

**MIKROBIOLÓGIAI AKTIVITÁS MÉRÉSE TALAJBAN  
CO<sub>2</sub> TERMELÉS ALAPJÁN**

**Elméleti bevezetés**

**BUDAPESTI MŰSZAKI ÉS GAZDASÁGTUDOMÁNYI EGYETEM**

**Mezőgazdasági Kémia Technológia Tanszék**

**2010**

# 1. BEVEZETÉS

## 1.1. A talaj

A környezeti elemek közül az ökoszisztéma szempontjából a talaj érdemli a legtöbb figyelmet, hiszen a terjedési modellek, a kockázatbecslés és a tapasztalat is azt mutatja, hogy mind az elemek, mind a nehezen bontható és apoláros szerves szennyezőanyagok végállomása a talaj.

A talaj nagy adszorpciós képességű szerves és szervetlen kolloid anyagai, az agyagásványok és a szerkezeti humuszanyagok, melyek a növényi növekedés szempontjából hasznos víz és tápanyagok megkötésében játszik szerepet, képesek a környezetünkbe kerülő szerves és szervetlen szennyezők, környezetre káros, toxikus anyagok megkötésére és tárolására is. Az egyensúlyi viszonyoknak megfelelően a megkötött anyagokat a talaj elengedheti, szennyezve a talajvizet, ill. előidézve a toxikus anyagoknak a növényekbe jutását. Ily módon toxikus anyagoknak az ökoszisztémába való bejutását okozhatja a vízrendszeren, vagy a táplálékláncon keresztül, veszélyeztetve ezzel az érzékenyebb fajokat, s magát az embert.

A szennyezőanyagok **immobilizálódhatnak** is a talajban, ami azt jelenti, hogy a szennyezőanyag fizikai vagy kémiai erővel kötődik a talaj szilárd részecskéihez. Ez a kötőerő a laza fizikai adszorpciótól a kovalens kémiai kötésekig sokféle lehet, a szennyezőanyag szinte beépülhet a talaj szerkezetét alkotó szerves vagy szervetlen mikroszemcsékbe, tehát pl. a növények számára felvehetetlen állapotba kerül.

A szennyező vegyi anyagok egy része fizikai, kémiai vagy biológiai hatásra **elbomolhat**, ártalmatlan végtermékek pl. széndioxid és víz keletkezése közben. Egyensúly alakulhat ki, ha ez a bomlás azonos sebességű a talajba kerüléssel. De ha a szennyezőanyag perzisztens, vagyis ellenáll a bontásnak, vagy a talaj saját bontó aktivitása nem tud megbirkózni a talajba került szennyező mennyiséggel, akkor a szennyezők **felhalmozódnak**, a talaj szennyezett lesz, melynek ártalmatlanításáról, remediálásáról gondoskodnunk kell.

### **Mit tehetünk egy szennyezett területtel, hogy csökkentsük a kockázatot?**

Szennyezett talajok esetében nem a remediálás az egyetlen kockázatcsökkentési lehetőség. A beavatkozás sürgősségétől és a szennyezett terület nagyságától és a költségektől függően más megoldások is szóba jönnek:

- Nem kezeljük, de kivonjuk a használatból, vagy módosítjuk a használatát
- Izoláljuk, vagy kapszuláljuk, azaz teljesen elzárjuk a környezetétől
- Kiemeljük a szennyezett talajt és megfelelő lerakóhelyre szállítjuk
- Remediáljuk a talajt; kármentesítjük, tisztítjuk, vagy kezeljük, a szennyező függvényében *in situ*, vagy *ex situ* módon.

A **remediálás** kifejezés a területet megjavítását, meggyógyítását, rendbehozatalát jelenti, a latin *remedium* = gyógyszer, segítő eszköz kifejezés alapján. Ezt a szakkifejezést használják a talaj megtisztítására és az azt követő újrahasznosításra.

### **A beavatkozás sürgőssége**

A beavatkozás sürgősségét a terület érzékenysége és a szennyezőanyag veszélyessége (toxicitás, mobilitás, stb.) együttesen szabja meg. A beavatkozás sürgősségét, több remediálandó terület esetén a prioritások meghatározását az alábbi sorrend határozza meg:

1. Vízbázisok veszélyeztetettsége
2. Potenciális vízbázisok veszélyeztetettsége
3. A szennyezőanyag gyors terjedése
4. Felszíni befogadóhoz közeli szennyeződés

A területhasználatokhoz kapcsolódóan is megadhatjuk a fontossági sorrendet. Prioritást élveznek azok a területek, ahol a szennyeződés veszélyezteti a terület jelenlegi használatát, azután következnek azok, ahol a terület jövőbeni használata veszélyeztetett. Ezután következnek a városi, a tengerparti és az ipari területek.

