



# Omfang og effekter af mikroplast forurening i jord - med særligt fokus på recirkulering af affaldsprodukter

---

Jesper Liengaard Johansen<sup>1,2,3</sup>, Jakob Magid<sup>1</sup>, Mette Vestergård<sup>3</sup>, Annemette Palmqvist<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institut for Plante- og Miljøvidenskab, Københavns Universitet

<sup>2</sup> Institut for Naturvidenskab og Miljø, Roskilde Universitet

<sup>3</sup> Institut for Agroøkologi - Entomologi og Plantepatologi, Aarhus Universitet



# Kolofon

## Omfang og effekter af mikroplast forurening i jord - med særligt fokus på recirkulering af affaldsprodukter. 1. Udgave

Denne rapport er udarbejdet for, og sponsoreret af, Økologisk Landsforening ([www.okologi.dk](http://www.okologi.dk)) og SEGES Innovation ([www.seges.dk](http://www.seges.dk)). Derudover er den udarbejdet som en del af projektet RECONCILE, som er sponsoreret af ICROFS ([www.icrofs.dk](http://www.icrofs.dk)). Rapporten beskriver forfatterernes synspunkter, og de sponsorerende institutioner kan ikke holdes ansvarlige dens indhold, eller den videnskabelige data som præsenteres.

Hovedansvarlig for specifikke afsnit:

**Jesper Liengaard Johansen:** Har skrevet oprindeligt udkast til rapporten, og leveret data til feltstudiet af jordens fødenet.

**Jakob Magid:** Ansvarlig for CRUCIAL feltforsøget, projektleder for RECONCILE og medforfatter til centrale undersøgelser i rapporten.

**Mette Vestergård:** Har bidraget med data til sæsonundersøgelsen af jordens fødenet på CRUCIAL feltforsøget.

**Annemette Palmqvist:** Hovedansvarlig for litteraturgennemgangen af mikroplasts effekter på jordmiljøet. Har bidraget med data fra studierne med regnorme.

Alle forfattere har kommenteret og redigeret i rapporten.

Fagfællebedømmelse og kommentering af rapporten:

Professor Jes Vollertsen, AAU

Postdoc Louise Hindborg Mortensen, KU

Udgivet:

30. marts 2022

ISBN:

**978-87-996274-6-2**

Adresse:

Institut for Plante- og Miljøvidenskab

Københavns Universitet

Thorvaldsensvej 40, 1871 Frederiksberg C

# Indholdsfortegnelse

<b>SAMMENFATNING .....</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUKTION .....</b>	<b>6</b>
<b>HVAD ER MIKROPLAST? .....</b>	<b>8</b>
<b>MIKROPLAST-FOREKOMST I AFFALDSPRODUKTER .....</b>	<b>8</b>
<b>MIKROPLAST-FOREKOMST I JORDEN.....</b>	<b>12</b>
<b>EFFEKTER AF MIKROPLAST PÅ JORDLEVENDE ORGANISMER .....</b>	<b>14</b>
Effekter på fauna .....	15
Effekter på plantevækst.....	17
Effekter på mikrobielle samfund .....	17
<b>VEKSELVIRKNINGER MELLEM MIKROPLAST OG ANDRE FREMMEDSTOFFER ....</b>	<b>20</b>
<b>CASE: CRUCIAL-EKSPERIMENTET .....</b>	<b>21</b>
Effekt af mikroplast og gødning med restprodukter på regnormearterne <i>Aporrectodea caliginosa</i> og <i>Eisenia veneta</i> .....	22
Biologisk kvælstoffiksering med <i>Rhizobium</i> bakterier .....	25
Jordens fødenet og nedbrydersamfund .....	26
Virningen af spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald på jordens sundhed.....	27
<b>PERSPEKTIVER OG ANBEFALINGER .....</b>	<b>28</b>
<b>REFERENCER .....</b>	<b>29</b>

## Sammenfatning

- Mikroplast forekommer i restprodukter fra menneskers husholdning, som kan bruges som gødning på marker. Der er mange gode grunde til at genanvende restprodukterne, men tvivl om mikroplasts effekter på jordens fertilitet begrænser genanvendelsen.
- Der er mikroplast i organisk husholdningsaffald og spildevandsslam, men et klart og nuanceret billede af indholdet findes ikke. Spildevandsslam indeholder mange små partikler (primært fibre og fragmenter), hvorimod organisk husholdningsaffald indeholder flere større fragmenter (flager fra emballage og poser). Der er indikation på at kompost indeholder flest partikler pr. fosforenhed.
- Mikroplast findes i jorden, men der er få studier der har målt koncentrationen på masseenhed. Der findes ikke sammenlignelige data mellem felt- og laboratorieforsøg, ligesom der ikke findes studier der evaluerer massebalancen af mikroplast (og derved nedbrydning), og det er endnu ikke klart i hvilket omfang restprodukter anvendt som gødning bidrager til forurening af jorden sammenlignet med andre kilder (landbrugsplast, henkastning af affald, bearbejdning af jorden mv.).
- Forskning inden for mikroplast-effekter i jordmiljøet er et relativt nyt område, hvor de fleste resultater indtil videre er fra laboratorieforsøg. Laboratorieforsøg bruger ofte reducerede systemer, ligesom de ofte bruger højere koncentrationer end man vil forvente at finde i feltforsøg. Det kan give udfordringer i forhold til tolkningen, hvis man forsøger at overføre disse resultater til feltskala.
- Det er vist i nogle laboratorieforsøg at mikroplast kan have en effekt på jordlevende organismer. Mange organismer indtager småt mikroplast, hvilket potentielt kan have forskellige negative virkninger på organismen, og kan fungere som første led i bioakkumulering af mikroplast. Der er dog på nuværende tidspunkt ikke konsensus i litteraturen (nogle studier viser negative effekter, mens andre ikke finder effekter af mikroplast), og antallet af effekt-studier foretaget ved miljørealistiske plastkoncentrationer og under miljørealistiske eksponeringsscenarier er stadig begrænset.
- Det er observeret at mikroplast tilsat jord i meget høje koncentrationer kan have en negativ effekt på plantevækst, men det antages at det i særlig grad er indirekte effekter, såsom ændret næringsstoftilgængelighed, forandringer i jordstrukturen og dermed jordens evne til at dræne eller tilbageholde vand, samt planters mulighed for at indgå symbioser med organismer som

mykorrhiza-svampe og Rhizobium-bakterier. Egentlige strukturelle ændringer af jorden som følge af mikroplastforurening, må antages først at ske ved meget høje mikroplast-koncentrationer.

- I laboratoriestudier er det vist at både struktur og funktion af mikrobielle samfund kan påvirkes af eksponering til mikroplast, men generelt undersøges og observeres effekterne ved mikroplast-koncentrationer, som er højere end de koncentrationer der er målt i almindelig landbrugsjord.
- Andre fremmedstoffer som organisk forurening og tungmetaller kan adsorberes til mikroplast. Det gør at mikroplast kan fungere som bærer af fremmedstoffer, hvis organismer indtager det, men samtidig kan det også gøre fremmedstoffer mindre tilgængelige for eksempelvis planter og dyr.
- CRUCIAL-forsøget er gødet med komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam i 20 år, i niveauer som er højere end tilladt (svarende til over 100 års tilførsel). Derfor forventes det at eventuelle skadelige stoffer (mikroplast, tungmetaller, organisk forurening) i produkterne er akkumuleret til et niveau der svarer til, eller er højere end den akkumulering man kunne forvente ved mere end 100 års almindelig gødningspraksis. Det skal bemærkes, at vi endnu ikke har kvantificeret plastindholdet i CRUCIAL jord eller de tilførte gødningsprodukter, men foreløbige pilotanalyser af jord fra CRUCIAL indikerer at der er store forskelle i både plastindhold og plasttype i jord fra de forskellige gødningsbehandlinger. Vi har ikke fundet skadelige virkninger af tilførte affaldsprodukter på regnormesamfund, potentialet for kvælstoffiksering eller jordens fødenet.
- Tilførslen af spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald i CRUCIAL-forsøget har fremmet jordens sundhed, hvad angår mikroorganismer, dyr og planter trivsel sammenlignet med ugødet jord. Produkterne har bidraget til et højere indhold af organisk stof i jorderne, og fungerer som næring, samtidigt med at der ikke er fundet indikationer på utilsigtede virkninger af en cocktail af uønskede stoffer, herunder mikroplast, tungmetaller og organiske fremmedstoffer, vi antager er tilført med særligt de organiske gødningsprodukter over årene.
- I fremtidige studier bør der især fokuseres på at inkludere felt- og storskala model-økosystem-forsøg. For at kunne sammenligne forskellige studier er det nødvendigt at standardisere metoder til prøvetagning og måling af koncentrationen af mikroplast i gødning og jord. Desuden er det vigtigt at undersøge effekten af mikroplast på jordlevende organismer i felten eller i terrestriske model-økosystemer.

## Introduktion

Recirkulering af organiske affaldsprodukter fra husholdningen og industri, for eksempel komposteret organisk affald og slam fra rensningsanlæg, som gødning på marker er en praksis som ønskes anvendt i større omfang. Recirkuleringen medfører både økonomiske, miljø- og klimamæssige fordele, men produkterne indeholder også en række fremmedstoffer som kan give anledning til bekymring (Corradini et al., 2019; Smith, 2009).

Både komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam indeholder alle essentielle plantenæringsstoffer, og deres anvendelse kan reducere brugen af NPK-gødning, hvilket er gavnligt fordi produktionen af NPK udgør 1-2 % af verdens samlede energiforbrug (Patil et al., 2015). Samtidigt opfattes fosfor (P) som en kritisk ressource for EU (fosfor i NPK gødning er udvundet fra fosforminer, som forventes at være udtømte inden for de næste 100 år), og det kan stort set ikke substitueres, hvorfor det er vigtigt at øge recirkulering af særligt P. Derudover spares der ved recirkulering på bortskaffelse af kompost og slam.

Kompost og slam indeholder en væsentlig mængde kulstof, som er sammenlignelig med indholdet i husdyrgødning (Magid et al., 2020). Konstant tilførsel af kulstof til markerne er med til at opbygge jordens kulstofindhold, hvilket lagrer CO<sub>2</sub> i jorden i stedet for i atmosfæren, og samtidig er det med til at forbedre jordens struktur. Dette er meget relevant for økologisk jordbrug, idet man har intentioner om at udfase brugen af husdyrgødning fra konventionelt landbrug (indirekte brug af NPK-gødning), samtidig med, at der ikke produceres tilstrækkeligt husdyrgødning fra økologiske jordbrug til at dække behovet. Det er desuden muligt at der i fremtiden vil blive produceret færre animalske produkter, især kød, for at mindske vores klimaaftryk, hvilket i så fald yderligere vil forøge manglen på gødning til økologisk jordbrug.

Organiske affaldsprodukter bliver ofte mødt med skepsis, idet de indeholder rester af fremmedstoffer, som er tilført i husholdningen på den ene eller anden måde. Eksempler på fremmedstoffer kunne eksempelvis være tungmetaller, organiske forbindelser (medicinrester, rengøringsmidler, biocider og pesticider) og partikulære urenheder, f.eks. mikroplast. Denne skepsis har været berettiget, da især spildevandsslam tidligere har indeholdt betydelige mængder tungmetaller, som blev akkumuleret i jorden og skadede både planter og jordlevende organismer (McGrath et al., 1995). Koncentrationen af tungmetaller i spildevandsslam i mange EU-lande (herunder Danmark) er dog faldet meget gennem de seneste årtier, og det vurderes at niveauet nu er nede på at være sammenligneligt med husdyrgødning, i visse tilfælde endda under (Magid et al., 2020).

