

Szennyezett talajok kockázatának jellemzése: esettanulmányok az interaktív biológiai és ökotoxikológiai módszerek integrált alkalmazására

DR. GRUIZ KATALIN

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki Kar, Mezőgazdasági Kémiai Technológia Tanszék, 1111 Budapest, Szt. Gellért tér 4.

Cél

A TalajTesztelőTriád, illetve a helyszínspecifikus környezeti kockázat felméréséhez szükséges integrált metodika alkalmazási területeinek bemutatása, konkrét alkalmazásokon keresztül.

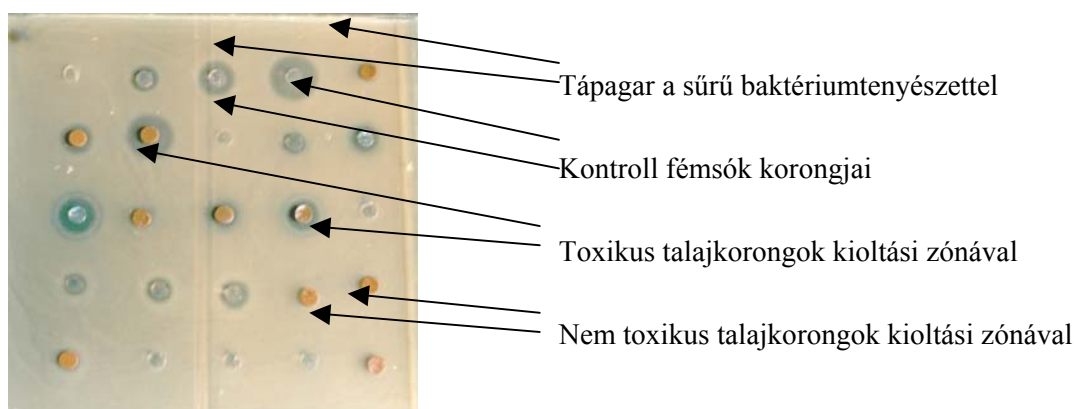
1. Szennyezett terület szennyezettségi térképének felvétele

A bemutatandó példa helyszíne a Toka-patak völgye, egy korábbi, ma már nem működő ólom-cink bánya, környezetvédelmi tanulmányaink állandó modellterülete, mára már részletesen felmért szennyezettségű és kockázatos terület (Gruiz, 2000; Gruiz, 2003). 1989-ben, amikor vizsgálódásainkat megindítottuk ezen a területen még semmilyen információ nem állt rendelkezésre a szennyezettségről, annak mértékéről, eloszlásáról, forrásairól, a transzport útvonalokról, sőt a szennyezettség tényét a szennyezést okozó bánya meg is kérdőjelezte.

Mivel anyagi eszközök nem álltak a rendelkezésünkre egy nyári hallgatói gyakorlat jelentette a mintavételi kampányt, a screenelő metodikát pedig saját mikrobiológiai laboratóriumunkban kifejlesztett és végzett ökotoxikológiai eljárás.

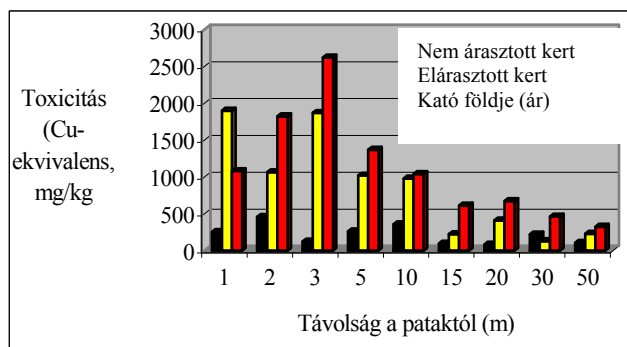
Az első durva felmérést a 15 x 1 km-es területen egy erre a célra kidolgozott ökotoxikológiai teszt segítségével végeztük el, egy e célra szelektált talajbaktérium, egy *Bacillus subtilis* segítségével. Ez a baktérium közepes érzékenységet mutatott a Toka-patak völgyében található fémkeverékre, emiatt alkalmasnak látszott a kockázatos és a még elviselhető kockázatot mutató talaj- és üledékminták elkülönítésére.