### **1.2. Leggyakoribb szennyezőanyagok**

A szennyezőanyag típusa, fizikai állapota és koncentrációja nagymértékben különbözhet. Mivel a talajok szennyeződései többnyire ipari eredetűek, a különböző országokban nagyon hasonló a legveszélyesebb szennyezők listája. Ezek szerint a leggyakoribb talajszennyezők az alábbiak:

- Illó- és nem illó alifás és aromás szénhidrogének
- Illó és nem illó halogénezett szerves vegyületek
- Toxikus fémek és toxikus fémek vegyületei
- Szabad és komplex cianidok
- Radioaktív anyagok

A szennyezőanyag típusán és koncentrációján kívül fontos tényező a szennyezőanyag fizikai állapota. Eszerint megkülönböztetünk:

- a talajrészecskékkel azonos, annál kisebb, vagy annál nagyobb szennyező részecskéket,
- a talajszemcsék felületéhez, folyékony filmként kötődő szennyezőanyagokat,
- a talajrészecskék felületéhez adszorpcióval kötött szennyezőanyagokat,
- a szerves talajalkotókhoz abszorbeálódott szennyezőanyagokat,
- a talajszerkezet pórusaiban szilárd, vagy folyadék állapotban jelenlévőket, és

- a talajrészecskékhez, kötött, vagy a mikropillákban lévő vizes fázisban oldott szennyezőanyagokat.

A remediálás gyakran több módszer együttes alkalmazásával oldható meg. A tisztítási módok a talaj összetevők és a szennyeződések, ill. a szennyeződést hordozó részecskék eltérő tulajdonságain alapulnak. A tisztítási technológia alapját képező szennyező-tulajdonságok az alábbiak lehetnek:

- a szennyezőanyag illékonyága,
- a szennyezőanyag oldhatósága vízben, vagy szerves oldószerekben,
- a szennyezőanyag kémiai- ill. hőhatásra történő bonthatósága, vagy stabilitása,
- biodegradálhatósága.

### 1.3. A remediálási módszerek általános bemutatása

A remediálási módszereket több szempont szerint csoportosíthatjuk.

- A remediálás helyszíne szerint *ex situ* vagy *in situ* módszerek ismertek, aszerint, hogy a talaj eltávolításával, vagy eltávolítás nélkül, helyben végezhető-e el
- Az alkalmazott kezelés típusa szerint a remediáció lehet fizikai, kémiai, termikus, vagy biológiai.
- A kezelendő környezeti elemek szerint szárazföldi ökoszisztémák esetében talaj, felszín alatti víz, vagy a kettő együttes remediálása lehet szükséges, vízi ökoszisztémák esetén a felszíni vízé és/vagy az üledéké.
- Két alapvető megoldás vezethet a kockázatos szennyezőanyagok hatástalanításához: a szennyezőanyag mobilizálása (kivonás, bontás) és az immobilizáció (hozzáférhetetlenné tétel).
- A szennyező vegyi anyag fizikai, kémiai, biológiai tulajdonságai, halmazállapota, stb. szerint.
- Aszerint, hogy egyetlen technológiát alkalmazunk-e, vagy több technológia komplexét.

#### ***Ex situ* talajkezelési technológiák**

A talajt kiásása után, vagy a szennyeződés helyéhez közel (on site), vagy talajtisztító telepre szállítva (off site) kezelik. Kis területekre kiterjedő és a vízbázisokat is veszélyeztető balesetek nyomán keletkező talajszennyeződések esetén prioritást élvez.

A szennyezés helyéről eltávolított, kiásott talaj mobilizálható szennyezőinek ártalmatlanítása leggyakrabban a következő alaptechnológiákkal, vagy ezek kombinációjával oldható meg:

- Extrakcióval összekötött osztályozás, vizes extraháló szer alkalmazásával,
- Hőkezeléssel, mely alacsony, vagy magas hőfokú deszorpciót, vagy égetést jelenthet, vagy
- Biológiai kezeléssel, mely lehet agrotechnikai (szétterítve, vagy prizmákba rakva), vagy bioreaktoros (levegőztetett betontartály, töltött oszlop, stb.) eljárás.

