

Európa itt épül



GVOP-3.1.1-2004-05-0257/3.0

## LOKKOCK

### HELYSPECIFIKUS KOCKÁZATFELMÉRÉST TÁMOGATÓ ÚJ TALAJVIZSGÁLATI MÓDSZEREK KIDOLGOZÁSA

#### RÉSZLETES SZAKMAI BESZÁMOLÓ

**II. Munkaszakasz: 2006.01.01–2006.12.31.**

Koordinátor szervezet:  
Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME)

- Konzorciumi tagok:
1. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem (BME)
  2. MTA Talajtani és Agrokémiai Kutatóintézet (TAKI)
  3. Cyclolab, Cyclodextrin Kutató-Fejlesztő Laboratórium Kft. (CYL)

**Projektvezető:  
Dr. Gruiz Katalin**

#### A második szakasz kutatásainak résztvevői

Dr. Gruiz Katalin  
Molnár Mónika

Dr. Murányi Attila  
Dr. Anton Attila

Dr. Fenyvesi Éva  
Dr. Sente Lajos

Bagi Andrea  
Feigl Viktória  
Kálmán Judit  
Leitgib Laura  
Tolner Mária  
Vaszita Emese  
KSZGYSZ  
BGT Hungaria

Oldal Bálint  
Mózes Zoltánné  
Uzinger Nikolett

Balogh Klára  
Csabai Péterné  
Dr. Iványi Róbert  
Dr. Kolbe Ilona  
Dr. Szemán Julianna



# Tartalom

<i>A II. munkaszakasz tervezett feladatai</i> .....	2
<i>A II. munkaszakaszban elért eredmények bemutatása</i> .....	3
<b>1. A kifejlesztett módszerek és alkalmazásuk</b> .....	<b>4</b>
1.1. Fizikai-kémiai módszerek fejlesztése és első alkalmazásuk _____	4
1.1.1. Szerves szennyezőanyag extrakciója talajból és gázkromatográfiás analízise _____	4
1.1.2. Oktanol-víz és talaj-víz megoszlási hányados meghatározása _____	5
K <sub>ow</sub> meghatározási módszerek és alkalmazásuk _____	5
K <sub>d</sub> meghatározási módszerek és alkalmazásuk _____	6
1.1.3. Szerves talajszennyező-anyagok biodegradálhatóságának kémiai modellezése _____	7
1.1.4. Szervetlen szennyezőanyagok fázisok közötti megoszlása és növény általi felvehetősége _____	8
Az oldott nehézfémek és a talaj nehézfém-tartalmának aránya _____	9
1.1.5. Összefüggések a talajoldat fémtartalma, a fém megoszlási hányadosa és a talajtulajdonságok között _____	10
1.1.6. Dinamikus talajoldat jellemzési módszer kidolgozása _____	11
1.2. Biológiai módszerfejlesztések és alkalmazások _____	13
1.2.1. Bioakkumulációs gyorseszteszt _____	13
1.2.2. Zárt palack teszt a talajlégzés mérésére és a biodegradáció jellemzésére _____	13
1.3. Környezettoxicológiai módszerfejlesztések és alkalmazások _____	15
1.3.1. <i>Panagrellus redivivus</i> direkt kontakt talaj-teszt kidolgozása és alkalmazása _____	15
1.3.2. Hőtermelés, mint végpont <i>Panagrellus redivivus</i> tesztorganizmussal _____	16
1.3.3. Biolumineszcencia-gátlási teszt továbbfejlesztése FLUOstar OPTIMA luminométerrel _____	16
<b>2. Új módszerek alkalmazása és integrálása módszeregyüttesekbe</b> .....	<b>17</b>
2.1. A talaj-szennyezőanyag-bióta jellemzői és kölcsönhatásai _____	18
2.1.1. Szerves szennyezőanyagok hozzáférhetősége biodegradációs mikrokozmoszban _____	18
2.1.2. Biológiai feltáró hatásokra bekövetkező kockázatnövekedés és modellezése _____	19
2.2. Eltérő kockázati scénáriók jellemzése _____	20
2.2.1. A „talaj mint élőhely” scénárió vizsgálata integrált metodikával _____	21
2.2.2. A „talajszennyezettség által veszélyeztetett talajvíz” scénárió integrált jellemzése _____	22
2.3. Remediációs technológia tervezését támogató tesztelések _____	23
2.4. Mikrokozmoszok alkalmazásai _____	25
<b>3. Modellterületek kiválasztása</b> .....	<b>25</b>
3.1. Szerves anyaggal szennyezett terület kiválasztása _____	25
3.2. Szervetlen anyaggal szennyezett terület kiválasztása _____	26

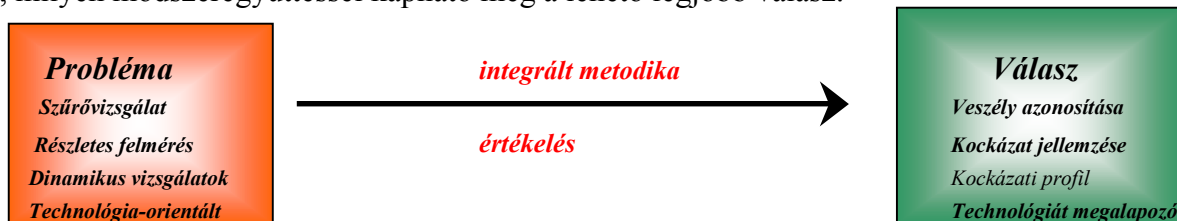
## A II. MUNKASZAKASZ TERVEZETT FELADATAI

<b>Munkaszakasz száma/megnevezése:</b>
<b>2. A kidolgozott módszerek alkalmazása</b>
A munkaszakasz kezdete és vége (év, hó, nap): 2006. 01. 01.–2006. 12. 31.
Munkaszakasz célkitűzése(i): 2.1. A kidolgozott módszerek alkalmazása laboratóriumi mikrokozmosz kísérletek követésére 2.2. A módszerek integrálása a már eddig is alkalmazott vizsgálati módszeregyüttesbe 2.3. Modellterületek kiválasztása a kockázat jellemzéséhez
Az elvégzendő feladatok/munka leírása: <b>2.1. Laboratóriumi mikrokozmosz kísérletek összeállítása, kivitelezése és követése:</b> <b>2.1.1. Biológiai, ökotoxikológiai tesztekkel:</b> a.) Toxikus fémekkel mesterségesen szennyezett talajokkal és nehézfémekkel szennyezett területekről származó talajokkal és a bioakkumuláció tanulmányozása b.) Szénhidrogénnel mesterségesen szennyezett talajokkal, szerves szennyezőanyagokkal szennyezett területekről származó talajokkal, ciklodextrinek alkalmazása a szerves szennyezőanyagok hozzáférhetőségének javítására c.) A kifejlesztett és a hagyományos módszerek alkalmazása a kísérletek követésére és értékelésére. <b>2.1.2. Laboratóriumi mikrokozmosz kísérletek összeállítása, kivitelezése és követése fizikai-kémiai módszerekkel:</b> a.) Szerves szennyezőanyagok extrakciója talajból és műszeres kémiai analízise (gázkromatográfia GC-FID) a kísérletek során b.) Oktanol-víz és talaj-víz megoszlási hányados (Kow és Kd) meghatározása mesterségesen szennyezett talajokkal és szerves szennyezőanyagokkal szennyezett területekről származó talajokkal, a ciklodextrin hatása a megoszlásra c.) A biodegradálható frakció meghatározása mesterségesen szennyezett talajokban és szerves szennyezőkkel szennyezett területekről származó talajokban, különféle ciklodextrinek hatása a biodegradálható frakció mennyiségére <b>2.1.3. Laboratóriumi mikrokozmosz kísérletek összeállítása, kivitelezése és követése fizikai-kémiai módszerekkel:</b> a.) Összes és mobilizálható nehézfém-tartalom meghatározása kémiai módszerekkel a kísérletek során. b.) Nehézfémek talaj-víz megoszlási hányadosának (Kp) meghatározása c.) A bioakkumulációs tesztek talaj- és növénymintáinak kémiai analízise: nehézfém-tartalom meghatározása. <b>2.2. A kifejlesztett és a hagyományos módszerek együttes alkalmazása a kísérletek követésére és értékelésére: integrált metodika.</b> <b>2.3. Segítségnyújtás, együttműködés a partnerekkel a modellterületek kiválasztásában.</b>

## A II. MUNKASZAKASZBAN ELÉRT EREDMÉNYEK BEMUTATÁSA

A szennyezett területek hatékony felméréséhez, a környezetmonitoring, a korai figyelmeztető rendszerek kifejlesztéséhez és a környezet egészségének kockázat-orientált jellegű jellemzéséhez elengedhetetlenek az új, dinamikus és interaktív módszerek, melyek holisztikus szemléletet tükrözve integrált módszeregyüttes részét fogják képezni. Olyan módszerek fejlesztését céloztuk meg, melyek közvetlen információt adnak a talajjal kapcsolatos kockázat-alapú döntésekhez pl. a szennyezőanyagok fázisok közötti megoszlásáról, degradációjáról, bioakkumulációról, táplálékláncba kerüléséről, valamint a talajmikroflóra állapotát, adaptálódását, adaptálhatóságát, aktivitásait és aktiválhatóságát illetően. A biodegradáció, biotranszformáció vagy más, kockázatesökkentő aktivitás vagy hajlam a természetes folyamatokon alapuló, „lágy” remediációs technológiák alapját képezhetik. Ma még kevés megbízható, verifikált módszer van, amely alkalmas a vegyi anyagok helyszínspecifikus kockázatának felméréséhez szükséges dinamikus jellemzők meghatározására, ezek körét igyekszik növelni és alkalmazásuk feltételeit kidolgozni ez a kutatás-fejlesztési projekt.

A LOKKOCK kutatási projekt feladata tehát, a hatékony és komplex helyszínspecifikus kockázatfelméréshez hiányzó elemek pótlása, ezáltal a környezetmenedzsment eszköztárának javítása. Továbbá célul tűztük ki egy olyan szempontrendszer kidolgozását, amely megadja, hogy milyen problémára, milyen módszeregyüttesel kapható meg a lehető legjobb válasz.



Ennek tükrében kezdtük el az első munkaszakaszban a szennyezett területek helyspecifikus kockázatfelmérését támogató új talajvizsgálati módszerek kutatás-fejlesztését. Három, egymást kiegészítő módszertípust fejlesztettünk, és ezeket mikrokozmosz kísérletekben alkalmaztunk:

1. **Fizikai-kémiai módszerek** a talaj, valamint a toxikus fémek és a szerves szennyezőanyagok mennyiségi és minőségi meghatározására, valamint megoszlásának, transzportjának, hozzáférhetőségének jellemzésére,
2. **Biológiai eljárások** az ökoszisztéma tagjainak minőségi és mennyiségi jellemzésére, aktivitásaik, aktiválhatóságuk, reagálásuk környezeti hatásokra és technológiai beavatkozásokra,
3. **Környezettoxikológiai tesztek** a szennyezett talaj közvetlen hatásának mérésére.

Ezek a már kifejlesztett, vagy még fejlesztés alatt álló fizikai-kémiai, biológiai és környezettoxikológiai vizsgálati módszerek szolgálják és támogatják

- a. a **szennyezőanyag** dinamikus jellemzését: megoszlás, transzport, biodegradálhatóság, biológiai hozzáférhetőség,
- b. a **talaj** jellemzését: fizikai-kémiai tulajdonságai, biológiai állapota stb.,
- c. a **hatás** mérését, biológiai és toxikológiai tesztek a káros hatások jellemzésére.

Problémától és céltól függően az új módszerek bevonásával kialakított módszeregyütteseket lépcsőzetesen alkalmazzuk **szűrővizsgálatra**, részletes **állapotfelmérésre** és a **technológiát megalapozó** dinamikus jellemzésre.

Az első munkaszakasz fő feladata a módszerfejlesztés volt. Néhány teljesen új módszer fejlesztése illetve alkalmazhatósága során újabb fejlesztési irányok tárultak fel, ezekről is beszámolunk röviden. A második munkaszakasz célja a már kidolgozott módszerek alkalmazása és módszeregyüttesbe illesztése. **Valamennyi feladatát teljesítettük, az eredményeket archivált tanulmányokban foglaltuk össze**, a kifejlesztett új módszerekkel kibővített metodikák **alkalmazását** laboratóriumi mikrokozmoszok monitoringjában teszteljük és jelen összefoglalóban mutatjuk be röviden. **Az elkészült tanulmányokat tételesen a 15. számú Mellékletben soroljuk fel.**

## 1. A KIFEJLESZTETT MÓDSZEREK ÉS ALKALMAZÁSUK

Egyes metodikák (fizikai-kémiai és környezettoxikológiai) fejlesztése az alkalmazások kapcsán még tovább folyt, ilyenek: a szerves szennyezőanyagok extrakciója és kémiai analízise; oktanol-víz megoszlási hányadosok ( $K_{ow}$ ) és talaj-víz megoszlási hányadosok ( $K_d$ ) meghatározási módszerei; a növény által felvehető talajoldat nehézfém-szennyezettsége; összefüggés-vizsgálatok a kadmium talajoldat koncentrációja, megoszlási hányadosa és a talajtulajdonságok között; dinamikus talajoldat jellemzési módszer kidolgozása.

### 1.1. Fizikai-kémiai módszerek fejlesztése és első alkalmazásuk

A fizikai-kémiai módszereket a szennyezőanyag típusa szerint tárgyaljuk, külön a szerves szennyezőanyagok megoszlásával, hozzáférhetőségével kapcsolatos módszerfejlesztéseket és a szerves szennyezőanyagokra, elsősorban toxikus fémekre vonatkozókat.

#### 1.1.1. Szerves szennyezőanyag extrakciója talajból és gázkromatográfiás analízise

A TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) meghatározására alkalmazott szabvány szerinti **gázkromatográfiás módszer** nem törekszik az egyes komponens csoportok szétválasztására és azonosítására a kockázat és a biodegradáció folyamatainak mélyebb megértéséhez viszont szükség van erre. Talajszennyező anyagokra nem alkalmazott speciális GC oszlop (BPX90, 30x0,25x0,25, SGE és Petrocol DH, 100x0,25x0,5, Supelco) elválasztását vizsgáltuk, hogy a polárosabb talajszennyező szénhidrogéneket is meg tudjuk határozni. ABPX90 oszlop 90% cianopropil-poliszilfenilén-sziloxán állófázist tartalmazó erősen poláris oszlop, melyen a kis polaritású talajszennyezőanyagok kevésbé, a polárosak viszont jobban elválnak, mint a hagyományos oszlopokon. Ezt nagy mólsúlyú poláros talajszennyező anyagokra (pakura, motorolaj, kőszén-kátrányolaj, stb.) javasoljuk. A Petrocol DH oszlop keresztkötött dimetilsziloxán állófázisát szénhidrogének forráspont szerinti elválasztására fejlesztették ki, az illékony talajszennyező szénhidrogénfrakció vizsgálatára ajánljuk. Szűrővizsgálat esetén a kettő kombinációja szükséges, hogy az eredmények alapján ne becsljük alá a kockázatot, ahogy ez a mai gyakorlatban gyakran előfordul: „a talaj TPH tartalma határérték alatti”, holott csak nem választja el, tulajdonképpen át sem engedi a gázkromatográfiás oszlopunk a nagymólsúlyú, policiklikus poláros vegyületeket.

Az 1. Melléklet 1.1. ábrája pakurával szennyezett talajminta extraktumát mutatja, miután *standardek* segítségével meghatároztuk az aromás vegyületek retenciós tartományait a BPX 90 oszlopon összehasonlítva az EPH mérésre használt HP-1 oszlopon kapott kromatogrammal. Fenantrént és pirént azonosítottunk az extraktumban. Megállapítottuk, hogy monoaromás vegyületek nincsenek, kevés a diaromás komponens, a legtöbb összetevő a 3 és 4 gyűrűs vegyületek tartományában eluálódik. A 1. Melléklet 1.2. ábra dízelolaj hexános oldatának kromatogramját mutatja Petrocol és HP1 oszlopon. Ez a 100 méteres oszlop a kis mólsúlyú komponensek szétválasztására különösen alkalmas, ezért gőztéranalízisre használtuk.

