [18]) en eventueel met rhizofiltratie van oplosbare organische verontreinigingen gevolgd door fytotransformatie (vgl. heliophyten-filters).

Op grond van het voorgaande kan een aantal situaties in Nederland worden aangemerkt als potentieel geschikt voor rhizofiltratie van zware metalen (en eventueel van fosfaat, nitraat en organische verontreinigingen):

**1. Water afkomstig uit drains onder landfarms, baggerspeciedepots, vuilnisbelten, riooloverstorten etc.**

Drainwater afkomstig van opslagplaatsen van matig vervuilde materialen kan concentraties aan zware metalen en redelijk oplosbare organische verbindingen bevatten, die boven de norm voor lozing op het oppervlaktewater uitkomen. Door rhizofiltratie, kunnen de concentraties teruggebracht worden tot een acceptabel niveau. Afhankelijk van de aard en mate van verontreiniging kunnen de plantenresten en verontreinigde sedimenten weer teruggebracht worden op het depot waarvan zij afkomstig zijn dan wel verder worden behandeld als chemisch afval.

**2. Onderdeel van additionele maatregelen bij intensieve fyto-extractie van zware metalen.**

Bij intensieve fyto-remediëring in bijvoorbeeld landfarms, gericht op het verwijderen van zware metalen uit bodems door middel van gewasopname, kan de efficiëntie van het proces sterk worden verhoogd door maatregelen, die de biologische beschikbaarheid van de zware metalen in belangrijke mate verhogen. Voorbeelden hiervan zijn het toevoegen van chelatoren en het toevoegen van stoffen die de pH van de bodem verlagen. Doordat de biologische beschikbaarheid wordt verhoogd, is de kans op verhoogde uitspoeling ook aanwezig en dienen ter bescherming van de omgeving beschermende additionele maatregelen te worden genomen. De aanleg van een effectief drainagesysteem ligt dan voor de hand. Het drainwater kan teruggebracht worden op het vervuilde terrein dan wel zodanig worden gezuiverd, dat lozing op het oppervlaktewater mogelijk is. Rhizofiltratie is in deze situatie een mogelijkheid.

### **4.3 Fytotransformatie en rhizosfeer-bioremediëring**

Het belangrijkste obstakel bij het op korte termijn toepassen van intensieve rhizosfeer-bioremediëring is onvoldoende duidelijkheid over de onderliggende processen bij deze bodemsaneringsmethode. Uit onderzoek blijkt, dat de microbiële afbraak in de bodem in het ene geval wordt versneld door gewasgroei en in een ander geval vertraging kan ondergaan, juist als gevolg van de aanwezigheid van vegetatie, bijvoorbeeld indien de invloed van de rhizosfeer leidt tot vastlegging van de verontreiniging (fytostabilisatie). Er ontbreekt nog veel proceskennis omtrent de ingewikkelde interactie tussen (i) bestaande bacteriepopulaties en gespecialiseerde microbiota, (ii) wortelstelsels en wortellexudaten, (iii) bodemkenmerken, bodembeheer, bodembehandeling en bemestingsregime, (iv) zuurstofverdeling in de wortelzone en (v) aanwezigheid van organische verontreinigingen in de bodemoplossing in al of niet gebonden vorm. Dit leidt tot de conclusie dat rhizosfeer-bioremediëring in veel gevallen nog steeds is gebaseerd op “trial and error” en dat geen schatting is te maken van de fyto-remediëringsduur, temeer daar ook nog onvoldoende bekend is omtrent de fyto-remediëringsnelheid in relatie tot de nog aanwezige gehalten: fyto-remediëring kan aanzienlijk langzamer gaan verlopen bij afnemende gehalten. Weinig aandacht is nog besteed aan de invloed van bemesting (organische stof, stikstof, fosfor) op de efficiëntie van microbiologische processen in de rhizosfeer in relatie tot de afbraak van organische verbindingen. Recent onderzoek naar de afbraak van olie-residuen

(contractonderzoek NAM-IWACO) duidt er mogelijk op dat het bemestingsregime meer van invloed is op de afbraaksnelheid dan de aan- of afwezigheid van vegetatie.