## ***In situ* remediációs technológiák**

Az *in situ* remediáció azt jelenti, hogy a talajt kiásás és eltávolítás nélkül, helyben kezelik. Nagyobb területeket érintő szennyeződések esetén lehetnek előnyösek, főleg a kevésbé költséges biológiai módszerek. Olyankor is célszerű alkalmazni, ha a talaj, vagy vízi üledék mélyebb rétegeiben kisebb szennyezett szigetek vannak. Az *in situ* technológiák egy másik előnye lehet, hogy a terület felszíne a mélyebb rétegek kezelése során zavartalanul használható.

Összehasonlítva az *ex situ* módszerekkel, az *in situ* módszerek egy része kevésbé költséges, hiszen megtakaríthatjuk a kiásás és a szállítás költségeit, viszont hosszabb időt vesznek igénybe, s az inhomogenitás és a visszamaradt szennyeződés nagyobb veszély jelent, mint a kiásott talajra alkalmazott technológiák esetében.

Szinte minden fizikai, kémiai, termikus vagy biológiai remediálási módszer alkalmazható *in situ* is, az alkalmazhatóságot a szennyezett talaj mennyisége és a technológia költsége limitálja.

Könnyen illó komponensek esetén a **talajszellőztetés**, vízdíható szennyezőanyagok esetén a **talaj vizes mosása** lehet az *in situ* megoldás, a talaj belsejének hőmérsékletemelése is elérhető a legkülönbözőbb, általában energiaigényes melegítési módszerekkel, de az *in situ* remediálás leggyakrabban a **biológiai talajtisztítási módszerre** alapoz, mely a mikroorganizmusok mindenre kiterjedő bontóképeségét használja ki. A biológiai tisztítás történhet a talaj saját mikrobiológiai aktivitásának kihasználásával, vagy megfelelő bontóképeségű mikroorganizmusok talajba juttatásával.

### **1.4. A szerves szennyezőanyagok mikrobiológiai degradációja (biodegradáció)**

A **biodegradáció** aerob vagy anaerob folyamat, melynek során a talaj mikroorganizmusai feltárják és mineralizálják, vagyis a növények számára ismét felvehető szerves állományba hozzák azokat a biogén elemeket, amelyek részt vesznek a szerves anyagok felépítésében, az energia raktározásában és transzportjában. Ez biztosítja a szervesanyag-produkció szakadatlanágát. A biodegradáció mértéke határozza meg egy adott ökoszisztémán belül az elemek körforgalmának sebességét.

A biodegradációt a biotechnológusok széles körben alkalmazzák a települési és termelési hulladékok komposztálásakor, szennyezett talajok, szennyvizek biológiai kezelése, tisztítása során. A biotechnológia központi folyamata a mikroorganizmusok biodegradációs tevékenysége, melyhez az optimális körülményeket a technológia biztosítja: levegőztetés, hőmérséklet, nedvességtartalom, tápanyagellátás, adalékanyagok, stb.

A mikroorganizmusok elterjedtsége a földi ökoszisztémában és a holt szerves anyagok bontására kialakult határtalan genetikai potenciáljuk alkalmassá teszi őket a xenobiotikumok

bontására is. Kis generációs idejük és gyors alkalmazkodóképességük révén szinte minden xenobiotikumot képesek lebontani, vagy energiatermeléssel összekötött folyamatokban, vagy kometabolizmus útján. A xenobiotikumok mikrobiológiai degradálhatósága nemcsak a mikroflóra genetikai képességétől és fiziológiai állapotától függ, de a xenobiotikum biológiai hozzáférhetőségétől, mozgékonyságától, vízoldhatóságától, polaritásától, más szennyezőanyagokkal és a szennyezett környezeti elem fázisaival való kölcsönhatásától, stb.

A **szennyezőanyagok biodegradálhatóságának** nagy szerepe van a környezeti kockázat felmérésében. A kockázat a biodegradálhatósággal fordítottan arányos, minél inkább biodegradálható egy szennyezőanyag, annál kevesebb ideig lesz jelen a környezetben.

A biodegradáció során átalakulnak a molekulák, megváltozik fiziko-kémiai természetük és tulajdonságaik. Az elsődleges biodegradáció mennyiségileg is meghatározható az eredeti komponensek eltűnésének követésére alkalmas analitikai módszerekkel. Szerves talajszennyezőanyagok kimutatására széles körben elterjedt a gáz- és a folyadék-kromatográfia használata nagy szelektivitásának és érzékenységének köszönhetően. Az elsődleges biodegradáció fontos jellemzője, hogy általában az eredeti komponensek toxikus tulajdonságainak elvesztésével jár.

