

**A KÉMIAI ÉS MIKROBIOLÓGIAI DEGRADÁCIÓ VIZSGÁLATA
A TALAJOK SZERVES FOLYADÉK-VISSZATARTÓ
KÉPESSÉGÉNEK MÉRÉSE SORÁN**

Készítette: Somody Gergő Lajos Növényorvos MSc. I. évf.

Témavezetők: Dr. Makó András, egyetemi docens

Dr. Csitári Gábor, egyetemi docens

Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Növénytermesztéstani és Talajtani Tanszék

TARTALOMJEGYZÉK

TARTALOMJEGYZÉK.....	2
1. BEVEZETÉS	3
1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
1.1 A kőolaj és a kőolajszármazékok jellemzése	4
1.2 A kőolajszármazékok felszín alatti terjedését meghatározó folyamatok	6
1.3 A kőolaj és a kőolajszármazékok kémiai és mikrobiológiai degradációja.....	12
1.4 A talajok szerves folyadék-visszatartó képességének mérési és becslési lehetőségei	20
1.5 A szénhidrogén-bontás meghatározásának lehetőségei	21
1.5.1 Kémiai analitikai módszerek.....	22
1.5.2 Mikrobiológiai módszerek	23
2. SAJÁT VIZSGÁLATOK	28
2.1 A vizsgálatokhoz felhasznált anyagok és módszerek.....	28
2.1.1 A vizsgálatban alkalmazott talaj és modellfolyadék jellemzői	28
2.1.2 A talaj mikrobiológiai aktivitásának meghatározása	29
2.1.3 A talajminták olajvisszatartó képességének meghatározása	30
2.1.4 A vizsgálatban alkalmazott modellfolyadék gázkromatográfiás analízise	32
2.1.5 Az eredmények értékeléséhez felhasznált statisztikai módszerek	34
2.2 A vizsgálatok eredményei és értékelésük.....	35
2.2.1 A talajok által a különböző nyomásokon visszatartott szerves folyadék mennyiségének jellemzése.....	35
2.2.2 A minták mikrobiológiai aktivitásának értékelése.....	36
2.2.3 A modellfolyadék gázkromatográfiás analízisének eredményei	39
3. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	45
4. ÖSSZEFOGLALÁS	47
5. IRODALOMJEGYZÉK	49
6. MELLÉKLETEK	55

1. BEVEZETÉS

A szerves folyadék szennyezések felszín alatti terjedését leíró szimulációs modellek legfontosabb hidrológiai paraméterei a talaj folyadék-visszatartó és -vezető képessége. Az olajvisszatartó képességet többnyire a fizikai féleségéből kiindulva képzett tapasztalati átlagértékek, irányszámok segítségével számítják (CONCAWE, 1979) vagy a mért vagy becsült víztartó képesség értékekből becslik a Leverett függvény (LEVERETT, 1941) segítségével (AMYX et al., 1960).

A talajok hidrológiai tulajdonságai szoros összefüggésben vannak a talajok egyéb, könnyebben, gyorsabban meghatározható tulajdonságaival (térfogattömeg, humusz és mésztartalom stb.). Ezek az összefüggések leírhatók függvényyszerű kapcsolatokkal. A folyadékok transzportját leíró talajtani paraméterek és az egyszerűbben mérhető talajtulajdonságok közötti regressziós összefüggésekre először BOUMA (1989) használta a pedotranszfer függvény (PTF) kifejezést. Magyarországon az 1980-as évek elején dolgoztak ki PTF-eket a talajok víztartó-képességének becslésére (RAJKAI et al., 1981), azonban az olajvisszatartó képességre még nincsenek teljes körűen alkalmazható pedotranszfer függvények.

Az Egyetemünk Növénytermesztéstani és Talajtani Tanszékén már több éve folynak kutatások, amelyben a talajok olajvisszatartó képességének mérési és becslési lehetőségeinek vizsgálata, a mérő és becslő módszerek fejlesztése folyik. A kifejlesztett mérőrendszer alkalmas a szerves folyadék-visszatartó képesség gyors és pontos sorozat mérésére, segítségével a becslő függvények kidolgozásához és a különböző becslési módszerek pontosságának összevetéséhez szükséges mérési adatbázis is létrehozható.

Az eddigi kutatási eredmények szerint a talajok olajvisszatartó képessége jól becsülhető a térfogattömeg, humusztartalom, mésztartalom és a talajminta mechanikai összetételének ismeretében (ELEK, 2009; MAKÓ, 2002).

A vizsgálatom célja annak megállapítása, hogy a szerves folyadék-visszatartó képesség mérések során alkalmazott modellfolyadék (Dunasol 180/220) összetételében történik-e változás biológiai és/vagy kémiai degradáció következtében. Eredményeim hozzájárulnak mind a mérési, mind a becslési módszer fejlesztéséhez és a kutatás eddigi eredményeinek pontosabb megértéséhez, értelmezéséhez.

1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1.1 A kőolaj és a kőolajszármazékok jellemzése

A kőolaj természetes eredetű szénhidrogének elegye, melyben több száz vegyületet azonosítottak, a jelenlévő szénhidrogének szénatomjainak száma 1-4-től akár 60-ig változhat, melyek paraffinok, olefinok, naftének, cikloparaffinok, acetilének, poliolefinok, cikloolefinok, aromás vegyületek, valamint oxigén-, kén-, nitrogéntartalmú vegyületek (ANTON - SIMON, 1999). A szénhidrogén molekula lehet nyílt szénláncú, telített, telítetlen, izomer, kettő-, négy-, vagy többgyűrűs vegyület, melyekben N, S, O és M (Ni, V, F stb.) atomok is lehetnek. Ezek között a legártalmatlanabbak a paraffinok, a legveszélyesebbek a többgyűrűs, zártszénláncú vegyületek (BARÓTFI, 2000).

Jelentős különbségek vannak a különböző nyersolajok és a finomított végtermékek összetételében (ATLAS, 1978). A kőolajszármazékokat a kőolaj frakcionált lepárlásával nyerik. A legjelentősebbek a benzin (szénatomszám C5-C12, forráspont 40-200°C), a kerozin (C12-C16, 200-300°C), a gázolaj (C16-C25, 300-400°C), valamint 350°C-os forráspont felett a fűtőolaj, a kenőolaj és a transzformátorolaj, melyekben adalékanyagok is előfordulhatnak (ANTON – SIMON, 1999).

Az olajszennyezés együtt jár a veszélyes szerves mikroszennyezők megjelenésével is, ilyenek a poliklórozott bifénilek (PCB), a policiklusos aromás szénhidrogének (PAH), valamint a benzolhomológ vegyületek (BTEX) (ANTON-SIMON, 1999).

Az 1. táblázat nyújt áttekintést a fontosabb fizikai és kémiai tulajdonságaikról, azokat meghatározó jellemzőkről, valamint a tulajdonság hatását a szerves folyadék-visszatartó képességre.

1. táblázat: A szerves folyadékok fontosabb tulajdonságai, melyek hatnak a talajok visszatartó képességére

Viszkozitás	Meghatározza a forráspontjuk és kristályosodásra hajlamos vegyülettartalmuk.	Minél viszkózusabb, annál többet tart vissza a talaj.
Sűrűség	Meghatározzák a vegyület tulajdonságain kívül a környezeti tényezők (pl. hőmérséklet).	Nagy sűrűségű, alacsony oldékonyságú szennyezők hosszan tartó, rejtett szennyezést eredményeznek.
Határfelületi feszültség	A felületi feszültség csökken a növekvő hőmérséklettel, de a mértékét a pH érték is meghatározhatja. Befolyásolható felületaktív anyagokkal, és gázok oldatba vitelével. A határfelületi feszültség meghatározza a nedvesítő képességet, illetve a nedvesíthetőséget.	A nagyobb felületi feszültség nagyobb kapilláris nyomást eredményez, ami több visszamaradó olajszennyezést okoz.
Illékonyság	A felszín alatti párolgás függ az olajtermék minőségétől, a nyomástól, a hőmérséklet-gradienstől és a talaj áteresztő képességétől.	Az üzemanyag-gőzök a levegőnél nehezebbek, ezek zömmel a kapilláris sáv feletti rétegben helyezkednek el.
Oldhatóság	A szerves vegyületek oldhatóságukat tekintve igen eltérők lehetnek. Oldhatóságuk a vízzel teljes mértékben elegyedő poláros vegyületektől, mint a metanol, az extrém alacsony oldódású apoláros vegyületekig, pl. a PAH-ok terjed.	Számos alacsony vízdoldékonyságú szerves oldott anyag előszeretettel hagyja el a híg vizes oldatot és feldúsulhat elsősorban a szerves anyagokban és a talajban.
Kémiai szerkezet	Valamennyi nyersolaj gyakorlatilag hasonló vegyületek elegye, de azok mennyiségi aránya különböző. A paraffinbázisú, nafténbázisú és vegyesbázisú kőolajok kémiai karakterüktől függően különböző mértékben oldódnak a vízben.	A paraffinok oldódnak legkevésbé, a naftének jobban, az olefinek és diolefinek még jobban és az aromás vegyületek oldódnak leginkább.
Kémiai és mikrobiológiai lebonthatóság	Bővebben a 2.3 fejezetben	