A *Bacillus subtilis* teszt végpontja tulajdonképpen a növekedés, tehát egy növekedésgátlási tesztet fejlesztettünk ki, egy olyan megoldásban, ahol biztosítottuk a tesztorganizmus és a talaj közvetlen érintkezését, hogy ne csak a talaj és a benne lévő szennyezőanyag hathasson a tesztorganizmusra, hanem fordítva is, a tesztorganizmus hatása is megmutatkozhasson, hiszen a talajban élő élőlények sohasem passzív élvezői vagy tőrői a talajfolyamatoknak, hanem aktív részesei annak. A metodika lényege, hogy a baktériumokat tápagarban növesztjük, sűrű szuszpenzióban, majd a tápagar felületére agarral zselésített talajkorongokat helyezünk. A talajtartalmú agarkorong és a tápagar között a diffúzióknak alig van gátja, tehát a baktérium és a szennyezett talaj szinte szabadon érintkezik (1. ábra)

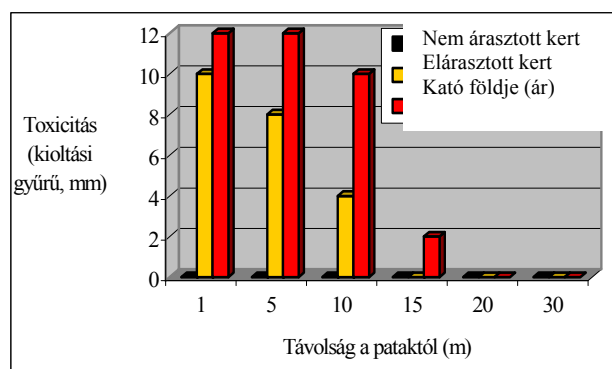


1. ábra: *Bacillus subtilis* korong-teszt

Ez az első toxicitás-térképezés, amely mintegy 500 minta vizsgálatát jelentette, segített az elsődleges szennyezőforrások azonosításában, a terjedési útvonalak feltérképezésében, a másodlagos és diffúz szennyezőforrások azonosításában, a szennyeződés eloszlásának és kiterjedésének megállapításában (Gruiz és Vodicska, 1992). Később a kémiai analízis tökéletesen bizonyította az ökotoxikológiai előszűrés helyességét: a 69 toxikusnak talált talaj- és üledékminta mindegyike határérték feletti (3–4 x határérték) fémtartalmat mutatott gyakran több fémből is (Gruiz, 1994). Ennek ellentéte viszont nem igazolódott: néhány minta nem mutatott toxicitást, annak ellenére, hogy nagy volt a fémtartalmuk. Ezekről később bebizonyosodott, hogy a többitől eltérő eredetű, friss ércszerű kőzetből származtak, melyek immobilis, biológiailag hozzáférhetetlen formában tartalmazzák a fémeket.



2. ábra: Elárasztott és el nem árasztott kertek talajának toxicitása *Bacillus subtilis* talajkorong módszerrel mérve



3. ábra: Elárasztott és el nem árasztott kertek talajának toxicitása *Vibrio fischeri* lumineszcencia gátlási teszttel mérve