A biodegradáció eredménye a vegyületek lebomlása, az összes szerves szén  $\text{CO}_2$  -dá való átalakulása, és/vagy szerkezeti anyagként a biomasszába történő visszatérése. Így végeredményben a biodegradáció a szerves szén, a nitrogén és egyéb makro-, mezo- és mikroelemek mineralizációjához vezet.

A **talajremediálási biotechnológiának** a mikroorganizmusok optimális működéséhez, vagyis a szennyezőanyag lehető leggyorsabb és legtökéletesebb bontásához szükséges feltételeket kell folyamatosan biztosítani. Ilyen feltételek a megfelelő nedvességtartalom, a kiegyensúlyozott tápanyagellátás és a megfelelő redoxviszonyok, aerob folyamatok esetén elegendő mennyiségű oxigén a talaj belsejében.

### **Bioremediáció**

A természetesen jelenlévő mikroflóra működésének optimalizálására, aktivitásának növelésére vízben oldott tápanyagokat és oxigént juttatunk a talajba. Az adalékok lehetnek tápanyagkiegészítők, melyek a biodegradációt segítik, és lehetnek felületaktív anyagok, tenzidek, kelátképzők, stb., melyek a szennyező biológiai hozzáférhetőségét biztosítják. Mikrobiális talajoltóanyag alkalmazása is gyakori, ha a talaj saját mikroflórája sérült, mérgezett, vagy nem képes a szennyezőanyag bontására. Az oxigénellátást vízben oldható, vagy rosszul oldódó (retard) peroxo-vegyületek, vízben oldott levegő, vagy oxigén, biztosíthatja. A bejuttatás vízrecirkuláltatással, vagy talajvízbe injektálással oldható meg.

## **Bioventilláció (talajszellőztetés)**

Ha a biodegradációhoz szükséges oxigént a talajlevegő gyakori cseréjével oldjuk meg, talajszellőztetésről beszélünk. A bioventilláció tehát a talajszellőztetésnek és az *in situ* biodegradációnak a kombinációja, amely magában foglalja a két eljárás előnyeit. Stimulálja az aerob lebontást és elősegíti az illékonyabb szénhidrogén komponensek elpárolgását. A mikroflóra biodegradációjának stimulálása elsősorban a telítetlen talajzóna esetében ajánlatos, vagy a talajvíz megtisztítását követő talajtisztítás esetén. A talaj ventillátoros átszellőztetésének a talaj hézagterefogatában akkora oxigénkoncentrációt kell biztosítani, mely a biofilmbe diffúzióval történő oxigénbejutás hajtóerejeként működőképes. A kiszívott talajgázt a felszínen össze kell gyűjteni és kezelni (megkötés aktív szénen, égetés stb). Ezért is előnyösebb a szívás a nyomással szemben.

### **1.5. A bioremediációt befolyásoló tényezők. Technológiai alapelvek**

A biotechnológusnak a talajszennyező vegyi anyag környezeti kockázatának figyelembevételével kell megterveznie a remediációt. Olyan módszeregyüttesre van szükség, mely a lehető legjobb eredmény biztosítása mellett a legkevésbé károsítja az ökoszisztémát. Előkísérletekkel kell felmérni a szennyezett talaj fizikai, kémiai és biológiai állapotát és a talajban folyó biodegradációt. Ennek ismeretében olyan biotechnológiát kell tervezni és alkalmazni, amely a talajban működő mikroorganizmusok együttesének optimális körülményeket biztosít.

Az optimális körülmények biztosítására egy sor eszköz áll a rendelkezésünkre, így a nedvességtartalom, a hőmérséklet, a tápanyagellátottság, a levegőztetés és a bontó mikroflóra kontrollált körülmények közötti változtatása. Rendkívül nagy jelentőségű az alkalmazható módszerek között az apoláros szerves szennyezőanyagok hozzáférhetőségét növelő körülmények biztosítása vagy adalékok alkalmazása (felületaktív anyagok, biotenzidek).

#### *1.5.1. A talajszennyező vegyi anyag biodegradálhatósága*

Irodalmi adatok alapján is eldönthető, de a konkrét szennyezési esetre célszerű laboratóriumi biodegradálhatósági kísérleteket végezni, a helyszínről származó szennyezett talajjal, hiszen a talaj tulajdonságai is befolyásolják a szennyezőanyag viselkedését a környezetben. A laboratóriumi biodegradálhatósági tesztek megmutatják a talaj saját mikroflórájának biodegradációs aktivitását és annak növelhetőségét is.

#### Biodegradálhatósági tesztek

A biodegradáció nyomon követésére, mértékének megállapítására szolgáló módszerek gyakran olyan detektálási technikák, amelyek direkt vagy indirekt módon mérik a szerves szén oxidációját.