A módszer alkalmazhatóságát vizsgáltuk a szennyezőanyagok biológiai hozzáférhetőségének vizsgálatára, transzformátorolajjal szennyezett talajokkal végzett mikrokozmosz-kísérletek követésére. A gőztéranalízis célja az illékony komponensek meghatározása volt, melyek a belégzéssel fejthetnek ki toxikus hatást. Collembolla tesztekkel modelleztük az illékony komponensek toxicitását. Vizsgáltuk az emésztőnedvek és a random metil- $\beta$ -ciklodextrin (RAMEB) hatását a hozzáférhetőségre. Méréseink szerint RAMEB jelenlétében csökken az illékony anyagok koncentrációja a gőztérben, emiatt a toxicitás is. A komplexképzéssel megkötött illékony szennyezőanyagok kevésbé párolognak. A gőztéranalízis módszere a Petrocol DH oszlop segítségével tehát alkalmazhatónak bizonyult illékony szénhidrogének kockázatának felmérésére, hozzáférhetőségük jellemzésére, és a hozzáférhetőségüket befolyásoló segédanyag (RAMEB) hatásának jellemzésére.

### 1.1.2. Oktanol-víz és talaj-víz megoszlási hányados meghatározása

A talajszennyező anyagok megoszlása a talaj szilárd fázis és a talajnedvesség között központi jelentőségű a kockázat meghatározásában. A  $K_d (=C_{\text{talaj-szilárd}}/C_{\text{talaj-nedvesség}})$  meghatározására ma még nincs megbízható módszerünk, a talajnedvességből jószerivel még mintát sem tudunk venni. Leggyakrabban a  $K_{ow}$  érték alapján QSAR (Quantitative Structure Activity Relationship) egyenletekkel számítjuk. A problémát az jelenti, hogy gyakran már a  $K_{ow}$ -t is QSAR segítségével becsülik a molekulaszerkezet alapján, ráadásul a becslés jósága a nagy molekulájú, szilárd fázishoz kötődő talajszennyező anyagoknál igen gyenge.

Az oktanol-víz és talaj-víz megoszlási hányados meghatározása szerves szennyezőanyagokkal mesterségesen szennyezett és szennyezett területekről származó talajokkal történt. A vizsgálat kiterjedt a különféle ciklodextrinek megoszlásra gyakorolt hatásának megismerésére, acélból, hogy egyszerű kémiai modellt találjunk a szennyezőanyag talajfázisok közötti megoszlásának jellemzésére.

#### *K<sub>ow</sub> meghatározási módszerek és alkalmazásuk*

Célunk annak vizsgálata volt, hogyan befolyásolja a ciklodextrinek (CDk) jelenléte a megoszlási folyamatokat, pl. az oktanol-víz megoszlást. Tudjuk, hogy a CD belső üregébe került, azzal zárványkomplexet képező anyagok lipofil jellege látszólag csökken. Talajszennyező-anyagok esetén még nem végeztek szisztematikus vizsgálatokat ennek igazolására. További célunk volt az erősen hidrofób anyagok esetén nagy kísérleti hibával terhelt  $K_{ow}$  meghatározási módszer kiváltása egy könnyebben kivitelezhető módszerrel. Ennek érdekében vizsgáltuk, hogyan befolyásolják a különféle ciklodextrinek a  $K_{ow}$  értékét. Kilenc modell szennyezőanyagot választottunk a  $K_{ow} = 1,8 - 4,6$  tartományban: PAH: toluol (2,73), metil-naftalin (3,86), fenantrén (4,46), klórozott szénhidrogének: diklórbenzol (3,43), tetraklórbenzol (4,6), növényvédőszer: metachlorophenprop (2-(3-klór-fenoxi) propionsav) (2,31), cipermetrin (4,69) és p-klór-anilin (1,83) és p-klór-fenol (2,39) (többek között növényvédőszergyártás kiindulási anyagai és ezért tipikus szennyezőanyagai). A koncentrációk mérésére általában UV fotometriát használtunk, a tetraklórbenzol esetében gázkromatográfiát.

Kétféle ciklodextrin-származékot vetettünk alá alaposabb vizsgálatnak: a hidroxipropil- és a random metil- $\beta$ -ciklodextrint (HPBCD és RAMEB) 6, 10 és 20% koncentrációban. Az oktanol-víz megoszlási hányadosok mellett meghatároztunk oktanol-vizes ciklodextrin oldat megoszlási hányadosokat ( $K_{oCD}$ ). (2. Melléklet 2.1. táblázat). Megállapítottuk a regressziós koefficienseket az általunk vízben és vizes ciklodextrin oldatokban mért megoszlási hányadosok, valamint az irodalomban közölt illetve az előző jelentésünkben bemutatott QSAR programokkal becsült  $K_{ow}$  értékek között. A  $K_{oCD}$  értékekre is meghatároztuk a regressziós koefficienseket. 10%-os RAMEB oldatok esetén a következő összefüggést kaptuk:  $\log K_{oCD} = 0,52 \cdot \log K_{ow} + 0,3$  ( $r^2 = 0,94$ ,  $n = 6$ ) (1)

Ez emlékeztet a  $K_{oc} - K_{ow}$  hidrofil vegyületekre érvényes empirikus összefüggésre:

$$\log K_{oc} = 0,52 \cdot \log K_{ow} + 1,02 \quad (r^2 = 0,63, n = 390), \quad (2)$$

a tengelymetszet jelentősen eltér. Emiatt a  $K_{ow}$ -nél könnyebben és pontosabban mérhető  $K_{oCD}$ , a következő korrekcióval javasolható a talaj szerves fázisa és a víz közötti megoszlás ( $K_{oc}$ ) jellemzésére:

$$\log K_{oc} = \log K_{oCD} + 0,72 \quad (3)$$

Részletesebb vizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy az általunk definiált  $K_{oCD}$  alábecsüli a CD-származékok lipofilicitás-csökkentő hatását az oktanol-felesleg miatt eltolódott komplexegyensúlyok miatt (egy példát szemléltet a 2. Melléklet 2.1. ábra). Így önmagában nem alkalmas arra, hogy a CD, mint talajremediációs adalék viselkedését jellemezze, hiszen a talajban nincs oktanol, viszont lehetnek más, a CD üregért szintén versengő anyagok (más szennyezőanyagok, a talaj szerves anyagának alkotórészei). Ennek a versenynek az eredményét a helyi koncentrációviszonyok, a CD üregért versengő anyagok komplexképzési hajlama (pl.  $K_{ow}$  értéke, mérete) határozza meg, tehát a helyszínről származó talajokról egyedülállóan komplex és fontos információt szolgáltat.

Javasoltunk egy új módszert a  $K_{ow}$  meghatározására olyan esetekben, amikor a szennyezőanyag koncentrációjának mérése a vizes fázisban már nehézséget okoz kis oldékonysága miatt: a  $K_{oCD} - CD$  koncentrációfüggés linearizált alakjának alkalmazásával  $c = 0$  CD koncentrációra extrapolálva kapjuk a  $K_{ow}$  értéket.

Ezt a módszert három szennyezőanyagra (metilnaftalin, fenantrén és cipermetrin) próbáltuk ki. Mindhárom esetben kb. 15%-kal becsüli alá a módszer a  $K_{ow}$  értékét az irodalmi adathoz képest.

Keverék szennyezőanyagok (dízel-, transzformátorolaj, pakura) vizsgálatához bevezettük laboratóriumunkban a **szilárd fázisú extrakciót** a vizes fázis szerves anyag-tartalmának kinyerésére és összehasonlítottuk ezt a mintaelőkészítési módszert keverék szennyezőanyagok (dízel olaj)  $K_{ow}$  értékének meghatározására göztéranalízissel és a hagyományos extrakción alapuló módszerrel (oktanol/víz extrakciót követő hexán/víz extrakció). A göztéranalízis nem bizonyult használhatónak keverék szennyezőanyagokra rossz reprodukálhatósága és elválasztási problémák miatt. Külön nehézség, hogy a ciklodextrin oldatokhoz nem használható, mert a komplexképzés csökkenti a komponensek oldékonyságát. A hagyományos extrakción alapuló módszer (oktanol/víz extrakciót követő hexán/víz extrakció) nagy mintatérfigyelmet igényel. Az oktanol/víz extrakciót követő szilárd fázisú extrakció a vizes fázis szervesanyag-tartalmának kinyerésére jól reprodukálhatónak bizonyult, kis mintaigényű módszer. Alkalmaztuk ezt a módszert a ciklodextrinek hatásának jellemzésére mind dízelolaj, mind transzformátorolaj esetén. Erről részletes jelentés készült.

Az újonnan beállított szilárd fázisú extrakción alapuló módszerrel meghatároztuk dízelolaj, transzformátorolaj és pakura  $K_{ow}$  értékeit tiszta vizet, 10%-os vizes HPBCD és RAMEB oldatokat alkalmazva. A pakura szennyezett területről származik: a pakuravak területén (Budapest, XVIII. kerület) a talajból kifolyt fenékiszapot gyűjtöttük össze, és ezzel végeztük a kísérleteket. A  $K_{ow}$  érték csökkent ciklodextrinek jelenlétében (2. Melléklet 2.2. táblázat). Megfigyeltük, hogy jelentős mennyiségű oktanol oldódott a CDs vizes fázisokban elfoglalva az üregeket az olajkomponensek előtt. Az eredményeket kutatási jelentésben foglaltuk össze. Ezeknek a megfigyeléseknek a jelentősége elsősorban az, hogy a nagyobb környezeti realitást képviselő keverék szennyezőanyagok esetén ugyan az egyedi szennyezőanyagokhoz képest kisebb mértékben, de még mindig több mint egy nagyságrenddel csökkenti a CD a szennyezőanyag lipofil jellegét (versenyeznek a komponensek a kötőhelyekért csakúgy, mint a talajban). Az eredmények azonkívül, hogy újfent igazolják a CD-k mint remediációs adalékok alkalmazásának létjogosultságát, rámutatnak arra is, hogy az egyedi komponensek megoszlását, adszorpcióját, kockázatát jelentősen befolyásolják a jelenlevő egyéb szennyező- és nem szennyezőanyagok.

#### *$K_d$ meghatározási módszerek és alkalmazásuk*

A  $K_d$ , a talaj-víz megoszlási hányados meghatározás módszereiről irodalmi összefoglalás készült. A  $K_d$  meghatározásának leggyakoribb módszereit tekintettük át kritikai értékelést adva az egyes technikák alkalmazásának előnyeiről, korlátairól, reprodukálhatóságáról.

A laboratóriumi módszerek esetén alapvetően kétféle közelítés létezik: a tiszta talajt hozzuk egyensúlyba a szennyezőanyag oldatával vagy a szennyezett talajt a tiszta vizes oldattal. Az utóbbi tekinthető helyspecifikus értéknek. A szennyezőanyag adszorpciója a talajon (a talaj különböző szerkezetű pórusaiban) vagy deszorpciója a talajról számos, eltérő kinetikájú folyamat eredője, így nehéz megállapítani, mikor áll be az egyensúly. Nagy  $K_d$  esetén technikai problémákat jelent a rendkívül kicsi koncentrációk meghatározása a vizes oldatokban. Állandó dilemma, hogy a talajkolloidokhoz kötődő szennyezőanyagot az oldott fázis részének tekintsük-e? A talajból szennyeződő talajvíz kockázata szempontjából az oldott fázis része, hiszen azzal terjed, és abban fejt ki káros hatását. A remediációs technológiák tervezésekor is nagy jelentőségük van a talajkolloidokhoz kötött diszpergált szennyezőanyagoknak, hiszen ezek biológiai hozzáférhetősége nagyobb, mint a talaj szilárd fázisához adszorbeálódottaknak.

A terepi módszerek az egymással egyensúlyban lévő talaj és talajvíz (pórusvíz) mintázását, és ezekben a szennyezőanyag-koncentráció laboratóriumi mérését jelentik. A pórusvíz kinyerése gravitációs úton történhet (egyszerű zéró-nyomású és tálcás liziméter) vagy vákuummal (vákuum-, csőmembrán-, szűrőhegy-liziméterek, Rhizon mintavevők). Utóbbi esetben kérdéses, hogy beállt-e valóban az egyensúly. További fontos kérdés, célunk-e, hogy beálljon az egyensúly, vagy inkább a reális, nem egyensúlyi folyamatokat modellezzük?

A számos leírt módszer közül a klasszikusnak számító laboratóriumi egyensúlyi módszert alkalmaztuk háromféle talajjal (barna erdő talaj, homokos és agyagos talaj) háromféle keverék szennye-

zőanyaggal. A dízel-, transzformátorolajjal vagy pakurával telített vizes oldatokat hoztuk egyensúlyba a talajokkal 3 napig óránként 15 percig rázógépen rázatva a szuszpenziót, majd a fázisokat centrifugálással szétválasztottuk és a vizes fázist szilárd fázisú extrakcióval feldolgoztuk.

A másik módszer az volt, hogy szennyezett talajt hoztunk egyensúlyba (tisztá) vízzel és a vizes fázisba átoldódott szerves szennyezőanyag mennyiségét határoztuk meg. Ezt a módszert pakurával szennyezett területről származó, bioremediációs mikrokozmoszban vizsgált talajra alkalmaztuk. Változtattuk a kivonás módját (ultrahangos, rázatásos, egyszeri, többszöri extrakció) és a vizes fázis feldolgozásának módját is (folyadék-folyadék és szilárd fázisú extrakció, hexán-aceton elegy és diklórmétán alkalmazásával).

A harmadik eljárás a valóságot jobban szimuláló nem egyensúlyi kioldás, melyet a jelenleg fejlesztés alatt álló mini-liziméteres metodika tesz lehetővé. Az irodalomban legtöbbször az első módszer alkalmazásával találkozunk. Számos közlemény ismerteti a módszer hibáit, ugyanazt a talajmintát ugyanabban a laboratóriumban mérve is megengedett 50%-os eltérés két  $K_d$  mérés között<sup>1</sup>.

### **1.1.3. Szerves talajszennyező-anyagok biodegradálhatóságának kémiai modellezése**

A biodegradálhatóság és a valódi környezetben folyó biodegradáció két eltérő dolog, az első a vegyi anyag kémiai szerkezetéből adódó immanens tulajdonsága, a másik a helyi mikroflóra genetikai állományától és a közösség adaptációjától függő folyamat. A biodegradálhatóság standard biológiai módszerrel ugyanúgy fikció marad, mint kémiai módszerrel, mindkettőről extrapolálni kell a helyspecifikus valóságra. Az egyik lehetséges kémiai modell a szennyezőanyag ciklodextrinnel való kölcsönhatása. Mesterségesen szennyezett és szerves szennyezőanyagokkal szennyezett területekről származó talajokkal végeztük a ciklodextrines modellvizsgálatokat.

A talajok extrakciójára különféle vizes ciklodextrin oldatokat alkalmaztunk és vizsgáltuk az extrakció körülményeit. A biológiailag hozzáférhető szennyezőanyag koncentráció meghatározásához a totális kivonásra törekvő szerves oldószeres extrakcióhoz képest kevésbé „kimerítő” kivonási módot igyekeztünk találni, a biológiai hozzáférhetőség kémiai modellezéséhez. Irodalmi adatok szerint a hidroxipropil-ciklodextrin (HPBCD) vizes oldatával kiextrahált fenantrén mennyisége szoros korrelációt mutat a biodegradálható frakcióval<sup>2</sup>. Ez a módszer egyre elterjedtebbé válik. A legutóbbi ConSoil konferencián már három közleményben használták ezt a módszert PAH-vegyületek<sup>3</sup>, régi szénhidrogén-szennyeződés<sup>4</sup> és vegyes szennyeződésű üledékek<sup>5</sup> biológiailag hozzáférhető hányadának jellemzésére. A módszerről eddig megjelent irodalmi adatokat külön tanulmányban foglaltuk össze egy másik projekt keretében (MOKKA CYL II.1.).