Ondanks de genoemde onzekerheden met betrekking tot (substantiële) positieve effecten van vegetatie op de afbraak van organische verontreinigingen in de bodem, zijn er voldoende redenen om gewassen te gebruiken op plaatsen, waar microbiële afbraak van organische bodemverontreinigingen aan de orde is. Dit geldt met name voor situaties, waar vegetatie een bijdrage kan leveren tot de verbetering van het algemeen functioneren van de bodem (bijvoorbeeld bestrijding van erosie en verbeteren van bodembeluchting) dan wel tot het economisch verantwoord gebruik van verontreinigde terreinen (sierteelt, energieteelt), waarop landbouw voor de productie van consumptiegewassen niet mogelijk is. Ook speelt de belevingswaarde van het terrein gedurende de bioremediëring een rol. Vegetatie en daaruit voortvloeiende regeneratie van de fauna zijn hiervoor bepalende factoren. Overigens dient natuurlijk bij het opzetten van een dergelijke vorm van actief beheer van verontreinigde terreinen vooronderzoek te leiden tot het scheppen van optimale (landbouwkundige) condities voor de bijdrage van vegetatie aan het microbiële afbraakproces. Aangezien vaak sprake is van meervoudige verontreiniging (organische verontreinigingen maar ook zware metalen) dient in het geval van energieteelt en tot op zekere hoogte ook in het geval van sierteelt, tevens aandacht te worden besteed aan het optimaliseren van de fyto-extractie van zware metalen.

Het toepassen van fytoformatie, al dan niet in combinatie met fytotranspiratie bij het verwijderen van relatief goed in water oplosbare verontreinigingen (sommige pesticide-residuen, TNT, TCE), zou in Nederland kunnen worden toegepast. Het onderzoek op dit gebied heeft goede resultaten opgeleverd. In de Verenigde Staten is het verwijderen van dergelijke verontreinigingen met name uit grondwater naar omvang de belangrijkste toepassing van fytoformatie [22]. Bepalend voor het introduceren van deze methode is de concurrentie met conventionele methoden. In Nederland zou dit wel eens in het voordeel van laatstgenoemde methoden kunnen uitvallen. In België (persoonlijke mededeling van Vangronsveld) wordt de methode al grootschalig toegepast bij de verwijdering van TCE uit grondwater. Een belemmerende factor in Nederland zou het maatschappelijke bezwaar kunnen zijn tegen het via fytotranspiratie in de atmosfeer terecht komen van deze stoffen.

Op grond van bovenstaande overwegingen worden in Nederland de volgende gebieden als kansrijk gezien voor extensieve rhizosfeer-bioremediëring en intensieve fytoformatie:

### **1. Uiterwaarden**

Uiterwaarden langs de Rijn (en in mindere mate oevergronden langs de Maas) zijn in het verleden zwaar belast met organische verontreinigingen, die werden aangevoerd met het rivierslib. Het betreft hier met name PAK's en chemisch persistente gechloreerde verbindingen (PCB's, DDT en haar omzettingsproducten, drins, lindaan). Milieumaatregelen in de jaren tachtig in de Rijn-landen, waaronder in een aantal gevallen een regelrecht verbod op productie en gebruik van bepaalde bestrijdingsmiddelen en andere organische verbindingen, hebben ervoor gezorgd dat de verdere opbouw van de belasting met deze stoffen sinds die tijd is gestopt. De landbouwkundige en andere gebruiksmogelijkheden van uiterwaarden zijn echter tot op

dit moment beperkt, met name als gevolg van de eveneens aanwezige zware metalen en niet zozeer als gevolg van de aanwezigheid van organische verontreinigingen. De organische verontreinigingen hebben in het verleden vooral effect gehad op de natuurlijke fauna, bijvoorbeeld verminderde vruchtbaarheid van vogels. Indien fyto-extractie onder bepaalde omstandigheden (bestemmingswijzigingen, herinrichting) wordt gezien als een adequate en economisch verantwoorde methode voor het terugdringen van zware metaalgehalten, lijkt het verstandig om bij het opzetten van fyto-remediëringsprotocollen ook aandacht te besteden aan het optimaliseren van condities voor versnelde bioremediëring van met name PAK's. Met name de teelt van bepaalde wilgenklonen en andere energiegewassen in combinatie met zorgvuldige bemestingsstrategieën biedt perspectieven.