Mikroplast er i stort omfang en ubekendt faktor i kompost og spildevandsslam, både hvad angår mængden af plast der bliver tilført markerne, og hvilke effekter det har på jordens organismer og fertilitet. Der har i flere år været stort fokus på mikroplast-forurening i akvatiske miljøer. Mens mange publicerede studier rapporterer om forskellige typer af negative effekter på forskellige akvatiske organismer, er der ligeledes en del publicerede studier som ikke har påvist negative effekter (Wright et al., 2013). En del af de observerede negative effekter er endvidere fremkommet ved eksponering til mikroplast-koncentrationer som er væsentligt højere end de koncentrationer der er observeret, eller forventes at findes i miljøet (Lenz et al., 2016; Mouneyrac et al., 2017). Selv hvis de målte miljøkoncentrationer er underestimeret på grund af begrænsninger i analysemetoder, vil risikoen for at effekter opstår således være overestimeret i en del af de publicerede studier. Der er således endnu ikke konsensus i den videnskabelige litteratur, hvad angår risikoen forbundet med mikroplast-forurening i akvatiske miljøer. Først i de senere år er der kommet fokus på mikroplast-forurening i de terrestriske miljøer, og der begynder at blive publiceret studier, der undersøger effekten på forskellige organismegrupper og processer i jorden. Det relativt nylige fokus på området, sammenholdt med at det, sammenlignet med vandfasen i det akvatiske miljø, er vanskeligt at måle mikroplast-koncentration og udføre forsøg i jord, betyder at der er et begrænset antal studier – i særdeleshed feltstudier – at vurdere problemet ud fra. Kilder til plastforurening af de terrestriske miljøer er mange og forskelligartede, og inkluderer, ud over anvendelse af potentielt mikroplast-forurenede organiske ressourcer, bl.a. anvendelse af landbrugsplast til f.eks. overdækning af tidlige afgrøder, henkastning af affald i naturen, afslidning af bildæk og afskalning af maling fra f.eks. landbrugsmaskiner.

I de følgende afsnit vil vi gennemgå viden om mikroplast i det terrestriske miljø baseret på forskningsresultater publiceret i rapporter og videnskabelige artikler. Vi vil opsummere den nuværende viden om omfanget af mikroplast-forurening i landbrugsjord som følge af anvendelse af restprodukter som spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald, og vi vil redegøre for relevante studier af mikroplast på jordens struktur, jordlevende organismer og plantevækst. Derudover vil vi præsentere en række nyere forskningsresultater fra CRUCIAL-feltforsøget, som er et markforsøg, hvor individuelle 1000 m<sup>2</sup> felter siden 2003 har været gødet med forskellige gødningsformer, herunder netop spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald. CRUCIAL-forsøget giver os et billede af, hvilke langtidseffekter man vil kunne forvente som resultat af den samlede mængde fremmedstoffer i forskellige gødningsformer.

## Hvad er mikroplast?

Plast er en fællesbetegnelse for industrielt fremstillede polymerer (dvs. kæder sammensat af flere mindre molekyler kaldet monomerer), baseret på kulstof, som kan have forskellig længde og sammensætning, hvilket giver grundlag for mange forskellige typer plast. Plast er typisk lavet af mineralsk kulstof (olie), men kan også fremstilles af plantematerialer (bioplast). Almindelige typer af plast er eksempelvis: Polyethylen (PE), Polypropylen (PP), Polyethylentereftalat (PET) eller "polyester", Polyvinylchlorid (PVC) og Polystyren (PS). Forskellige plastpolymerer har forskellige fysiske og kemiske egenskaber. Sammen med eventuelle kemikalier, der tilsættes plastmaterialet for at opnå en særlig funktionalitet af materialet, vil polymertypen være afgørende for f.eks. nedbrydningshastighed, bevægelser af plasten (plastens adfærd) og potentiel giftighed i miljøet. Mikroplast er plastpartikler mindre end 5 mm. Mikroplast, som er under 1  $\mu\text{m}$  (1000 nm) betegnes ofte "nanoplast" (Van Cauwenberghe et al., 2015).

Plast er organiske forbindelser og kan i princippet nedbrydes og forsvinde helt. Nedbrydning kan ske både ved kemisk nedbrydning f.eks. ved eksponering til solens UV-lys, eller biologisk nedbrydning af organismer som bakterier og svampe. Det kan antages, at hastigheden hvormed plasten nedbrydes gennem kemiske og biologiske processer vil øges ved forudgående fysisk/mekanisk findeling af plastmaterialerne, men samtidig må det også antages at de resulterende mindre partikler er potentielt mere skadelige for jordbundsorganismer end større partikler. Nogle typer af plast er meget svært nedbrydelige og forventes derfor at forblive i jorden i meget lang tid (Ng et al., 2018).

Når man vurderer forurening med mikroplast er det således vigtigt at være opmærksom på at der findes mange forskellige typer plast og de forekommer i forskellige størrelser. Begge dele kan have stor betydning for hvilken effekt man observerer, og man kan derfor ikke direkte oversætte adfærd og effekter af én plasttype til en anden. Derudover skal man betragte mikroplast forurening som dynamisk, idet både kemien og størrelsen på partikler vil ændre sig over tid.

## Mikroplast-forekomst i affaldsprodukter

Både spildevandsslam og kompost indeholder mikroplast fra husholdning, men der er stor forskel på type, størrelse og fordeling af mikroplast-partiklerne.

Spildevandsslam indeholder både det mikroplast som bliver ført fra husholdningen og industrier med spildevandet og mikroplast fra f.eks. veje og andre befæstede arealer i områder med fælleskloakering. Den største andel af mikroplasten fra spildevandet tilbageholdes i renseanlæggets klaringstanke, og



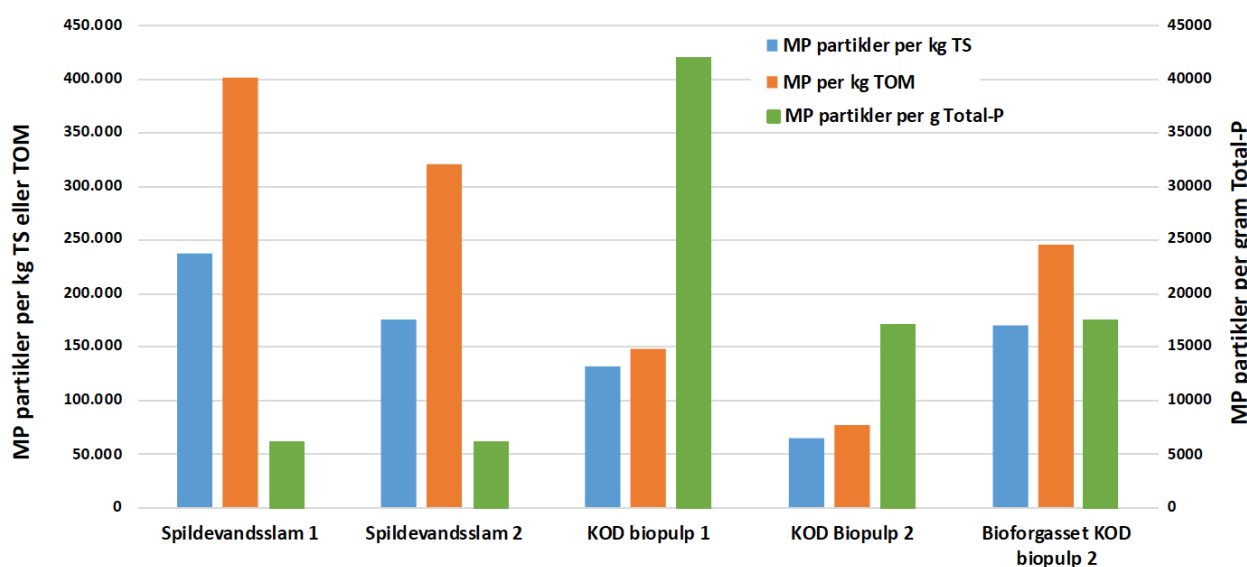
ender i slamfraktionen. Det er ofte mindre partikler som føres med vandstrømmen, eksempelvis fibre fra tøjvask og karklude/svampe (Hernandez et al., 2017), gummirester fra bildæk, flager/malingrester, og i mindre omfang plastiktilsætning i sæbe og andre kosmetikprodukter. Men i nogle tilfælde vil også større plastemner, f.eks. vatpinde, kontaktlinser eller hygiejnebind føres med spildevandet og gennem indløbsristen på rensningsanlægget – disse vil ofte sorteres fra i sand- og fedtfanget og eventuelt føres via rådnetanken videre til slamfraktionen.

Undersøgelser af dansk spildevandsslam er foretaget flere gange. Simon et al. (2018) analyserede 5 prøver (fra 5 danske rensningsanlæg), og fandt i gennemsnit 169.000 partikler/g vådt 'digested wastewater sludge' (median på 158.000 partikler/g) svarende til et gennemsnit på 4,5 mg plastik/g vådt digested slam (median på 6,5 mg/g). Det svarer til at ca. 0,7% (vådvægt) af de testede slamprøver er plastpartikler i størrelsen 20-500 µm (baseret på median værdien). På tørvægtsbasis estimerede de at det svarer til en medianværdi på 2% plast i de 5 testede prøver. Opgørelsen på partikelantal svarer til et gennemsnit på ca.  $5,6-6,8 \times 10^8$  partikler pr. kg tørvægt. Larsen (2017) analyserede af to omgange 19 forskellige fraktioner fra Bjergmarken rensningsanlæg i Roskilde, blandt andet slamfraktionen efter slutfældning (denne fraktion blev analyseret på 3 tidspunkter i perioden). I disse prøver fandt man mellem 130.000 og 320.000 plastpartikler der var større end ca. 100 µm, per kg tørvægt slam. Det ligger væsentligt under antallet af mikroplast-partikler fundet i Simon et al. (2018), hvilket sandsynligvis skyldes at de to studier benyttede forskellige analysemetoder med forskellige nedre grænser for hvor store partikler der kunne detekteres (10 µm i Simon et al. (2018) og 100 µm i Larsen (2017)). De observerede partikler i Larsen (2017) var primært fibre og sorte fragmenter (sort gummi). Palmqvist & Larsen (2018) undersøgte i 2017-18 den mulige effekt af milekompostering af slam (på Odense Nord Miljøcenter) og analyserede i den sammenhæng mikroplast-indholdet i kompost blandet af slam, halm og have-parkaffald såvel som mikroplast-indholdet i slam inden opblanding. Det analyserede slam (inden opblanding) kom fra Ejby Mølle rensningsanlæg, som modtager slam fra Odenses øvrige rensningsanlæg, og slammet er således et blandingsprodukt fra flere rensningsanlæg. Studiet viste bl.a. at slammet indeholdt 180.000 partikler/g tørvægt slam, og også dette studium havde en nedre størrelsesgrænse på ca. 100 µm. Af de detekterede partikler var 70% fibre (74% af de analyserede fibre var polyester), 24% var fragmenter (95% af de optalte fragmenter var sorte og de bestod i 87% af tilfældene af gummi-relaterede polymerer), og 6% var andre partikel typer. Magnusson & Norén (2014) undersøgte indholdet af mikroplast-partikler større end 300 µm i bl.a. spildevand, rensset spildevand og slam. I slamfraktionen var antallet af partikler >300 µm 16.700 partikler/kg tørvægt. Partiklerne var fordelt mellem 72% fibre, 20% fragmenter og 8% flager.

Målingerne er på niveau med nogle målinger fra andre lande, men væsentligt højere end andre (Bläsing & Amelung, 2018; Chand et al., 2021; Gatidou et al., 2019; Mintenig et al., 2017) og væsentligt lavere end målingerne i Vollertsen & Hansen (2017), Larsen (2017) og Palmqvist & Larsen (2018). De store forskelle i koncentrationsmålingerne kan skyldes forskellige målemetoder, da der ikke findes en standardiseret metode til at måling af mikroplast-indhold. Det er således tydeligt ved sammenligningen mellem studierne at analysemetoden betyder noget for hvor mange partikler der kan tælles, og i særlig grad har det, ikke overraskende, stor (måske størst) betydning hvilken minimums-partikelstørrelse metoden kan detektere.