Mikrokozmoszokban összehasonlító vizsgálatokat végeztünk különféle CD-származékokkal pakurával szennyezett talajjal (lásd I. munkaszakasz részletes szakmai beszámoló). Ebben a munkaszakaszban meghatároztuk három tipikus keverék szennyezőanyag oldékonyságát vizes ciklodextrin oldatokban. Kétféle üregméretű random metilezett és hidroxipropilezett származékokat hasonlítottunk össze. Az oldékonyságfokozás sorrendje mind dízelolaj, mind transzformátorolaj, mind pedig pakura esetén (3. Melléklet 3.1.–3.3. ábra):

RAMEB > HPBCD > RAMEG > HPGCD > CD nélkül.

<sup>1</sup> R. D. Wauchope, S. Yeh, J. B. H. Linders, R. Kloskowski, K. Tanaka, A. Katayama, W. Kördel, Z. Gerstl, M. Lane, J. Unsworth: Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability, [www.iupac.org/projects/posters01/wauchope01.pdf](http://www.iupac.org/projects/posters01/wauchope01.pdf)

<sup>2</sup> Reid, B.J., Stokes, J.D., Jones, K.C., Semple, K.T.: Nonexhaustive Cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability, *Environ. Sci. Technol.* 2000, 34, 3174-3179

<sup>3</sup> Sabaté, Jordi; Viñas, M.; Solanas, A. M., Proc. 9th International FZK/TNO Conference on Soil-Water Systems, p. 849, 3-7 October 2005, Bordeaux, France

<sup>4</sup> R. Hough, K. Brassington, A. Sinke, J. Crossley, G. Paton, K. Semple, G. Risdon, C. Jacobson, P. Daly, S. Jackman, G. Lethbridge and S. Pollard: Proc. 9th International FZK/TNO Conference on Soil-Water Systems, p. 1262-1267, 3-7 October 2005, Bordeaux, France

<sup>5</sup> T. Grotenhuis, M. Smit, G. Malina, R. Kasperek, J. Szduj, B. Satijn, J. Joziassé: Proc. 9th International FZK/TNO Conference on Soil-Water Systems, p. 2513-2522, 3-7 October 2005, Bordeaux, France



Érdekes megfigyelés az, hogy a HPBCD oldatokban inkább a kisebb molsúlyú, biodegradálható komponensek oldódnak.

Részletesebb vizsgálatokat pakurával régóta szennyezett területről származó talajokkal végeztünk. Szerves oldószerek hozzáférhetőségét hasonlítottunk össze: hexán-acetont (2:1), diklórmetánt és kloroformot valamint C1–C4 n-alkoholokat alkalmaztunk extrahálószerként. Megállapítottuk, hogy a lánchosszúság növekedésével nő az extrahált szennyezőanyag-tartalom metanol, etanol, propanol, butanol sorrendben, a gázkromatografálható frakció viszont előbb nő, majd butanol esetén jelentősen csökken. Itt is felmerült a kérdés (mint oly sokszor, amikor nem tudjuk, hogy milyen kockázati scenáriót modellezünk tulajdonképpen), hogy szűrjük, vagy ne szűrjük a kivonatokat, melyek a szennyezőanyag egy részét kolloid szemcséken megkötődve tartalmazzák.

CD-oldattal végezve az extrakciót általában kevesebb szennyezőanyag oldódik ki, melynek mennyisége függ az extrakció körülményeitől. Egy napos rázógépes rázatással, például, jóval kevesebb a kioldott szennyezőanyag mennyisége, mintha 2 órás rázatást végzünk ultrahang fürdőben. Kérdés, hogy ultrahang alkalmazásával csak meggyorsítjuk az egyensúly elérésének folyamatát, vagy meg is változtatjuk az egyensúlyi helyzetet azzal, hogy a talajt kisebb részecskékre bontjuk az intenzív rázással. De az sem lehetetlen, hogy a hosszú érintkezési idő olyan talajkomponensek egyensúlyi oldódását eredményezi, melyek rövid idő alatt nem jelentkeznek.

Megfigyeltük, hogy a szilárd fázisú extrakció jobb hatásfokkal alkalmazható, mint a hagyományos folyadék-folyadék extrakció, továbbá azt is, hogy pakura esetén is kedvezőbb a hexán-aceton (2:1) elegy alkalmazása, mint a diklórmetáné.

Több lépcsős extrakció során (ugyanazt a talajmintát többször egymás után rövid ideig – 15 percig – ultrahangfürdőben extraháltuk vizes CD oldatokkal) azt tapasztaltuk, hogy HPBCD oldattal az első két extrakciós lépésben oldottunk ki jelentős mennyiségű szennyezőanyagot, a 3. lépéstől már nem, míg RAMEB-oldat alkalmazásakor még a 6. lépésben is jelentős mennyiségű pakurát oldottunk ki (3. Melléklet 3.4. ábra). A konszekutív görbék alapján megállapított egyensúlyi érték a RAMEB-nél kb. 8-szorosa annak, mint amit a HPBCD-oldatos extrakcióval érhetünk el.

Hogy melyik CD-féleséget választjuk ki, és pontosan milyen extrakciós, mintaelőkészítési körülményeket alkalmazunk, attól is függ, hogy a kapott kiextrahált szennyezőanyag mennyiségek hogyan korrelálnak a biológiai mérések során kapott biodegradálható frakció mennyiségével. Erre az elemzésre a III. munkaszakaszban kerül sor.

#### ***1.1.4. Szervetlen talajszennyező-anyagok fázisok közötti megoszlása és növény általi felvehetősége***

A talaj szennyezettségét a talajban mért nehézfém-tartalommal szokták jellemezni a nemzetközi szakirodalomban. Ennek érdekében igen sokféle módszer került kidolgozásra. E módszerek két nagy csoportba sorolhatók. Az egyik módszercsoport a talaj "összes" nehézfém-tartalmát igyekszik jellemezni. Ezek a többnyire feltárásos módszerek kisebb-nagyobb mértékben roncsolják az agyagásványok szerkezetét és feltárják a kristályrácsban kötött, igen nehezen hozzáférhető nehézfém frakció egy részét is. A másik módszercsoport a talaj "reaktív" fém-tartalmának kinyerésére helyezi a hangsúlyt. E módszereket evidenciaszintű kémiai modelleként alkalmazzák. Ilyen a Lakanen-Erviö (L-E) kivonási módszer, ahol a kivonószer pH értéke enyhén savas (kb. 4,65) és komplexképző anyagot is tartalmaz ezért képes kioldani a talaj fém-tartalmának könnyen oldható, „reaktív” frakcióját, melyet evidencia szinten azonosítanak a növény által felvehető hányaddal. Ez a feltételezés nincs bizonyítva, integrált metodika alkalmazásával nagy diszkrpanciát mértünk a LE kivonat fém-tartalma és a növényi toxicitás és/vagy felvétel között.

Módszertani kutatásaink során túl kívántunk lépni a talaj nehézfém-tartalmának jellemzésén. Azt vizsgáltuk, mennyi a talaj oldatfázisában jelenlevő toxikus fémek mennyisége és ez a mennyiség hogyan viszonyul a talaj hagyományos módszerekkel meghatározott nehézfém-tartalmához.

Az oldatfázis jellemzését is továbbfejlesztettük az oldott szerves széntartalom (DOC) meghatározása révén. A DOC tartalom a talaj szerves anyag tartalmának az oldható része, ami komplexképző és ioncserélő tulajdonsága miatt esetenként jelentős mennyiségű reaktív nehézfém-iont képes oldott állapotban tartani.

- Kutatásaink célja a talajoldat nehézfém-tartalmának jellemzése, melynek keretében jellemezzük
- a növény által felvehetőnek tekintett, oldatfázisban jelenlevő nehézfém-ion tartalmát,
  - a dinamikus nehézfém kioldás folyamatát a talaj / talajoldat rendszerben.

A növény által felvehetőnek tekintett, a talajoldatban jelenlevő toxikus fémfrakció a táplálékláncba kerülés veszélye miatt bír kiemelt jelentőséggel. A talajt szennyező nehézfém-ionok a talaj oldatfázisán keresztül kerülhetnek a növényekbe, illetve a táplálékláncba, tehát a szerves talajszennyező anyagok talajfázisok közötti megoszlása és növény általi felvehetősége szorosan összefügg. Nagy hatással van erre a folyamatra a szennyezőanyagok közötti és a szennyezőanyag és a talaj közötti kölcsönhatások. A talajoldatban levő nehézfém-tartalom illetve a megoszlási hányados nagyságát a talaj nehézfém tartalma mellett a talaj szilárd és oldatfázisának tulajdonságai határozzák meg. Ez tette szükségessé a talajoldatban levő nehézfém-tartalom és a talajtulajdonságok közötti összefüggések elemzését. Ha kémiai modell alapján (kémiai vizsgálati eredményekből) extrapolálunk biológiai hatásokra, a felvételre, vagyis a kockázatra, akkor a kémiai modellünket finomítani kell, figyelembe véve többek között olyan talajtulajdonságokat, mint a talajoldat szervesanyag-tartalma.

**Az oldott szerves széntartalom** (DOC, Dissolved Organic Carbon) fontos szerepet játszik a nehézfémek sorsának alakításában a talaj–talajoldat rendszerben. Talajtani szempontból az oldott szerves széntartalom a talajok szénforgalmában betöltött szerepe miatt fontos. Környezetvédelmi szempontból az oldott szerves széntartalom a szennyező anyagok transzportjában játszik szerepet. A DOC vegyületek meg tudják kötni a nehézfém-ionokat (pl. komplexképzés révén), ezáltal hordozó anyagként viselkednek. A DOC vegyületek oldatban tudják tartani a nehézfém-ionokat, és mobilitásuk révén magukkal tudják őket szállítani.

A vizsgált talajokban a „növény által felvehető” talajoldatok összetétele a következő tartományokat ölelte át: DOC = 30–223 mg/L, HCO<sub>3</sub> = 10–166 mg/L, Ca = 14–695 mg/L, Mg = 1–43 mg/L, K = 1–46 mg/L, Na = 4–58 mg/L. A talajoldat széntartalmát tekintve a 33 vizsgált minta közül az oldott szerves széntartalom 10 mintában nagyobb, mint 100 mg/L, míg a szerves széntartalom 3 mintában nagyobb, mint 100 mg HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L. A DOC tartalom a mohaláp talajban a legnagyobb a vizsgált talajok közül. A DOC koncentráció nagyságrendje megegyezik a makroelemek (Ca, Mg, K, Na) talajoldatban mért koncentrációjának nagyságrendjével (4. Melléklet 4.1. ábra).

Magyarországon elsőként mértük meg a talajok oldott szerves széntartalmát. Kísérleti eredményeink azt bizonyították, hogy igen nagy mennyiségű DOC tartalom mérhető a talaj oldatfázisában. Ez azt jelenti, hogy nemcsak a talaj szilárd fázisában található szerves anyag, hanem a talaj oldatfázisában is. A DOC tartalom képes oldatban tartani a nehézfém ionokat, ezért feltétlenül indokolt a talajoldat jellemzése során ezt a tulajdonságot is figyelembe venni. Jelen kutatásaink keretében a DOC tartalmat a talajoldat nehézfém-tartalma és a talajtulajdonságok közötti összefüggések elemzése során vesszük figyelembe.

*Az oldott nehézfémek és a talaj nehézfém-tartalmának aránya*

**A megoszlási hányados** csak kétfázisú talajban ad megbízható eredményeket, mert háromfázisú talajban a nedvességtartalom változása miatt (pl. csapadék hatására) a megoszlási hányados értéke is megváltozik. A szennyezett talajok nedvességtartalmát figyelembe véve meghatároztuk az összes oldott nehézfém százalékos arányát az összes, illetve reaktív nehézfém-tartalomhoz viszonyítva. Az oldott nehézfémek aránya azt mutatja meg, hogy a talaj nehézfém-tartalmának hány százaléka található oldott formában. Az eredményeket a 4. Melléklet 4.2., 4.3., 4.4. és 4.5. ábra mutatja.

Az oldott nehézfémek részarányát kiszámítottuk mind a talaj összes, mind a Lakanen-Erviö (L-E) módszer szerint meghatározott nehézfém-tartalmára vonatkoztatva. A kadmium esetében a könnyen oldható Cd tartalomnak maximum 5,16 %-a, az összes Cd tartalomnak maximum 3,87 %-a található az oldatfázisban. A réz esetében a könnyen oldható Cu tartalomnak maximum 1,58 %-a, az összes Cu tartalomnak maximum 0,23 %-a található az oldatfázisban. Az ólom esetében a könnyen oldható Pb tartalomnak maximum 0,04 %-a, az összes Pb tartalomnak maximum 0,01 %-a található az oldatfázisban. A cink esetében a könnyen oldható Zn tartalomnak maximum 36,51 %-a, az összes Zn tartalomnak maximum 1,17 %-a található az oldatfázisban.

Kutatásaink eredményeként levontuk azt a következtetést, hogy a talajban mért összes illetve L-E fémtartalomnak csak igen kis hányada található a növény által felvehető talajoldat frakcióban. Az L-E-s kivonat nehézfém tartalmához viszonyított oldott nehézfém arány mindig nagyobb volt, mint az összeshez viszonyított, azaz a reaktívnak tekintett nehézfém tartalom közelebb áll a talajoldatban oldott állapotban levő nehézfém tartalomhoz. A LE módszerrel mért nehézfém tartalom pontosabban jellemzi a talajban lejátszódó nehézfém kioldódást, a kioldható nehézfémek mennyiségét.

A LE szerinti arányt tanulmányozva megállapítottuk, hogy jelentős eltérések tapasztalhatók a különböző nehézfémek viselkedése között. Az oldott nehézfém aránya a Zn esetében elérheti a 36,5% -t, ami azt jelenti, hogy a reaktív nehézfém frakciónak több mint egyharmada képes a talaj oldatfázisába kerülni. A reaktív Zn tartalom igen könnyen mobilizálódik. Sajnos a reaktív Cd tartalom is (maximum 5%) könnyen oldhatóvá válik, a talaj oldatfázisából könnyen felvehetik a növények gyökerei, és a Cd bekerülhet a táplálékláncba. A reaktív Cu tartalomnak csak 1–2% -a van az oldatfázisban. Az Pb tartalom gyakorlatilag nem mérhető az oldatfázisban. A talaj Pb tartalma erősen kötődik a talaj szilárd fázisához, és nehezen mobilizálódik.

Összefoglalóan megállapítható, hogy a talaj reaktív Cd tartalma könnyen oldható formában van jelen. Ennek következtében a talajoldat Cd tartalma is nagy, ami a táplálékláncba való bekerülés veszélyét jelzi. A talajoldatban lévő, növények számára felvehető fémtartalom becslésére nem ajánljuk az ismert kémiai modelleket (pl. LE kivonatban mérhető fémtartalom növény által felvehetőként kezelését), hanem az összes fémtartalomból kiinduló pontosabb matematikai modell kidolgozását vagy a direkt növényi felvétel tesztelését javasoljuk. Az alábbiakban a matematikai modell alapjait ismertetjük, a direkt tesztelésre pedig az első munkaszakaszban kifejlesztett növényi akkumulációs gyors-teszt alkalmazását fogjuk bemutatni a 2.2.3. pontban.

#### ***1.1.5. Összefüggések a talajoldat fémtartalma, a fém megoszlási hányadosa és a talajtulajdonságok között***

A kadmium példáján mutatjuk be a talajoldatban mérhető fémkoncentráció, a fém talajfázisok közötti megoszlása és a talajtulajdonságok közötti összefüggések létezését és matematikai leírását.

Előző évi kutatásaink során vizsgáltuk a talajoldat és a talaj kadmium, réz, ólom és cink tartalma közötti kétváltozós összefüggéseket. A könnyen felvehető, reaktív nehézfém tartalmat Lakanen-Erviö módszerrel, az összes nehézfém tartalmat feltárással határoztuk meg. A kétváltozós függvények nem voltak alkalmasak arra, hogy leírják a talajoldat és a talaj nehézfém tartalma közötti összefüggést. Ez indokolta, hogy 2006. évi munkánk során részletes statisztikai elemzéseket végeztünk. Ennek keretében megvizsgáltuk a talajoldat kadmium koncentrációja, a talaj összes Cd tartalma, a talaj könnyen felvehető kadmium tartalma és a megkötődést illetve mobilizálódást befolyásoló legfontosabb talajtulajdonságok közötti összefüggéseket. Az összefüggés vizsgálatokhoz többváltozós lineáris regressziót alkalmaztunk.