- CO<sub>2</sub> -termelés és az O<sub>2</sub> -felvétel mérése

Standard módszer a CO<sub>2</sub> -termelés és az O<sub>2</sub> -felvétel mérése: ez a módszer nem vegyületspecifikus, de a szerves szén oxidációjának folyamata nyomon követhető. Segítségével mind a szennyezőanyag bonthatósága, mind a szennyezett talaj állapota és adaptációs képessége jellemezhető.

- Mineralizáció követése <sup>14</sup>C jelzett szubsztrátokkal

Kis koncentrációjú szerves molekulák mineralizációjának követése <sup>14</sup>C-jelzett származékaik segítségével is történhet. A szennyezőanyag fogyasztásával direkt módon követhető a biodegradáció.

A szerves szennyezőanyagok bontásához gyakran nem szükségesek különleges enzimek, mások viszont speciális enzimrendszerek meglétét feltételezik. Egyszerű szénhidrogének bontásához például általában inkább a hozzáférhetőséget növelő, pl. felületaktív anyagokat termelő törzsek jelenléte szükséges. Gyakran a talajban kis arányban előforduló fajok feldúsulása elegendő a könnyen biodegradálható szennyezőanyag szubsztrátként való hasznosulásához, más esetekben specifikus gén, vagy gének kombinációi szükségesek (pl. klórozott szénhidrogének, egyes peszticidek, kometabolizmussal bomló szerves vegyületek). Ezek a génkombinációk vagy képesek spontán kialakulni mutációk és *in situ* genetikai rekombinációk sorozatán keresztül, vagy nem. Ha spontán kialakult a bontásra alkalmas fajösszetétel, akkor a technológia a folyamat sebességét növelő optimalizációra szorítkozhat, ha nem, akkor a biotechnológusnak a bontóképesség kialakításáról is gondoskodnia kell (pl. talajoltás szelektált, vagy génmanipulált törzsekkel).

A biodegradációs vizsgálatoknak tehát több céljuk is lehet: a szennyezőanyag perzisztenciájának vizsgálata igen fontos, mind a kockázat nagyságának megállapítása, mind pedig a remediáció tervezése szempontjából. A remediációs technológia saját kockázatának megítélésénél is ez az egyik legfontosabb faktor, főképpen *in situ* remediációs technológia alkalmazása esetén.

**A vegyületek, szennyezőanyagok biodegradálhatósága** egy adott rendszerben számos faktor függvénye. Fontos különbséget tenni a szennyezőanyaggal, illetve a rendszerrel összefüggő paraméterek között.

#### A molekula-szerkezettel összefüggő paraméterek

A szerves molekulák biodegradálhatósága egyértelműen összefüggésbe hozható az illékonyssággal, a vízdoldhatósággal, illetve az oktanol-víz megoszlási hányadossal. Néhány további összefüggést az alábbiakban foglalunk össze:

- Általában a nagy molekulású vegyi anyagok nem tudnak áthatolni a sejtmembránon, ezért a sejt enzimatikus reakcióinak hatása lelassul, a sejten kívüli enzimek limitálják.



- A könnyen hidrolizálható észterkötések lehetővé teszik a nagy molekulák kisebbekre hasadását; ezek aztán gyorsabban biodegradálhatóak. A hidrolízis hidrolitikus enzimek hatására történik és gyakran hatékonyabb és gyorsabb, mint a kémiai hidrolízis.
- A vízoldhatóság elősegíti a vegyület transzportját és a biodegradációt.
- A terciér szénvegyületek (elágazó alifások) általában rezisztensek a biodegradációval szemben.
- A halogénnel való helyettesítés lelassítja vagy gátolja az aerob biodegradációt, pl. klórbenzol származékok esetében.
- A poliaromás szerkezeteket nehezebb biodegradálni, mint az egyszerű benzolszármazékokat, vagy mint az alifás szénláncúakat.
- Etilén-oxid származékokon alapuló felületaktív ágenseket könnyebb biodegradálni, mint a propilén-oxidon alapuló homológokat.