Kompost indeholder også en del mikroplastik, men det har en anden karakteristik end det man finder i spildevandsslam. Det er typisk rester af emballage og indpakning man finder i komposten, som større eller mindre fragmenter. Der er lavet færre undersøgelser af mikroplast-indholdet i komposteret husholdningsaffald end af mikroplast-indhold i spildevandsslam. Kompost-undersøgelserne finder generelt færre partikler end i spildevandsslam, der er f.eks. rapporteret 20-1000 partikler i kompost af forskellig oprindelse (Braun et al., 2021; Weithmann et al., 2018). Det skal bemærkes, at det kun er partikler større end 1 mm der er målt på i Weithmann et al. (2018), mens den nedre størrelse for detektion ikke opgives i Braun et al. (2021), men baseret på den anvendte metode efter al sandsynlighed har været større end 100  $\mu\text{m}$ . Generelt findes der i kompost en større andel af de større partikler sammenlignet med slam, og mange er så store at de ikke kan betegnes som mikroplast, men ved udledning til miljøet vil de sandsynligvis yderligere fragmenteres, så de med tiden vil blive til mikroplast. På grund af anvendelse af forskellige metoder, er det generelt problematisk at forsøge at sammenligne mikroplast-indhold i slam med mikroplast-indhold i kompost. I Palmqvist & Larsen (2018) og i Larsen (2017) benyttedes der dog stort set den samme metode til analyse af mikroplast-indhold i slam som ved analysen af mikroplast-indhold i forbehandlet og bioforgasset kildesorteret organisk dagrenovation (KOD; affald fra den organiske fraktion af husholdningsaffald fra almindelige danske husstande) i Vestergaard et al. (2019). Denne metode detekterer primært partikler som er større end ca. 100  $\mu\text{m}$  (i princippet kan nogle partikler være mindre end 100  $\mu\text{m}$ , men der bliver usikkerheden på detektion tilsvarende højere). Data fra disse tre studier kan dermed med rimelighed sammenlignes (figur 1). I Vestergaard et al. (2019) blev prøver af biopulp fra to forskellige forbehandlingsanlæg (KOD biopulp 1 og KOD biopulp 2), såvel som prøver af bioforgasset biopulp fra KOD 2-anlægget analyseret for mikroplast-indhold ved to prøvetagninger. Mikroplast-indholdet i de analyserede prøver lå på 56.000-179.000 partikler per kg tørstof pulp. En sammenligning af mikroplast-indholdet i KOD og bioforgasset KOD (Vestergaard et al., 2019) med mikroplast-

indholdet i slam (Larsen, 2017; Palmqvist & Larsen, 2018), viser, at der er flere partikler i spildevandsslam (ca. 176.000-238.000 partikler per kg tørstof) end i KOD (56.000-179.000 partikler per kg tørstof) når det opgøres pr. tørstof, men færrest i spildevandsslam (ca. 6.200 partikler per gram P) i forhold til KOD (ca. 17.000-42.000 partikler per gram P)), når det opgøres pr. gram fosfor. Sammenligningen indikerer dermed, at der vil blive tilført mere mikroplast til landbrugsjord ved anvendelse KOD som gødningskilde sammenlignet med anvendelse af spildevandsslam som gødningskilde, når man gøder efter fosfor-enheder. Det er dog vigtigt at huske på at sammenligningen er baseret på få studier, og at det potentielt kunne se anderledes ud, hvis biopulp og slam fra andre anlæg undersøges og sammenlignes.



Spildevandsslam 1: Data fra Ida Aagaard Larsens speciale projekt (del af projekt Plastfri Roskilde Fjord)

Spildevandsslam 2: Data fra samarbejdsprojekt mellem RUC og Genanvend Biomasse, DANVA, Biofoss m.fl. om MP i komposteret slam

**Figur 1.** Sammenligning af mikroplast (MP) indholdet (antal partikler per tørstof (TS), totalt organisk materiale (TOM) og total fosfor (Total-P) i hhv. spildevandsslam fra to studier og biopulp af kildesorteret organisk dagrenovation (KOD; organisk husholdningsaffald) samt bioforgasset KOD fra et tredje studium. Sammenligningen kommer fra Vestergaard et al. (2019), og viser at mikroplast-indholdet er højest i spildevandsslam når der sammenlignes på basis af tørstof, mens det er højest i KOD når der sammenlignes på basis af fosfor enheder.

## Mikroplast-forekomst i jorden

Indholdet af mikroplast i terrestriske økosystemer, herunder landbrugsarealer, og dets påvirkning af organismer og processer, er et relativt nyt forskningsområde (Rillig, 2012). Derfor er der stadig få studier, der har målt på mikroplast-indholdet i jord, og der findes for nuværende heller ikke her en standard-procedure til prøvetagning eller måling af indholdet.

Vollertsen & Hansen (2017) målte mikroplast-partikler i 5 jorde som havde modtaget slam, samt 5 som ikke havde. De fandt at niveauet af mikroplast i jorden, med medianværdier på 6-12 mg/kg, og 71.000-145.000 partikler/kg jord, var lavt sammenlignet med andre forureningsstoffer. De konkluderede at forskellene mellem de to grupper (med/uden slam) sandsynligvis skyldes usikkerheder i forbindelse med prøvetagning og analyse. Da der ikke er redegjort for eventuelle forskelle i jordtyper og beliggenhed af de 10 jorde, er det dog også muligt at forskellene til dels kan skyldes forskelle i jordens evne til at holde på små partikler. I et lignende studium (Ljung et al., 2018), hvor mikroplast-analyserne blev udført i det samme laboratorium som i Vollertsen & Hansen (2017), blev mikroplast-indholdet undersøgt i 3 plots på et feltforsøg beliggende i Malmø kommune. De tre plots havde modtaget hhv. ingen slam, slam i mængden 4 ton tørstof pr. ha hvert 4. år, slam i mængden 12 ton tørstof pr. hektar hvert 4. år. Alle jorde modtog endvidere NPK-gødning. Jord-analyserne viste, at jorden uden slamtilførsel indeholdt 0,30 mg plast pr. kg tørstof, jord som havde fået tilført 4 ton slam tørstof pr. hektar indeholdt 0,32 mg plast pr. kg tørstof og at jord som havde fået tilført 12 ton tørstof pr. hektar indeholdt 3,4 mg plast pr. kg tørstof jord. På basis af en teoretisk beregning af tilførslen til marken, konkluderede forfatterne, at de målte mængder var langt under det forventede indhold. De mener det kunne skyldes flere forskellige faktorer, f.eks. at plasten er blevet fragmenteret til størrelser som ligger under detektionsgrænsen på 10  $\mu\text{m}$ , at dræningsvand har ført plasten med længere ned i jordlagene eller væk fra marken, at orme har fragmenteret eller ført plasten væk, at plasten faktisk er blevet nedbrudt eller at analysemetoden er usikker.

Også i forbindelse med analyser af mikroplast i jord, afhænger valget af metode til måling af hvilke parametre man ønsker at måle, for eksempel massen af partikler, antallet af partikler, typen af plastik og størrelse af partiklerne. Typer af partikler og størrelser af partikler er typisk et supplement til analysen af antal partikler, som kan bidrage til at fortælle f.eks. deres potentiale for at blive spist eller hvor de kommer fra. Nogle metoder til at måle masse/vægtenhed kan ikke samtidig vise noget om f.eks. antal, størrelse, form og farve, og det gør i nogle tilfælde den måleenhed mindre relevant biologisk set. Men samtidig har vi brug for at kunne måle massen for at kunne lave bedre

sammenligninger på tværs af matricer (f.eks. forskellige gødningsprodukter, forskellige jorde eller jorde over tid) (Dioses-Salinas et al., 2020; Möller et al., 2020).

Indholdet af mikroplast i jorden afhænger som tidligere nævnt af hvad der er tilført gennem årene i gødningsprodukterne, hvad der er tilført via øvrig drift (afdækning med plastfolie, afskalning af maling fra landbrugsmaskiner mm.) og hvad der er tilført via henkastning af affald, samt deponering fra luften, og der vil derfor alene på baggrund af markens beliggenhed og anvendelse opstå forskelle i omfanget af mikroplast-forurening af jorden. Büks & Kaupenjohann (2020) gennemgik publicerede studier af mikroplast-indholdet i jord, og fandt bl.a. at mikroplast-indholdet i jord fra landdistrikter overordnet set var ca. 10 gange lavere end mikroplast-indholdet i jord fra marker i bymæssig bebyggelse. Mikroplast-indholdet i jord fra industriområder var på basis af partikelantal ca. 100 gange højere og på basis af masse ca. 1000 gange højere end indholdet i jord fra bymæssig bebyggelse. Medianværdien for landdistrikter, bymæssig bebyggelse og industriområder var hhv. 0,2 mg/kg, 2,1 mg/kg og 2400 mg/kg, samlet set for de 4, 3 og 1 studier der havde målt mikroplast-koncentrationen på basis af vægt (mg/kg) i de pågældende typer af beliggenhed (Büks & Kaupenjohann, 2020). Sammenligningerne på tværs af de inkluderede studier kompliceres dog af, at der er anvendt forskellige metoder til analyserne. Mikroplast-indholdet i jord fra landdistrikter varierede mellem 4-ca. 5300 partikler per kg tørvægt jord og mellem 0-1,2 mg plast per kg tørvægt jord, og i bymæssig bebyggelse varierede indholdet mellem 70-26.000 partikler/kg tørvægt jord og ca. 0,1-915 mg/kg tørvægt jord (den højeste værdi på 915 mg/kg blev fundet ved en vej i Köln, og altså ikke på landbrugsjord, den næsthøjeste værdi var 4,4 mg/kg, og dette mikroplast indhold var i landbrugsjord). I et studium (Vollertsen & Hansen, 2017), hvor beliggenheden af landbrugsjorden (landdistrikt vs. bymæssig) ikke var opgivet var medianværdien for 5 landbrugsjorde, som ikke havde modtaget spildevandsslam, 12 mg/kg. I jord fra industrielle områder var der fundet 22.000-690.000 partikler per kg tørvægt jord og på en enkelt industriel jord i Sydney, Australien var der 2,4 gram plastik per kg tørvægt jord svarende til at 0,24% af jordprøven var plastpartikler.

Ud over beliggenhed vil landbrugspraksis (f.eks. anvendelse af organiske affaldsprodukter som gødning, anvendelse af landbrugsplast mv.) have indflydelse på tilførsel af mikroplast til miljøet. Generelt må man antage at der bliver tilført mange små partikler (særligt fibre fra tøj) med spildevandsslam, og større partikler (særligt flager og folier fra emballage) med komposteret husholdningsaffald. Store partikler kan over en årrække nedbrydes til flere små partikler, eksempelvis kan en flage på 1 x 1 cm i teorien blive til  $10^8$  stykker mikroplast på 1 x 1  $\mu\text{m}$ . Forskellen på størrelsen af partiklerne gør også at der vil være visuel forskel på de to typer af gødning. Man vil typisk ikke

med det blotte øje kunne se mikroplast på marker gødet med spildevandsslam, fordi de fleste af de tilførte partikler er for små, hvorimod der kan være synlige stykker plastik på marker gødet med komposteret husholdningsaffald. Størrelsen og typen af partikler kan være afgørende for hvilken risiko forureningen udgør for de jordlevende organismer.