***A talajtulajdonságokat*** a statisztikai számítások során figyelembe kívántuk venni. Kísérleteink során összesen 15 különböző talajtulajdonságot határoztunk meg. A talajoldatot a pH értékkel (pH oldat), az EC értékkel (EC oldat), az oldott szerves széntartalommal (DOC oldat) és a kalciumkoncentrációval (Ca oldat) jellemeztük. A talajtulajdonságok közül a talaj kadmium tartalmát kétféle módszerrel határoztuk meg. A talaj összes Cd tartalmát (Cd-összes) salétromsavas + peroxidos ronszolással; a talaj könnyen felvehető, reaktív Cd tartalmát Lakanen-Erviö módszerrel (Cd-LE) jellemeztük. A vizsgált talajkémiai tulajdonságok a következők voltak: a talaj pH értékei (pH<sub>H2O</sub>, pH<sub>KCl</sub>, pH<sub>CaCl2</sub>), a talaj humusztartalma (humusz %), a talaj összes alumínium tartalma (Al %-összes) és a talaj összes vastartalma (Fe %-összes). A következő talajfizikai tulajdonságok kerültek meghatározásra: a talaj nedvességtartalma (nedvesség %), a talaj Arany féle kötöttsége (KA), a talaj agyagtartalma (agyag %). Mind a talajoldatok, mind a talajok jellemzése széleskörű volt. Figyelembe vettük az összes talajtani tényezőt. A szennyezett talajokból összeállított talajbank 33 talajmintája közül 30 esetben tudtunk Cd koncentrációt mérni a talajoldatban.

***A talajoldat Cd koncentrációja és a talajtulajdonságok közötti összefüggések elemzéséhez*** először az összes rendelkezésre álló (15 db) talajtulajdonságot független változónak tekintettük, de nem

kaptunk szoros összefüggést. A becslés jóságát úgy próbáltuk meg javítani, hogy az egymástól nem teljesen független illetve a kevésbé fontosnak tartott tulajdonságokat nem vettük figyelembe. A független változók számának csökkentése sem eredményezett szorosabb összefüggést.

Ezt követően megpróbáltuk a becslés jóságát úgy javítani, hogy logaritmizált értékeket használtunk a regresszió számítás során. Kiszámítottuk a Cd koncentrációnak és a 15 talajtulajdonságnak a logaritmusát, majd ezen értékek között végeztük el a regresszió analízist. A többváltozós lineáris regresszió az összes (15 db) tulajdonság figyelembevételkor javult, de a ténylegesen befolyásoló kilenc talajtulajdonság esetében igen gyenge összefüggést eredményezett.

A kutatások következő szakaszában azt vizsgáltuk meg, hogy vajon a kadmium megoszlási hányadosa és a talajtulajdonságok között szorosabbak-e az összefüggések? Mind a 30 talajminta esetében kiszámítottuk a megoszlási hányadosokat, mind az összes, mind a Lakanen-Erviö (LE) módszer szerint meghatározott Cd-tartalom esetében. Először az összes rendelkezésre álló (14 db) talajtulajdonságot független változónak tekintettük. A kapott egyenletek nem voltak alkalmasak a Cd megoszlási hányadosának a fenti 14 talajtulajdonság figyelembevételével számított megbízható becslésére, sem az összes, sem a LE szerinti Cd tartalom esetében.

Ezt követően logaritmizált értékeket használtunk a regresszió számítás során. A nem logaritmizált értékekkel végzett regresszió számításhoz képest sokkal szorosabb összefüggést kaptunk. A többváltozós lineáris regresszió determinációs együtthatója 0,8822 (LE Cd esetében), illetve 0,8712 (összes Cd tartalom esetében) volt.

Figyelemre méltó az a tény, hogy mind a könnyen felvehető, mind az összes Cd-tartalom esetében, a megoszlási hányadosok logaritmusát ugyanazok a talajtulajdonságok, ugyanolyan sorrendben határozták meg. Ebből levontuk azt a tanulságot, hogy a Cd szennyezettség mértéke mellett a kadmium talajfázisok közötti megoszlását leginkább befolyásoló talajtulajdonságok a talajoldat pH értéke, valamint a talaj agyagtartalma, alumíniumtartalma és vastartalma.

Az összefüggés-vizsgálatok kiértékelésével azt is demonstráltuk, hogy statisztikai értékeléssel hogyan határozható meg a szennyezőanyagok viselkedésére, biológiai hatására befolyást gyakorló paraméterek rangsorolása és kiválasztása. Ugyanezek a statisztikai módszerek az alkalmazandó teszt-módszerek kiválasztásában is segíthetnek, így lehetővé válik a költséghatékony talajtesztelő módszeregyüttes összeállítása.

#### ***1.1.6. Dinamikus talajoldat jellemzési módszer kidolgozása***

A talajtani és agrokémiai kutatások bizonyítják, hogy a talajok pórusaiban levő oldatfázis kémiai összetétele központi szerepet játszik a talajban lejátszódó kémiai folyamatokban. Ez mind a tápanyagok, mind a szennyező anyagok esetében igaz.

Ez indokolta, hogy előző kutatásaink során kísérleti módszert dolgoztunk ki a növény által felvehetőnek tekintett talajoldat-frakció jellemzésére. A módszer az eredeti nedvességtartalmú talajokból nyerte ki az oldatfrakciót, tehát egy pillanatnyi állapot jellemzésére volt alkalmas. Megállapítottuk, hogy a növény által felvehető talajoldat frakció nagyon sok esetben bizonyult szennyezettnek.

Módszertani fejlesztéseink során szükségessé vált, hogy a talajoldat szennyezettségét ne csak egy pillanatnyi állapot szerint, hanem az időbeni változásokat követni képes, dinamikus módszerrel is jellemeznünk tudjuk. A dinamikus módszer lényege, hogy időben képes követni a kémiai változásokat. A kémiai változások követésének legegyszerűbb módja, ha egy kétfázisú talajoszlopon áthaladt talajoldatban mérjük a koncentráció-változásokat az idő függvényében.

Módszert dolgoztunk ki a talajoldat dinamikus jellemzésére, és ezt alkalmaztuk szennyezett talajok, illetve remediációs mikrokozmoszok értékelésére. A kioldáshoz előkészített talajoszlopokat talajfizikai szempontból standardizáltuk. Az elkészített kétfázisú talajoszlopokon áramoltattuk át az oldatfázist. A természetes viszonyok minél pontosabb jellemzése érdekében az átfolyó oldat összetételét az átlagos magyarországi csapadék összetételével szimuláltuk.

A dinamikus talajoldat jellemzés a kockázatok kémiai modellek alapján történő becslését támogatja:

- Vizsgálhatjuk a szennyezőanyagok talajoldatba kerülésének mértékét. A mért koncentrációk összehasonlíthatók a nehézfém-szennyezettség határértékeivel.
- Időbeni változások követésével a mobilizálódás vagy immobilizálódás folyamata elemezhető.
- A mobilizálódott összes mennyiség összevethető a talajban lévő, különböző kémiai formában kötött nehézfém tartalmakkal is. Ennek révén a mobilizálódás vagy immobilizálódás mértéke tanulmányozható.

A dinamikus talajoldat jellemzési módszer legfontosabb alkalmazási területei: a szennyezettség mértékének előrejelzése, a szennyezőanyag mobilizálódás folyamatának elemzése, a kémiai immobilizáció (stabilizálás) hatásának jellemzése. Előnye a nagy környezeti realizmus.

**A talajoszlopok fizikai standardizálása** során a különböző talajoszlopokban azonos térfogattömeg és azonos pórusterfogó érték beállítását terveztük meg. A talajoszlopok elkészítésekor 31 mm-es Schachtschabel féle üvegcsőbe Witte féle porcelánlemez helyezettünk, amire 200 g légszáraz és szitált talajkeveréket rétegeztünk, majd tömörítettük. A talajoszlop magasság hozzávetőleg megfelel a szántott talaj mélységének. A 31 talajminta kimosódását 31 talajoszlopban vizsgáltuk. Meghatároztuk a talajok nedvességtartalmát és sűrűségét, melyek alapján kiszámítottuk a tényleges pórusterfogó és térfogattömeget (5. Melléklet 5.1. táblázat). A talajoszlop megtervezése során a pórusterfogó és a térfogattömeg azonosságára törekedtünk. Az összes pórusterfogó azonossága azonban nem jelenti a pórusméret-eloszlások azonosságát. Két azonos porozitású talajban sem várható, hogy a pórusméret-eloszlások azonosak legyenek. A pórusok alakja szintén befolyásolja a talajokban történő oldatmozgást. Mindezekből az következik, hogy a különböző talajoszlopokban a talajoldat áramlási sebessége nem lesz azonos.

**A dinamikus kísérlethez** egy átlagos magyarországi csapadék összetételét kívántuk szimulálni. Ennek érdekében elemeztük a szerves ionok csapadékvízben mért koncentrációjának alakulását a háttérállomások mérései alapján (Környezetstatisztikai évkönyv 2003. Központi Statisztikai Hivatal. Budapest. 2005). A kétfázisú talajoszlop pórusterét szobahőmérsékleten, alulról és lassan telítettük a kilúgozó oldattal. Kis vízszlopnyomást alkalmaztunk, hogy az áramlás ne legyen túl gyors a talajoszlopban. Az első mérésorozat tapasztalatai alapján a további talajmintáknál 20 cm vízszlopnyomást állítottunk be.

**Az első alkalmazás** olyan mikrokozmosz kísérletek kiértékelésére alkalmaztuk, melyekben különböző kémiai stabilizálószerrel kezeltük a fémmel szennyezett talajokat. Ezeknél a kioldási kísérleteknél a mikrokozmoszban vizsgált kémiai adalékok (stabilizálószer) áramlásra gyakorolt hatását is figyelembe kellett vennünk.

A kimosódott oldat jellemzéséhez meghatározott mennyiségű oldatra volt szükség. Ennek érdekében a talajoszlopból kimosódott, azonos mennyiségű (50 mL térfogatú) oldatfrakciókat gyűjtöttünk. Az 50 mL térfogatú oldatmennyiség elérésekor a talajoldat áramlását a talajoszlopon keresztül megállítottuk. Azonos időpontokban gyűjtöttük össze a talajoldat mintákat (4., 24., 28., 48., 52., 72., 76., 96., 192., 196., 216., 220. óra). Ezek az időpontok a mintavételig eltelt egyensúly időtartamát (és nem az áramlás sebességét) jelzik. A kioldott fémen kívül meghatároztuk a talajoszlopon áthaladt talajoldatok legfontosabb kémiai tulajdonságait.

Az újonnan kidolgozott dinamikus talajoldat vizsgálati módszerrel egy olyan stabilizálási kísérlet-sorozat eredményét jellemeztük, melyet az új módszertől függetlenül is fizikai-kémiai és biológiai-toxicológia módszerek integrált együttesével vizsgáltunk. A teljes vizsgálati mátrix statisztikai értékelése fogja bizonyítani, hogy a dinamikus kioldási teszt eredménye hatékonyabb jellemzést tesz-e lehetővé és kiváltja-e azokat a statikus (egyensúlyi) kioldást alkalmazó analitikai eljárásokat, melyek gyakran félrevezető, a biológiai eredményekkel ellentmondó eredményeket adnak.

## 1.2. Biológiai módszerfejlesztések és alkalmazások

### 1.2.1. Bioakkumulációs gyorseszteszt

Korábbi megfigyeléseink alapján a növények növekedésük kezdetén intenzívebben akkumulálják a fémeket, és a fiatal növények intenzívebb anyagcseréje fokozott elemfelvétellel jár. Ez adta az alapot a rövid időtartamú bioakkumulációs teszt kidolgozására.

Négy napra sikerült csökkenteni a bioakkumulációs tesztet, fehér mustárt (*Sinapis alba*) közvetlenül a csírázás után alkalmazva, és mindössze 5 g talajt igényel. Az első 4–5 napban a növények maximális fémtartalmú és már elemezhető mennyiségű biomasszát hoznak létre. A felvett fém mennyiségét, koncentrációját a növényben kémiai analízissel (ICP-AES módszerrel) határozzuk meg, hidrogén-peroxidos feltárás után. Ezt a fémtartalmat azonosítjuk a tápláléklánc szempontjából kockázatos mennyiséggel.

A talajoldatba került, biológiailag felvehető fémtartalom mérésén kívül ez a teszt alkalmas célnövények fémfelvételenek tesztelésére és az ebből adódó kockázat meghatározására is. Ilyenkor a vizsgálat során a kifejlődött növények gyökerét és szárát külön választjuk, hogy lássuk, hogy a növény a föld alatt elhelyezkedő gyökerében, vagy a föld felett elhelyezkedő szárban (hajtásban) akkumulál-e nagyobb mennyiségű fémeket. A föld feletti növényi részek környezeti kockázata nagyobb, mivel a növényevő állatok főként ezeket a részeket fogyasztják, így az itt akkumulálódott fémmennyiség könnyebben bekerül a táplálékláncba. Ha egy növény nagy mennyiségben képes a föld feletti részébe szállítani és akkumulálni a fémeket, akkor az fitoextrakcióra alkalmazható lehet. Azaz a teszttel előszelektálni lehet a fitoextrakcióra alkalmas növényeket.

A kidolgozott tesztet olyan mikrokozmosz kísérletek követésére használtuk, melyekben a toxikus fémekkel szennyezett talaj kockázatát a mozgékony, biológiailag felvehető fémhányad csökkentésével (kémiai stabilizáció) érjük el. A stabilizációs mikrokozmoszban zajló folyamatok követésére és értékelése hagyományosan kémiai módszereket alkalmaztak volna, mi az új módszer kidolgozása nélkül is integrált metodikát, vagyis kémiai és biológiai tesztek kombinációját alkalmaztuk ennek a kísérletnek a követésére, konkrétan különféle erősségű savakkal történő kioldás utáni analízist és direkt érintkezést biztosító bakteriális, növényi és állati toxicitási teszteket. Ebbe a már korábban kidolgozott módszeregyüttesbe integráltuk a gyors akkumulációs tesztet. Eredményeit a 2.2.3. fejezetben mutatjuk be. Célunk az is, hogy a bioakkumulációs teszt eredményei alapján validáljuk a különböző oldószerekkel nyert kivonat analitikai eredményeit és jellemezzük a kémiai modelleket.

### 1.2.2. Zárt palack teszt a talajlégzés mérésére és a biodegradáció jellemzésére

Talaj mikrobiológiai aktivitásának mérésére egyik eljárás a zárt palack teszt, mellyel mi elsősorban a talajban folyó biodegradációt teszteltük. A nyomásmérésen alapuló zárt palack tesztet már régóta használják szennyvíziszapok és szennyvizek, biológiai aktivitásának, biológiai oxigén igényének meghatározására, azonban a talajvizsgálat területén nem terjedt el<sup>6</sup>. Az ismert eljárások vagy túlságosan időigényesek vagy nagy műszerezettséget kívántak, és ez megdrágította őket<sup>7</sup>. Az *OxiTop Control légzésmérő rendszert* (1. ábra) és a BOI mérés elvét talaj jellemzésére alkalmazzuk. Az egyszerű készülékben, az oxigénfogyásból eredő nyomáscsökkenést mérjük az edény kinyitása nélkül, távérzékeléssel. Ebből a készülék képes egyéb mennyiségek (pl. oxigénfogyasztás, széndioxid termelés) meghatározására. Méréseinkben a nyomásváltozást alkalmazzuk végpontként, mert így tágabb lehetőség nyílik további mennyiségi összehasonlításokra, pl. légzésintenzitás-gátlás értékek százalékos meghatározására.

<sup>6</sup> Isermeyer, H. (1952) Eine einfache Methode zur Bestimmung der Bodenatmung und der Karbonate im Boden. Z. Pflanzenern. Bodenk., 56: 25–38

<sup>7</sup> Alef, K. (1995) Soil respiration. In: Alef, K., Nannipieri, P. (eds.). Methods in applied soil microbiology and biochemistry, pp. 214–219, Academic Press, London, UK



1. ábra. Az OxiTop légzésmérő rendszer kis mérőedénnyel (100 ml), és a nagy (1000 ml-es) mérőedénnyel

A mérés a talajban élő mikroorganizmusok aerob légzése során felhasznált oxigén fogyását, és az ezzel arányosan növekvő, kilélegzett szén-dioxid mennyiséget követi. A szén-dioxid a talajminta fölötti légtérbe kerül, ahonnan a légtérbe helyezett NaOH megkötí. Mivel az oxigén fogy, és a keletkező szén-dioxidot elnyeletjük, az edény légterében a légzés hatására nyomáscsökkenés figyelhető meg, amit a mérőfejben elhelyezett nyomásmérő mér.