(US-EPA, 1996a; BARÓTFI, 2000; RISER-ROBERTS, 1998; KARICHOFF et al., 1979)

1.2 A kőolajszármazékok felszín alatti terjedését meghatározó folyamatok

A talajban a szénhidrogén szennyezések különböző mozgékonyságú formákban, a talaj mindhárom fázisában előfordulhatnak. A folyadékokra nézve telítetlen talajrétegekben gáz fázisban, vizes fázisban oldott formában, a szilárd fázishoz kötötten, elkülönülten egyes pórusokban, a talajvízen úszó olajlencse formájában, a talajvízben oldott szennyeződésként, illetve a kőolajszármazékok jelentős hányada szabad formájú, önálló folyadékfázisként (Nonaqueous Phase Liquid: NAPL) található a talaj – talajvíz rendszerben (FILEP et al., 1999).

A szerves szennyezések, így a kőolaj-eredetű szennyezések is különféle folyamatokon mehetnek keresztül.

A talaj felszínéről:

- folyadékfázisként történő elfolyás
- víz és/vagy szél erózió általi elszállítódás a talajrészecskék felületére adszorbeálódott állapotban
- fotokémiai degradáció
- a légkörbe történő elpárolgás.

A talajba beszivárgott vegyületek a gravitáció és a kapilláris erők hatására terjednek egyre mélyebbre. Amennyiben a talaj olajvisszatartó képességét nem haladja meg a hozzáfolyás mértéke, a szénhidrogének a talajrészecskékhez kötődhetnek, és az egész folyadéktömeg immobilissá válhat (DRAGUN – BARKACH, 1999).

Ehhez hasonlóan kialakulhat ún. maradvány NAPL telítettség is, amikor a felszín alatt lefelé terjedő szénhidrogén idővel egyre lejjebb jut a talajban, maga után hagyva a szennyezés egy nehezen eltávolítható nem összefüggő felületet alkotó részét (DRAGUN – BARKACH, 1999).

A talaj áteresztő képessége meghatározhatja az olajtest alakját. Ha az áteresztő képesség kicsi, az olaj az oldal irányban is ható kapilláris erők hatására szétterül, ha viszont nagyobb, akkor az olajtest alakja változatlan marad. A finom szemcsékből álló agyagos fizikai féleségű, igen kis áteresztő képességű rétegek akár teljesen megállíthatják az olaj terjedését, mielőtt az elérné a kapilláris zónát. Ha a szerves folyadék mennyisége meghaladja a talaj olaj-visszatartó képességét, a szerves folyadék elérheti a talajvizet és vízre vonatkoztatott relatív sűrűségétől függően annak felszínén, vagy a talajvíz réteg alján a vízzáró rétegek felületén halmozódhat fel, a vízzoldható összetevők pedig beoldódnak a talajvízbe (BARÓTFI, 2000; MACKAY et al., 1985; MULLIGAN - YONG, 2003; US-EPA, 1996a; US-EPA, 2003).

A visszamaradó összetevők sokkal sűrűbbek és sokkal kevésbé mozgékonyak lehetnek. Az illékony vegyületek a gázfázisban sokkal távolabbra juthatnak, az oldottak pedig a talajvízzel mozoghatnak, elszennyezve így az ivóvíz-készleteket is. Az US-EPA (2003) tanulmánya alapján a benzinnel szennyezett területen a kőolaj-származék 64%-a maradt a szabad fázisban, nagyon kis része (1-5%) szennyezte a talajvizet. A szabad fázis remediációja alig 50%-ban lehet sikeres, a maradék mennyiség a kötött fázisban állandó forrása lehet a felszín alatti vizek elszennyeződésének.

A különböző fázisok létrejötte és viselkedése szempontjából kiemelkedően fontosak a felületi megkötődési jelenségek. A szorpciós jelenségeknél szerepet játszik a talaj olajmegkötő képessége, azaz az olajok és a talajkomponensek adszorpciós és kemoszorpciós kölcsönhatása (BARÓTFI, 2000).

Az adszorpciós és deszorpciós folyamatok szempontjából döntő a talaj szilárd fázisának összetétele (fizikai félesége, agyagásvány összetétele, humusztartalma, az agyagásványok minősége, az agyagásványok felületét telítő kation típusa, a kation kicserélődési kapacitása stb.) (BRUCE, 1993; ALEXANDER, 1994).

A szerves anyagok, humuszanyagok jelenléte fontos egyrészt az apoláros, hidrofób szénhidrogének adszorpciója szempontjából, másrészt a humuszosság, mint a talajok szerkezetességének egyik meghatározó paramétere - hatással lehet mindazokra a folyadékmozgási és megkötődési folyamatokra, melyek a talajok szerkezetességével összefüggnek. A negatív töltésű vegyületek mérsékelten kötődnek szerves felületekhez, de alig az agyagásványokhoz. A semleges szerves vegyületek elsődlegesen kötődnek a szerves fázishoz (főleg a hidrofób szerves vegyületekhez), agyagásványokhoz és amorf ásványokhoz (pl. vas-hidroxid) (PETTYJOHN - HOUNSLOW, 1983).

A talajalkotókhoz történő adszorpció meghatározza a párolgás, a diffúzió vagy kimosódás mértékét, valamint a vegyi anyagok bontásának lehetőségét kémiai vagy biológiai úton (RISER-ROBERTS, 1998).

A szilárd fázis és a szennyezés közötti kötőerő erőteljesen meghatározza a szennyezés hozzáférhetőségét (MICHELICIC et al., 1993). A talajban, a baktériumok 60%-a található a szerves anyagokkal bevont részecskéken (ami 15%-a a teljes részecske-felületnek), másrészt a homokszemeknek mindössze a 0,02%-át foglalják el (RISER-ROBERTS, 1998).

Általánosságban a szerves anyagok nagy felületük és jó kicserélődési tulajdonságaik miatt ideálisak a szerves szennyezések adszorpcióját tekintve (RISER-ROBERTS, 1998).

Az agyagásványok mennyiségének és minőségének szerepe alacsony szerves anyag tartalmú talajokon (kisebb, mint 1%) azonban jelentős lehet (DRAGUN - BARKACH, 1999).

A szerves szennyező anyagok megkötődhetnek a talaj ásványi és szerves alkotóiból felépült ún. organominerális komplexek által is. Azonban az adszorpció mértéke ebben az esetben nem egyenlő az ásványi és a szerves fázis általi megkötés összegével - melyet önálló fázisként való jelenléte esetén mérhetünk - azt többszörösen meghaladhatja (DRAGUN - BARKACH, 1999).

A hidrofób molekulák szorpciója végbemehet a külső felületen, illetve a humuszanyagok mikropórusaiban, ahol fizikai vagy kémiai erők kötik meg a molekulákat (ALEXANDER, 1994).

A szennyezők és azok metabolitjai komplexeket képezhetnek a humuszanyagokkal, vagy a szerves kolloidok reaktív felületi helyeire kötődhetnek, új molekulákat hozva így létre, melyek alig degradálhatók (ALEXANDER, 1994).

A fajlagos felület nagyságát a mechanikai összetételen túl befolyásolja az agyagfrakciót felépítő agyagásványok minősége és mennyisége (külső és belső ásványi felületek aránya), valamint a humuszkolloidok mennyisége. A talaj felületi tulajdonságai meghatározzák a mikrobák kötődési helyét (MICHELICIC et al., 1993).