## Effekter af mikroplast på jordlevende organismer

Det er endnu uklart om og i hvilket omfang miljømæssigt relevante mikroplast-koncentrationer har negative effekter på terrestriske dyr, planter og mikrobielle samfund. Selv om antallet af publikationer om mikroplast i terrestriske miljøer har været stigende i de senere år, er der endnu ikke tilstrækkelig information til at nå konsensus ift. den potentielle fare relateret til jordlevende organismers eksponering til mikroplast. Særligt mangler der studier som adresserer populations- og økosystemrelevante effekter udført under miljørealistiske eksponeringsscenarier. I det følgende redegør vi for teoretiske virkningsmekanismer af mikroplast, og giver dernæst eksempler fra litteraturen på undersøgte effekter på fauna, plantevækst og mikrobielle samfund, som følges op med et kapitel om vekselvirkninger mellem mikroplast og andre fremmestoffer. Det er derfor ikke en gennemgang af den samlede litteratur på området, men et nedslag i relevante studier. Mikroplast kan have en negativ effekt på jordlevende organismer som det er kendt fra nogle studier af de langt mere undersøgte akvatiske organismer, men bør i den sammenhæng primært sammenlignes med bundlevende akvatiske organismer, som lever *i, på* og evt. *af* sedimentet. Teoretisk set kan negative effekter af eksponering til mikroplast ske gennem eller medieres af flere forskellige virkningsmekanismer: 1) en **fysisk partikel-effekt** som fremkommer ved organismens direkte interaktion med partiklerne, f.eks. hvis et dyr indtager mikroplast-partikler, hvilket resulterer i en mæthedfølelse eller evt. blokerer fordøjelsessystemet, så dyret sulter; 2) en **direkte toksisk effekt** af indholdsstoffer i mikroplasten, det kan enten være i form af kemikalierester (f.eks. upolymeriserede monomerer eller vulkaniseringsmidler) fra produktionen af plastmaterialet eller i form af tilsatte kemikalier, som giver det pågældende plastmateriale særlige egenskaber (f.eks. pthalater og andre blødgørere, antioxidant, farvestoffer mv); 3) en **'vektor-effekt'** eller en **'bindings-effekt'**, hvor andre fremmedstoffer adsorberes til mikroplast som dermed ændrer tilgængeligheden af eller eksponeringsvejen for andre miljøfremmede stoffer eller patogener – tilgængeligheden kan i den sammenhæng teoretisk set både øges og formindskes; 4) ved **indirekte effekter**, hvor mikroplast påvirkning af den undersøgte organismes omgivende miljø, f.eks. reduceret føde-/næringsstof tilgængelighed eller føde-/næringsstofkvalitet, får en effekt på organismens fitness.

## Effekter på fauna

Mikroplast kan, i særlig grad når det har været i miljøet et stykke tid, morfologisk og kemisk set minde lidt om almindeligt forekommende fødeemner, og da mange jordlevende organismer ikke er særligt selektive i fht. fødevalg, er det sandsynligt at mikroplast-partikler kan blive opfattet som føde og indtaget af hvirvelløse dyr i det terrestriske miljø. Man har bl.a. fundet at nematoder (Fueser et al., 2019), snegle (Panebianco et al., 2019) og regnorme (Wang et al., 2019) indtager mikroplast.

Mange hvirvelløse dyregrupper bidrager til konditionering af jorden f.eks. gennem nedbrydning af organisk materiale og dannelse af jordens krummestruktur, og disse organismegrupper er dermed centrale for optimal plantevækst. Wang et al. (2021) gennemgår 60 mikroplast-effektstudier på jordbundsfauna, heraf 22 studier på i alt 5 forskellige regnormearter, 33 studier på nematoden *Caenorhabditis elegans* (heraf 8 i jord eller jordlignende substrat de resterende 25 i flydende medium eller på agarplader), 2 studier på Afrikansk kæmpesnegl (*Achatina fulica*, som er en invasiv art flere steder i verden og en kendt skadevolder på afgrøder), 7 studier på enkytræen *Enchytraeus crypticus* (heraf 5 i jord eller jordlignende substrat og 2 i flydende og fast medium), 5 studier på 2 arter af springhaler (heraf 4 i jord og 1 i gærkultur) og 2 studier på hhv. nematod- og mikroartropod-samfund under feltforhold. Ud af de 60 studier anvendte 5 studier jordeksponering med koncentrationer på 10 mg mikroplast/kg (0,001% på vægtbasis) eller lavere, hvilket svarer nogenlunde til det maximale mikroplast-indhold målt i landbrugsjord (Büks og Kaupenjohann, 2020). I disse 5 studier fandt forfatterne effekter på biokemisk og cellulært niveau (f.eks. ændringer i enzym-niveau- og aktivitet, DNA-skader og celledskader), overlevelse, vækst og reproduktion samt nedsat bevægelse. De observerede effekter var i de fleste tilfælde negative effekter, men i enkelte tilfælde blev der også observeret effekter som må beskrives som positive. Jiang et al. (2020) observerede f.eks. en øget dødelighed ved 14 dages eksponering af regnormen *Eisenia fetida* til 1 mg/kg polystyrenpartikler i størrelsen 100 nm, men ingen forskel ved eksponering til den samme koncentration af 1300 nm polystyrenpartikler, og en formindsket dødelighed ved eksponering til 0,1 mg/kg polystyrenpartikler i begge størrelser. I det samme studie observerede forfatterne endvidere forøget vækst ved alle eksponeringskoncentrationer og partikeltyper sammenlignet med kontrollen, men samtidig observerede de ændringer i biokemiske parametre, som kan indikere en reaktion på oxidativt stress, skader på eksponerede ormenes DNA samt celleforandringer i tarmvævet. Xu et al. (2021) fandt ligeledes DNA-skader ved eksponering af regnormen *Eisenia fetida* til 10 mg mikro- eller nanoplast/kg jord, og biokemisk indikation på at ormene var udsat for oxidativt stress. Studiet indikerer desuden tilstedeværelsen af enten en vektor-effekt eller en fysiologisk effekt, idet orm

eksponeret til både mikro- eller nanoplast og det organiske fremmedstof Phenanthren akkumulerede mere Phenanthren end orme der var eksponeret til Phenanthren uden tilstedeværelsen af mikro- eller nanoplast.

Mens effekter på biokemiske parametre indikerer at organismen reagerer på og forsøger at kompensere for eksponering til mikroplast, omsættes disse i mange tilfælde ikke i nogen direkte målbar konsekvens på individ- eller bestandsniveau. For at få et bedre fingerpeg om, hvorvidt eksponering resulterer i effekter med potentielle konsekvenser for enten individer eller bestand, er det derfor nødvendigt at undersøge mulige effekter på f.eks. overlevelse, vækst og reproduktion. Ved eksponering af nematoden *Caenorhabditis elegans* til polystyrenpartikler i to forskellige størrelser (42 og 530 nm) var der en reduktion i antallet af afkom ved eksponering til 530 nm partikler i plastkoncentrationer på 10 mg/kg af og ved eksponering til 100 mg/kg for både 42 og 530 nm partikler (Kim et al., 2020). En koncentration på 100 mg/kg er ca. en faktor 10 højere end de højeste koncentrationer der er fundet på landbrugsjord, men er dog indenfor hvad man kan forvente at finde i jord i umiddelbar nærhed af befærdet vej og industriområder (Büks & Kaupenjohann, 2020). I 3 af de 60 studier fra Wang et al. (2019) undersøgte mikroplast-effekter ved eksponering til koncentrationer mellem 10 og 100 mg/kg og i 9 studier undersøgte effekter ved eksponering til koncentrationer på mellem 100 og 1000 mg/kg (0,01-0,1 % på vægtbasis). I de fleste af disse 12 studier blev der fundet effekter på vævs-, celle- eller biokemisk niveau (når dette blev målt). Med hensyn til effekter på overlevelse, vækst og reproduktion viser der sig til gengæld et noget mere broget billede, idet nogle af studierne observerede effekter på disse parametre, mens andre ikke fandt effekter ved eksponering til mikro- eller nanoplastkoncentrationer i intervallet 10-1000 mg/kg. Alle de øvrige studier anvendte eksponeringskoncentrationer højere end 1000 mg/kg.

Hos den Afrikanske kæmpesnegl (*Achatina fulica*) blev der observeret adfærdsmæssige forandringer og reduceret vækst ved fodring med blade fra planter som havde været eksponeret til 10 og 100 mg/kg nanoplast i 28 nm størrelse (Chae & An, 2020). Dette studium er interessant fordi sneglene oplevede negative effekter ved at spise blade fra mungbønne-planter, som havde været eksponeret til partiklerne gennem rødderne, og forfatterne endvidere observerede tilsyneladende transport fra planternes rødder til deres blade. Den observerede transport i planten bør dog tages med et vist forbehold, idet den blev målt vha. en tracer (et fosforylerende kemikalie som var tilsat til plastpartiklerne), hvilket i et andet studium (Schür et al., 2019) har vist sig at kunne lække ud af partiklerne, så det var det fosforylerende stof og ikke partiklerne der blev optaget i den eksponerede



organisme. Det kan derfor ikke udelukkes at det fosforylerende kemikalie, som nanoplastpartiklerne var farvet med, har bidraget til de observerede negative effekter i sneglene.

### **Effekter på plantevækst**

Negative effekter af mikroplast på plantevækst er selvsagt uønskede på marker hvor der dyrkes afgrøder. Der findes ganske få studier der undersøger mikroplast effekt på plantevækst, og studier på akvatiske planter udgør den altovervejende del. Rillig et al. (2019) har opstillet en række mulige konsekvenser af mikroplast på plantevækst, og det er særligt afledte/indirekte effekter der menes at kunne have en effekt, dvs. ændringer i jordstrukturen på grund af mikroplast såsom ændret næringsstoftilgængelighed, ændret evne til at dræne og tilbageholde vand, samt effekter på organismer der danner symbiose med planter såsom mykorrhiza og Rhizobium-bakterier (knoldbakterier) (se i afsnittet "Effekter på mikrobielle samfund"). Der nævnes også direkte toksisk effekt af nanoplast, som kan optages af rødderne og forårsage celledskader, samt videreføres i fødekæden. Målemetoderne for detektion af nanoplast og transport af nanoplast rundt i planten, hvor det ofte vil være nødvendigt at anvende en tracer tilsat et kemikalie, er dog forbundet med nogen usikkerhed, idet der er risiko for at tracer-kemikaliets lækker ud af plastmaterialet, og er det, ikke selve partiklen, som optages og transporteres rundt i planten (Schür et al., 2019).

Der findes et par eksempler, hvor planter er dyrket i potter, og hvor man har undersøgt for mikroplast-effekter (med høje koncentrationer af mikroplast >1 %). Meng et al. (2021) undersøgte effekten af mikroplast og mikro-bioplast (begge op til 2,5 %) i jorden på vækst af bønneplanter, og de så en moderat effekt af mikro-bioplast, men ingen effekt af mikroplast. Wang et al. (2020) undersøgte effekten af PE og PLA i jord på væksten af majsplanter, og observerede en negativ effekt på vækst ved 10 % PLA, men ingen effekt ved 0,1 eller 1 % PLA eller ved nogen af koncentrationerne af PE. Effekten på vækst ved høj PLA-koncentration kunne delvist forklares ved et reduceret klorofylindhold i blade på planter eksponeret til de to højeste koncentrationer af PLA. de Souza Machado et al. (2019) undersøgte en række forskellige typer mikroplasts effekt (2% eksponeringskoncentration) på væksten af løg, og fandt at løgene voksede bedre ved tilsætning af mikroplast, fordi mikroplasten påvirkede jorden og gjorde visse næringsstoffer mere tilgængelige.

### **Effekter på mikrobielle samfund**

En del studier har undersøgt mikroplast påvirkning af bakteriesamfunds struktur og funktion i jord. Rillig et al. (2021) argumenterer for at mikroplast-forurening af jord kan have en negativ påvirkning

på jordens evne til at lagre kulstof, bl.a. ved at ændre plantevækst, nedbrydning af førne (ikke nedbrudt organisk stof i jordoverfladen) eller mikrobielle processer i jorden, eller simpelthen fordi mikroplast i sig selv er organisk kulstof, som tilføres det terrestriske miljø, men ikke umiddelbart nedbrydes.

Wang et al. (2020) undersøgte, udover de tidligere beskrevne effekter på majsplanter, effekter af PE (polyethylen) og PLA (polylacticacid; bionedbrydelig bioplast, som bl.a. bruges til landbrugsplast) mikroplast i tre koncentrationer (0,1, 1 og 10% mikroplast) på struktur og diversitet af samfundet af arbuskulær mykorrhiza svampe. Forfatterne fandt en signifikant højere samfundsdiversitet ved eksponering til 10% PLA sammenlignet med både kontrol og de lavere PLA koncentrationer, og en tendens til stigende diversitet med stigende PE koncentration (som dog ikke var statistisk signifikant). Der var ingen effekt på antallet af specifikke grupper (herunder antallet af arter, slægter og familier afhængigt af hvilket niveau de blev bestemt til) af mykorrhiza-svampe, men den relative fordeling af de forskellige grupper (samfundsstrukturen) varierede afhængigt af mikroplast-type- og koncentration, særligt ved koncentrationer højere end 0,1% PE og 1% PLA.