Az OxiTop készülék alkalmazásának metodikai megalapozásánál több modell-esetet vettünk figyelembe: 1. Biodegradáció indikálása és mennyiségi jellemzése a talajban, melynek alapján a talajt szennyező a anyagok remediálására biodegradáción alapuló technológia választható. 2. A talajban lejátszódó biológiai folyamatok, elsősorban a talajmikroflóra adaptációjának időbeni követése. 3. Beavatkozások hatásának vizsgálata a kezeletlen talajokhoz képest.

Az alkalmazásokkal kapcsolatban nem áll rendelkezésre útmutató vagy szakirodalom, ezért első lépésként meghatároztuk az ideális mintamennyiségeket, a megfelelő mintakezelési eljárásokat, a mérés időtartamát, az edény illetve a gáztér optimálisméretét. Ellenőriztük a mérések reprodukálhatóságát bizonyítva ezzel a talajmintákra vonatkozó megbízható alkalmazást. Az egyik konklúzió az, hogy a 100 ml-es edény eredményeinek szórása valamivel nagyobb, viszont ugyanannyi mintából több párhuzamos mérés végezhető, összehasonlítva az 1000 ml-essel. Tehát a választás a mintamennyiség függvénye.

**A biodegradációt** egy közepesen (transzformátorolaj) és egy nehezen biodegradálható (pentaklór-fenol: PCP) szerves anyaggal szennyezett talajban vizsgáltuk. A biodegradációs vizsgálatoknál a szennyezőanyag mikrobák általi bontásának hatására bekövetkező légzésintenzitási jel erősödése, valamint a légzésintenzitás-növekedés százalékos meghatározása volt a célunk, egy minimalizált kontrollhoz (csak tápsó adalék) viszonyítva.

A biodegradáció meglétének bizonyítására és követésére 2 napos tesztet alkalmaztunk. A transzformátorolaj biodegradációjánál bizonyítható volt, hogy még 60 000 ppm-es koncentrációban is folyt, ráadásul koncentrációarányosan, tehát a talaj-mikroorganizmusokat nem gátolta a túl nagy koncentráció. Ezzel, remélhetőleg egy megkövesedett szakmai tévhitet sikerül eloszlatnunk, ti. azt, hogy tömény szennyezettség esetén nem alkalmazhatunk biodegradációt.

**Az adaptáció tanulmányozására** is transzformátorolajjal és PCP-vel szennyezett talajokat vizsgáltuk. Zárt mikrokozmoszban követtük az adaptációt (a nyomásváltozás jelek időbeni mérésével) 12, 24, 36 és 48 órás adatsorok összehasonlításával. A mikrokozmoszok másik részében már a mérést megelőzően adaptáltattuk a talajt a szennyezőanyaghoz és utána tanulmányoztuk a talajlégzést. Mindkét megoldás esetén követhető volt az adaptáció, a metodikaválasztás az esettől és a szennyezőanyagtól függ, és természetesen az adaptációs folyamat jellemzőitől, típusától. A szerves szennyezőanyagoknál a biodegradáció megindulása és mértékének növekedése jelentette az adaptációt.

**A beavatkozás hatásának** mérése még dinamikusabb válasz mérésén alapul. A háttérkísérletben olyan „technológiai” paraméterek és adalékok összehasonlító vizsgálata történik, melyek eredményei már a technológia-alkalmazást, illetve technológiaválasztást támogatják.

Mérhetjük a tápanyag-kiegészítők, a hozzáférhetőség-javítók, a hígító anyagok, a nedvességtartalom és a hőmérséklet, stb. hatását a biodegradációra, illetve az adaptációra. A kísérletek eredményeiből a 6. *Melléklet* mutat be néhányat.

### 1.3. Környezettoxikológiai módszerfejlesztések és alkalmazások

Továbbfejlesztettük az alkalmazhatóság felé a talajlakó állati tesztorganizmusokkal végzett tesztek. Elsősorban „direkt kontakt tesztek” kidolgozásával és tökéletesítésével foglalkoztunk. 1. Egy teljesen új, környezettoxikológiai célokra még soha nem használt végpont, a „hőtermelés” lehetséges alkalmazásait vizsgáltuk tovább a legígéretesebb tesztorganizmusokkal, egy újabb németországi „vendégkutatás” során. 2. Az állati tesztorganizmusok a kockázatfelmérés során, az „ökoszisztémára előre jelezhetően károsan nem ható koncentráció” (PNEC) meghatározásában játszanak hiánypótló szerepet, ezzel kapcsolatban célunk egy eddig nem alkalmazott tesztorganizmus, a *Panagrellus redivivus*, egy nematóda (fonálféreg) alkalmazása a talajtoxikológiában, kontakt tesztként.

A nematódák törzse fajgazdagságban a rovarok törzsével vetekszik. A szárazföldi szabadon-élő nematódákat a legtöbb irodalom tulajdonképpen vízi élőlényeknek tekinti, mivel a talajszemcséket borító folyadékfilmben élnek. A *Panagrellus redivivus* (2. ábra) szárazföldi, szabadon-élő ovovivipar (elevenszülő) fonálféreg (0,75–2 mm). Főként erjedő, bomló anyagokban, talajban található.



2. ábra. A *Panagrellus redivivus*

Már a 80-as években megállapítást nyert, hogy a nematódák érzékeny bioindikátorai lehetnek különböző talajszennyezettségeknek, valamint laboratóriumi toxicitási tesztekben való alkalmazásuk is megalapozott<sup>8</sup>. Permeábilis kutikulájuknak köszönhetően közvetlen kapcsolatba kerülnek a pórusvizekben található xenobiotikumokkal.

#### 1.3.1. *Panagrellus redivivus* direkt kontakt talaj-teszt kidolgozása és alkalmazása

A módszerfejlesztés alapját egy vizes fázisú minták vizsgálatára kidolgozott módszer képezte, mellyel a *Panagrellus redivivus* szaporodásgátlása alapján mérhető a minta toxikus hatása. Talajból nyert vizes kivonat tesztelésére méréseink szerint a módszer nem elég érzékeny (1. jelentés).

A fejlesztés következő lépésében kidolgoztunk a talajszuszpenziók vizsgálatára alkalmas kontakt módszert, melyet higanyal különböző koncentrációban szennyezett talajokkal teszteltünk. Higanyal ( $\text{HgCl}_2$  vizes oldatával) különböző koncentrációban szennyezett talajok hatását vizsgáltuk a *P. redivivus* szaporodásgátlására. A két hetes tesztet mikrotitrátor lemezben kiviteleztek, a 80–80  $\mu\text{l}$  talajszuszpenzióval 3–3 párhuzamossal. A koncentráció-válasz görbe alapján meghatározott 20 ill. 50 %-os gátlást okozó koncentráció értékek ( $\text{EC}_{20}$ ,  $\text{EC}_{50}$ ) azt mutatták, hogy a szaporodásgátlás vizsgálatával talajszuszpenzióban érzékenyebb módszerhez jutottunk, mint a vizes kivonatok tesztelésével, azonban még mindig nem elég érzékeny a módszer a talajok jellemzésére és különbségek tételére, a legtoxikusabbak kiszűrésére viszont alkalmas (7. *Melléklet* 7.1 és 7.2. táblázat). További végpontokat kerestünk az érzékenységek növelése céljából. Olyan módszer után kutattunk, amely lehetővé tesz nagyobb mintaméretű kísérleti összeállítást és új, érzékenyebb végpont mérését rövidebb időtartamú teszteléssel.

<sup>8</sup> Sochova, I., Hofman, J. and Holoubek, I. (2006) Using nematodes in soil ecotoxicology, *Environment International*, 32(3), pp. 374–383



### 1.3.2. Hőtermelés, mint végpont *Panagrellus redivivus* tesztorganizmussal

Nematicidek és specifikus metabolikus inhibitorok hatását vizsgálták *Panagrellus redivivus* felnőtt egyedeire, mérési végpontként oxigénfelvételt, ATP termelést és hőtermelést vizsgáltak. A hőtermelés egyértelműen érzékeny végpontnak bizonyult, a három vizsgált anyagcsere jellemző közül a legérzékenyebb volt<sup>9</sup>. Talajok vizsgálatára továbbfejlesztve feltehetően érzékenyebb módszerhez juthatunk, mint a letalitási, vagy szaporodásgátlási végpontok alkalmazásakor, már csak azért is, mert a vizuális alapon történő számlálás lehetetlen a talajban.

A kaloriméter/mikrokaloriméter nem hagyományos alkalmazás esetén, különböző biológiai rendszerekben zajló anyagcseréhez és növekedéshez kapcsolható folyamatok hőváltozásának folyamatos, érzékeny és gyors megfigyelésére alkalmas berendezés. A minta lehet egy sejtalkotó, sejt, szövet, szerv, kisméretű állat vagy növény is, de összetett rendszerek vizsgálatára is felhasználható, így többek között talajok biológiai aktivitásának vizsgálatára. Az általunk használt készülék (8. Melléklet 8.1. ábra) is egy szabályozott biológiai kísérletben leadott hő mennyiségét képes regisztrálni az idő függvényében. A kísérletek eredményeként hőtermelési görbéket kapunk, melyeken az idő függvényében látható a hőváltozás mértéke  $\mu\text{W}$ -ban kifejezve. A legtöbb információt a görbe alakja adja, de végezhetünk összehasonlítást a maximális hőtermelési értékek alapján is.

Mikrokalorimetriás előkísérleteink során meghatároztuk és optimaltunk a hőtermelés teszteléséhez megfelelő nematóda tenyészet mennyiségét és sűrűségét, illetve a talaj-nematoda törzsszuszenzió arányt. Így a szennyezett talajokkal folytatott további kísérletek során minden esetben 1 g talajmintát és standardizált nematóda-szuszenziót alkalmaztunk a teszteléshez.

A mérőrendszerben higanyal szennyezett talajokat és szerves szennyezőanyagot tartalmazó talajokat vizsgáltunk; transzformátorolajat (15 000 ppm), egy PAH-ot (fenantrén: 250 és 500 ppm) és egy peszticidet, a cipermetrint (900 ppm). Az eredményeket a 8. Melléklet 8.2. ábra mutatja.

A *Panagrellus redivivus* hőtermelése, az 1000 ppm koncentrációban higanyal szennyezett talaj hatására a kontroll (szennyezetlen talaj) érték 47%-ára csökkent 3 óra elteltével. Összehasonlítva a számlálással nehezen meghatározható és két hetet igénylő hagyományos végponttal, a hőtermelés 3 óra alatt eredményt ad és képes differenciálni a toxikus minták között, míg a pusztulás mind 1000 ppm, mind 500 ppm koncentráció hatására 100%-os volt. A szerves szennyezőanyagokkal szennyezett talajoknál a legtöbb esetben a hőtermelés mértéke a kísérlet első szakaszában (2–10 óra) sokkal nagyobb, mint a kontroll érték. A görbe lefutása hasonló a kontroll mintánál láthatóhoz, azonban az oxigén elfogyását jelző letörési szakasz jóval hamarabb jelentkezik, mint a szennyezetlen (kontroll) mintáknál. Ez a szerves szennyezőanyagokkal szennyezett talajokban mért nagyobb hőtermelés, nagyobb metabolikus aktivitásra utal, ami a szennyezőanyaggal szembeni védekezési mechanizmus belépését jelzi. Vagyis a toxikus anyag jelenléte előidéz egy olyan reakciót, amely nagymértékű hőtermeléssel – metabolikus aktivitással – jár és az oxigén korai elfogyását, így a kontrollhoz képest korábbi pusztulást okoz. A hőtermelési görbék alakja a szennyezés fajtájától és mértékétől függően eltérőek. További kísérleteket tervezünk annak kiderítésére, hogy a görbealak milyen tényezőktől függ.

A nematódán kívül egy egysejtű (*Tetrahymena pyriformis*), egy rovar, a Collembolla (*Folsomia candida*) hőtermelését (hőtermelés változását) is vizsgáltuk mikrokaloriméterben. Megállapítottuk, hogy az egysejtű toxikus hatásra bekövetkező hőtermelés-változása alkalmas tesztvégpont a Nematódáéhoz hasonlóan, a *Collembola* hőtermelése és annak változása viszont nagyon kicsi, közel nulla, ami elméleti érdekességgel bír.

### 1.3.3. Biolumineszcencia-gátlási teszt továbbfejlesztése FLUOstar OPTIMA luminométerrel

Kutatási munkánk a *Vibrio fischeri* bakteriális biolumineszcencia gátlási teszt vizsgálatára és alkalmazására irányul, melynek segítségével a kockázatot jelentő vegyi anyagok hatását lehet mérni a környezeti elemekben. A baktériumok a legtöbb ökoszisztéma fontos elemei, az elemkörforgalmak-

<sup>9</sup> Butterworth, P.E., Perry, R.N. and Barret, J. (1989) The effects of specific metabolic inhibitors on the energy metabolism of *Globodera rostochiensis* and *Panagrellus redivivus*, *Revue de Nematologie*, **12**(1), pp. 63–67

ban a bontó, mineralizáló szerepet játsszák, ezért közvetlenül érintkeznek a szennyezőanyagokkal, így alkalmasak a szennyezettségből adódó kockázat korai jelzésére.

A *Vibrio fischeri* toxicitást a baktérium által termelt fényintenzitás gátlása alapján tesztelik. A szennyezőanyagok toxikus hatásának mechanizmusa az egyes eljárásokban alapulhat a sejtfelszíni receptorokkal való kölcsönhatáson, a sejtmembrán funkciójának szétesésén, a sejtkomponensekkel való kémiai reakción vagy enzimrendszerek gátlásán<sup>10, 11</sup>. A kutatás-fejlesztés 2. szakaszának célja a már korábban kidolgozott és alkalmazott direkt kontakt teszt hatékonyabb alkalmazása, nagyszámú mérésre képes új készülékkel a FLUOstar OPTIMA luminométerrel, melyet a LOKKOCK projekt keretében szereztünk be. Vizsgáltuk az új mérőrendszer toxikológiai célokra való alkalmasságát, használhatóságát, erősségeit, gyengeségeit és összehasonlítottuk a korábban a tanszéken kidolgozott és alkalmazott módszerrel és készülékkel<sup>12</sup>. Optimaltunk a tesztmódszer szinte minden paraméterét. A két műszert összehasonlítva, a mintaelőkészítés és a hígítási sorok készítése megegyezik, a FLUOstar OPTIMA mérőműszernél a baktériumszuszpenziót a gép adagolja, csak a mintákat kell bepipettázni a titratorlemezbe, így jelentős az idő megtakarítás. Az új műszer 96 minta mérését teszi lehetővé egyszerre, míg a réginél 50 mintát tudunk egyszerre lemérni, manuális mintacserével. További előny, hogy a FLUOstar OPTIMA műszerrel lehetőség nyílik a mérés kinetikai vizsgálatára, időben nyomon tudjuk követni a lumineszkálás alakulását. Az új készülékkel meghatároztuk az optimális mérési paramétereket és kidolgoztuk a mérés új protokollját. (A fényintenzitás-gátlás változását a rézkoncentráció függvényében, eltérő kontakt időkkel a 9. Melléklet mutatja).

Kísérletesen vizsgáltuk a koncentráció-válasz összefüggést, és meghatároztuk a koncentráció-válasz görbe felvételéhez szükséges koncentrációtartományt az egyes fémeknél. A réz esetén 600–1000 ppm, a cink esetén 800–2000 ppm, a kadmium esetén pedig 10–100 ppm koncentrációtartományban kaptunk megfelelő jelet a koncentráció-válasz görbe felvételéhez.