Magas szervesanyag-tartalomnál általában nő a kationcserélő kapacitás. A montmorillonit sokkal erősebben adszorbeálja a szerves szennyezőanyagokat, mint a kaolinit (RISER-ROBERTS, 1998; PETRUZZELLI et al., 2010), hiszen nagy kationcserélő kapacitású duzzadó agyagásvány, így az agyagásvány belső felületeire a szennyezők bejuthatnak, bennrekedhetnek (MARSHALL, 1976).

A szennyező anyag funkciós csoportjai befolyásolhatják a szorpció mértékét. Erre jó példa, ahogyan a nyílt láncú szerves molekulák $-OH$, $-COOH$ és $-NH_2$ funkciós csoportjai könnyen alkotnak komplexet a montmorillonittal, míg hasonló molekulák melyek $-Cl$ és $-Br$ végződésűek nem alkotnak ilyet (RISER-ROBERTS, 1998).

Az adszorpciós folyamatok exotermek, a deszorpciós folyamatok endotermek, és a hőmérséklet emelkedésével az adszorpció csökken a deszorpció javára (KAUFMAN et al., 1972).

A szorpciós folyamatok ún. adszorpciós izotermákkal jellemezhetők, amelyek kapcsolatot fejeznek ki a szilárd részekhez (talaj, aktív szén, zeolit, szerves anyag stb.) kötődő molekulák mennyiségével, valamint az oldatban lévő koncentrációjukkal állandó körülmények között (SIMS – BASS, 1984).

Bizonyos esetekben a szorpció jelensége hasznos lehet a biodegradáció szempontjából. Ha egy vegyület toxikus, a szorpció javítja a biodegradációt azzal, hogy csökkenti a koncentrációt az oldatban (VAN LOOSDRECHT et al., 1990). A szorpció tárolhatja a szubsztrátot, később pedig elérhetővé teszi a biodegradáció számára deszorpcióval (RISER-ROBERTS, 1998).

A szerves szennyező anyagok komponenseinek deszorpciója fontos lehet a biológiai kármentesítés hatékonyságának értékelésében is. Amint a szénhidrogének mennyisége csökken biodegradáció vagy párolgás útján, a deszorpció által újabb egyensúly áll be a talaj különböző fázisai között (SIMS - BASS, 1984; RISER-ROBERTS, 1998).

Minél tovább marad néhány vegyület a talajban, annál ellenállóbbá válhat a deszorpcióra és a biodegradációra (ALEXANDER, 1994).

Továbbá a talaj kémhatása a poláros szénhidrogén-származékok viselkedése szempontjából döntő, az apoláros vegyületek szempontjából kevésbé jelentős. Minden vegyület erősen adszorbeálódik alacsony pH-nál, az anionos anyagok rosszabbul adszorbeálódnak gyengén lúgos környezetben; a semleges vegyületek mérsékelten adszorbeálódnak (RISER-ROBERTS, 1998).

A felületi feszültség és a pórusméretek befolyásolják azt, hogy melyik folyadék a nedvesítő és melyik nem az. Az adhéziós erő következtében a nedvesítő folyadék és a közeg szilárd felülete között vonzás léphet fel (víznél, mint nedvesítőszernél), illetve taszítás (szénhidrogén és levegő). A telített zónában a víz lesz a nedvesítő folyadék, és kiszorítja az LNAPL-okat. Amíg a nedvesítő anyag (főleg a víz) a kisebb szabad pórusokat foglalja el, addig a nem nedvesítő folyadék a nagyobbakat. Amikor egy korábban telített közeg kiszárad, egy vékony réteg adszorbeálva marad a nedvesítő anyagból a szilárd felületen (US-EPA, 1996a).

A mechanikai összetétel az ásványi szemcsék százalékos arányát jelenti. A különböző méretű szemcsék aránya meghatározza a talajok összporozitását és differenciált porozitását is, így közvetve és közvetlenül is hatással van a folyadékok és gázok mozgására, illetve visszatartására.

A nehezebb mechanikai összetételű talajok fajlagos felülete nagyobb lehet, így a vályogos és agyagos talajok folyadék adszorpciója átlagosan jelentősebb, mint a homokos talajoké.

A pórusok átmérője meghatározza a talajok kapillaritását is. Kis átmérőjű pórusokban a kapilláris emelkedés nagyobb, de lassúbb, ellentétben a nagy átmérőjű pórusoknál tapasztaltakkal (BARÓTFI, 2000). Az összporozitás a talajok pórusainak térfogat-százalékos mennyiségét fejezi ki a talajban (STEFANOVITS et al., 1999). A pórusokat kitöltő különböző fázisok lehetséges összes térfogatáról tájékoztat. A vándorlási és megkötődési folyamatok becslése szempontjából még

fontosabb a különböző méretű pórusok mennyisége a teljes pórustéren belül (differenciált porozitás). A talajmorzsákon belüli szűk pórusok tárolják, a nagyobbak vezetik a vizet, és – leürülve - lehetővé teszik a talaj levegőzését (BARÓTFI, 2000).

Ha a talajt érő olajszennyeződés mértéke 4% felett van, a legtöbb szántóföldi növény elpusztul, a talaj szabad pórustérfogatát teljesen kitölti a kőolaj (kőolajszármazék). 4% alatti olajtartalom esetén a növények hozamcsökkenéssel reagálnak. A kőolaj-eredetű szennyezések a talaj anyagcseréjét meghatározó mikrobaközösségek összetételét és működését is károsítják (ANTON – SIMON, 1999).

A térfogat-százalékos folyadék-visszatartó képesség számítható a tömegszázalékos folyadék-visszatartó képesség értékeiből a térfogattömeg ismeretében. Ez utóbbiból számítható a folyadék-telítettség értéke az összporozitás értékek felhasználásával - a víz esetében. Olajvisszatartó képesség meghatározásakor a folyadék-telítettség értéke a szerves folyadék sűrűségének figyelembevételével határozható meg (MAKÓ, 2002).

A porózus közeg telítettsége meghatározható úgy is, mint egy bizonyos folyadékkal kitöltött frakciók mennyisége a teljes pórustérfogathoz viszonyítva. A telítettség 0-100%-ig változhat (U.S. EPA, 1996a).

A biodegradációra nézve optimális víztelítettség értéke 30-90%. Az alacsonyabb értékeken megfigyelt lebontás gátlása a szénhidrogének által vezérelt víztartó képesség csökkenése miatt történik (LEAHY - COLWELL, 1990).

A kapilláris erők főleg akkor korlátozzák a NAPL mozgását, ha az olyan pórusokon halad át, ahol a kapilláris nyomások magasabbak, mint pl. a finomabb szemcsézettségű közegekben. A kapilláris nyomás fordítottan arányos a telítettséggel (US-EPA, 1996a).

Összefoglalásként, a szerves folyadékok felszín alatti terjedését meghatározó folyamatok LOFFREDO és SENESI (2006), MULLIGAN és YONG (2003), FILEP és mtsai (1999), illetve WEBER és MILLER (1989) munkái alapján a következők:

- adszorpció/deszorpció a talaj szerves és szervetlen szilárd és kolloidális alkotórészeinek közreműködésével
- a víz fázisba beoldódó vegyületekre ható transzportfolyamatok: advektív (konvektív), diffúzió, hidrodinamikai diszperzió
- gőzfázisú áramlások a vízzel nem telített pórusokban
- nem vizes fázisú folyadékáramlások
- a szénhidrogén fázis, a gáz fázis és a vizes fázis között kialakuló, az egyes vegyületekre jellemző egyensúlyi megoszlások
- a szennyezés felvétele a növények gyökere által
- mikrobiológiai lebontás, kémiai degradáció.