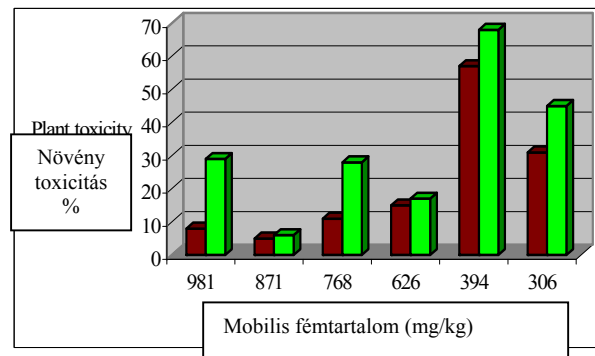
Ezen eredmények alapján a legkockázatosabb transzport útvonalat, az áradás útján a talajra hordott üledék talajba keveredését sikerült azonosítanunk a területen. A szennyezettségben egyértelmű gradienst mértünk a patakra merőlegesen, csökkenést a pataktól távolodva. A két tesztípus teljesen azonos trendet mutat.

Finomítva a felmérést a patakhöz közeli szakaszban az üledék kora, vagyis a talajra kerülés ideje, a talajban megindult mállási folyamatok előrehaladottsága is szerepet játszik.

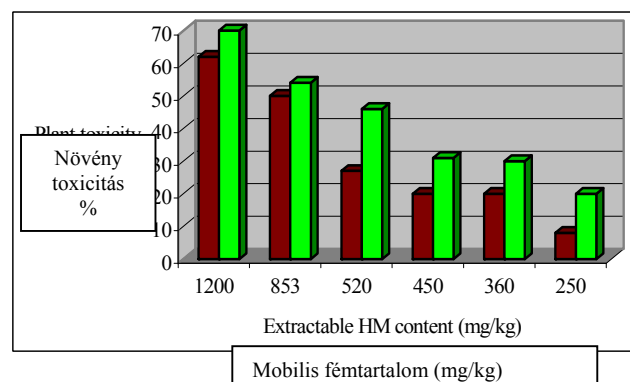
1.4.2. A biológiai hozzáférhetőség

A **biológiai hozzáférhetőség** alapvető fontosságú a hatások szempontjából. A Toka-patak és a rajta lévő víztározók gyakran nem mutattak toxicitást, pedig ugyanezek az üledékek okozták a patakparti kiskertek elviselhetetlenül nagy toxicitásértékeit és a kémiai analízisük is nagy koncentrációkat mutatott.

Korrelációt kerestünk a toxicitás és az egyes kémiai analitikai eredmények között. A királyvizes feltárás után mért fémtartalom ritkán korrelált a toxicitással. Jobb volt a helyzet a acetát-pufferes extraktum esetében, de ennél is csak akkor volt korreláció, ha azonos szennyezőanyaggal, azonos idő óta és homogénen szennyezett mintákat vizsgáltunk és hasonlítottunk össze. A következő két ábra két különböző esetet szemléltet az elsón a növényi toxicitás korrelál a mobilis fémtartalommal, a másodikon nem. Az első ábrán ábrázolt talajminták egy homogénen szennyezett területről, a másodikon egy heterogén szennyezettséget tartalmazó területről származnak. Utóbbinál morfológiailag is különböztek a szennyező üledéklerakódások: eltértek színben, szemcseméretben, a lerakódás korában, stb. Az ábrán szemléltetett extrahálható fémtartalom az As, Cu, Cd, Hg, Pb és Zn összege.



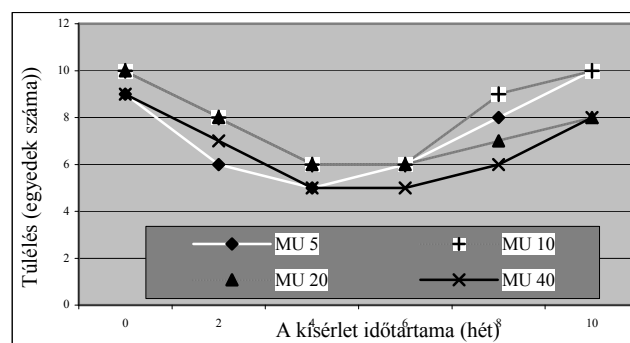
4. ábra: A növényi toxicitás nem arányos a mobilis fémtartalommal (fehér oszlop: gyökér, fekete oszlop: hajtás)