## 2. ÚJ MÓDSZEREK ALKALMAZÁSA ÉS INTEGRÁLÁSA MÓDSZEREGYÜTTESÉKBE

A kidolgozott módszereket már eddig is alkalmazott metodikába integrálva használtuk a mikrokozmosz kísérletek követésére, ez azt jelenti, hogy a mikrokozmosz kísérletek indítása és a módszeregyüttes alkalmazása egy és ugyanazon folyamat két részlete: 1. egy technológiai vagy kockázatszemponyjából felmerülő kérdés megválaszolására tervezett és provokált folyamat mikrokozmosz kísérletben és 2. a mikrokozmoszban zajló folyamat monitoringja a feladattól függően összeválogatott (problémaspecifikus) tesztek kombinációjával. A tesztek értékelése integrált, együttes értékelésük teszi lehetővé az eredmények helyes interpretációját.

A konkrét alkalmazások és az illeszkedő módszeregyüttesek kutatása során többdimenziós problémát azonosítottunk, ezekhez különböző komplex megoldásokat dolgoztunk ki.

Ebben a jelentésben három problémát (dimenziót) emelünk ki, és ehhez kapcsolódó mikrokozmosz kísérleteket és monitoring-metodikát mutatunk be:

1. A talaj-szennyezőanyag-bióta jellemzői és kölcsönhatásai (biológiai hozzáférhetőség, biodegradáció vizsgálata)
2. Eltérő kockázati scénáriók jellemzése, a szennyezett terület kockázati modelljéhez kapcsolódva („a talaj, mint élőhely”, „a talaj, mint a talajvizet veszélyeztető szennyezőforrás”)
3. Remediációs technológia választását és tervezését támogató tesztelések, melyek jellemezhetik a szennyezőanyag mobilizálhatóságát, biodegradálhatóságát vagy immobilizálhatóságát stb.

<sup>10</sup> Sixt, S., Altschuh, J. and Brüggeman, R. (1995) Quantitative structure-activity relationships for 80 chlorinated compounds using quantum chemical descriptors, *Chemosphere* **30**(12) p. 2397–2414

<sup>11</sup> Gustavson, K.E., Svenson, A. and Harkin, J.M. (1998) Comparison of toxicities and mechanism of action of N-alkanols in the submitochondrial particle and the *Vibrio fischeri* bioluminescence (Microtox®) bioassay, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **17** (10) p. 1917–1921

<sup>12</sup> Gruiz, K., Horváth, B., Molnár, M. (2001) Környezettoxikológia, Műegyetemi Kiadó, Budapest

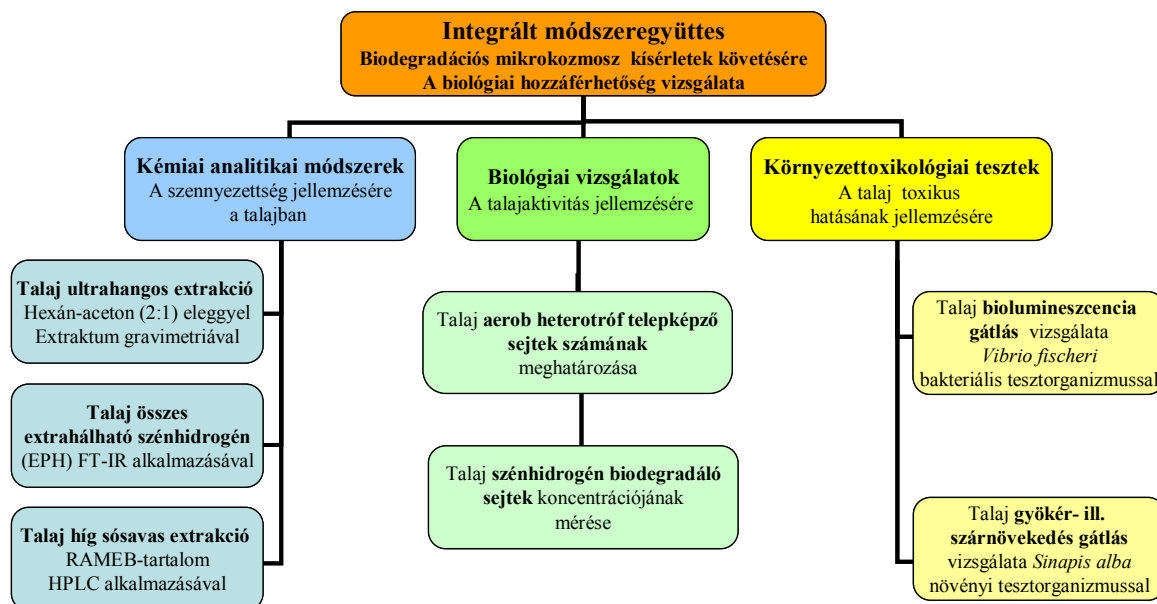
## 2.1. A talaj-szennyezőanyag-bióta jellemzői és kölcsönhatásai

A talaj-szennyezőanyag-bióta kapcsolatának, kölcsönhatásainak jellemzésén belül a talaj-szennyezőanyag viszonyt a megoszlási hányadosok jellemzik, míg a talaj-szennyezőanyag-bióta viszonyban a *biodegradáció* és a *biológiai hozzáférhetőség* kap kiemelt hangsúlyt. A lokális kockázatfelmérés szempontjából is kiemelt jelentőségű a szennyezőanyag biodegradációja és biológiai hozzáférhetősége, mely nagyban függ a helyspecifikus paramétereiktől: talaj fizikai-kémiai tulajdonságai, a redoxviszonyok, a szennyezőanyag megoszlási hányadosa a talaj fázisai között stb. A talajban a szennyezőanyag biológiai hozzáférhetőségét meghatározó fizikai-kémiai-biológiai feltételek állandóan változnak, és a technológus is befolyásolhatja azokat, például különböző adalékokkal. Egy szennyező vegyi anyag általános és lokális (helyspecifikus) biodegradálhatósága nagymértékben eltérhet a mikroflóra adaptálódása miatt.

A ciklodextrinek (CD-k) zárványkomplex-képző képességük révén alkalmasak szerves szennyezőanyagok hozzáférhetőségének modellezésére, ugyanakkor megváltoztatására (növelésére) is, ezáltal intenzifikálhatják a szennyezőanyagok biodegradációját.

### 2.1.1. Szerves talajszennyező anyagok biológiai hozzáférhetőségének vizsgálata biodegradációs mikrokozmoszban

A szerves szennyezőanyagok biológiai hozzáférhetőségét eltérő szorpciós képességű talajokban vizsgáltuk. A hozzáférhetőség további provokált változtatására ciklodextrint használtunk. Biodegradációs mikrokozmosz kísérletekben random metilezett  $\beta$ -ciklodextrin (RAMEB) hatását vizsgáltuk a dízelolaj és a transzformátorolaj biodegradációjára, különböző szorpciós képességű talajokban. Kisméretű laboratóriumi kísérletekben három, különböző fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező talajban vizsgáltuk a RAMEB hatását a dízelolaj és a transzformátor olaj biodegradációjára. Vályog-, agyag- és homoktalajokat szennyeztünk 30 000 mg/kg koncentrációban dízelolajjal és transzformátorolajjal, így teszteltük, hogy a fizikai talajféleség mennyiben befolyásolja a szennyezőanyagok biológiai hozzáférhetőségét és a ciklodextrin működését. A szilárd fázisú, statikus talaj-mikrokozmoszokhoz ciklodextrint adagoltunk a nedves talajra számított öt különböző koncentrációban: 0 %; 0,1 %; 0,3 %; 0,5 % és 0,7 %. A kísérleteket kémiai, biológiai és ökotoxikológiai módszerekkel követtük (3. ábra).



3. ábra. A ciklodextrinnel intenzifikált bioremediációt és eltérő biológiai hozzáférhetőséget modellező mikrokozmosz kísérletek követésére alkalmazott integrált módszeregyüttes

A talaj jellemzésére használt rutin vizsgálati módszereket nem tüntettük fel a módszeregyüttesben. Az eredményeket a 10. Melléklet mutatja.

Az integrált metodika eredményei jól tükrözik, hogy a talajban a szennyezőanyagok biológiai hozzáférhetőségét, biodegradálhatóságát befolyásoló tényezők száma rendkívül nagy, és folyamatosan változik. A különböző talajok eltérő fizikai-kémiai sajátosságai a szennyezőanyagok eltérő hozzáférhetőségében és biodegradálhatóságában is megmutatkoztak. A kedvező fizikai-kémiai tulajdonságú humuszos talajban intenzív volt a szennyezőanyag bontása, és a ciklodextrines kezelés előnyös hatásai is érvényesültek. Az agyagtalajban a transzformátorolaj erősen kötődik a talajszemcsékhez, emiatt és az anoxikus körülmények miatt csak később indul meg az olajbontás. Ha a háromszor két hetes vizsgálati periódust olajeltávolítás szempontjából nézzük, akkor az agyagtalaj kiegyenlített biodegradációt mutat, nem tapasztaltunk az első fázisban kiemelkedően nagymértékű degradációt, és ezt követő lassuló periódust, mint általában a kísérletek során, vagy a gyakorlatban.

A toxikológiai tesztek eredményében többféle ellentétes hatás eredménye mutatkozik meg: a szénhidrogén hozzáférhetőségének növekedése, ugyanakkor mennyiségének csökkenése, az alkalmazott ciklodextrin kölcsönhatása a szennyezőanyaggal, a talajjal, talaj mikroorganizmusával. A szennyezett agyagtalaj a kísérlet során egyáltalán nem mutatott növénytoxicitást. A szennyezett homoktalaj, mind a bakteriális, mind a növényi tesztorganizmusra toxikus, még a kísérlet végén is. Ez egyrészt a kisebb mértékű szénhidrogén biodegradációnak, másrészt a szennyezőanyag – másik két fizikai talajféleséghez viszonyított – nagyobb mértékű hozzáférhetőségének köszönhető.

Az eredmények integrált statisztikai értékelésével (ANOVA varianciaanalízis) kimutatható volt, hogy a különböző talajok között szignifikáns különbség van: a szénhidrogén-eltávolítás sebessége talajonként különböző, és az eltávolítás sebessége függ a RAMEB koncentrációjától.

### **2.1.2. Biológiai feltáró hatásokra bekövetkező kockázatnövekedés és modellezése**

Toxikus szerves szennyezőanyagok biológiai hozzáférhetőségét befolyásoló adalékok és kezelések vizsgálatára talaj-mikrokozmoszokat alkalmaztunk. A különböző mikrokozmoszokban a fenantrén és cipermetrin biológiai hozzáférhetőségét befolyásoló adalékokat és előkezeléseket tanulmányoztuk, és az emésztőrendszer feltáró hatását modelleztük. Fő célunk olyan szennyezett talajokra alkalmas kivonási eljárás (kémiai modell) kidolgozása, mely helyettesítheti az igen bonyolult, rosszul reprodukálható, ugyanakkor igen fontos emberi (állati) emésztést, az emésztés során történő szennyezőanyag-feltárodást (a gyermekek által elfogyasztott talaj az egyik domináns kockázat manapság). Olyan módszerre van szükség, mely nem becsüli alá, de túlságosan fölé sem a kockázatot, és állandó összefüggést ad a valódi biológiai válasszal, pl. a toxicitással.

Fenantrénnel (100 ppm, 200 ppm) és cipermetrinnel (900 ppm) mesterségesen szennyezett talajok hozzáférhető szennyezőanyag-tartalmát vizsgáltuk párhuzamosan alkalmazott kémiai és biológiai módszerekkel. A talajokat ciklodextrinnel valamint emésztő enzimekkel kezeltük. A fenantrén egy nagy molekulájú, apoláros PAH, melynek karcinogén és mutagén hatása van. A kezelések hatására várhatóan növekszik vízoldhatósága, ezáltal biológiai hozzáférhetősége is, melyet jelen esetben akut teszttel vizsgáltunk. A cipermetrin szelektív rovarölőszer, logKow értéke nagy, a ciklodextrinnel vízben komplexet képez. Talajba kerülve a növények felveszik, így nyomokban élelmiszereink tartalmazzák, emiatt a cipermetrin hosszú távú expozíciójának van az ember kitéve.

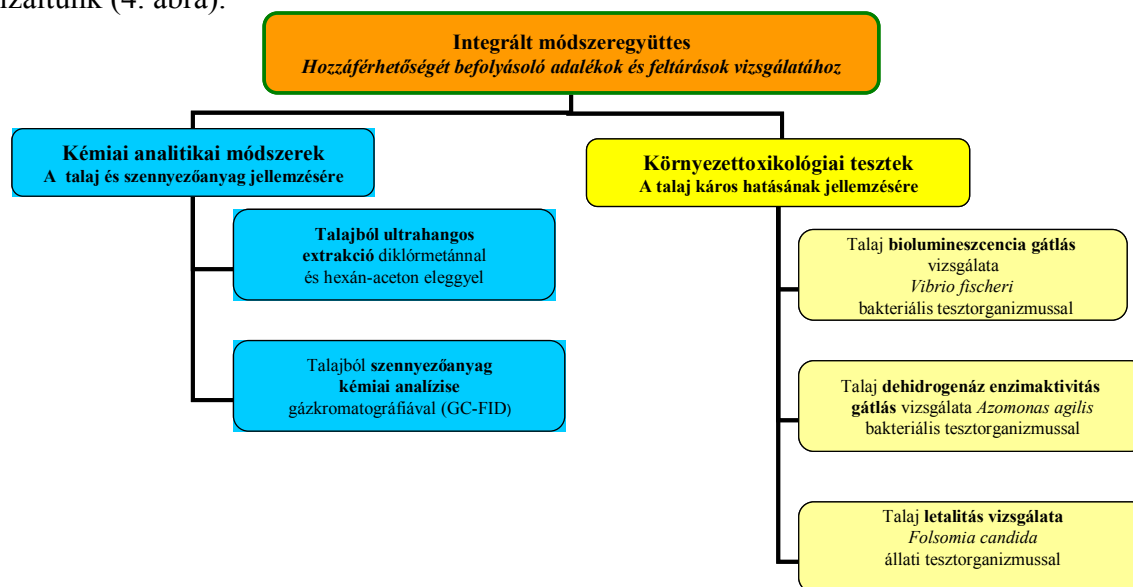
A szennyezett talajok ciklodextrines kezeléséhez – a CD vízoldhatóság és az n-oktanol-víz megoszlási hányados módosító hatásának vizsgálata alapján – a random metilezett  $\beta$ -ciklodextrint (RAMEB) választottunk a kísérletekhez; 0,5 és 1%-os ciklodextrin adagolást alkalmaztunk.

Az emberi emésztés modellezésére kétszakaszos emésztést alkalmaztunk: 1. szakaszhoz pepszin tartalmú sósavoldatot adtunk a talajhoz (1 órás emésztés), az emésztés 2. szakaszának modellezéséhez sertés epe és hasnyál extraktum  $\text{NaHCO}_3$ -os oldatát használtuk.

Az alkalmazott előkezelések megváltoztatják mind a biológiai, mind a kémiai szennyezőanyag-hozzáférhetőséget. A biológiai hozzáférhetőség nyomon követésére környezettóxicológiai tesztekkel használtunk, ehhez a teljes mintát, az eredeti mátrixban teszteltük.

Az emésztőenzimekkel kezelt talajok esetében kapott híg talajszuszpenzió toxicitását *Azomonas agilis* és *Vibrio fischeri* tesztorganizmusokkal vizsgáltuk. A ciklodextrinnel kezelt talajok esetében

szilárd mintát kaptunk, így a tesztorganizmusok körét kiterjesztettük talajlakó állatokra is (*Folsomia candida* mortalitási teszt). A kémiai hozzáférhetőség vizsgálatára az előkezelt talajokból hexán-aceton (2:1) és diklórmetánnal extrahált kivonatokat készítettünk, melyeket gázkromatográfiásan analizáltunk (4. ábra).



4. ábra Integrált módszeregyüttes a biológiai/kémiai hozzáférhetőség vizsgálatára talajban

Az eredmények megmutatták, hogy a biológiai és kémiai hozzáférhetőség gyakran eltér egymástól. A fenantrén egy viszonylag tiszta képet adott a mechanizmusról, az emésztés II. szakaszában toxikussá vált, az epesavak emulgeáló hatására átkerült a vizes fázisba, megoszlása megváltozott. Ezzel párhuzamosan megváltozott toxikus hatása is. (A fenantrénnel szennyezett, emésztőenzimekkel kezelt talaj biolumineszcencia gátlását és dehidrogenáz enzimaktivitás gátlását a 11. Melléklet 11.1. és 11.2. ábra mutatja.)