A szerves szennyezőanyagok degradációját segíthetik az edényes növények, algák vagy gombák is, illetve a jelenlétük segítheti a mikroorganizmusok általi szennyezőanyag lebontást is. Az ilyen módon végrehajtott kármentesítés az ún. fitoremediáció, amely különböző fiziológiai folyamaton alapulhat. A fitoextrakció során a növények a gyökérzetükön felveszik a szennyező anyagokat, melyek transzlokálódhatnak a hajtásba. Bizonyos növények képesek a hiperakkumulációra, azaz legalább 100-szoros mennyiségben halmoznak fel bizonyos vegyületeket a normál növényekhez viszonyítva. A fitodegradáció (fitoredukció, fitooxidáció, fitoasszimiláció, fitodetoxikáció stb.) során a növények átalakítják a vegyületeket kevésbé mérgező anyagokká. A rizofiltráció a vegyületeket felvételét, megkötését vagy kicsapódását jelenti a gyökérzet környezetében, ha ez a folyamat a fiatal hajtásoknál megy végbe, akkor blasztofiltrációról beszélhetünk, amennyiben a megkötést gombák, algák, vagy baktériumok végzik, akkor a folyamatot bioszorpciónak nevezzük. A fitostimuláció során a növények a mikrobák számára optimális környezetet teremtenek, így segítik a lebontást. Amennyiben a növények bizonyos szerves vegyületeket felvesznek, majd a légtérbe párologtatnak, akkor a fitovolatilizáció fogalmát használhatjuk, ugyanígy a felszínre kerülő szennyezőanyag könnyebben degradálódhat, pl. a napsugárzás által (fitofotolízis) (MCCUTCHEON - JERALD, 2003).

Bizonyított, hogy a fitoremediáció során a szennyezőanyagok gyorsabban és nagyobb arányban bomlanak le (FIORENZA et al., 2000), pusztán azért is, mert a növények alkalmazásával állandósultabb környezet teremthető (fitostabilizáció) (MCCUTCHEON - JERALD, 2003).

A szerves szennyező anyagok mennyisége a talajban csökkenhet biológiai vagy kémiai degradáció útján is. A szerves folyadékok biológiai lebontásában szerepet játszó mikroorganizmusok egy része a talajfelületen irreverzibilisen is megkötődhet. Ebben az esetben a felszínen megkötődött baktérium elveszíti flagellumát és mozgásra képtelenné válik (GRIFFITH - FLETCHER, 1991).

Ez részben előnyös lehet, mert egyes esetekben sokkal gyorsabban képes lebontani a közelében lévő szubsztrátot mint más, reverzibilisen adszorbeált organizmus. Ez utóbbi azonban képes lehet tovább vándorolni, ha a kezdeti anyagot lebontotta (KEFFORD et al., 1982).

A mikroorganizmusok felülethez történő kötődésének mértéke eltérő és nagyon komplex folyamat. Néhány, például a *Caulobacter*, igényli a szilárd felülethez való kötődést a sejtnövekedéshez és a reprodukcióhoz (SHAPIRO, 1976).

MICHELICIC és mtsai. (1993) különböző modelleket dolgoztak ki, melyek egyesítik a szorpció és a biodegradációs jelenségeket.

1.3 A kőolaj és a kőolajszármazékok kémiai és mikrobiológiai degradációja

Az irodalmi források a természetesen bekövetkező, a szennyezőanyagok koncentrációjának, tömegének, mobilitásának vagy toxicitásának csökkenését okozó fizikai, kémiai és biológiai folyamatokat természetes csökkenésnek (Natural attenuation, NA) definiálják (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2000).

Az US-EPA (1999) meghatározása szerint az NA a következő folyamatok gyűjtőneve: biodegradáció; diszperzió; hígulás; szorpció; párolgás; radioaktív bomlás; kémiai és biológiai stabilizáció; transzformáció, illetve a szennyezőanyagok degradációja.

A természetes kőolaj eredetű szennyezések csökkenése tehát számos folyamat eredménye. Azonban a fizikai folyamatok (advekción, diszperzió, fázis közötti anyagátadás) és a különböző mikrobiális folyamatok mellett szerepet játszanak a kémiai reakciók is (sav-bázis reakciók, redox reakciók, oldódás, szorpció, hidrolízis) (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2000).

Az NA felosztható úgy is, mint destruktív folyamat, amikor a szennyezés végső soron eltűnik (biodegradáció és kémiai átalakulások pl. hidrolízis), illetve mint nem destruktív folyamat, a szennyezőanyag mennyisége csökken (hígulás, diszperzió, adszorpció) (US-EPA, 1996b).

A bomlási folyamatok a szennyezőanyag mennyiségének időbeli csökkenéséhez, degradációjához vezetnek (FILEP et al. 1999).

A továbbiakban az általam végzett vizsgálat szempontjából fontos kémiai és a mikrobiológiai degradációs folyamatokat ismertetem.

A szerves vegyületek lebomlását számos folyamat vezérelheti, végbemehet biológiai és nem biológiai úton is. A hidrolízis, az oxidáció és redukció, szerves, fotolitikus, felület katalizált, szorpciós és transzport folyamatok, illetve a fotokémiai bomlás a legfontosabb abiotikus folyamatok (PETRUZELLI et al., 2010; SEPIC et al., 1995).

A fény hatására bekövetkező lebontás lehet direkt és indirekt attól függően, hogy a szerves szennyezőanyag nyeli el az energiát, vagy egy talaj alkotóelem közvetíti a számára (LOFFREDO - SENESI, 2006).

Az abiotikus veszteségek fontos szerepet játszanak a szerves talajszennyezők eltűnésében, főleg az alacsony molekulatömegű anyagok, mint a PAH-ok kevesebb, mint négy benzén-gyűrűvel és az egyenesláncú alkánok 20 szénatomszám alatt (RISER-ROBERTS, 1998).

Bizonyos aromás és alifás vegyületek abiotikus vesztesége 78%-ra tehető, 17 napos inkubáció után, szobahőmérsékleten (SEPIC et al., 1995).

Ezek a veszteségek sokkal alacsonyabbak 5°C körül, jelezvén, hogy az evaporáció a fő tényező az egyszerű vegyületek esetén, alacsony koncentrációnál. Az aromás vegyületek alacsonyabb biotikus degradációt mutattak. A fenol csak 3%-os biotikus veszteségen ment keresztül, szemben a 92%-os abiotikus veszteségével. A nagyobb molekulatömegű PAH-ok csak kismértékű abiotikus és biotikus degradációt szenvedtek el. A magasabb szénhidrogén koncentrációk csökkentik az abiotikus veszteségeket (RISER-ROBERTS, 1998).

A biotikus folyamatok végbemehetnek a magasabb és alacsonyabb rendű élőlények által. A növények általi felvétel éppolyan jelentős, mint ahogy a haszonállatok által, legeléssel eltávolított szennyezést is számszerűsíthetjük. PETRUZELLI és mtsai. (2010) szerint egy átlagos szarvasmarha egy nap, az elfogyasztott 15 kg száraz tömegű növényekkel 6 %-nyi, azaz 0,9 kg szennyezett talajt vehet magához, ami 0,1-10 mg/kg szennyezőanyag koncentráció mellett, éves szinten 30-3000 mg toxikus vegyületet jelenthet.

A mikroorganizmusok által vezérelt lebontás azonban a legfontosabb folyamat, amely vezérelheti a szerves szennyezőanyagok további sorsát a talajokban (LOFFREDO - SENESI, 2006; PETRUZELLI et al., 2010). A szerves vegyületek a talajban a mikroorganizmusok számára szénforrást jelenthetnek (PETRUCELLI et al., 2010). Így a kőolaj sem ismeretlen a mikrobák számára, hiszen a kőolajhoz hasonló bonyolult szénhidrogéneket a prekambium óta degradálnak (SZABÓ, 1996). Előfordul az is, hogy ezek a mikroorganizmusok xenobiotikumokat is elfogadnak szubsztrátként. A xenobiotikus vegyület kifejezés nem csak azokra utal, amelyek idegenek a természetes folyamatoktól, hanem azokra is, amelyek az emberi tevékenység által sokkal magasabb koncentrációban kerülnek a környezetbe, mint természetes körülmények között (LEISINGER, 1983). A biodegradáció tehát természetes folyamat, mely környezetünkben spontán is folyik. Ha a természetestől eltérő mennyiségű vagy minőségű anyag kerül a környezetbe, akkor a természetes egyensúly kilendül és megindulnak a kompenzálást célzó folyamatok pl. mikrobaszám növekedés, bontóképes fajok természetes szelekciója stb (MOLNÁR, 2006).

A kőolaj mikrobiológiai lebontása összetett folyamat, melynek során a baktériumok, fonalas gombák és élesztők a szénhidrogén-frakciókat fokozatosan mineralizálják (ANTON-SIMON, 1999).