5. ábra: A növényi toxicitás arányos a mobilis fémtartalommal (fehér oszlop: gyökér, fekete oszlop: hajtás)

1.4.3. A fémtartalom-mobilizálódás szennyezést modellező mikrokozmosz tesztben

Egy mikrokozmosz tesztben végzett feltáródási kísérlet egyik eredményét mutatja a 6. ábra.. A kertek elárasztását modellező mesterséges szennyezés után a szennyezőanyagban (nehézfém-tartalmú üledék) fellépő mállás eredményeképpen megnő a fémek mobilitása és ezáltal a talaj toxicitása (6. ábra). Később beáll egy új egyensúlyi állapot, amely a 6. ábrán szemléltetett esetben csökkent toxicitást és mobilitást jelent, de előfordulhat olyan eset is, ahol a talaj nem képes kompenzálni a fellépő káros hatásokat és emiatt az úgy egyensúly be sem áll vagy eltolódik. Az ábrából az is látszik, hogy a legkisebb mennyiségű (5%) szennyezőanyagból mobilizálódik leggyorsabban a toxikus anyag, amely a hígulás veszélyességére hívja fel a figyelmet.



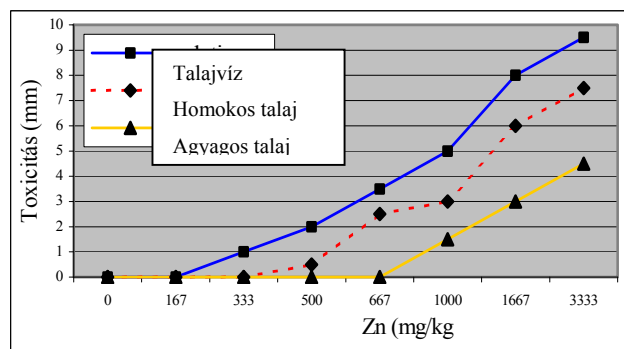
6. ábra *Eisenia foetida* túlélése az áradással szennyezett talajt modellező mikrokozmoszban

A 7. ábra a földigiliszta túlélését mutatja 5, 10, 20 és 40 % mederüledékekkel szennyezett talajban. A kisebb koncentrációjú szennyezés esetében néhány hét alatt mobilizálódtak a toxikus fémek (mállás során feltáródás, kioldás), de utána másodlagos kémiai átalakulások eredményeképpen ismét stabilizálódott a helyzet. A nagyobb szennyezőanyag mennyiségek esetén a kezdeti mobilizálódás csökkent ugyan, de hosszútávon megmaradt a megnövekedett toxicitás érték (krónikus kockázatok). Más ökotoxikológiai tesztek és a kémiai vizsgálati eredmények is alátámasztották az ábrával szemléltetett jelenséget.

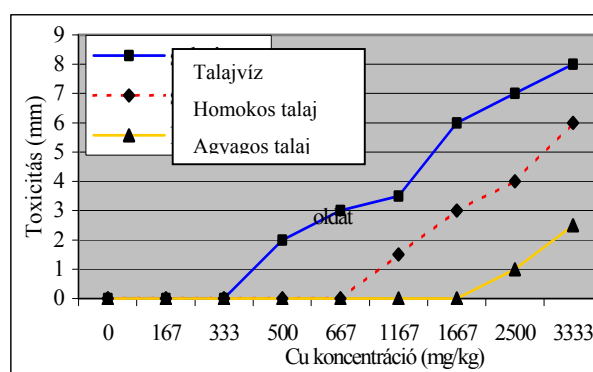
Szerencsére számíthatunk a talaj "toxicitást pufferoló" hatására, amely egészséges, élő talajok esetében működik. Ez a toxicitást csökkentő, kiegyenlítő hatás igen összetett, függ a talaj típusától, szerves és szervetlen építőelemeitől, a szennyezőanyagok hatástalanítására alkalmas.