Ez arra enged következtetni, hogy a magas  $K_{ow}$ -vel rendelkező vegyi anyagok emésztésének modellezésekor, elegendő a II. szakaszt modellezni. Ciklodextrinnel történő komplexképzése vizes oldatban és talajban jól követhető, az élőlényekre gyakorolt hatása azonban már nem volt ilyen egyértelmű, melyért a tesztorganizmusok hatásért felelős receptorainak különbözősége felelős.

A cipermetrin bomlékonysága megnehezítette vizsgálatát. A cipermetrint csak a legtöményebb mintákban tudtuk kémiailag kimutatni, a tesztorganizmusokra viszont gátló hatással volt a bomlott, kémiai analízissel cipermetrinként már kimutathatatlan szennyezettség is. Erre két magyarázat lehetséges: 1. a talajmátrix hozzáférhetetlenné tette, amire magas  $K_{ow}$  és  $K_{oc}$  értéke is utal vagy 2. toxikus metabolit keletkezett. Erre választ adhat az emésztéses mintáknál kapott érdekes eredmény, miszerint a szennyezett talaj emésztése után toxikus mintát kaptunk, holott nem volt mérhető a cipermetrin tartalma, míg a talaj nélküli, tiszta cipermetrin emésztése során mérhető cipermetrint láttunk, viszont nem volt toxikus a minta egyik tesztorganizmussal sem. Ez közvetett bizonyítékul szolgál a toxikus metabolit elméletre, amit részletesebb kémiai analitikai vizsgálatokkal is érdemes bizonyítani, hiszen egy nagyon gyakran használt rovarölő szerről van szó.

Ez az eredmények is bizonyítják, hogy a kémiai analitikai vizsgálatok nem reprezentálják megfelelően a szennyezőanyag okozta kockázatot, különösen nem szabad bízni a negatív kémiai analitikai eredményekben, melyek a célzottan analizált termék hiányáról tanúskodnak. De csak arról. Környezettöxicológiai teszttel is bizonyítani kell a talaj „negatív”, azaz nem kockázatos voltát. Kiemelt fontosságú az integrált megközelítés ott, ahol toxikus metabolitokra lehet számítani.

## 2.2. Eltérő kockázati scenáriók jellemzése

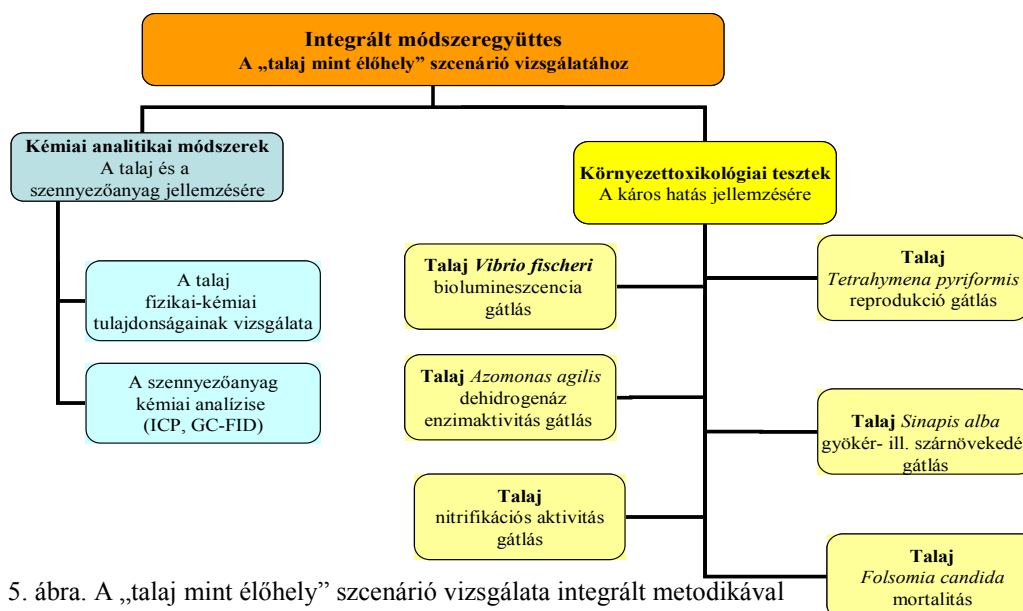
A környezettöxicológiai vizsgálatok tesztorganizmusait eltérő kockázati scenáriók jellemzésére alkalmaztuk, ezzel célunk meghatározni a legjelentősebb kockázati scenáriókhoz illeszkedő mód-

szer-típusokat és -együtteseket. Modelljeinkben minden esetben a talaj szennyezettsége áll a közép-pontban, ennek megfelelően az alábbi scenáriók kockázatának jellemzésére alkalmas metodikát alkalmaztunk kutatási munkánk során: 1. a talaj, mint élőhely, 2. a talaj, mint a talajvizet veszélyeztető szennyezőforrás és 3. a szennyezett talaj eróziójának kockázata felszíni vízre.

### 2.2.1. A „talaj mint élőhely” scenárió vizsgálata integrált metodikával

A talaj, mint élőhely vizsgálatakor a talajban élő élőlényekre gyakorolt káros hatásból eredő kockázatra koncentrálnunk. Mikrokozmosz tesztben három különböző szennyezett területről származó talajt vizsgáltunk integrált metodikával; 1. transzformátorállomás transzformátorolajjal szennyezett talaja, 2. pakura tároló medencékből pakurával szennyezett talajszerű anyag és 3. egy néhai Zn-Pb bányaterületről származó fémekkel (Zn, Cd, Cu és Pb) szennyezett talaj. Analitikai módszerekkel meghatároztuk a talajok fizikai-kémiai tulajdonságait és szennyezőanyag-tartalmát, az eredményeket a 12. Melléklet. 12.1. táblázat mutatja.

A teljes talajt mint élőhelyet direkt kontakt toxicitási tesztekkel jellemeztük. A kifejlesztett környezettotoxicológiai módszereket (nitrifikáció-gátlás, *Tetrahymena pyriformis* reprodukció gátlás) is integráltuk a „talaj mint élőhely” vizsgálatára alkalmazott módszeregyüttesbe (5. ábra).



5. ábra. A „talaj mint élőhely” scenárió vizsgálata integrált metodikával

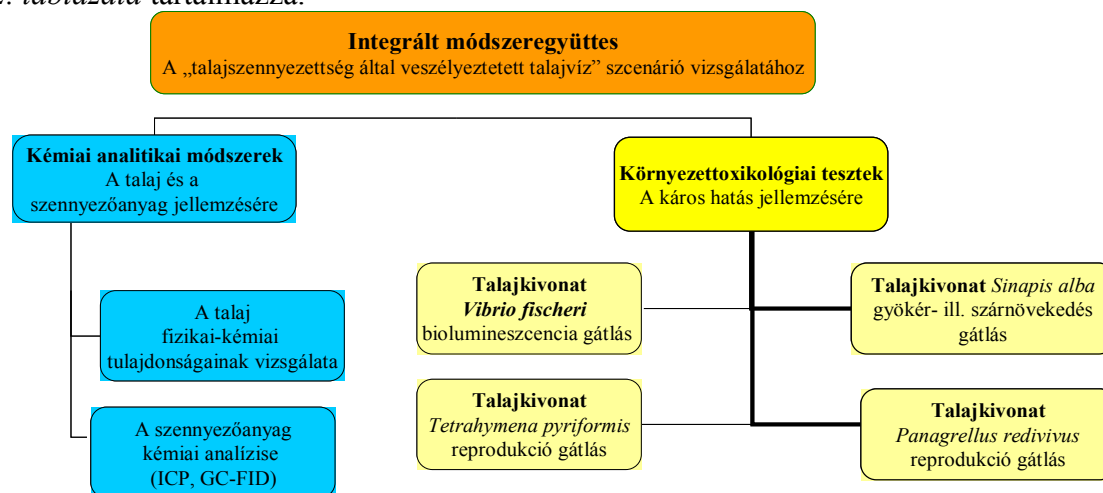
A talajt szennyező anyagok kockázatának megítéléséhez három különböző trófikus szintről származó, elsősorban talajlakó tesztorganizmusokat alkalmaztunk. A különböző tesztorganizmusok eltérő érzékenységet mutattak. A talajlakó baktérium (*Azomonas agilis*) a talajlakó állati tesztorganizmussal (*Folsomia candida*) és a növényekkel együtt jól reprezentálják a talaj szennyezettségéből adódó kockázatot. Az új teszt, mely a talajban és a talaj pórúsvizeiben egyaránt előforduló protozoát (*Tetrahymena pyriformis*) alkalmazza, jó illeszkedik a talajlakó organizmusok sorába és gyors tesztelési lehetőséggel növeli az érzékeny tesztek választékát. A növényi teszt bizonyult a legkevésbé érzékenynek, ami megszokott és logikus jelenség, hiszen a növények nem teljes felületükkel, csak gyökereikkel érintkeznek a szennyezett talajjal és komplex védekező- ill. szűrőrendszerük fejlődött ki. Összehasonlításként a széles körben alkalmazott luminobaktérium (*Vibrio fischeri*) választását is vizsgáltuk. A kísérlet eredményeit a 12. Melléklet. 12.2. és 12.3. táblázata mutatja.

Legtoxikusabbnak a transzformátor olaj mutatkozott a talaj direkt tesztelése során mindegyik tesztorganizmusra, kivéve az *A. agilis* dehidrogenáz enzimaktivitás gátlási tesztet. A pakura-szennyezettség nagy toxicitást mutatott, valamennyi tesztorganizmusra, érdekes módon, elsősorban a baktériumokra. A bányaterületről származó toxikus fémekkel szennyezett talajra, valamennyi direkt kontakt teszt érzékenynek mutatkozott.

## 2.2.2. A „talajszennyezettség által veszélyeztetett talajvíz” scenárió integrált jellemzése

A „talaj, mint a talajvizet veszélyeztető szennyeződés forrása és visszatartója” scenárió a talaj-talajvíz kölcsönhatásból, a szennyezőanyag megoszlásából és a vizes talajfázisba kerüléséből adódik. A kockázat jellemzéséhez ebben a scenárióban a talajok vizes kivonatait illetve csurgalékait vizsgálhatjuk. Az „élőhely scenárió” talajaiból (2.2.1. fejezet) 1:2 (talaj:ioncserélt víz) arányú kivonatokat készítettünk, 4 órás rázatás (200 rpm) és azt követő szűrés után. Az esővizes folyamatos kioldással való összehasonlítás még folyamatban van.

A talajkivonatok toxikus hatásának jellemzésére a növényteszt mellett, egy tengerben élő baktériumot (*Vibrio fischeri*), a talaj pórusvizeiben is előforduló állati egysejtűt (*Tetrahymena pyriformis*), valamint a talajszemcséket borító folyadékfilmben élő nematodát, *Panagrellus redivivus* alkalmaztuk. A módszeregyüttest a 6. ábra mutatja, az eredményeket a 13. Melléklet 13.1. és 13.2. táblázata tartalmazza.



6. ábra. A „talajszennyezettség által veszélyeztetett talajvíz” scenárió vizsgálata integrált metodikával

A *T. pyriformis* és *P. redivivus* állati testorganizmusok, elsősorban a reprodukciójuk a pakurával szennyezett talaj vizes kivonataira nagyon érzékenyek, a talajt igen toxikusnak mutatták. Nem mutatott gátló hatást a *Vibrio fischeri* lumineszcencia-gátlási teszt és a növényi növekedési teszt.

A transzformátor olajjal nagymértékben szennyezett talaj kivonata az állati egysejtű kivételével, minden vizsgált testorganizmust gátolt; ugyanakkor a bányaterületről származó, nehézfémekkel szennyezett talaj vizes kivonata csak a növénytesztben (*Sinapis alba* gyökér- ill. szárnövekedés-gátlási teszt) mutatott jelentős toxikus hatást.

Az eredmények felhívják a figyelmet arra, hogy a különböző scenáriók megbízható jellemzésére más-más módszer, illetve módszeregyüttes alkalmazása szükséges, olyan, amely nagy környezeti realitással rendelkezik, mintegy szimulálja a scenárió transzport- és expozíciós útvonalait. A megfelelő módszeregyüttes megválasztása természetesen a szennyezőanyag típusától is függ.

Ha összehasonlítjuk egy adott szennyezett talaj (terület) esetén kapott eredményeket, láthatjuk, hogy legtöbb esetben, a teljes talajt vizsgáló, direkt kontakt tesztekkel nagyobb toxicitást mértünk, mint a vizes talajkivonat tesztelésekor. Eredményeink világosan tükrözték, hogy a talajkivonat tesztelése csak „a talaj, mint a talajvizet veszélyeztető szennyezőforrás” scenárió jellemzésére alkalmas, „a talaj, mint élőhely” jellemzésére nem, mert alábecsüli az ottani kockázatot, ami abból adódik, hogy a víz általi hozzáférhetőség általában kisebb, mint a talajjal direkt kontaktusban élő élőlények általi hozzáférhetőség. A másik befolyásoló elem a hígítás: a talajkivonat készítése hígítást jelent, ami a dózis-hatás görbe természetéből (nem lineáris, hanem „S” alakú) adódóan azt jelenti, hogy kicsúsztatunk a hatásos koncentrációtartományból.

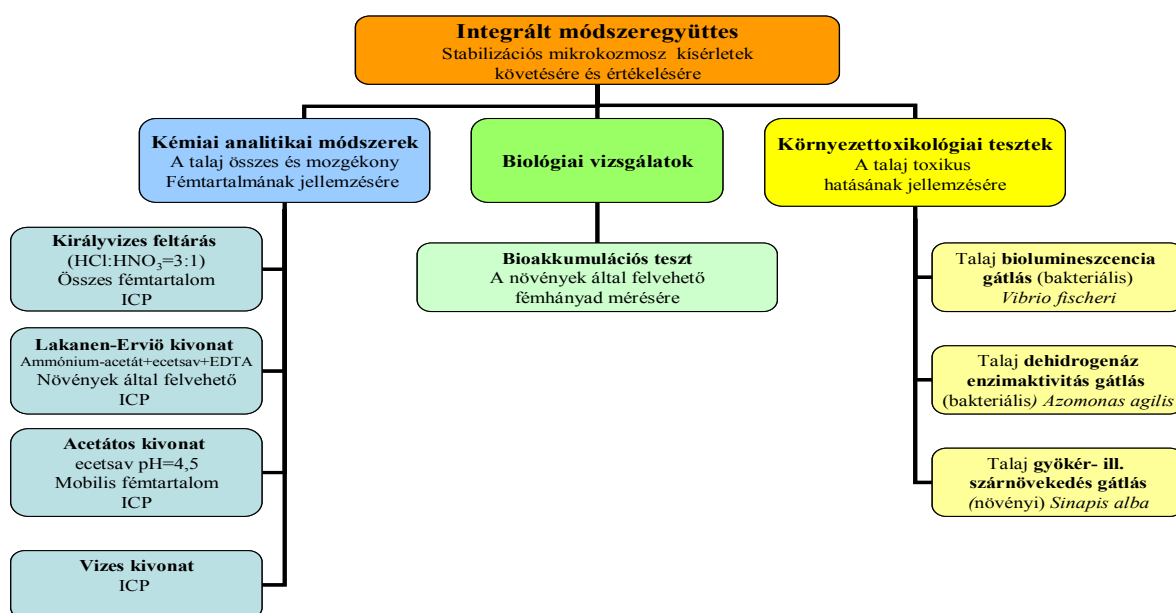
### 2.3. Remediációs technológia tervezését támogató tesztek

A remediációs technológiák kiválasztása és tervezése olyan információkat igényel, melyek a mai magyar (és európai) gyakorlatban nem szerepelnek a terület állapot- illetve kockázatfelmérési terében. Ezért gyakran előfordul az a gazdaságilag egyáltalán nem hatékony megoldás, hogy az állapot- és kockázatfelmérést követően, a remediáció kiválasztásával, tervezésével és jó esetben kivitelezésével megbízott vállalkozó szinte előről kezdi a terület felmérését. Jelen projektünkben olyan módszeregyüttesek összeállítására törekszünk, melyek a kockázat felméréseivel együtt – logikus módon – a kockázat csökkentését megalapozó jellemzőket is beilleszti a felmérési programba.