A talajban élő mikroorganizmusok közül BOSSERT és BARTHA (1984) 22 baktérium és 31 gomba nemzetséget említ. A legfontosabb szénhidrogén lebontó baktériumok a talajban az

Achromobacter, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, és a *Pseudomonas* fajok. A gombák között a *Trichoderma* és *Mortierella* spp. a leggyakrabban izoláltak, az *Aspergillus* és *Penicillium* spp. vízi és szárazföldi közegből is izolálhatóak. Azonban az algák és a protozoák is meghatározó közösségek, mégis kevés bizonyíték áll rendelkezésünkre ahhoz, hogy ökológiailag jelentős szerepet tulajdonítsunk nekik a szénhidrogének lebontása terén (LEAHY - COLWELL, 1990). Azonban az *Olivibacter oleidegradans* hazai leírását figyelembe véve új fajok megjelenésével is számolhatunk (SZABÓ et al, 2011).

A biodegradáció mértéke optimális laboratóriumi körülmények között 2500 – 100 000 g/m³/nap között változhat (BARTHA - ATLAS, 1977). In situ körülmények között alacsonyabb 0,001 – 60 g/m³/nap (ZOBELL, 1950).

A hexadekán degradációs rátája 0,05 g- 0,015 g/m³/nap nyáron, 0,001 g/m³/nap hideg alaszakai vizekben (KNETTING - ZAJIC, 1972; SEKI, 1976).

A biodegradáció lehet teljes, ekkor a mineralizáció folyamatában szén-dioxid és víz keletkezik, illetve lehet részleges, melynek során számos vegyület keletkezhet (NÉMETH, 2001).

A kőolaj és a kőolajszármazékok lebonthatóságát számos tényező meghatározhatja. Kedvező körülmények között, a mikrobák 30-50 % között képesek bontani a nyersolaj maradványt, de a bontás sohasem teljes és sohasem azonos módon érinti az eltérő szénhidrogén osztályokat (SOLANAS et al., 1984). Vannak könnyen bontható szerves anyagok és teljesen perzisztensek is, és a kettő között a skála folytonos (GRUIZ, 1998).

A **szénhidrogének kémiai szerkezete** alapján a következő általánosítások lehetségesek: a normál alkánok 10-25 szénatomszám között a legdegradálhatóbbak, az ennél rövidebb alkánok illékonyak, azokat követik az elágazó alkánok, az alacsony molekulasúlyú aromások, majd a ciklikus alkánok (PERRY, 1984). A telített vegyületek degradálhatóbbak, mint a telítetlenek, és az egyenes láncú vegyületek szintén degradálhatóbbak, mint az elágazóak, főleg, ha az ágak kiterjedtek, vagy kvaterner szénatomot hoznak létre (négy szénatom a szomszédja). A nagy molekulasúlyú aromások és poláros vegyületek extrém alacsony mértékben bonthatóak (LEAHY - COLWELL, 1990).

Szintén a mikrobiológiai degradációnak ellenálló vegyületek közé sorolhatóak a nagyon hosszú láncú alifások, melyek nagymértékben a rövidebb láncú molekulák átalakulásának (uniójának) termékei (RISER-ROBERTS, 1998).

A kőolajszármazékok azonban adalékanyagokat is tartalmazhatnak (pl. az ólom), amelyek meggátolhatják a lebontást. (RISER-ROBERTS, 1998).

Általánosan elmondható azonban, hogy kedvező körülmények között és megfelelő szervezetekkel gyakorlatilag a szénhidrogének minden fajtája – egyenes láncú, elágazó láncú, ciklikus, egyszerű aromás, összetett aromás – lebontható, átmegy az oxidáción (TEXAS RESEARCH INSTITUTE, 1982).

A második meghatározó tulajdonság a **szénhidrogének fizikai állapota**. A talajban az olaj elsődlegesen vertikálisan terjed, a beszivárgása pedig megelőzheti a legtöbb esetben mérgező illékony komponensek párolgását. Némely vegyületek mérgezőképessége csökkenhet az abszorpció által, azonban a humuszanyagokhoz való kötődés (adszorpció) a nehezen bontható szénhidrogének felhalmozódásához vezethet (LEAHY - COLWELL, 1990).

Ez a növekvő perzisztencia gátolhatja a mikrobák enzimjeit, sejtszétválásukat, így a degradáció gátlása hatással van egy vegyület mobilitására a talajban (RISER-ROBERTS, 1998).

A harmadik jellemző, a megjelenő **szénhidrogének koncentrációja**. A koncentráció az oldhatóság szempontjából is fontos. A lebontás mértéke arányos az oldhatósággal. A mineralizációs ráta magasabb lehet olyan területeken, ahol rendszeresen nagyon magas koncentrációjú bontható szénhidrogén szennyezte a talajt, mint ott, ahol csak egyszeri szennyeződés történt (RISER-ROBERTS, 1998).

Magas koncentrációk esetében limitáló tényező lehet az oxigén és a tápanyagok relatíve alacsony mennyisége (LEAHY - COLWELL, 1990). Ugyanakkor pl. 1 mg/l t-butil-alkoholnál megfigyelték, hogy a szennyező anyag hasznosításának mértéke azért alacsony, mert a mikrobák kevés energiát nyernek ilyen alacsony koncentrációban (NOVAK et al., 1985).

A negyedik meghatározó jellemző a **hőmérséklet**, mely befolyásolja a szénhidrogének oldhatóságát, viszkozitását, illékonyágát. Ugyanakkor a lebontás mértékét közvetlenül is meghatározza, hiszen szezonális ingadozásokat is leírtak, magas tavaszi és alacsony téli degradációt (BARTHA - ATLAS, 1977).

A maximális biodegradáció 30-40 °C között várható, e fölött a szénhidrogének toxicitása is megnő (LEAHY - COLWELL, 1990).

Az ötödik tulajdonság az **oxigén jelenléte**. A biodegradáció folyhat aerob vagy anaerob körülmények között, de előfordulhat, hogy ezen lépések egymásutánosságát figyelhetjük meg a szénhidrogének lebontása közben. Bár az aerob lebontás mértéke nagyobb, az anaerob

biodegradáció dominánsabb lehet bizonyos anyagoknál pl. az oxidált és a halogénezett aromás szénhidrogének esetében (LEAHY - COLWELL, 1990; MULLIGAN - YONG, 2003).

A mikrobiális metabolizmus természetét az 2. táblázatban, a redoxipotenciálhoz kapcsolódó részeket a 3. táblázatban foglaltam össze.

Az aerob degradáció végterméke a szén-dioxid és a víz, míg az anaerobé lehet szénd-dioxid, víz, metán, hidrogén, nitrogén stb. Az oxigén alacsony koncentrációja limitáló tényező lehet a kőolaj biodegradációja során (LEAHY - COLWELL, 1990), az aerob lebontás nagyságrendekkel meghaladja az anaerob dekompozíciót (ANTON – SIMON, 1999). A lebontás kezdeti lépéseiben kulcsszerepet játszó oxigenázok molekuláris oxigénigényét ki kell elégíteni, így a bioremediáció során fontos az aerob feltételek megteremtése (TÓTH - TÁNCICS, 2009). A nyersolaj szénhidrogénjeiből az anaerobok évtizedekig termelnek és a talajvízbe juttatnak mutagén, karcinogén, terratogén vegyületeket (SZABÓ, 2008). SZABÓ (1996) munkája nyomán tudjuk, hogy a telített és aromás szénhidrogének anaerob körülmények között 233 nap alatt még 5%-ban sem degradálódtak.

2. táblázat: A talajokban aktivitást mutató szervezetek energiaszerző és konzerváló mechanizmusainak típusai

Elsődleges hidrogén donor	Terminális hidrogénakceptor								
	Aerob légzés O_2			Anaerob légzés			Szerves vegyületek (fermentáció)		
Szervetlen vegyületek	I. Aerob légzés szervetlen vegyületekkel			III. Anaerob légzés szervetlen vegyületekkel			Nincs		
	Folyamat	Oxidált forma	Redukált forma	Folyamat	Oxidált forma	Redukált forma			
	Nitrifikáció	NH_3	NO_2	Denitrifikáció	NO_3^-	N_2 ; N_2O			
		O_2	H_2O	Mangán redukció	Mn^{4+}	Mn^{2+}			
				Vas redukció	Fe^{3+}	Fe^{2+}			
				Nitrát redukció	NO_3^-	NH_3			
				Kén redukció	S	SO_4^{2-}			
Szerves vegyületek	II. Aerob légzés szerves vegyületekkel			IV. Anaerob légzés szerves vegyületekkel			V. Szerves vegyületek fermentálása		
	glükóz		CO_2	szulfát redukció	SO_4^{2-}	H_2S	Erjedés	Szerves vegyület	Szerves sav
	O_2		H_2O	tejsav	CO_2				

(SZABÓ, 2008; STEFANOVITS et al., 1999)

A hatodik paraméter a **tápanyagok mennyisége**. A nitrogén és a foszfor hiánya a talajokban limitáló tényező lehet (LEAHY – COLWELL, 1990). Számos tanulmány foglalkozik ennek kiküszöbölésével, műtrágyák, kiegészítő tápoldatok talajba juttatásával (GRUIZ, 1998; SZABÓ, 1996; LIEBEG - CUTRIGHT, 1999).