## **2. Verontreinigde baggerspecie**

Het gehalte aan organische verontreinigingen in baggerspecie (vooral PAK's en olieresiduen) kan worden verminderd tot een niveau, waarbij de mogelijkheden voor hergebruik worden vergroot, door de baggerspecie te laten rijpen en de PAK's (en olieresiduen) te onderwerpen aan afbraak onder natuurlijke omstandigheden. Dit kan variëren van het eenvoudig op de kant zetten tot het onderwerpen aan landfarming in speciaal daarvoor aangelegde depots. Bij landfarming kunnen door het ingrijpen in de natuurlijke processen (versnelde afwatering, aëratie *etc.*) de natuurlijke processen worden versneld. Baggerspecie komt in grote hoeveelheid beschikbaar in verschillende verontreinigingsklassen. Hoe lager de verontreinigingsgraad, hoe groter de afzetmogelijkheden voor hergebruik, met als gevolg een hogere marktwaarde. Fyto-remediëring (fyto-extractie en rhizosfeer-bioremediëring) biedt een goede mogelijkheid om door het terugbrengen van het gehalte aan verontreinigende stoffen de hergebruikswaarde te verhogen. In het geval van extensieve fyto-remediëring biedt de teelt van energiegewassen in een landfarming-setting goede perspectieven.

## **3. Lokaal verontreinigd grondwater**

Zoals hiervoor gesteld, is de verwijdering van relatief goed in water oplosbare organische verbindingen door middel van planten uit grondwater via fyto-transformatie al dan niet in combinatie met fyto-transpiratie kansrijk. Op dit moment is het niet goed mogelijk een inschatting te maken van het aantal mogelijke toepassings situaties.

## **4.4 Fytostabilisatie**

Fytostabilisatie kan tegelijkertijd optreden met fyto-extractie en rhizosfeer-bioremediëring en op die manier bijdragen tot een efficiënter verloop van het proces, doordat naast de verwijdering van de verontreinigende stof tevens de potentieel beschikbare fractie van de verontreinigende stof wordt verminderd. De fyto-remediëringdoelstellingen kunnen dan sneller worden gehaald.

Afgezien van specifieke verontreinigingssituaties (bijvoorbeeld vloeivelden met Cr-verontreiniging), lijken op dit moment de toepassingsmogelijkheden van fyto-stabilisatie in

Nederland beperkt, met name als gevolg van de concurrentie van andere vormen van actief bodembeheer (het gebruik van chemische bodemadditieven, alternatieve bemesting, alternatieve gewassen). Het gebruik van vegetatie voor het stabiliseren van verontreinigde terreinen is in Nederland breed toepasbaar. Afhankelijk van de resultaten van lopend onderzoek kan op de korte termijn een tweetal soorten fytostabilisatie toepasbaar worden:

1. Plantgestimuleerde humificatie van organische verbindingen, bijvoorbeeld door toepassing van specifieke peroxidases, geproduceerd door wortelstelsels;
2. Stimulering van mycorrhiza-vorming bij fyto-remediëringgewassen voor fyto-extractie van zware metalen.



## 5. Conclusie

De huidige stand van zaken in het internationale onderzoek op het gebied van fyto-remediëring leidt tot de conclusie dat op dit moment vier vormen van fyto-remediëring voor toepassing in Nederland in aanmerking komen:

1. *Fyto-extractie van zware metalen* in matig verontreinigde gronden, met name in het landelijk gebied. Hiervoor komen in aanmerking: (i) uiterwaarden en oevergronden langs de grote rivieren, (ii) gronden die vallen onder de Ecologische Hoofd Structuur (EHS), (iii) gebieden met een diffuse verontreiniging van zware metalen en (iv) verontreinigde baggerspecie. De lange saneringsduur in combinatie met de doorgaans grote druk op ruimte maakt de markt voor deze vorm van fyto-remediëring kleiner dan in andere landen. Indien echter het onderzoek vooruitgang boekt, met name op het terrein van vermindering van de fyto-remediëringduur, ontstaat naar verwachting snel een breder toepassingsgebied in ons land. Er is in principe voldoende basiskennis voorhanden om deze techniek in meer grootschalige proeven te testen en te perfectioneren met daarbij aandacht voor het voorkomen van nadelige neveneffecten. Combinatie van fyto-extractie van zware metalen met het “uitmijnen” van geaccumuleerd fosfaat biedt perspectieven, met name voor EHS-gronden.
2. *Fytotransformatie/fytotranspiratie van redelijk wateroplosbare en vluchtige verbindingen*, met name in gevallen van lokale grondwaterverontreiniging (TCE *etc.*).
3. *Intensieve fyto-remediëring van verontreinigde reststoffen*, bijvoorbeeld baggerspecie. Diverse vormen van fyto-remediëring (fyto-extractie, rhizosfeer-bioremediëring) kunnen gecombineerd worden.
4. *Het toepassen van vegetatie als “additional measure”* bij landfarming en bij actief beheer van verontreinigde bodems, vooral in combinatie met energieteelt. Beplanting van plaatsen waar organische verontreinigingen in de bodem zijn geaccumuleerd kan zonder problemen plaatsvinden, met name indien de geteelde gewassen economische waarde hebben (bijvoorbeeld energieteelt). Positieve effecten worden dan verwacht als gevolg van het verbeteren van de algemene condities voor microbiële afbraak (aërobe zones, betere ontwatering van landfarms *etc.*). Naast een “esthetisch” effect zijn in meer of mindere mate effecten te verwachten op afbraak in de rhizosfeer en fytostabilisatie. Rhizosfeer-invloeden in de zin van stimulering van microbiële en enzymatische processen zijn echter nog tamelijk moeilijk te voorspellen.