Som mål for bakteriesamfundenes struktur benyttes ofte forskellige mål for diversitet i samfundets sammensætning eller antallet af bakteriearter (kaldes samfundets richness), men i nogle tilfælde undersøges det også om der er specifikke typer eller funktionelle grupper af bakterier, som bliver påvirket positivt eller negativt af eksponeringen til mikroplast. Ng et al. (2021) fandt en signifikant reduceret diversitet i bakteriesamfundet i en skovjord efter tilsætning af mikroplast i form af LDPE (low density polyethylene) i en koncentration på 3% (30 g mikroplast/kg tørstof jord), og fandt ligeledes tendens til reduktion i diversitet ved tilsætning af PET (polyethylenterephthalate, også kendt som polyester) i koncentrationerne 0,2 og 0,4%, men ingen effekter ved eksponering til LDPE i koncentrationen 0,2%. I modsætning til dette studium fandt Yan et al. (2021) ingen ændringer i richness eller diversitet ved eksponering til 0,1 eller 1% PVC (polyvinylchlorid) i to kinesiske jorde, men fandt dog små ændringer i enkelte bakteriegrupper bestående efter mikroplast-tilsætning til de to forskellige landbrugsjorde. De observerede ændringer i bestande af enkelte bakteriegrupper kan både skyldes ændringer i næringsstoftilgængeligheden eller at nogle bakteriegrupper kan nedbryde den pågældende type mikroplast, og dermed opnår en fordel frem for andre grupper. Resultaterne fra Yan et al. (2021) understøttes af et andet studium (Fei et al., 2020), som ligeledes viste at hverken richness eller diversitet af bakteriesamfundet blev påvirket ved eksponering til 1% PVC-mikroplast. Dette studium viste dog også at PVC-mikroplast i koncentrationen 5% påvirkede diversiteten i bakteriesamfundet negativt, mens eksponering til PE (polyethylen) i koncentrationerne 1% og 5%

havde en negativ effekt på både richness og diversitet. I modsætning til resultaterne fra Fei et al. (2020) og Ng et al. (2018) fandt Rong et al. (2021) ikke et tydeligt mønster i påvirkningen af bakteriesamfunds diversitet ved eksponering til enten 2% eller 7% LDPE-mikroplast. I studiet undersøgte forfatterne diversitet og richness af bakteriesamfundet over 90 dage. Efter 7 dages eksponering fandt de en øget diversitet (sammenlignet med kontrollen uden mikroplast) ved eksponering til 2% mikroplast, mens de efter 60 dage fandt en reduceret diversitet ved eksponering til 7% mikroplast. På de øvrige 3 prøvetagningsdatoer fandt de ingen forskel i diversitet mellem kontrollen og de to mikroplast-behandlinger. Polyethylen og mere specifikt LDPE-mikroplast anvendes i flere af de opsummerede studier fordi LDPE som materiale ofte anvendes til landbrugsplast. PVC er interessant fordi det pga. sit tungmetal- og klorindhold kan forventes at være særligt toksisk eller svært nedbrydeligt i miljøet og fordi PVC ofte er tilsat forskellige potentielt giftige blødgørende kemikalier. PET er ligeledes særligt relevant, fordi det, i form af fibre, finder vej til miljøet, bl.a. gennem anvendelsen af spildevandsslam som gødning på landbrugsjord.

Som mål for mikrobielle samfunds funktion benyttes ofte forskellige mål for samfundets samlede respiration eller metaboliske aktivitet såvel som forskellige mål for samfundets involvering i jordens næringsstofcyklus. I et studium af Yang et al. (2018) blev mikrobielle samfund over 30 dage eksponeret til polypropylen (PP) mikroplastpartikler i koncentrationer på enten 7 eller 28% mikroplast i jord, og i kombination med herbicidet Glyphosat ligeledes i to koncentrationer. Det overordnede generelle mønster var, at den højeste mikroplast-koncentration på 28% resulterede i øget mikrobiel respiration (sammenlignet med kontrollen) både med og uden tilstedeværelse af Glyphosat. På enkelte prøvetagningsdage fandt forfatterne også en øget respiration ved eksponering til 7% mikroplast, men effekten var ikke konsistent over tid. Tilsvarende fandt Ng et al. (2021) en øget mikrobiel respiration, ved tilførsel af LDPE-mikroplast i en koncentration på 3%, mens forfatterne ikke observerede effekter på respiration ved eksponering til 0,2% LDPE eller til 0,2 eller 0,4% PET. Gao et al. (2021) observerede derimod øget mikrobiel respiration ved tilførsel af LDPE i koncentrationer ned til 0,1% mikroplast (men ikke ved 0,5 og 1 % mikroplast), som forøgedes til at nå godt 125% af CO<sub>2</sub> udledningen i kontrollen ved en mikroplast koncentration på 18%.

Studiet Gao et al. (2021) viste samtidig, at der ikke var en tilsvarende effekt på det mikrobielle samfunds produktion af N<sub>2</sub>O, som bl.a. dannes i forbindelse med kobling af nitrifikations- og denitrifikations processer i jorden. Rong et al. (2021), som observerede meget forbigående effekter på diversitet og richness, ved eksponering til 2 eller 7% LDPE, fandt dog ved flere prøvetagningstidspunkter forskelle mellem kontrolsamfund og samfund eksponeret til LDPE i

bestandsstørrelsen af mikroorganismer med gener der er relevante for kvælstofomsætningen. Fei et al. (2020) og Yang et al. (2018) undersøgte effekten af hhv. PVC, PE (Fei et al., 2020) og PP (Yang et al., 2018) på aktiviteten af to enzymer med relevans for omsætningen af kvælstofholdige stoffer (Urease) og frigivelsen af fosfat (Acid phosphatase) i jord. Aktiviteten af både Urease og Acid Phosphatase forøgedes sammenlignet med kontrollen ved eksponering af de mikrobielle samfund til både 1% og 5% PVC og 1% og 5% PE (Fei et al., 2020). Ved eksponering til 28% PP forøgedes aktiviteten af Acid Phosphatase signifikant sammenlignet med kontrollen, mens eksponering til 7% PP ikke medførte konsistent forøgelse af Acid phosphatase-aktiviteten, og eksponering til PP ikke havde nogen effekt på Urease-aktiviteten uanset koncentrationen af PP (Yang et al., 2018).

Resultaterne fra de beskrevne studier er relevante, fordi de viser at mikroplast i nogle tilfælde kan påvirke sammensætning og funktion af mikrobielle samfund, når koncentrationen når op på et vist niveau. Sammenligning med målte mikroplast-koncentrationer i jord i Büks & Kaupenjohann (2020) viser dog at ingen af disse studier er udført med miljørealistiske koncentrationer af mikroplast i en almindelig landbrugsjord. En koncentration på 0,1% mikroplast (1000 mg/kg tørstof jord) er ca. en faktor 100 højere end de højeste koncentrationer der er målt i landbrugsjord (se afsnittet om "Mikroplast i jord"), og ligger inden for den koncentration man kan forvente at finde i forbindelse med tæt befærdet vej og på industrigrunde. For at få et korrekt billede af i hvilket omfang og hvordan mikroplast evt. vil påvirke mikrobielle samfund og deres funktion i miljøet, er det også her nødvendigt at udføre forsøg ved miljørealistiske koncentrationer i terrestriske model økosystemer, og ikke mindst undersøge mikroplast effekter under feltforhold.

## **Vekselvirkninger mellem mikroplast og andre fremmedstoffer**

Gødningsprodukter som indeholder mikroplast, f.eks. komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam, vil også indeholde andre typer fremmedstoffer – som tungmetaller og organiske forbindelser (f.eks. medicin- og pesticid-rester). Derfor bør vurdering af risikoen ved anvendelse af disse gødningsprodukter også tage højde for vekselvirkninger mellem mikroplast og andre fremmedstoffer. Både tungmetaller og organiske forbindelser kan binde sig til mikroplast og derved danne komplekse fremmedstoffer (Tang et al., 2021; Verla et al., 2019). Det kan både gøre at mikroplasten fungerer som bærer af andre fremmedstoffer, så det bliver akkumuleret eller har giftige virkninger på organismer der indtager mikroplasten, men det kan også betyde at fremmedstofferne bliver bundet så hårdt til mikroplasten at de bliver mindre tilgængelige for organismer i miljøet.

Det er for eksempel vist at mikroplast kan gøre tungmetallet Zn mere tilgængeligt og derfor at mikroplast kan være en kilde til akkumulering af tungmetaller i regnorme af arten *Lumbricus terrestris* (Hodson et al., 2017). Det er dog også vist at tilstedeværelse af mikroplast sænker akkumuleringen af PAH (Poly-Aromatisk Hydrocarbon) og PCB (Poly-Chlorerede Biphenyler) i regnormen *Eisenia fetida* (Wang et al., 2019), at mikroplast sænker optaget af Phenanthrene i sojabønner (Xu et al., 2021), og at tilstedeværelsen af mikroplast sænker optaget af tungmetaller i hydroponisk dyrkede hvedeplanter (Zong et al., 2021). Der er ingen fuldstændig klare tendenser i den stadig sparsomme litteratur inden for emnet. Der er mange typer mikroplast (i mange størrelser), mange forskellige tungmetaller og organiske forbindelser, og mange organismer det kunne have en virkning på, så det er en udfordring at målrette forskningen. Det er dog vigtigt at tage højde for, at der kan forekomme en række vekselvirkninger i forbindelse med mikroplast-forurening.

## Case: CRUCIAL-eksperimentet

CRUCIAL-eksperimentet er et markforsøg drevet på Københavns Universitets forsøgsgård i Høje Taastrup, hvor man i perioden 2002-2021 har gødet marken med forskellige alternative gødningsformer, for eksempel komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam. For både komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam er der inkluderet accelererede behandlinger, hvor der er tilført større mængder end tilladt, så disse behandlinger har fået mere end 100 års lovlig tilførsel (Lopez-Rayó et al., 2016). Men selv de normale spildevands- og kompost behandlinger på CRUCIAL har modtaget større mængder gødning end det tilladte, da der, for at tilgodese planternes kvælstofbehov, ikke er gødet i fuldstændig overensstemmelse med de tilladte fosforækvivalenter. Felterne har derfor også fået tilført de fremmedstoffer, som er i spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald, for eksempel tungmetaller, organisk forurening og mikroplast, både i en mængde svarende til noget over normal udbringning og en yderligere accelereret mængde. Både mængden af tungmetaller (Lopez-Rayó et al., 2016; Palmqvist et al., 2019) og organisk forurening (Gravert et al., 2021) er blevet målt i jord fra de forskellige CRUCIAL plots. Det skal bemærkes, at vi endnu ikke har kvantificeret plastindholdet i CRUCIAL jord eller de tilførte gødningsprodukter, men foreløbige pilotanalyser af jord fra CRUCIAL indikerer at der er store forskelle i både plastindhold og plasttype i jord fra de forskellige gødningsbehandlinger. At mikroplast-koncentrationen i jorden endnu ikke er målt skyldes at fokus på mikroplast-forurening i jord er et relativt nyt område, at det er temmeligt omkostningstungt at måle mikroplast i komplekse prøver som jord, og at der endnu ikke findes standardiserede metoder til at måle det.

Fordelen ved CRUCIAL-eksperimentet er at fremmedstofferne er udbragt på en realistisk måde over en lang årrække, og i realistiske proportioner i forhold til hinanden, samt i forhold til resten af gødningen. På grund af det komplekse samspil mellem mange naturlige og menneskeskabte faktorer i feltstudier, har det ofte vist sig, at de effekter man finder af en enkelt faktor i kontrollerede laboratorieforsøg er mindre eller fraværende, når man undersøger de samme ting i feltforsøg. At der er tilført mikroplast til felterne via gødning med komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam, er der ingen tvivl om, da vi ved det findes i gødningsprodukterne, og man med det blotte øje kan se mikroplasten i jorden (særligt på felterne tilført komposteret husholdningsaffald). Omfanget af mikroplast-forureningen af felterne er dog endnu ikke målt. Til gengæld ved vi, at når CRUCIAL-forsøget anvendes i forbindelse med effektforsøg og -observationer måles der effekter på koncentrationer svarende til mere end 100 års udbringning af slam/gødning, og at vekselvirkninger fra alle fremmedstoffer i gødningerne er inkluderet.