#### A rendszerrel összefüggő paraméterek:

- Tesztközeg: Számos tesztben (például az O<sub>2</sub>-felvételt és CO<sub>2</sub>-termelést detektáló tesztekben) fontos, hogy a tesztelendő vegyület képviselje a rendszerben az egyetlen szénforrást. Ez nem reprezentálja a természetes körülményeket, de megkönnyíti a laboratóriumi tesztelést.
- Inokulum: Egy vegyület biodegradációjának aránya és mértéke, a jelenlévő specifikus degradáló mikroorganizmusok számának függvénye. Ezért fontos, hogy megbizonyosodjunk arról, megfelelő mennyiségű és minőségű degradáló mikroorganizmus áll-e rendelkezésre. A tesztek általában egy adott beoltási szintet javasolnak.
- pH: Ha a rendszerben a pH=5 alá süllyed a mikroorganizmusok abnormális eloszlása jöhet létre. Foszfát vagy kalciumkarbonát pufferolt rendszereket lehet használni a pH beállítására.
- Oxigén: Aerob tesztekben a tesztközegben minimum 2mg/l oxigén-koncentráció javasolt.
- Hőmérséklet: A mikroorganizmusok széles hőmérséklet skálán képesek élni. Aerob mikroorganizmusoknál ez 4-35°C, míg anaeroboknál 10-65°C. Azonban rendkívül fontos a hőmérsékletet szigorú ellenőrzése, mivel szelektív hatása lehet a jelenlévő fajokra, és befolyásolhatja a biodegradáció arányát.
- Expozíciós idő: A vizsgált vegyület expozíciós ideje a sejtnövekedési arány és az enzimatikus adaptációs mechanizmusok miatt kap fontos szerepet.
- Szubsztrát-koncentráció: A toxikus összetevők koncentrációja nem érheti el azt az értéket, amely már gátolja a jelenlévő mikroorganizmusok működését.

A biodegradáció tesztelése során a céltól függően kell kiválasztani a legmegfelelőbb tesztrendszert és a detektálási módszert. Fontos azonban, hogy ezek összeegyeztethetők legyenek a tesztelendő anyag tulajdonságaival.

### 1.5.2. Mesterséges oltóanyag

Mikrobiális starterkultúrát elsősorban friss szennyezés esetében javasolhatunk, amikor a talaj saját mikroflórájának még nem volt ideje adaptálódni a szennyezőhöz, valamint olyan toxikus xenobiotikumok esetében, melyek bontásához speciális biokémiai tulajdonságú, esetleg génmanipulált törzsek szükségesek. Talajoltóanyag alkalmazása javasolt még nagyon rossz minőségű, alacsony sejtszámú, leépült talajok esetében.

### 1.5.3. Az oxigén biztosítása, a levegőztetés mértéke

Jól biodegradálható szennyező esetében természetesen bioremediációt célszerű alkalmazni. Legolcsóbb és leghatékonyabb eljárás a bioventilláció, mely a biodegradációhoz szükséges oxigént a talaj szellőztetése útján biztosítja. A szénhidrogének biodegradációjához szükséges nagymennyiségű oxigén biztosítására a talaj kismértékű szellőztetésére van szükség, hogy a hézagterefogatokban kialakuló megnövekedett oxigénkoncentráció, a biofilmben történő diffúziót megnövelje.

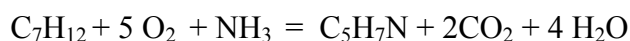
Az oxigénnek a talaj belsejébe juttatása levegővel telített víz, vagy más oxigénforrás, pl. hidrogénperoxid tartalmú víz recirkuláltatásával, vagy oxigént szolgáltató egyéb vegyületekkel is megoldható.

### 1.5.4. A talaj biológiai állapota

Ha könnyen biodegradálható talajszennyező remediálását tervezzük, meg kell vizsgálni a talaj saját bontó aktivitását és annak növelési lehetőségét. Egy sor erre alkalmas biológiai, mikrobiológiai, technológiai vizsgálati módszer alkalmazható, így az olajbontó baktériumok számának vizsgálata, a talaj széndioxid termelésének ill. oxigénfogyasztásának gyorsesztelése, a mikroflóra adaptálhatóságának, aktiválhatóságának vizsgálata a technológiai paraméterek függvényében.

### 1.5.5. A tápanyagpótlás

Az olajos szennyezők csak szénforrást szolgáltatnak a mikroorganizmusok anyagcseréjéhez. A szénforrásul szolgáló olajszennyeződés mellé a talaj tápanyagtartalékának függvényében N- és P-forrást kell adagolnunk. Ennek mennyisége az alábbi egyenlet alapján becsülhető, de kísérletesen is optimálható. Laboratóriumi és szabadföldi kísérletek bizonyítják, hogy a tápanyagpótlás minden esetben további gyorsulást okozott az olajbontásban.



Mólsúlyok                    96      160      14            113 (sejttömeg)

Ez az egyenlet egy teoretikus szénhidrogén-egység biodegradációjához szükséges oxigén és nitrogén mennyiséget mutatja. A termék részben a sejt bioszintézise során keletkező sejtanyag,

részben pedig az energiatermelés ill. a légzés maradéka. Az egyenlet kísérleti eredmények alapján született.