1.4.4. A talaj toxicitást pufferoló hatása

A talaj toxicitást pufferoló hatását meghatározzák a talaj fizikai és kémiai jellemzői, pl. szemcseméreteloszlása és ásványi összetétele. A 8. és 9. ábrán bakteriális testorganizmus gátlását láthatjuk azonos fémkoncentrációjú talajvíz, homokos talaj és agyagos talaj esetében. Nem ionos szennyezőanyagok esetében még nagyobb különbség lehet a mobilis és kötött szennyezőanyagformák között.



8. ábra: *Pseudomonas fluorescens* növekedésgátlása azonos cinkkoncentrációjú talajvízben, homokos és agyagos talajban

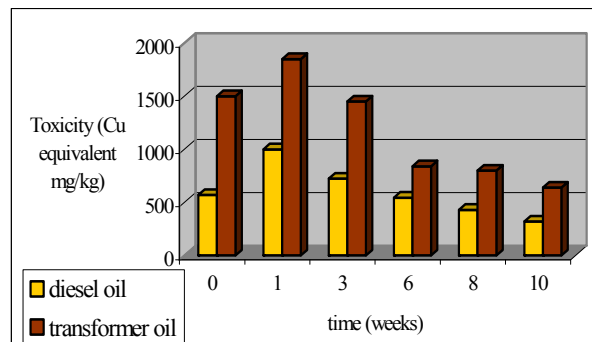


9. ábra: *Pseudomonas fluorescens* növekedésgátlása azonos rézkoncentrációjú talajvízben, homokos és agyagos talajban

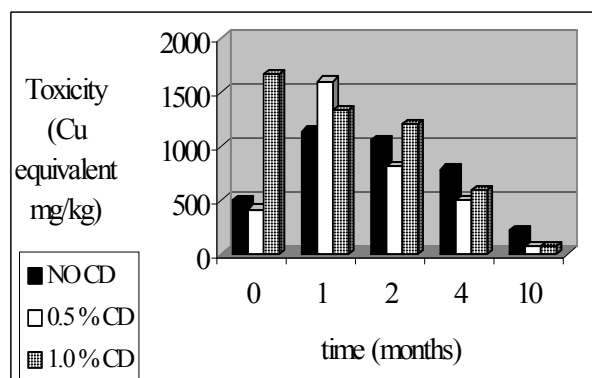
1.4.5. A bioremediáció monitoringja

A 10. ábra egy könnyen biodegradálható szennyezőanyag, a dizel-olaj és egy közepesen biodegradálható transzformátorolaj (PCB mentes) remediálása során mérhető toxicitás-változást mutatja. A toxicitás a *Vibrio fisheri* biolumineszcencia gátlási teszttel mértük.

A remediáció kezdetén, a biodegradáció előfeltételeként megnőtt a szennyezőanyag hozzáférhetősége, ezt mutatja a növekvő toxicitás. A bioremediáció során a toxicitás arányosan csökkent az idő előrehaladtával és a szennyezőanyag koncentrációjának csökkenésével. Keverék-szennyezőanyagoknál ez a hozzáférhetőség (és toxicitás) növekedés több lépcsőben szokott történni, mert az eltérő polaritású szennyezőanyagcsoportok biológiai mobilizálásához eltérő feltételek, újabb adaptációs periódus szükséges.