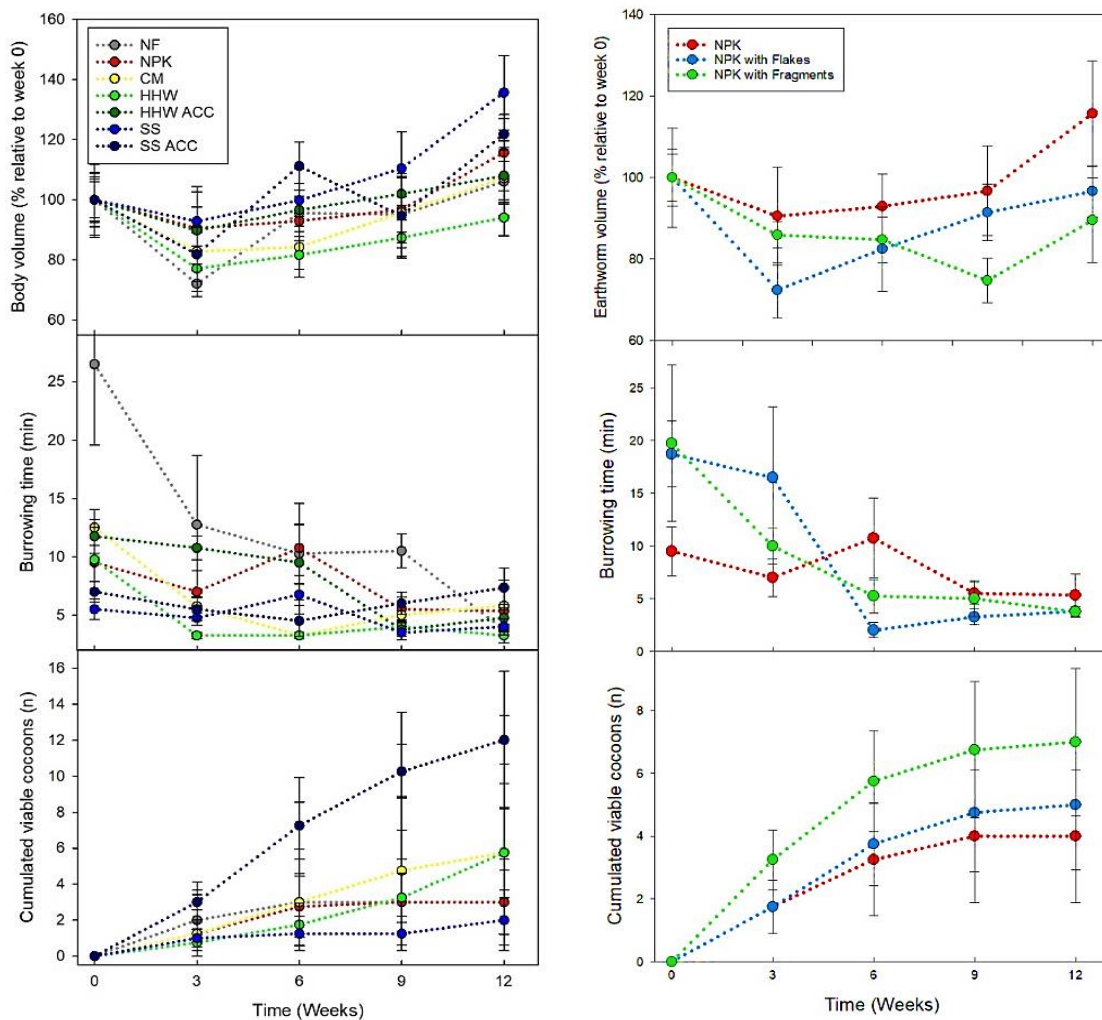
## **Effekt af mikroplast og gødning med restprodukter på regnormearterne**

### ***Aporrectodea caliginosa* og *Eisenia veneta***

Regnorme udfører en række processer som er vigtige for jordens fertilitet, blandt andet findeling af organisk materiale, og vedligeholdelse af jordstruktur og dræningskapacitet med deres gravegange. Regnorme er generelt sårbare over for jordforurening, da de er i direkte kontakt med jorden og passerer det gennem deres fordøjelsessystem. *Aporrectodea caliginosa* er en hjemmehørende regnorm i Danmark, som findes talrigt på CRUCIAL-forsøgsmarken. Vi har udført et forsøg hvor vi i laboratoriet målte *Aporrectodea caliginosa*'s overlevelse og fitness, i form af kropsvolumen, kokonproduktion (reproduktion) og nedgravningstid, ved eksponering til 7 forskellige udvalgte CRUCIAL-behandlinger (ugødet, NPK, kvægmøg, spildevandsslam, spildevandsslam accelereret, komposteret organisk husholdningsaffald og komposteret husholdningsaffald accelereret) over 12 uger (Palmqvist et al., 2019). Derudover udførte vi et delforsøg hvor vi tilsatte store mængder mikroplast (1 g pr. kg jord), i form af polyethylenflager eller akrylfragmenter, til jord fra NPK-felterne på CRUCIAL, for at se om mikroplast-koncentrationer, som er meget højere end, hvad vi forventer at finde på en almindelig landbrugsjord, ville påvirke *Aporrectodea caliginosa* overlevelse og fitness (Palmqvist et al., 2019) (figur 2).

Til sammenligning ligger indholdet af mikroplast i intervallet ca. 0,00001-0,001% i de landbrugsjorde der indtil videre er målt mikroplast på (Büks & Kaupenjohann (2020); en høj værdi på 0,09% blev

desuden målt i jord ved en tætbefærdet vej ved Køln i Tyskland, og en ekstremt høj værdi på 0,24% blev målt i et industriområde i Sydney, Australien).



**Figur 2.** Resultater fra et laboratorieforsøg hvor regnormen *Aporectodea caliginosa* er blevet eksponeret for jord fra forskellige CRUCIAL-behandlinger (venstre) eller NPK-gødet jord tilsat mikroplastik (højre). Vi målte regnormenes fitness ved parametrene kropsvolumen, nedgravningstid og produktion af levedygtige kokoner. Punkterne er middelværdien af 4 replikater, og fejllinierne viser standard error. Vi fandt positive effekter af Komposteret husholdningsaffald og Spildevandsslam på regnormens fitness, og en negativ effekt af behandlingen uden tilført gødning. Vi fandt ingen effekter af tilsat mikroplast.

Vi fandt ingen forskel i overlevelse af ormene mellem de forskellige behandlinger i forsøget. Vi fandt effekter på regnormenes fitness ved screeningen af CRUCIAL-jordene, men ikke i form af en negativ effekt af Spildevandsslam- eller Komposteret husholdningsaffald-behandlingerne. I de tilfælde, hvor

der var statistisk signifikante forskelle mellem behandlingerne, var det enten fordi behandlingerne med hhv. spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald havde en positiv effekt på ormenes fitness, eller fordi behandlingen uden tilført gødning havde en negativ effekt på ormenes fitness, eksempelvis på parameteren nedgravningstid. Vi fandt heller ingen signifikante effekter på ormenes fitness som følge af mikroplast tilsætningen.

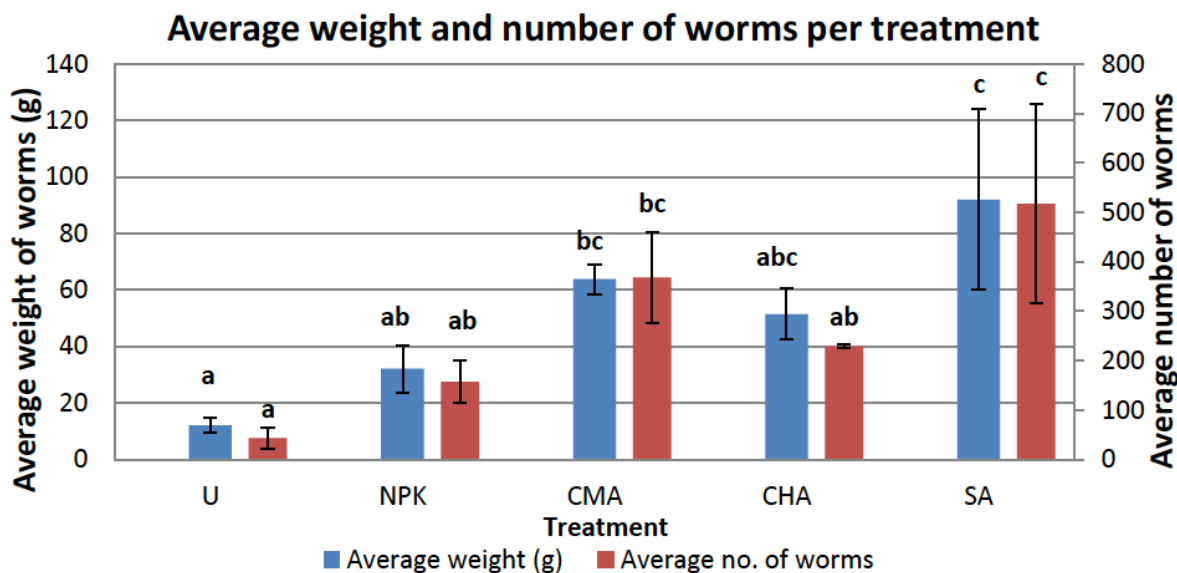
I et tilsvarende forsøg (Karling, 2018) med kompostormen, *Eisenia veneta*, fandt vi ligeledes ingen negative effekter af CRUCIAL-jord gødet med spildevandsslam eller komposteret husholdningsaffald sammenlignet med jord gødet med kvægmøg eller NPK, og heller ingen negative effekter af tilsat mikroplast i form af 0,1 % polyethylene terephthalate (PET) fibre fra flecestof. Ved et tredje eksperiment med jord fra CRUCIAL-feltforsøget, et såkaldt undvigeforsøg, hvor orme får mulighed for at vælge mellem to eller tre forskellige jordtyper, viste kompostorm (*Eisenia veneta*) sig at være i stand til at opfatte tilstedeværelsen af mikroplast, og når alle andre parametre var de samme i de jorde ormene blev tilbudt, valgte de jord uden mikroplast. Det samme forsøg viste dog også at *Aporrectodea caliginosa*, foretrak jord gødet med hhv. spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald frem for jord gødet med kvægmøg, hvilket vi antager hænger sammen med tilgængeligheden af ormeføde (det organiske materiale) i de forskellige behandlinger. Undvige-forsøgene indikerer således at tilgængelighed af velegnet føde driver ormenes valg i højere grad end tilstedeværelsen af mikroplast.

I en analyse af regnormesamfundet på CRUCIAL undersøgte Karling (2018) desuden antal og biomasse af orme i 5 forskellige behandlinger på CRUCIAL-marken (ugødet, NPK, accelereret kvægmøg, accelereret slam og accelereret komposteret husholdningsaffald). Undersøgelsen viste at der var signifikant flere orme, både på antal og vægtbasis, i de plot som havde modtaget spildevandsslam i accelereret niveau, sammenlignet med ugødet, NPK-gødet og jord gødet med komposteret husholdningsaffald. Det var desuden en tendens til flere orme samt større orme-biomasse i plot med både kvægmøg og husholdningsaffald sammenlignet med NPK-gødet jord (figur 3).