#### *1.5.6. A maradék*

A bioremediáció maradékának nemcsak a mennyisége de a minősége is fontos tényező. Az olaj összetételének változását vizsgálnunk kell a biodegradáció során. Az ideális mikroflóra a sokkomponensű szénhidrogén-keverék (olajos szennyező) valamennyi tagját közel azonos sebességgel képes bontani, tehát nem okoz nemkívánatos szelekciót annak összetételében, vagyis feldúsulást a nehezebben bontható, vagy toxikus komponensekben.

#### *1.5.7. Régi, nehezen bontható olajos szennyeződések*

Több éves, vagy évtizedes szennyeződés jó minőségű talaj esetében olyan adaptációhoz vezet, mely képes megbirkózni a szennyezővel, egyes szennyeződések esetén a keverék minden komponensével. De természetes körülmények között is előfordulhat, hogy a lejátszódó olajbontás előnytelen szelekciókkal jár. A mesterségesen vezetett biodegradációnál fokozottan fennáll ez a veszély. Nagy mennyiségű szénhidrogénnel, pl. fűtőolajjal, vagy nyersolajjal szennyezett területeken felhalmozódnak a nehezen bontható komponensek, az elágazó láncú, az aromás és a poliaromás szénhidrogének. Ezekhez nehezebben képes alkalmazkodni a talajmikroflóra. Ha megtörténik is az alkalmazkodás a bontás igen lassan folyik a poliaromás szénhidrogének biológiai hozzáférhetetlensége miatt. A régi szennyeződések után hosszú ideig megmaradó szennyeződések oka tehát vagy a bontó mikroflóra hiánya, vagy a szennyezőanyag hozzáférhetetlensége.

#### *1.5.8. A biológiai hozzáférhetőség*

Policiklikus aromás szénhidrogénekkal szennyezett talajban jelentkező gyenge biodegradáció bizonyított oka lehet a szennyező molekulák nagy mérete és apoláros volta és ezzel összefüggésben a mikroorganizmusok számára hozzáférhetetlen állapota. A hozzáférhetőséget maguk a mikroorganizmusok is képesek megnövelni felületaktív anyagok szintézise révén (biotenzidek).

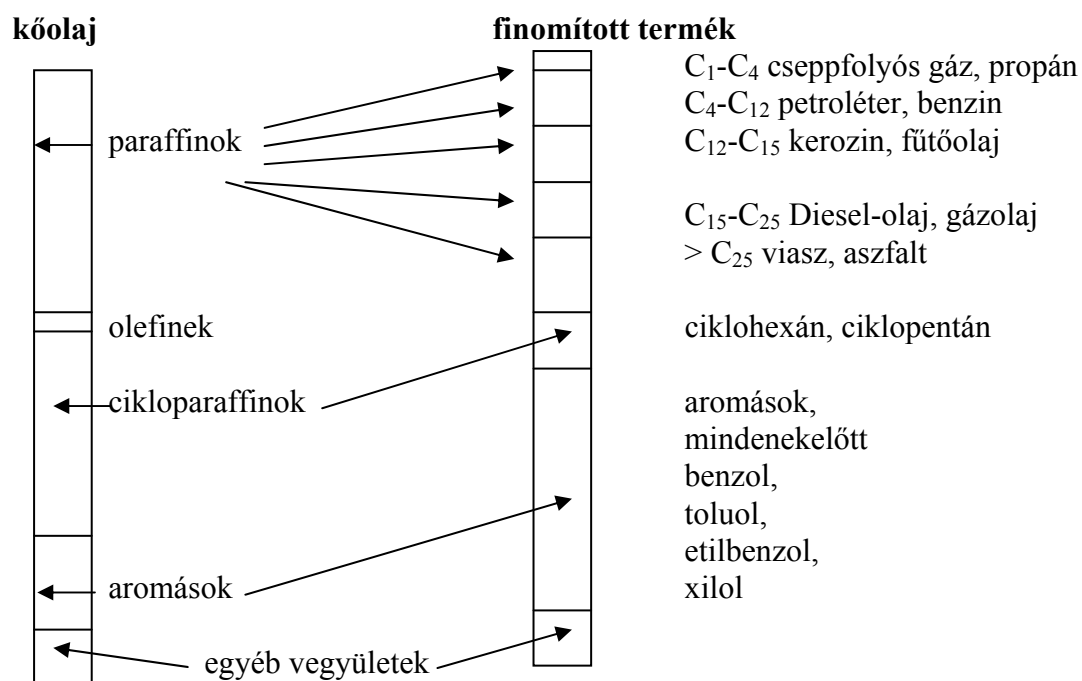
### **1.6. A kőolajszerű keverékek biodegradációja**

A kőolaj egy igen komplex keverék, a legkülönbözőbb szénatomszámú, illékonyágú, oldhatóságú és polaritású szénhidrogének széles skáláját tartalmazza, melyben kis mennyiségben oxigén-, kén-, és nitrogéntartalmú vegyületek, nyomokban pedig fémkomponensek is előfordulnak.