A hetedik tulajdonság a **talaj víztartalma, nedvességi állapota**. A talaj kiszáradására a mikrobák eltérő érzékenységgel reagálnak, azonban elmondható, hogy szárazabb talajokban a baktériumok és gombák száma egyaránt csökken, valamint a nitrifikáció és nitrogénfixáció szintje is alacsonyabb lesz. A víztartalom közvetve meghatározza a levegőzöttség mértékét, így a talajban található fajok összetételét és az általuk lebontható anyagok típusát is (SZABÓ, 2008).

A talajban lévő víz aktivitása, elérhetősége a mikroorganizmusok számára szintén jelentős befolyásoló tényező. DIBBLE és BARTHA (1979) 30 – 90% víztelítettségénél állapította meg az optimális biodegradációs szintet.

A nyolcadik fontos paraméter a pH. A **talaj kémhatása** nagyon változó lehet pH 2,5-től akár pH 11-ig. A legtöbb heterotróf baktérium és gomba a semlegeshez közeli pH-t kedveli, a gombák a savas környezethez toleránsabbak. VERSTRAETA et al. (1976) közel megduplázta a biodegradáció mértékét azzal, hogy a talaj kémhatását 4,5pH-ról, 7,4pH-ra változtatta. Az optimális pH 7,8 az olajos iszap mineralizációja szempontjából (DIBBLE – BARTHA, 1979). Azonban a különböző vegyületek degradációja eltérően alakulhat a kémhatás függvényében. Az oktadekán mineralizációja növekedett a pH változtatásával 6,5-ről 8,0-ra, amíg a naftaléné nem (LEAHY - COLWELL, 1990).

A kilencedik jellemző a **talaj szerkezete**. A talaj szemcsenagyság szerinti összetétele és kötöttsége a biodinamikára már önmagában is befolyást gyakorol. A laza, homokos textúrájú talajok, ha azokba szerves anyagot keverünk, kedvező mészállapot mellett gyors mikrobiális lebontás szinterei lehetnek. Ugyanakkor a kötött agyagtalajok anaerobiózisra hajlamosak, a szerves struktúrákat sokáig őrzik. A szervetlen kolloidok felületén adszorbeált állapotban rengeteg baktériumsejt lehet jelen, aktivitásuk az anaerob állapotot eltűrő képességük szerint alakul. Ugyanakkor a talajszerkezet közvetve, a levegőzöttsége, víztartalma, porozitása, stb. kapcsán is meghatározza a mikrobiológiai aktivitás szintjét. A baktériumok az átlag 1 µm átmérőjű sejtjeikkel a talaj biokémiai történéseibe az agyagfrakció nagyságrendi szintjén avatkoznak be a talaj biokémiai történéseibe (SZABÓ, 2008).

A tizedik jellemző a **redox-potenciál**. A redoxipotenciál (E_h) mérésekor sima platinaelektrodot és egy ismert potenciálú összehasonlító elektrodot merítünk a rendszerbe. Az elektrodok között kialakult potenciálkülönbség az oxidált és redukált anyag mennyiségétől függ.

Minél több az oxidált anyag, annál nagyobb a redoxipotenciál értéke. A levegőellátottság szabja meg elsődlegesen a redoxipotenciál értékét, melyet befolyásolhat a szemcseösszetétel, nedvességtartalom stb. (STEFANOVITS et al., 1999).

3. táblázat: A redox potenciálhoz kapcsolódó, egymást követő mikrobiológiai folyamatok

Inkubációs idő	Folyamat	Redox-potenciál	A mikrobiális metabolizmus természete
Korai	O ₂ eltűnése	+600 - + 400	Aerob
	NO ₃ ⁻ eltűnése	+500 - + 300	Fakultatív aerob
	Mn ²⁺ termelés	+400 - +200	
	Fe ²⁺ termelés	+300 - +100	
Késői	S ²⁻ termelés	0 - -150	Obligát anaerob
	H ₂ termelés	-150 - -220	
	CH ₄ termelés	-150 - -220	

(RISER-ROBERTS, 1998)

A tizenegyedik tulajdonság a **nyomás**. Ez a vizsgálatunk szempontjából is meghatározó jellemző. Ehhez támpontot a mélytengeri szénhidrogén-bontó mikroorganizmusok vizsgálata, illetve a nyomás alkalmazásával történő sterilizációs eljárások nyújthatnak. SCHWARZ és mtsai. (1974) által végzett vizsgálatok rámutatnak, hogy a mélytengeri körülményeket imitáló kísérletükben a nagy nyomásnak kitett (495-500 atm) szénhidrogének 40 hét alatt 94%-ban hasznosultak, míg az 1 atm nyomáson 8 hét alatt.

Az élesztők és a penészek a leginkább nyomásérzékenyek, 200-300 MPa nyomás hatására inaktiválódnak. A Gram pozitív baktériumok ellenállóbbak (500-600 MPa), mint a Gram negatív sejtek (300-400 MPa) (SMELT, 1998).

A tizenkettedik paraméter az **oldhatóság**. A biodegradálhatóság megbecsülhető a szerves szennyezőanyag oktanol-víz megoszlási hányadosa alapján is. Néhány kivétellel a szerves oldószerek magas log Kow értékekkel (4.0 vagy nagyobb) nem gátolják a mikrobákat, ugyanakkor azok, amelyek oktanol-víz megoszlási hányados értéke alacsony (2,0 vagy kisebb), nagyon mérgezőek lehetnek (LAANE et al., 1987; INOUE - HORIKOSHI, 1991).

Néhány mikroba bio-felületaktív anyagokat termel, melyek fokozzák a szennyezők hozzáférhetőségét. A biotenzidek, a mikroorganizmusok által termelt felületaktív anyagok

megkönnyítik a nem vízoldható szénhidrogének felvételét a sejtek számára (RISER-ROBERTS, 1998; MOLNÁR, 2006).

Egyéb környezeti paraméterek: a *természetesen előforduló szerves anyagok* befolyásolhatják a mikrobák képességét a szennyezés lebontására. Aminosavak, zsírsavak és szénhidrátok stimulálják a monoszubsztituált fenolok biodegradációját, míg a humuszanyagok csökkentik a mértékét.

Számos aromás vegyület kötődik a szemcsés anyagokhoz és zavarja a biodegradációt. Az sem hagyható figyelmen kívül, hogy a mikroorganizmusok nagymértékben képesek az *alkalmazkodásra*. Egy-egy veszélyes, toxikus és nehezen bonthatónak hitt vegyi anyagról az irodalomban nagyságrendekkel eltérő biodegradálhatóságot találunk attól függően, hogy a vizsgált helyszín ökoszisztémája az alkalmazkodás mely fázisában van, így pl. a szénhidrogén használó organizmusok számát fokozni lehet a terület előzetes szennyezésével.

A környezeti faktorok meghatározhatják az *evolúciós folyamatok* kimenetelét, melyek során új lebontásért felelős gének jönnek létre (SZABÓ, 2008; RISER-ROBERTS, 1998).

A különböző *fajok egymásra hatását* is ki kell emelni, így pl. a kometabolizmus jelenségét. Kometabolizmus esetén a mikrobák szén vagy energiaforrásként szerves anyagot használnak fel, miközben egy másik/valamilyen szennyező anyagot részben lebontanak. Az így végbemenő kooxidáció során pl. az ellenálló aromás vegyületeket az egyik organizmus mellékesen kooxidálja, így egy másik mikroba számára elérhetővé teszi a szénhidrogént, miközben hasznosítható energiát nem nyer.