Fra de samlede forsøg med CRUCIAL-jord samt feltforsøget konkluderer vi at 20 års tilførsel, svarende til mere end 100 års lovlig tilførsel, af komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam ikke har en negativ effekt på *Aporrectodea caliginosa* eller *Eisenia veneta* fitness, i visse tilfælde har det endda haft en positiv effekt. Vi fandt endvidere ingen signifikant negativ effekt af mikroplast-tilsætning i højere end miljørealistiske koncentrationer på *Aporrectodea caliginosa* eller *Eisenia veneta*'s fitness. Ormene er dog tilsyneladende i stand til at opfatte tilstedeværelse af mikroplast og vi vil ikke udelukke at det er muligt at fremprovokere en effekt ved endnu højere mikroplast-



tilsætninger. Endvidere indikerer observationerne af regneorme-samfund på CRUCIAL-marken, at tilsætning af komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam har ingen eller positiv effekt på antal og samlet biomasse af regnorme i jorden.



**Figur 3.** Gennemsnitlig antal (røde søjler) og gennemsnitlig vægt (blå søjler) af regnorme på CRUCIAL-felter behandlet med U-ugødet, NPK-kunstgødning, CMA-kvægmøg, CHA-komposteret husholdningsaffald accelereret og SA-slam accelereret. Hver søjle repræsenterer et gennemsnit af tre felter og fejllinjerne er standardafvigelser. Værdierne for de to parametre er sammenlignet med ANOVA og Tukey HSD test, hvor bogstaverne indikerer signifikante forskelle i behandlingerne (Karling, 2018).

### Biologisk kvælstoffiksering med *Rhizobium* bakterier

Kvælstoffiksering, udført i forbindelse med symbiosen mellem bælgplanter og bakterier af slægten *Rhizobium*, er en proces som der tidligere har været målt store effekter på, særligt i forbindelse med udbringning af spildevandsslam (Giller et al., 1989). Potentialet for biologisk kvælstoffiksering må derfor anses som værende et vigtigt mål for jordfertilitet i forbindelse med udbringning af alternative gødningsformer.

I et igangværende forsøg vil vi måle potentialet for biologisk kvælstoffiksering i CRUCIAL-jorderne behandlet med kompost og spildevandsslam. Forsøget er et pottforsøg med ærter, som udføres i drivhus. Vækstmediet inokuleres med jord fra CRUCIAL-marken. Vi anvender CRUCIAL-

behandlingerne kompost, kompost accelereret, spildevandsslam og spildevandsslam accelereret, samt behandlingerne kvægmøg og NPK som positiv kontrol og en steriliseret kvægmøg-behandling som negativ kontrol. Ærterne dyrkes i 5 uger, hvor de udelukkende bliver gødet med kvælstoffri gødning. Derved vil vi kunne se på plantevæksten om de har været i stand til selv at skaffe kvælstof. Vores foreløbige resultater viser at man kan måle fraværet af kvælstoffikserende bakterier i den steriliserede behandling, hvilket viser at vores metode til at måle potentiel nedsat kvælstoffiksering hos ærteplanterne fungerer. Der var i et pilotforsøg ingen forskel mellem de positive kontroller og kompost/spildevandsslam behandlingerne, hvilket tyder på at alle jorderne havde potentialet til at forsyne ærteplanterne med kvælstoffikserende bakterier, såfremt det var nødvendigt.

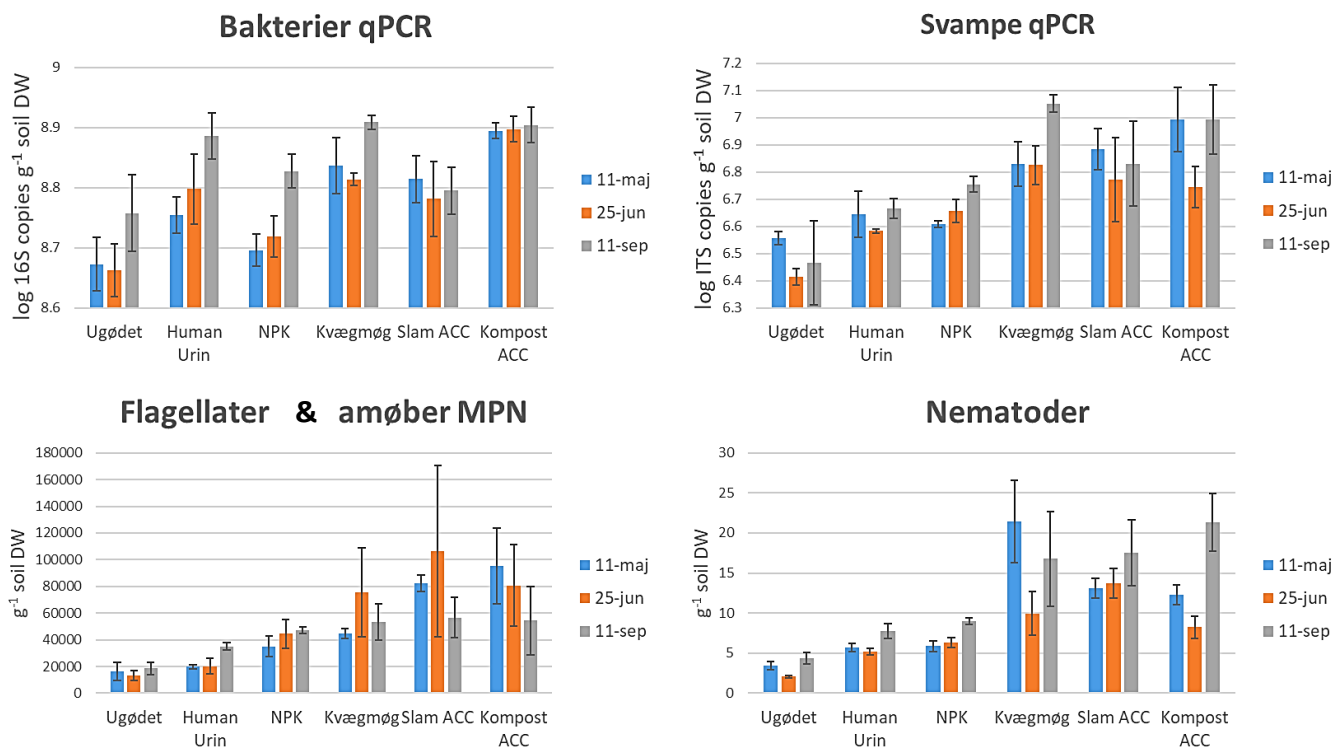
### **Jordens fødenet og nedbrydersamfund**

Nedbrydersamfundet er en fællesbetegnelse for det overvældende antal og arter af nedbryderorganismer der findes i jorden, hvor de primære organisme grupper er bakterier og svampe samt græssere på disse. Nedbrydersamfundets primære funktion er at omdanne organisk materiale og derved frigive plantetilgængelige næringsstoffer. Som tidligere beskrevet kan der være effekter af eksempelvis mikroplast på flere organisme grupper i fødenettet, vurderet ud fra laboratorieforsøg på specifikke arter. På CRUCIAL-feltforsøget er hensigten dog at have en mere overordnet tilgang, idet der kan være forskel på artssammensætningen inden for hver gruppe som ikke skyldes negative effekter af enkelte eller den samlede cocktail af forureningsstoffer, men derimod andre forskelle i gødningerne – mest iøjnefaldende er nok mængden og typen af organisk materiale.

Vi undersøgte i 2020 bestandene af en række organismer fra jordens fødenet i CRUCIAL-felterne (figur 4).

Vi gjorde det med tilgangen at lede efter afvigende mønstre som følge af langvarig tilførsel af spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald. Vi målte den samlede bestand af bakterier og svampe ved den molekylære qPCR-metode, protozoer (amøber og flagellater) ved MPN-metoden (most probable number) og nematoder ved direkte tælling. Vi fandt at bestandene af de forskellige organismer var højere i felter som har fået tilført store mængder af organisk materiale, dvs. kvægmøg, komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam sammenlignet med ugødede felter og felter tilført uorganisk gødning (urin og NPK). Vi fandt ingen effekter der kunne tyde på at der skulle være negative virkninger fra eventuelle fremmedstoffer i komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam. Vi konkluderer derfor, at vi ikke har fundet negative effekter af komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam på de målte organismegrupper, men at undersøgelsen er en

overordnet screening af fødenettet og dermed ikke udelukker at der kan være effekter på enkelte slægter eller arter inden for grupperne.



**Figur 4.** Bestande af forskellige organismegrupper på marker gødet med forskellige produkter i 20 år, nogle i en mængde der svarer til over 100 år normal tilførsel (accelererede niveauer, ACC). Søjlerne angiver middelværdi  $\pm 1$  standard error. Vi ser en effekt af gødningernes indhold af organisk materiale, men der er ikke noget der antyder en negativ effekt af komposteret husholdningsaffald og spildevandsslam.

## Virningen af spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald på jordens sundhed.

Samlet set står det klart at tilførslen af spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald i CRUCIAL-forsøget i doser svarende til mere end 100 års lovlig tilførsel har fremmet jordens sundhed sammenlignet med ugødet og NPK gødet jord. Tætheden af mikroorganismer og dyr samt planter trivsel i jord tilført spildevandsslam og komposteret husholdningsaffald er sammenlignelige med niveauerne i jord tilført en traditionel organisk gødningstype (kvægmøg). Produkterne har i lighed med kvægmøg bidraget til et højere indhold af organisk stof i jorderne (Lopez-Rayó et al., 2016), og

fungeret som næring for planter og jordbundsfauna, samtidigt med at der ikke er fundet indikationer på utilsigtede virkninger af en cocktail af uønskede stoffer, herunder mikroplast, tungmetaller og organiske fremmedstoffer. Vi ved, at der i jord sker en stærk fastlæggelse af organiske fremmedstoffer og metaller, og at metaller bliver mere biologisk utilgængelige med tiden (ældning). Fremtidig forskning må vise, hvordan mikroplast påvirkes over tid, i hvilket omfang der sker yderligere fragmentering, forvitring eller nedbrydning i det terrestriske miljø, og hvordan dette eventuelt påvirker biotilgængelighed og potentielle effekter af plasten på jordbundens organismer.

## Perspektiver og anbefalinger

Viden om forurening af mikroplast i jord og forureningens effekter er stadig i stort omfang ubeskrevet, og fokus på området er også relativt nyt set i lyset af hvor lang tid det tager at få et klart billede af tilstandene forskningsmæssigt. At få afdækket hele emnet er en stor opgave, når man tænker på mængden af forskellige variabler der kan påvirke partiklernes opførsel og effekt i miljøet – herunder bl.a. typen af mikroplast, størrelse og form af mikroplast, vekselvirkende stoffer, typen af jord, samt sammensætningen af organismer.

Et stort skridt på vejen vil være at få dannet et mere nuanceret billede af mikroplast-forureningens omfang. Det er vigtig information at have for at kunne sammenligne resultater fra laboratorieforsøg og vurdere om de koncentrationer der evt. giver en effekt på jordlevende organismer, er inden for den samme størrelsesorden som de koncentrationer der kan findes i miljøet. For at kunne vurdere om mikroplast i organiske ressourcer, f.eks. spildevandsslam og organisk husholdningsaffald, udgør en risiko ved almindelig anvendelse som gødning på landbrugsjord, er det endvidere centralt at undersøge, hvor stor en andel af den plast, som findes i jorden, der potentielt stammer fra gødningsprodukter sammenlignet med andre kilder til plastforurening (f.eks. landbrugsplast til overdækning af afgrøder, henkastning af affald, anvendelse af landbrugsmaskiner på marken, evt. beliggenhed tæt på større veje mv.). Det er desuden nødvendigt at undersøge potentialet for nedbrydning af plastmaterialer i terrestriske miljøer. Eksempelvis kan forsøg, hvor koncentrationen i både gødningsprodukter og den modtagende jord måles med sammenlignelige metoder bidrage til at forstå hvad der sker med mikroplasten når den ender på landbrugsjord. Der findes flere metoder til at måle mikroplast-koncentrationen i gødningsprodukter og jord som ikke altid er sammenlignelige. Det vil derfor være gavnligt hvis man fremadrettet i højere grad bruger sammenlignelige metoder på tværs af studier, gerne en metode som inkluderer både antal partikler og deres størrelse samt en total koncentration af mikroplast.