Dinamikus mikrokozmoszokkal egy sor remediációs technológia kiválasztásához és tervezéséhez szükséges paraméter kimutatását vizsgáltuk. Szerves szennyezőanyagok biodegradáción alapuló remediációjához teszteltük a levegőztetés mértékét, a tápanyagok, hozzáférhetősége-növelő adalékok, valamint a mikrobiális oltóanyag hatását. Az eredményekről összefoglaló tanulmány készült. Ebben a rövid tanulmányban egy toxikus fémekkel szennyezett talaj kémiai stabilizációs mikrokozmosz példáján mutatjuk be a technológia-orientált tesztelést, illetve a kísérlet monitoringját.

Nagy területre kiterjedő, diffúz fémszennyeződések környezeti kockázatának csökkentésére jelentős előnyökkel bírnak a stabilizációs technológiák. A stabilizálás történhet fizikai módszerekkel, kémiai adalékokkal, növényekkel vagy ezek kombinációival. A fitostabilizációt célszerű kémiai stabilizálással kombinálni, az erózióval történő transzport csökkentésére és a növények és a tápláléklánc védelmében, ezért fitostabilizáció során a talajhoz kémiai stabilizálószerrel adunk, mely a talajban csökkenti a fémek mozgékonyágát.

Az első munkaszakaszban kifejlesztett mikrokozmosz metodikát alkalmaztuk a szennyezőanyag kémiai stabilizálásának követésére. Bányászati hulladékkal (bányaudvarról) végeztük a kísérleteket. Bányászati tevékenység hatására elszennyeződött talajban vizsgáltuk a toxikus fémek stabilizációját különböző adalékanyagokkal. A szennyezett talajokat laboratóriumi körülmények között kétféle erőművi pernyével, és még 8 másik stabilizálószerrel, köztük hulladékokkal kezeltük. A mikrokozmoszban zajló folyamatokat mintavételekkel követtük. A talajminták fémtartalmának meghatározása plazmaemissziós spektrometriás elemvizsgálattal (ICP) történt eltérő hozzáférhetőségeket modellező, különböző feltárások és kinyerések után (összes és különböző mobilitású fémtartalom meghatározása). A stabilizálószerrel kezelt talajok toxikusságát két bakteriális és egy növényi teszttel vizsgáltuk. A LOKKOCK projektben kifejlesztett bioakkumulációs teszttel határoztuk meg a növények által felvehető toxikus fém mennyiségét (6. ábra).



6. ábra. A stabilizációs mikrokozmoszban zajló kísérletek követésére és értékelésére alkalmazott metodika



### *A stabilizációs mikrokozmosz integrált értékelése*

A stabilizációs mikrokozmoszból vett mintákat ökotoxikológiai és bioakkumulációs tesztelésnek vetettük alá és az eredményeket integráltan értékeltük, vagyis a kémiai és biológiai eredményeket együttesen értékeltük, elsősorban azt vizsgálva, hogy mikor csengenek egybe, és mikor mutatnak eltérést (látszólagos ellentmondást) ezek az eredmények és, hogy ezeknek mi lehet az oka. A 14. Melléklet a kétféle erőművi pernyével végzett stabilizációs mikrokozmosz kísérlet követésére és értékelésére alkalmazott integrált metodika főbb eredményeit mutatja.

A bányaterületről származó, toxikus fémekkel szennyezett talaj kémiai analizisének eredményei, a különböző kivonási eljárások után mutatják, hogy a talajban található Cd és Zn jelentős hányada mobilis. Ez a két fém a vizes kivonatokban is jelentős mennyiségben megtalálható, ami fokozottan kockázatosá teszi őket. A kivonási eljárások közül, a Lakanen-Erviö (L-E) és a vizes kivonás eredményei a leginformatívabbak. Ezek az eredmények mutatják, hogy a Cd és Zn esetén, a pernyés kezelés hatására, ezen fémek oldhatósága csökken az alkalmazott pernye koncentrációjának növekedésével, míg néhány fémnél (Pb, As) ez a tendencia megfordult, a fémek mennyisége a kivonatokban annál jobban nőtt, minél több pernye volt a talajban.

Az ökotoxikológiai tesztek eredményei több helyen ellentmondtak a kémiai analitikai eredményeknek. A bakteriális biotesztek eredményei nem tükrözték érzékenyen a talajban zajló változásokat. A *Vibrio fischeri* biolumineszcencia gátlási teszt alapján a kezelt talajok toxicitása egy kivétellel, minden esetben nőtt a kezelés után 14 hónappal. Az *Azomonas agilis* tesztorganizmus esetén is csak kismértékű toxicitás-csökkenést tapasztaltunk a kezelés hatására. A növényi növekedési teszt (*Sinapis alba* gyökér-, ill. szárnövekedés-gátlás) azonban már mutatta a csökkent mobilizáció következtében fellépő, kisebb mértékű toxicitást, sőt esetenként a gátlás teljes megszűnését. A gátlás csökkenésének mértéke ugyanakkor nem volt arányos az alkalmazott pernye-koncentrációval, mint ahogy a kémiai vizsgálatok eredményeinél tapasztaltuk.

A bioakkumulációs teszt eredményei *integrálják a szennyezőanyag mozgékonyaságából és a szennyezőanyag biológiai felvehetőségéből adódó kockázatot*. A növények növekedését és a fémek akkumulációját jellemző bioakkumulációs teszt eredményei legjobban a vizes kivonat kémiai eredményeivel egyeznek, a növényi akkumulációs teszt az L-E kivonathoz képest érzékenyebb differenciálásra volt képes Cd- és Zn esetén. Az integrált metodika eredményei alapján a megfelelő mértékű növény-növekedés és a kis fémfelvétel biztosítására mikrokozmosz kísérletekben érdemes a pernye mennyiségét optimalni. A kémiai analitikai módszerek eredményeiből nem lehet evidencia-szinten következtetni a biológiai rendszerekben zajló folyamatokra. A kémiai kivonás nem modellezi jól a biológiai rendszereket, mivel a biológiai kölcsönhatások interaktívak és nem egyensúlyi jellegűek. Azáltal, hogy a növények a talajból felveszik a fémeket és egyéb anyagokat, ezzel folyamatosan eltolják az egyensúlyt. Ezzel szemben a kivonat-készítés során a talajmintákat rázatjuk, azaz az egyensúly beállítására törekszünk. A bizonytalan és drága kémiai módszereket érdemes gyors, egyszerű biológiai mérésekkel helyettesíteni, melyek jól szimulálják a biológiai rendszereket.

A bakteriális tesztek a toxikus fémek hozzáférhetőségét mutatják, sok esetben azonban nem elég érzékenyek. A növényi gyökér- ill. szárnövekedés gátlási teszt egyrészt azzal van összefüggésben, hogy van-e növényi gyökerek számára hozzáférhető fém, de nagymértékben módosul a hatás a növényi szervezet védekező mechanizmusai (a fém immobilizálása a növényen belüli transzport valamelyik lépcsőfokán) és a talaj típusa miatt. Ugyanakkor a fitostabilizáció szempontjából úgysem a kémiailag megkülönböztethető frakciók érdekesek, hanem az, hogy fog-e növekedni a fitostabilizációra kiszemelt növény a szennyezett területen. Tehát a vizsgálat célorientált: hat-e a stabilizálószer, csökkenti-e a fémek mozgékonyaságát, növényi felvehetőségét és fog-e nőni a növény a stabilizációval kezelt talajon. A technológia sikeres alkalmazása után azonnal felmerül a stabilizációs technológia (a szennyezőanyag ott marad, kint a környezetben, csak más formában) környezeti kockázatának kérdése: mit fog veszélyeztetni ez a terület, ez a talaj, az ott növekedő növények. A növényi bioakkumulációs teszt erre ad választ, ugyanakkor a technológiát is jellemzi, hiszen megfelelően megválasztott teszt-növény a stabilizációval fordítottan arányos mennyiségű fémot vesz fel.

## 2.4. Mikrokozmoszok alkalmazásai

Mikrokozmosz kísérleteink és alkalmazások összefoglalásaként egy nagyobb lélegzetű tanulmány készül. A tanulmány tárgyalja a talaj-mikrokozmoszok osztályozását különböző szempontok szerint, így statikus és dinamikus mikrokozmoszok, természetes folyamatokat modellező és mérnöki/remediációs beavatkozásokat szimuláló mikrokozmoszok, kevert és zavartalan talajt tartalmazók, steady-state mikrokozmosz impulzusszerű kezeléssel, zárt palack teszt, átfolyós mikrokozmoszok, stb. Ezek közül a LOKKOCK projektben kifejlesztése és kipróbálásra kerültek az alábbiak:

*Természetes folyamatokat szimuláló mikrokozmoszok:*

Szerves szennyezőanyagokkal szennyezett talajra

- Adaptációs vizsgálatok
- Természetes szennyezőanyag-csökkenés, természetes biodegradáció
- Talajlégzés vizsgálata átlegegőztetett mikrokozmoszban

Toxikus fémszennyezettséggel kapcsolatban

- Bányászati hulladékkal szennyezett mezőgazdasági talaj
- Szennyezett üledékkel elárasztott talaj
- Szulfidos meddőkőzet komplex kioldása (fizikai-kémiai-biológiai) esővíz hatására
- Hosszútávú kioldás száraz és nedves időszakban
- Talaj mint szűrőréteg fémtartalmú csurgalékra

*Mérnöki beavatkozásokat szimuláló mikrokozmoszok*

Szerves szennyezőanyagokkal szennyezett talajra

- Biodegradáció intenzifikálása levegőztetéssel, tápanyag-adagolással, hozzáférhetőség növelő adalékokkal, oltóanyagok felhasználásával
- Steady-state mikrokozmoszok impulzusszerű kezelése
- Zárt palack tesztek: szennyezőanyagok biodegradálhatóságának és a biodegradáció összehasonlító vizsgálatára, adaptáció, adalékok vizsgálatára

Toxikus fémszennyezettséggel kapcsolatban

- Kioldási mikrokozmoszok
- Stabilizációs mikrokozmoszok

## 3. MODELLTERÜLETEK KIVÁLASZTÁSA

Olyan modellterületeket kerestünk, melyek a módszeregyüttesek alkalmazásának demonstrálására alkalmasak, ahol a szennyezőanyag talajfázisok közötti megoszlása, a biodegradációja és a biológiai hozzáférhetősége jelentős kockázati tényezők és ahol a kockázati scenáriók és területhasználatok is szerepet játszanak.

A mikrokozmosz kísérletekben szereplő területek alapos felmérése, a területek kockázati modelljének felvétele és a jellemző kockázatok áttekintése után két szerves anyaggal és két toxikus fémekkel szennyezett területet választottunk ki és megkezdjük ezek részletes dokumentálását és a kockázatfelmérésükhöz szükséges már meglévő adatok beszerzését és a hiányzó adatok azonosítását.

### 3.1. Szerves anyaggal szennyezett terület kiválasztása

Szerves anyaggal szennyezett terület kockázatának a módszeregyüttesek alkalmazásával történő integrált felméréséhez, eddig öt terület előzetes felmérését végeztük el, ezek közül egy bizonyult szennyezettnek és a részletes kockázatfelmérésre alkalmas modellterületnek. Ez egy PCB-mentes transzformátorlajjal szennyezett terület talaja (4. számú terület). A megfelelő terület kiválasztásához 10 szerves anyaggal szennyezett területet vizsgáltunk meg, közülük ötöt részletesebben is. Ezek közül választottunk ki kettőt részletes feltárással (1. és 2.), egyet pedig ismeretlen terület toxikológiai módszerekkel történő szűrésének demonstrálására (3.).

1. Transzformátorlajjal szennyezett terület: a Népligetben található transzformátorállomás nagymennyiségű transzformátorlajjal szennyezett. A talaj telítetlen és telített zónája egy-

aránt. A toxikus szennyezőanyag egy elkerített területen van, és kockázatcsökkentés is folyik, ugyanakkor viszont a Népliget közelsége felveti az ökoszisztéma és az ember veszélyeztetettségét.

2. Klórozott szénhidrogénnel szennyezett talaj és talajvíz. Az extrém toxicitású szerves szennyezőanyag elsősorban a vizeket és a levegőt veszélyezteti, ezért a szennyezőanyag fázisok közötti megoszlása is alapvető fontosságú kockázati elem. Mivel bioremediáció tervezése folyik, a kockázat csökkentését megalapozó megoszlás, hozzáférhetőség, és maga a biodegradáció egyaránt része lesz a vizsgálatnak.
3. Teljesen feltáratlan, peszticidekkel szennyezett területen toxikológiai eszközökkel szűrővizsgálatot végeztünk. A 15 éve használaton kívül álló növényvédőszer-raktár, keverőállomás és környéke egyetlen pont kivételével nem mutatott toxicitást. A kémiai ellenőrző vizsgálatok jelenleg folynak. Ez a terület sem lehet a részletes demonstráció színhelye, de példaként szerepeltetni fogjuk az *ismeretlen terület direkt kockázatfelmérése toxikológiai módszerekkel* témakörben.
4. Motorolajjal és más hulladék olajokkal hosszú időn keresztül szennyezett terület talaja: a 30 éve szennyezett terület jelentős szennyezettséget már nem mutat, az előző felmérés óta eltelt idő alatt a talajban bizonyíthatóan folyó spontán szennyezőanyag-bontás lecsökkentette a szennyezettséget, így annak kockázatát nem érdemes további részletes feltárással vizsgálni.
5. Pakurával szennyezett terület talaja: a terület, ahonnan a mikrokozmosz kísérletekhez használt talaj származott időközben remedialásra került, a talaj nagy részét elszállították, a terület használat gyökeresen megváltozott, a szennyezettség követésére nincs mód.

### 3.2. Szervetlen anyaggal szennyezett terület kiválasztása

Szervetlen anyaggal szennyezett terület kockázatának felmérését és az új szemléletű integrált tesztelést a Toka-patak menti területeken fogjuk alkalmazni. Előzetesen három területet teszteltünk:

1. Gyöngyösoroszi: mezőgazdasági (hobby kert) használatban lévő terület, mely másodlagos szennyező forrásból a patak által szállított üledékekkel szennyezett, mely áradáskor került a talajra. Ennek megfelelően aprózódott fémmel szennyezett kőzet vagy bányászati technológiával aprított meddőanyag szennyezi a talajt. Mindkettő könnyen mállik, fémtartalma kötöttségétől függően könnyebben vagy nehezebben táródik fel. Tehát a hozzáférhetőség alapvető faktor a területen. A terület felmérése folyik, rajta stabilizációs kísérleteket fognak indítani egy másik kutatás-fejlesztési projekt keretében, tehát a technológia hatása is követhető lesz. Mód lesz az in situ felmérési módszerek tanulmányozására és értékelésére is. Fő kockázatok a talajra kerülő hulladék mállása, kilúgzása és a növényi felvétel, valamint az ebből adódó emberi veszélyeztetettség.
2. Gyöngyösoroszi, bányaterület, a bányaudvaron lerakott bányászati hulladékon alakuló talajszerű képződmény kockázatának felmérésére. Természetes környezetben pontszerűen elhelyezett ipari létesítmény kockázatáról van szó, hosszútávon jelentkező kockázatok és természetes folyamatok hatásának felméréséről. A fő kockázati elem a pontszerű és diffúz forrásokról a felszíni vizekbe jutó szennyezettség, a mállási és eróziós folyamatok. Nagy szerepe van az ökoszisztéma adaptációjának, a növényi bioakkumulációnak és a táplálékláncok kockázattövelő hatásának.
3. Soroksár: galvániszappal szennyezett ipari terület városi környezetben. A felérés során alkalmas területnek bizonyult, a mikrokozmosz kísérletek és a monitoring metodika érdekes eredményeket hozott, de a terület átalakítása és a tulajdonviszonyok megváltozása miatt hosszabb távú kísérletekre nem használható.