Azt is figyelembe kell venni, hogy a szénhidrogén bontás valamely lépése az eredetnél toxikusabb terméket eredményez, amely azonban csak rövid ideig hathat, lévén, hogy más mikrobák detoxikálják (SZABÓ, 2008; RISER-ROBERTS, 1998).

A legtöbb természetes ökoszisztémában a szénhidrogén hasznosító mikroorganizmusok jelenléte elsődlegesen fogja meghatározni a szénhidrogén degradáció mértékét. Az expozíció rövid időszaka után a szénhidrogén hasznosítók száma megnő, és nem lesz többé elsődleges limitáló faktor (ATLAS, 1978).

1.4 A talajok szerves folyadék-visszatartó képességének mérési és becslési lehetőségei

Az első kőolajföldtani vizsgálatok a kőzetek és altalajok különböző nyomásokon mért higany-telítettségű görbéjéből becsülték a kőzetminták olajvisszatartó képességet (higany-intrúziós módszer). A kapilláris nyomás-telítettség meghatározható ún. porózus membránokkal, illetve nagy sebességű centrifugálás eljárással és ún. dinamikus módszerekkel is (AMYX, 1960).

A dinamikus méréseknél a kapilláris nyomás-telítettség egyszerre két folyadékkal is mérhető a külföldön gyakran alkalmazott multistep-outflow berendezésekkel (pl.: ABRIOLA - DEMOND, 2004), illetve ún. módosított Tempe-cellákkal is (HAYDEN – VOICE, 1993). A mérés során a mintán egyidejűleg kétféle folyadékot áramoltatnak keresztül. A folyadékok áramlási sebességének szabályozásával nyílik lehetőség a folyadék-telítettség változtatására. A folyadék-visszatartó képesség mérések fokozatmentes és fokozatos nyomásszabályozással is elvégezhetők. A módszer elveiben hasonló a megfelelő víztartó-képesség mérésére alkalmazott talajfizikai módszerhez (porózuslap-módszer, illetve nyomásmembrános készülék) azzal a módosítással, hogy a levegőfázis helyett egy másik folyadék (olaj) verseng a vízzel a pórusterekért. Az első tapasztalatok szerint az így mért értékek jól korrelálnak a diafragmás módszerrel meghatározható értékekkel (BROWN, 1951).

A nemzetközi gyakorlatban a porózus membrános v. diafragmás módszert tekintik referenciának (AMYX et al., 1960), a módszerfejlesztési kutatások nagy része azonban napjainkban a dinamikus kapilláris nyomás-folyadék-telítettség összefüggés meghatározásának lehetőségeivel foglalkozik. Gyakran a nyomás- és Tempe-cellás méréseket kombináltan alkalmazzák valamilyen spektroszkópiai eljárással, kihasználva a kétféle mérési technológia előnyeit (TIDWELL - GLASS, 1994).

A spektroszkópiai eljárásokkal gyors pontos eredményeket kaphatunk, azonban - a mérési módszerből adódóan - a vizsgált szilárd fázis kis mennyisége vagy korlátozott heterogenitása miatt - a kapott eredmények csak adott határok között kiterjeszthetők természetes talajokra (DI CARLO et al., 1997).

A szerves folyadék-visszatartó képesség mérési módszerek fejlesztése követi a víztartó-képesség mérési módszerek fejlesztési irányait.

Magyarországon Egyetemünkön alkalmaztak először - vízvisszatartás mérésekhez használt – porózus kerámialapos extraktorokat a talajok olajvisszatartó képességének meghatározására

(Soilmoistura LAB Equipment). Az extraktorok átalakításával ezek a berendezések alkalmazhatóak a talajok olajvisszatartó képességének meghatározására is. Szerves folyadékokkal való méréskor azonban figyelembe kell venni, hogy a kerámialap szerves folyadék áteresztési küszöbértéke eltér a víznél érvényes paraméterektől, illetve a víztartó képesség mérésekkel összevetve a minta és környezete között beálló egyensúly kialakulása lassabban következik be (MAKÓ - MARCZALI, 1999).

A dolgozatomban ismertetendő vizsgálatokat ezzel a mérőberendezéssel végeztem el, ezért ennek ismertetésére az anyag és módszer fejezetben térnék ki részletesebben.

A mérési módszerek fejlesztése mellett egyre jelentősebb szerepe van a különböző becslési módszerek fejlesztésének is. A kárelhárítási gyakorlatban általában mért vagy számított pF-görbe, esetleg irányszámok alapján becslik a szerves folyadék-visszatartó képességet. (CONCAVE, 1979).

A számítógépes modellekben a talaj szemcseösszetétele és tömödöttsége alapján becsülhetik a nyomás és telítettség összefüggéseket, illetve a határfelületi feszültségek révén végzik a közelítő számításokat (CHARBENEAU et al., 1994).

A számítások alapja Leverett módosított egyenlete. Az egyenlettel átszámítható a talaj vízvisszatartó képessége szerves folyadék-visszatartó képességre. Azonban ezek a becslések pontatlanok, hiszen nem veszik figyelembe az illeszkedési szögeket, a szilárd fázis felületén a folyadék szétterülésének mértékét (AMYX et al., 1960).

A Leverett egyenlettel végzett becslés emellett elhanyagolja az agyagásványokban fellépő eltérő mértékű duzzadási jelenségeket a vízzel vagy olajjal végzett telítés során (MAKÓ, 2002).

A talajok vízvisszatartó képessége becsülhető a talaj egyszerűbben mérhető paramétereinek ismeretében ún pedotranszfer függvények (PTF) képzésével (RAJKAI et al., 1981; 1987-88).

Magyarországon a Pannon Egyetem Georgikon Karán a 1990-es évek elején indult egy vizsgálatsorozat a talajok olajvisszatartó képességének becslésére alkalmazható pedotranszfer függvények kidolgozására. Az eddigi eredmények szerint a talajok olajvisszatartó képessége megfelelő pontossággal becsülhető a minta könnyen mérhető tulajdonságaiból (térfogattömeg, humusztartalom, mésztartalom és a mechanikai összetétel stb.) (MAKÓ, 2002; ELEK, 2009), szükség lehet azonban a különböző talajtulajdonságok és a különböző nyomás értékeken mérhető szerves folyadék-visszatartó képesség értékek közötti regressziós összefüggések pontosítására (MAKÓ, 2002; HERNÁDI – MAKÓ, 2011).

1.5 A szénhidrogén-bontás meghatározásának lehetőségei

Annak bizonyítására, hogy biodegradáció folyik az adott területen, a kémiai vagy a mikrobiológiai folyamatok változását igazolni kell, ennek eszköze a dokumentált szennyezőanyag

fogyás és olyan laboratóriumi vizsgálatok, melyek bizonyítják, hogy a mikroorganizmusok képesek a szennyeződés átalakítására (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1993). A választott módszereknek meg kell tudniuk különböztetni a biotikus és abiotikus folyamatokat (MADSEN, 1991).

1.5.1 Kémiai analitikai módszerek

Az olajtartalom meghatározás analitikai módszerei alkalmasak a szennyezőanyag kémiai változásainak nyomon követésére. A módszerek lehetnek nem specifikusak, az összes szénhidrogén mennyisége határozható meg alkalmazásukkal. Ilyen mérési módszerek pl. a gravimetriás és az infravörös spektrometriás módszerek. Specifikus eljárások esetén a szénhidrogén összetétele, a komponensek mennyisége is mérhető (pl. kromatográfiás eljárások; GC-MS).