I langt de fleste tilfælde er effekter af mikroplast på organismer målt i relativt simple systemer i laboratoriet, det gælder både for effekter af mikroplast alene og vekselvirkninger med andre stoffer. På et tidspunkt er det naturligt at se om disse effekter også er til stede i naturlige miljøer ved brug af feltstudier eller terrestriske model-økosystemer. Her vil systematiske lang-tids forsøg være af stor værdi. Det vil skabe et mere realistisk billede af, hvad vi kan forvente i forbindelse med mikroplast-forurening, men det er naturligvis også langt mere komplekse systemer at måle på.

## Referencer

- Bläsing, M., Amelung, W., 2018. Plastics in soil: Analytical methods and possible sources. *Science of the total environment* 612, 422-435. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.086>
- Braun, M., Mail, M., Heyse, R., Amelung, W., 2021. Plastic in compost: Prevalence and potential input into agricultural and horticultural soils. *Science of the total environment* 760, 143335. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143335>
- Büks, F., Kaupenjohann, M., 2020. Global concentrations of microplastics in soils—a review. *Soil* 6, 649-662.
- Chae, Y., An, Y.-J., 2020. Nanoplastic ingestion induces behavioral disorders in terrestrial snails: trophic transfer effects via vascular plants. *Environmental Science: Nano* 7, 975-983. <https://doi.org/10.1039/C9EN01335K>
- Chand, R., Rasmussen, L.A., Tumlin, S., Vollertsen, J., 2021. The occurrence and fate of microplastics in a mesophilic anaerobic digester receiving sewage sludge, grease, and fatty slurries. *Science of the total environment* 798, 149287. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149287>
- Corradini, F., Meza, P., Eguiluz, R., Casado, F., Huerta-Lwanga, E., Geissen, V., 2019. Evidence of microplastic accumulation in agricultural soils from sewage sludge disposal. *Science of the total environment* 671, 411-420. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.368>
- de Souza Machado, A.A., Lau, C.W., Kloas, W., Bergmann, J., Bachelier, J.B., Faltin, E., Becker, R., Görlich, A.S., Rillig, M.C., 2019. Microplastics can change soil properties and affect plant performance. *Environmental science & technology* 53, 6044-6052. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01339>
- Dioses-Salinas, D.C., Pizarro-Ortega, C.I., De-la-Torre, G.E., 2020. A methodological approach of the current literature on microplastic contamination in terrestrial environments: Current knowledge and baseline considerations. *Science of the total environment* 730, 139164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139164>
- Fei, Y., Huang, S., Zhang, H., Tong, Y., Wen, D., Xia, X., Wang, H., Luo, Y., Barceló, D., 2020. Response of soil enzyme activities and bacterial communities to the accumulation of microplastics in an acid cropped soil. *Science of the total environment* 707, 135634. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135634>
- Fueser, H., Mueller, M.-T., Weiss, L., Höss, S., Traunspurger, W., 2019. Ingestion of microplastics by nematodes depends on feeding strategy and buccal cavity size. *Environmental pollution* 255, 113227. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113227>
- Gao, B., Yao, H., Li, Y., Zhu, Y., 2021. Microplastic addition alters the microbial community structure and stimulates soil carbon dioxide emissions in vegetable-growing soil. *Environmental toxicology and chemistry* 40, 352-365. <https://doi.org/10.1002/etc.4916>
- Gatidou, G., Arvaniti, O.S., Stasinakis, A.S., 2019. Review on the occurrence and fate of microplastics in Sewage Treatment Plants. *Journal of hazardous materials* 367, 504-512. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.081>
- Giller, K., McGrath, S., Hirsch, P., 1989. Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective Rhizobium. *Soil Biology and Biochemistry* 21, 841-848. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(89\)90179-X](https://doi.org/10.1016/0038-0717(89)90179-X)
- Gravert, T.K.O., Vuaille, J., Magid, J., Hansen, M., 2021. Non-target analysis of organic waste amended agricultural soils: Characterization of added organic pollution. *Chemosphere* 280, 130582. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130582>
- Hernandez, E., Nowack, B., Mitrano, D.M., 2017. Polyester textiles as a source of microplastics from households: a mechanistic study to understand microfiber release during washing. *Environmental science & technology* 51, 7036-7046. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01750>

Hodson, M.E., Duffus-Hodson, C.A., Clark, A., Prendergast-Miller, M.T., Thorpe, K.L., 2017. Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates. *Environmental science & technology* 51, 4714-4721. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00635>

Jiang, X., Chang, Y., Zhang, T., Qiao, Y., Klobučar, G., Li, M., 2020. Toxicological effects of polystyrene microplastics on earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental pollution* 259, 113896. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113896>

Karling, N.D., 2018. Investigating the effects of different fertilizing treatments on earthworms. Roskilde University.

Larsen, I.A., 2017. Mikroplastiks forekomst, fordeling og skæbne i et renseanlæg. Roskilde University.

Lenz, R., Enders, K., Nielsen, T.G., 2016. Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, E4121-E4122. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606615113>

Ljung, E., Olesen, K.B., Andersson, P.-G., Fältström, E., Vollertsen, J., Wittgren, H.B., Hagman, M., 2018. Mikroplaster i kretsloppet. *Svenskt Vatten Utveckling Rapport* 13.

Lopez-Rayó, S., Laursen, K.H., Lefkfeldt, J.D., Delle Grazie, F., Magid, J., 2016. Long-term amendment of urban and animal wastes equivalent to more than 100 years of application had minimal effect on plant uptake of potentially toxic elements. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 231, 44-53. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2016.06.019>

Magid, J., Pedersen, K.E., Hansen, M., Cedergreen, N., Brandt, K.K., 2020. Comparative assessment of the risks associated with use of manure and sewage sludge in Danish agriculture. *Advances in Agronomy* 164, 289-334. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.06.006>

Magnusson, K., Norén, F., 2014. Screening of microplastic particles in and down-stream a wastewater treatment plant.

McGrath, S.P., Chaudri, A.M., Giller, K.E., 1995. Long-term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. *Journal of industrial microbiology* 14, 94-104. <https://doi.org/10.1007/BF01569890>

Meng, F., Yang, X., Riksen, M., Xu, M., Geissen, V., 2021. Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth to soil contaminated with microplastics. *Science of the total environment* 755, 142516. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142516>

Mintenig, S., Int-Veen, I., Löder, M.G., Primpke, S., Gerdts, G., 2017. Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging. *Water research* 108, 365-372.

Mouneyrac, C., Lagarde, F., Chatel, A., Khan, F., Syberg, K., Palmqvist, A., 2017. The role of laboratory experiments in the validation of field data, Characterization and Analysis of Microplastics. Elsevier, pp. 241-273.

Möller, J.N., Löder, M.G., Laforsch, C., 2020. Finding microplastics in soils: a review of analytical methods. *Environmental science & technology* 54, 2078-2090. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b04618>

Ng, E.-L., Lwanga, E.H., Eldridge, S.M., Johnston, P., Hu, H.-W., Geissen, V., Chen, D., 2018. An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems. *Science of the total environment* 627, 1377-1388. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.341>

Ng, E.L., Lin, S.Y., Dungan, A.M., Colwell, J.M., Ede, S., Lwanga, E.H., Meng, K., Geissen, V., Blackall, L.L., Chen, D., 2021. Microplastic pollution alters forest soil microbiome. *Journal of hazardous materials* 409, 124606. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124606>

Palmqvist, A., Larsen, I.A., 2018. Milekomposterings påvirkning af indhold og type af mikroplast partikler i spildevandsslam.

Palmqvist, A., Sandgaard, M.H., Magid, J., 2019. Mikroplast i jord-Undersøgelse af langtidseffekter og undvigeadfærd hos den naturligt forekommende, endogæiske regnormart *Aporrectodea caliginosa*.

Panebianco, A., Nalbone, L., Giarratana, F., Ziino, G., 2019. First discoveries of microplastics in terrestrial snails. *Food Control* 106, 106722. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106722>

Patil, B., Wang, Q., Hessel, V., Lang, J., 2015. Plasma N<sub>2</sub>-fixation: 1900–2014. *Catalysis today* 256, 49-66. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2015.05.005>

Rillig, M.C., 2012. Microplastic in terrestrial ecosystems and the soil? ACS Publications.

Rillig, M.C., Lehmann, A., de Souza Machado, A.A., Yang, G., 2019. Microplastic effects on plants. *New Phytologist* 223, 1066-1070. <https://doi.org/10.1111/nph.15794>

Rong, L., Zhao, L., Zhao, L., Cheng, Z., Yao, Y., Yuan, C., Wang, L., Sun, H., 2021. LDPE microplastics affect soil microbial communities and nitrogen cycling. *Science of the total environment* 773, 145640. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145640>

Schür, C., Rist, S., Baun, A., Mayer, P., Hartmann, N.B., Wagner, M., 2019. When fluorescence is not a particle: the tissue translocation of microplastics in *Daphnia magna* seems an artifact. *Environmental toxicology and chemistry* 38, 1495-1503. <https://doi.org/10.1002/etc.4436>

Simon, M., van Alst, N., Vollertsen, J., 2018. Quantification of microplastic mass and removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water research* 142, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.019>

Smith, S.R., 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. *Environment international* 35, 142-156. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.06.009>

Tang, Y., Liu, Y., Chen, Y., Zhang, W., Zhao, J., He, S., Yang, C., Zhang, T., Tang, C., Zhang, C., 2021. A review: Research progress on microplastic pollutants in aquatic environments. *Science of the total environment* 766, 142572. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142572>

Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbins, J., Janssen, C.R., 2015. Microplastics in sediments: a review of techniques, occurrence and effects. *Marine environmental research* 111, 5-17. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.007>

Verla, A.W., Enyoh, C.E., Verla, E.N., Nwarnorh, K.O., 2019. Microplastic–toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. *SN Applied Sciences* 1, 1-30. <https://doi.org/10.1007/s42452-019-1352-0>

Vestergaard, S.L., Brogaard, L.K.-S., Lindeneg, S., Sandgaard, M.H., Andersen, J.K., Palmqvist, A., 2019. Mikroplastforekomst i KOD biopulp.

Vollertsen, J., Hansen, A.A., 2017. Microplastic in Danish wastewater: Sources, occurrences and fate.

Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., Sun, Y., 2020. Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil. *Chemosphere* 254, 126791. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126791>

Wang, J., Coffin, S., Sun, C., Schlenk, D., Gan, J., 2019. Negligible effects of microplastics on animal fitness and HOC bioaccumulation in earthworm *Eisenia fetida* in soil. *Environmental pollution* 249, 776-784. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.102>

Wang, Q., Adams, C.A., Wang, F., Sun, Y., Zhang, S., 2021. Interactions between microplastics and soil fauna: A critical review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 1-33. <https://doi.org/10.1080/10643389.2021.1915035>

Weithmann, N., Möller, J.N., Löder, M.G., Piehl, S., Laforsch, C., Freitag, R., 2018. Organic fertilizer as a vehicle for the entry of microplastic into the environment. *Science advances* 4, eaap8060. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aap8060>

Wright, S.L., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environmental pollution* 178, 483-492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>

Xu, G., Liu, Y., Yu, Y., 2021. Effects of polystyrene microplastics on uptake and toxicity of phenanthrene in soybean. *Science of the total environment* 783, 147016. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147016>

Yan, Y., Chen, Z., Zhu, F., Zhu, C., Wang, C., Gu, C., 2021. Effect of polyvinyl chloride microplastics on bacterial community and nutrient status in two agricultural soils. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 107, 602-609. <https://doi.org/10.1007/s00128-020-02900-2>

Yang, X., Bento, C.P., Chen, H., Zhang, H., Xue, S., Lwanga, E.H., Zomer, P., Ritsema, C.J., Geissen, V., 2018. Influence of microplastic addition on glyphosate decay and soil microbial activities in Chinese loess soil. *Environmental pollution* 242, 338-347. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.07.006>

Zong, X., Zhang, J., Zhu, J., Zhang, L., Jiang, L., Yin, Y., Guo, H., 2021. Effects of polystyrene microplastic on uptake and toxicity of copper and cadmium in hydroponic wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 217, 112217. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112217>