Grootschalig toepassing van *rhizofiltratie voor het zuiveren van (industriële) afvalwater* ligt niet zeer voor de hand, met name vanwege de concurrentie van conventionele afvalwaterzuivering. Alleen in specifieke gevallen, waar *in situ* zuivering van matig verontreinigd water grote voordelen biedt, zijn op korte termijn toepassingen te verwachten. Op langere termijn zijn er wellicht mogelijkheden voor nazuivering van industrieel afvalwater,

vooral indien de rhizofiltratie van zware metalen, organische verontreinigingen, fosfaat en nitraat kan worden gecombineerd.

Toepassing van fyto-remediëring in Nederland wordt, in vergelijking met andere landen vooral gehinderd door hoge grondprijzen (lange saneringsduur) en de hoge gemiddelde grondwaterstand (snellere uitspoeling). Anderzijds is de situatie in Nederland gunstiger dan in andere landen, omdat het beleid vereist, dat matig en sterk verontreinigde grond en specie worden opgeslagen en gezuiverd en niet direct mogen worden toegepast in het landelijk gebied (baggerspecie, zuiveringsslib) zoals elders in de wereld. Deze depots kunnen door fyto-remediëring worden gereinigd.

Er zijn redenen om te pleiten voor specifiek onderzoek naar alternatieve bemestingswijzen in combinatie met bodembologisch onderzoek bij de fyto-remediëring van met name organische verontreinigingen. Uitbreiding van kennis aangaande het gedrag van bacteriepopulaties en schimmels in de rhizosfeer zou een belangrijke bijdrage kunnen leveren aan de optimalisering van rhizosfeer-bioremediëring. Indien de processen in de rhizosfeer beter bekend zijn, kan rhizosfeer-bioremediëring meer gestuurd worden en de efficiëntie verbeteren. Dit kan op langere termijn leiden tot een grotere toepassing van fyto-remediëring in Nederland.

Daarnaast bestaat er op korte termijn behoefte aan de ontwikkeling van een beslissingsondersteunend instrument, waarmee (semi-)kwantitatief de merites (milieurendement, kosten) van fyto-remediëring ten opzichte van conventionele en andere innovatieve bodemreinigingstechnieken kunnen worden beoordeeld.

Het feit dat de markt voor het uitvoeren van fyto-remediëringprojecten in de USA en Canada op dit moment circa 40.000.000 USD bedraagt [19] en exponentieel lijkt te groeien (in Europa circa 1.500.000 USD) wijst er tenslotte op dat de mogelijkheden in Europa en dus in Nederland zeker nog niet volledig worden benut.