A mikroorganizmusok enzimreakciók útján fejtik ki hatásukat, melynek következtében a szénhidrogén biokémiai átalakul. A reakciók lehetnek oxidációs és redukációs reakciók, lehet észterhidrolízis, dealkilezés, gyűrűhasadás vagy gyűrűhidrolízis. Az, hogy melyik reakciótípus

dominál, függ mind az olajszennyezés típusától, az olaj szénhidrogén összetételétől, mind pedig a lebontásban résztvevő mikroszervezet enzimmérszletétől.

A kőolaj minden frakciója előfordul, mint gyakori szennyezőanyag a talajban, talajvízben, vízi üledékekben. A kőolaj természetes eredetű fosszilis anyag, összetételét és a belőle készülő finomított termékeket mutatja az 1.ábra. Az ábrával kapcsolatban azt kell tudnunk, hogy nincs tipikus kőolaj, az eredettől a lelőhelytől függően változik az összetétel.



1. ábra. A kőolaj összetétele és a belőle készülő finomított termékek eloszlása

A szénhidrogének közül a legkönnyebben az alkánok bonthatóak, a szénatomszámtól és vízdoldhatóságtól függően eltérő sebességgel. A talajban élő mikroorganizmusok közül sok faj, így *Pseudomonasok*, *Arthrobacterek*, *Acinetobacterek*, *Bacillusok*, *Nocardiák*, egyéb baktériumok, gombák, fonalas gombák képesek.

Az alkánok lebontásának lényege, hogy terminális oxidációval alkohol képződik (alkán-monooxidáz enzim segítségével), ezt a dehidrogenáz enzimek aldehiddé, majd zsírsavakká alakítják. A zsírsav ezután bekerül a normális béta-oxidációs folyamatba, melynek során széndioxid és víz keletkezik, miközben energia termelődik. Ha diterminálisan indul az oxidáció, akkor a keletkezett oxidált termék, a diterminális oxidáció során acetátot és zsírsavat eredményez. Az n-alkánok anaerob módon is bomolhatnak, ilyenkor a nitrátlégzés vagy a szulfátlégzés biztosítja a folyamatok oxigénszükségletét.

Az aromás szénhidrogének (BTEX: benzol, toluol, xilol) gyűrűhasításának első lépése a monooxidáz vagy dioxidáz reakció. A dioxetán intermedier keletkezése csak feltételezett. Mind a  $\text{NAD}^+$ , mind a  $\text{NADP}^+$  szerepelhet kofaktorként. A intermedierből keletkező diolt dehidrogenázok pirokatechinné redukálják.

Inert vegyületek, mint például a toluol és a fenol hidratálással, dehidrogénezéssel és dekarboxilezés-sel aktivált központi metabolittá benzoil-KoA-vá alakíthatók, majd a gyűrű protonelvonással dearomatizálható. Végül hidrolitikus gyűrűhasadás történik és a lebontás  $\beta$ -oxidációval megy végbe.

Az aromások anaerob úton is bomolhatnak hidrolízist követő dehidrogenáz és dekarboxiláz enzimműködés révén.

A policiklikus aromás szénhidrogének (PAH-ok) bontása a gyűrűszám növekedésével egyre nehezebben megy. A lebontás a dioxidázok és a dihidrogenázok reakciójával kezdődik az egyik gyűrűn, amit egy extradiol gyűrűhasadás követ. A felnyitott gyűrű lebontása során piroszőlősav keletkezik. A további gyűrűk bontása is hasonló elvek alapján megy végbe.

### **A szénhidrogénbontást befolyásoló tényezők:**

- -a szénhidrogén szennyeződés minősége, összetétele, kora,
- -a jelenlevő mikrobapopuláció mennyisége és minősége,
- -környezeti tényezők, vagyis
  - víz és ásványi anyagok jelenléte,
  - nitrogénforrás jelenléte,
  - foszforellátottság,
  - szabad ill. oldott oxigén,
  - pH, hőmérséklet.