10. ábra: Toxicitásváltozás dizel-olajjal és transzformátorolajjal szennyezett talajok bioremediációja során, *Vibrio fisheri* biolumineszcencia gátlási teszttel mérve



11. ábra: Toxicitásváltozás kőszénkátrány-olajjal szennyezett talaj bioremediációja során, *Vibrio fisheri* biolumineszcencia gátlási teszttel mérve

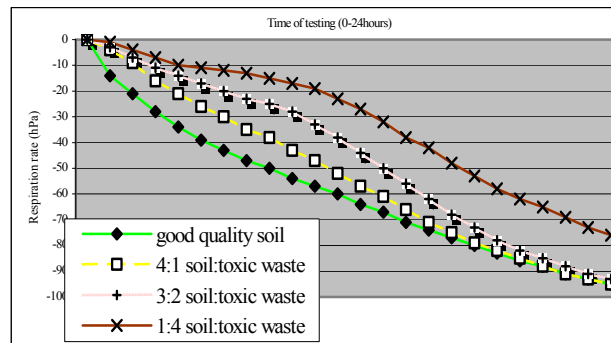
A kőszénkátrány-olaj biológiai hozzáférhetősége rossz. A remediációs kísérlet kiindulási során a 20 000 és 100 000 mg/kg szennyezőanyag-koncentráció a felére csökkent 10–15 hét alatt. A biológiai hozzáférhetőséggel arányos toxicitás a remediáció során 2–3-szoros értékre nőtt, főként a hozzáférhetőséget növelő adalék, a ciklodextrin alkalmazása esetén. A remediáció végére a toxicitás nagymértékben csökkent, annak ellenére, hogy a hexán-acetonos kivonatból mért extraktumtartalom még jelentős volt, a kiindulási fele. Ez azt jelenti, hogy a maradék szénhidrogén biológiailag hozzáférhetetlen állapotban van jelen.

1.4.6. A talajlégzés vizsgálata és az eredmények felhasználása

A talajlégzés vizsgálatának eredményei széles körben alkalmazhatóak. Mérhetjük a talaj légzését teljes talajban, komplett vagy szelektív tápközegekben. A légzés stimulálhatósága/növekedése és a légzés csökkenése/gátlása egyaránt informatív. Segítségével indikálhatjuk vagy kvantitatíve meghatározhatjuk a talaj szénhidrogénbontó aktivitását, annak változtatási, aktiválási lehetőségeit, a bontásra képes talajmikroflóra felxibilitását és adaptív viselkedését vagy a talaj toxicitását.

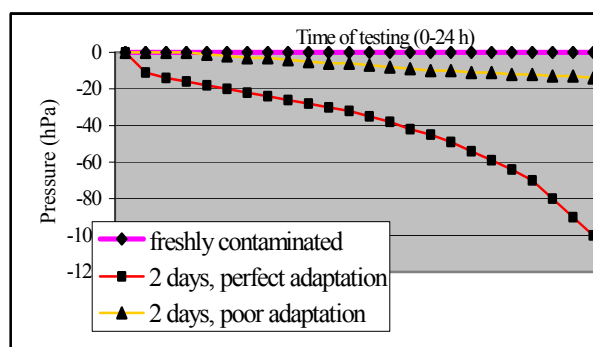
A szennyezett talaj mikroflórájának adaptálódását és a szennyezőanyag biodegradációját respirométerrel mérhetjük. A Sensomat készülék zárt palack elven működik, melyet félig töltünk talajjal, felette levegő helyezkedik el. A zárt rendszerben légzés hatására bekövetkező nyomáscsökkenést mérjük: az O_2 elfogy, a keletkező CO_2 -t elnyeljük. A nyomásérzékelő jelét egy infraport érzékeli és rögzíti, a mért értékeket szoftverrel értékeljük

A 12. ábra egy jó minőségű talaj tipikus légzési görbéit mutatja. A telítési görbe intenzív légzést mutat a zárt rendszerben. Ha ehhez különböző arányokban szennyezőanyagot adunk 4:1 és 3:2 arányban, akkor a légzés átmenetileg gátolt lesz, de a mikroflóra alkalmazkodóképességének köszönhetően a légzés egy idő után helyreáll és behozza a késést. De a ha szennyezőanyag túl nagy mennyiségű, pl. 1:4 arányú, akkor a lemaradás jelentős és a 24 órás végérték, az elfogyasztott oxigén mennyisége is kisebb.