## 6. Referenties

1. J.L. Schnoor, 1998. *Phytoremediation*. Technology Evaluation Report GWRTAC. Report nr. TE-98-01 (1997/98). Email: [gwrtaac@netac.org](mailto:gwrtaac@netac.org). Internet: <http://www.gwrtaac.org>
2. D.E. Salt, R.D. Smith, I. Raskin, 1998. *Phytoremediation*. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 49: 643-668
3. S.D Cunningham, T.A. Anderson, A.P. Schwab, F.C. Hsu, 1996. *Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants*. Advances in Agronomy 56:55-114
4. L.M. Shuman, 1991. "Chemical forms of micronutrients in soils". In: J.J. Mortvedt, F.R. Cox, L.M. Shuman, R.M. Welch (eds.): Micronutrients in agriculture, second edition. SSSA Book series # 4. Madison (WI). USA. pp.113-144
5. J. Bril, 1995. *Transfer functions between adsorption constants and soil characteristics*. In: G.J. Reinds et al.: Critical loads and excess loads of cadmium, copper and lead for European forest soils. SC-DLO/AB-DLO report no. 96, Wageningen 1995, pp. 31-50
6. S.D. Ebbs, M.M. Lasat, D.J. Brady, J. Cornish, R. Gordon, L.V. Kochian, 1997. *Phytoextraction of cadmium and zinc from a contaminated soil*. J. Environ. Qual. 26:1424-1430
7. J.W.W. Huang, J.J. Chen, W.R. Berti, S.D Cunningham, 1997. *Phytoremediation of lead-contaminated soils: the role of synthetic chelates in lead phytoextraction*. Environ. Sci. Technol. 31:800-805
8. M.J. Blaylock, D.E. Salt, S. Dushenkov, O. Zakharova, C. Gussman, Y. Kapulnik, B.D. Ensley, I. Raskin, 1997. *Enhanced accumulation of Pb in indian mustard by soil applied chelating agents*. Environ. Sci. Technol. 31, 860-865
9. M.L. Brusseau, X.J. Wang, W.Z. Wang, 1996. *Simultaneous elution of heavy metals and organic compounds from soil by cyclodextrin*. Environ. Sci. Technol. 31:1087-1092
10. D.R. Morrey, K. Balkwill, M.J. Balkwill, S. Williamson, 1992. *A review of some studies of the serpentine flora of Southern Africa*. In: A.J.M. Baker, J. Proctor, R.D. Reeves (eds.): The vegetation of ultramafic (serpentine) soils. Andover, UK: Intercept. (509 pp.)
11. C.L. Rugh, H.D. Wilde, N.M. Stack, D.M. Thompson, A.O. Summers, R.B. Meagher, 1996. *Mercuric ion reduction and resistance in transgenic Arabidopsis thaliana plants expressing a modified bacterial merA gene*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:3182-3187
12. U. Krämer, J.D. Cotter-Howells, J.M. Charnock, A.J.M. Baker, A.C. Smith, 1996. *Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel*. Nature 379:635-638
13. V. Dushenkov, P.B.A. Nanda Kumar, H. Motto, I. Raskin, 1995. *Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous stream*. Env. Sci. Technol. 29:1239-1245
14. J.G. Burken, J.L. Schnoor, 1997. *Uptake and metabolism of Atrazine by poplar trees*. Environ. Sci. Technol. 31:1399-1406
15. J.B. Hughes, J. Shanks, M. Vanderford, J. Lauritzen, R. Bhadra, 1997. *Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures*. Environ. Sci. Technol. 31:266-271

16. R.M. Miller, 1995. *Biosurfactant-facilitated remediation of metal contaminated soils*. Environ. Health Perspect. 103:59-62
17. J. Dec, J.M. Bollag, 1994. *Use of plant material for the decontamination of water polluted with phenols*” Biotechnol. Bio-eng. 44:1132-1139
18. J.L. Schnoor, L.A. Licht, S.C. McCutcheon, N.L. Wolfe, L.H. Carreira, 1995. *Phytoremediation of organic and nutrient contaminants*. Environ. Sci. Technol.. 29: 318-323
19. G.T. Boon, L.A. Bouwman, J. Bloem, P.A.F.M. Römkens, 1998. *Effects of a copper-tolerant grass (Agrostis capillaris) on the ecosystem of a copper-contaminated arable soil*. Environ. Toxicol. Chem. 17(10):1964-1971
20. D. Hansen, P. Duda, A. Zayed, N. Terry, 1998. *Selenium removal by constructed wetlands: role of biological volatilization*. Environ. Sci. Technol. 32:591-597
21. P.F.A.M. Römkens, 1998. *Effects of land use changes on organic matter dynamics and trace metal solubility in soils*. Ph.D. Thesis University of Groningen, 156 pp
22. D. Glass Associates, Inc., 1999. *U.S. and international markets for phytoremediation*. Email: [DGlassAssc@aol.com](mailto:DGlassAssc@aol.com). Internet: [www.channel1.com/dglassassoc/](http://www.channel1.com/dglassassoc/). (Het betreft jaarlijkse rapporten, waarvan ook eerdere edities nog beschikbaar zijn.)