12. ábra: Talajlégzési görbék toxikus szennyezőanyaggal és anélkül

A 13. ábra dizel-olaj és motorolaj keverékével frissen szennyezett talaj reakcióját mutatja.



13. ábra: Talajlégzés biodegradálható toxikus szennyezőanyag hatására

Közvetlenül a mesterséges szennyezés után a talaj légzése teljesen gátolt. Két nap adaptáció után a jó minőségű talaj flexibilis mikroflórája képes teljesen normális légzési görbét produkálni. A görbén még a többlet-szubsztrát (amit az szennyezőanyag jelent) még egy légzésnövekedés is megfigyelhető a 20. órától. Rossz minőségű talaj ilyen rövid idő alatt nem tudott a szennyezőanyaghoz adaptálódni, légzése lecsökkent.

Irodalmi hivatkozások

- Calow, P. (1993) Handbook of Ecotoxicology, Blackwell Science Ltd.
- DIN 38412 (1991) Photobacterium phosphoreum test, German Standard
- Dobler, R.; Burri, P.; Gruiz, K.; Brandl, H and Bachofen, R. (2001) Variability in Microbial Populations in Soil Highly Polluted with Heavy Metals on the Basis of Substrate Utilisation Pattern Analysis – Journal of Soils and Sediments, 1(3) 151–158
- Gruiz K; Horváth, B. and Molnár M. (2001) Environmental toxicology (in Hungarian), Műegyetemi Kiadó, Budapest
- Gruiz, K. (1994) Bioassay to assess contaminated soil, In: Proceedings of the Second International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe. Budapest, p. 231–233.
- Gruiz, K. (2000) When the chemical time bomb explodes? – Chronic risk of toxic metals at a former mining site – In: Proc. Of ConSoil 2000, Leipzig, Germany, pp. 662–670.
- Gruiz, K. (2002) Integrated methodology for assessment and monitoring of in situ bioremediation of soil, Project Report, OM BIO-00066
- Gruiz, K. and Vodicska, M.(1992) Assessing Heavy Metal Contamination in Soil Using a Bacterial Biotest – In: Soil Decontamination Using Biological Processes; In: Proc. of an International Symposium, Karlsruhe, 6–9. December 1992, pp. 848–855. Dechema, Frankfurt am Main
- Gruiz, K., Molnár, M., and Bagó, T. (1999) Interactive bioassay for environmental risk assessment – In: Proc. Of SECOTOX'99, Munich, March 15–17.
- Gruiz, K.; Molnár, M.; Szakács, T. and Bagó, T. (1998a) New biological and Ecotoxicological Methods to Support Risk Assessment and Soil Remediation – In: Contaminated Soil 98, pp. 1051–52, Thomas Telford, London
- Gruiz, K.; Murányi, A.; Molnár, M. and Horváth, B. (1998b) Risk Assessment of Heavy Metal Contamination in Danube Sediment – J. of Water Sci. and Technol. 37(6–7), 273–281.
- Horváth, B.; Gruiz, K. and Sára, B. (1996) Ecotoxicological Testing of Soil by Four Bacterial Biotests Toxicological and Environmental Chemistry 58, 223–235.
- Landis, W.G. and Yu, M.H. (1999) Introduction to Environmental Toxicology: impact of chemicals upon ecological systems, CRC Press LLC, New York, Boca Raton, Florida
- Molnár, M; Fenyvesi, É.; Gruiz, K.; Szécsényi-nagy, Z.; Horváth, B. and Szeitli, J. (2000) Application of cyclodextrins for enhancing bioremediation – In: Proc. Of ConSoil 2000, Leipzig, Germany, pp. 1246–1247.
- Riepert, F. and Kula, Ch. (1996) Development of Laboratory Methods for Testing effects of Chemicals and Pesticides on Collembola and Earthworms, Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Parey Buchverlag Berlin-Dahlem