4. táblázat: Az olajmeghatározás kémiai analitikai módszerei

Analitikai módszer neve	Rövid ismertetése
Szerves oldószer extraktum gravimetriás mérése	A mintát szén-tetraklorid oldószerrel extrahálják, amit elpárologtatnak, majd a visszamaradt olaj tömegét mérik.
Szerves oldószer extraktum UV fotometria	Az analitikai UV tartományon belül jelentős az aromás szénhidrogének fényelnyelése (abszorpciós koefficiens).
Szerves oldószer extraktum infravörös spektrometria	Az analitikai hullámhossz tartományon belül meghatározott, csoportokra jellemző hullámszámoknál végzik a mérést.
Kemilumineszcencia	Kémiai reakciót követő lumineszcens fény kibocsátásán alapszik, ha szennyező van a mintában a kibocsátás csökken.
Analitikai módszer neve	Rövid ismertetése
Fluoreszcens spektrofotometria	A PAH-ok az UV hullámhossz tartományban gerjeszthetők, sajátos hullámhosszon bocsátanak ki fényt. A fényemisszió nagysága a kondenzált gyűrűk tagszámától függ
Szénhidrogén szelektív oxidimetria	Összes szénhidrogén tartalom adható meg. Nemvizes közegben végzett oxidimetriás titráláson alapul.
Gázkromatográfia lángionizációs detektorral, illetve tömegspektrométerrel	Bomlás nélkül elpárologtatható illékony és félillékony összetevők mennyiségi és minőségi vizsgálata
Gázkromatográfia gőztéranalízis	Oldószermentes eljárás, nincs extrakció
Nagyhatékonyságú folyadék kromatográfia	Csoport elválasztásra alkalmazzák.
Szuperkritikus fluid kromatográfia	Szelektív meghatározás, szuperkritikus szén-dioxiddal (nem sokkal a kritikus pontja fölött, vegyesen mutatja a folyadék és a gáz tulajdonságait).
Kapilláris elektroforézis	Elektromos térben az oldott anyagok különböző sebességgel vándorolnak, elválasztásra alkalmas.

(FEKETE – RITZ, 2003; SPEIGHT, 2002)

A kémiai eljárások egy részével a mikrobiológiai lebomlás és annak mértéke is detektálható. Adott szennyezőanyag degradációjának mértéke a komponensek arányainak megváltozásával jellemezhető összehasonlítva a vizsgált folyadék kiindulási összetételével. Erre ad lehetőséget a kromatográfiás eljárások kombinációja tömeg-spektrométeres detektálással (GC-MS). Míg a lángionizációs detektálással (FID - flame ionisation detector) a teljes szénhidrogén tartalom (TPH) határozható meg, illetve az egyes lánc hosszúság szerint csoportosított molekulaméret tartományokhoz tartozó komponenscsoportok mennyisége, a tömegspektrométeres detektálással kapott teljes ion kromatogramm (TIC) illetve a kiválasztott ion/molekula kromatogramja (SIC) lehetőséget ad a komponensek azonosítására és pontos mennyiségük, illetve arányuk időbeli változásának meghatározására (US-EPA, 1997; FEKETE-RITZ, 2003).

A biomarkerek vizsgálata szintén tájékoztatást ad a végbemenő reakciókról, így következtethetünk a mikrobiológiai állapotokra. Ilyen biomarkerek a karboxil/hopán savak. A nyersolaj bomlása során a könnyebben degradálhatók lebomlanak (alkánok), viszont az ellenállóbb hopánok és szteránok visszamaradnak. A szénhidrogén koncentráció is jellemzi a lezajló folyamatokat, a TPH (teljes alifás szénhidrogének) változásai, amennyiben az abiotikus folyamatok kizártak, tájékoztat a degradáció mértékéről. Egyéb szerves indikátorok is ismertek, így a TOC (teljes szerves széntartalom), ill. DOC (oldott szerves széntartalom), vagy a KOI (kémiai oxigén igény) is beszámol a mineralizáció állapotáról (RISER-ROBERTS, 1998).

1.5.2 Mikrobiológiai módszerek

A mikrobiológiai mérési módszerek csoportosíthatók többféleképpen. A mérések során általában vagy a mikrobák mennyiségét/biomassza mennyiségét, vagy aktivitásukat, enzimaktivitásukat határozzuk meg.

A módszerek eredményessége nagymértékben függ a talajok kémiai és fizikai sajátosságaitól, ezért azokat feltétlenül figyelembe kell venni a módszer kiválasztásakor (SZEGLI, 1979).

A mikrobák mennyiségi meghatározására szolgáló hagyományos módszerek feloszthatók aszerint, hogy a talajszuszpenzióban közvetlenül, mikroszkópos vizsgálattal dolgozunk, vagy a szilárd, ill. a folyékony táptalajon kitenyésztett mikroorganizmusok mennyiségi alakulását vizsgáljuk. A két módszerrel kapott értékek nem hasonlíthatók össze, hiszen a táptalajon kinőtt organizmusok száma kisebb, mint a direkt eljárással kapott értékek. (SZEGLI, 1979).

Beszélhetünk közvetlen mikroszkópos sejtszámolási módszerekről, akridin narancssal történő direkt sejtszámolásról, fluoreszcenz- immunofluoreszcenz mikroszkópos sejtszámolási módszerekről (RISER-ROBERTS, 1998).

Baktériumoknál méretük, gombáknál pedig az összes hifahosszúság szerint kiszámítják az összes élő térfogatot és ez alapján biomassájukat (SCHMIDT - PAUL, 1982).

A közvetett mikrobaszámolási eljárásoknál az előkészített mikroba szubsztrátumot táptalajra viszik, majd a kinőtt kolóniák számából következtetnek az egységnyi csíraszámra (SZEGLI, 1979). Ide tartoznak az agarlemezen hígítási eljárással történő meghatározások, a speciális szénhidrogén gőzben fejlődő mikrobák meghatározása, a táptalajra cseppentett mintából fejlődő telepek száma, az MPN (legvalószínűbb élő sejtszám) módszer, illetve a membránszűréssel meghatározott sejtszám (SZEGLI, 1979; RISER-ROBERTS, 1998).

Általában, minél több a mikroba, annál gyorsabb lesz a degradáció, de fontos különbséget tenni az életképes és életképtelen sejtek között, habár a legtöbb organizmus a felszín alatt addig lesz nyugalmi állapotban, míg nem stimulálja a megfelelő szubsztrát a megfelelő koncentrációban (RISER-ROBERTS, 1998; ALEXANDER, 1994).

A laboratóriumi mikrobiológiai mérések hátránya lehet, hogy nem minden kőolaj bontó organizmus képes növekedni mesterséges közegben. Másrészt, az olaj agaron telepet formáló mikroorganizmusok kevesebb, mint 30%-a lesz valóban képes metabolizálni a szénhidrogéneket (RISER-ROBERTS, 1998).

A mikroorganizmusok széles körben elterjedtek a természetben, mégis a ténylegesen jelenlévő számuk igazolása meglehetősen nehéz, a mikrobaszámlálás módszertani eltérései miatt (ATLAS, 1981).

A legmodernebb technológiák a biomolekuláris/nukleinsav alapú módszerek (reporter gének, mRNS extrakció, kromoszomális festések, rRNS módszerek, polimeráz láncreakciók) (RISER-ROBERTS, 1998).

Az utóbbi években előtérbe kerültek az enzimaktivitást mérő módszerek, melyek a talajbiológiai folyamatok intenzitásának igen elterjedt mérési lehetőségei. A talajok enzimetartalmának egy részét a magasabb rendű növények szintetizálják, és gyökérzetükön keresztül választják ki. A másik része mikrobiális eredetű, azaz a talajban tevékenykedő mikroszervezetek anyagcseréjének termékei (SZEGLI, 1979).

Az enzimaktivitás a talajban függ a fizikai és kémiai sajátosságoktól, a tápanyagtartalomtól, pH-tól, sótartalomtól stb. (RISER-ROBERTS, 1998).

A talajokban ez ideig kimutatott enzimaktivitások a következők: oxireduktázok (dehidrogenázok, kataláz, egyéb oxidoreduktázok: glükózoxidáz, aldehyd-oxidáz, urát-oxidáz, polifenol-oxidáz, lakkáz, aszkorbát-oxidáz, peroxidáz), transzferázok (rodanéz, dextrán-szukráz, leván-szukráz, amino-transzferáz), hidrolázok (foszfataz, amiláz, celluláz, invertáz, ureáz, proteinázok, peptidázok, lipáz, maltáz, cellobiáz, laktáz stb.) (SZABÓ, 2008).

Annak érdekében, hogy képesek legyünk megjósolni a szennyezés sorsát, szükséges, hogy megmérjük a biológiai aktivitás mértékét a felszín alatti anyagban (RISER-ROBERTS, 1998).

A talajok biológiai aktivitásának kimutatására szolgáló módszereket feloszthatjuk aszerint, hogy a talaj aktuális biológiai aktivitását, melyet szabadföldi körülmények között mérhetünk, vagy a potenciális aktivitást határozzuk meg, amikor laboratóriumban irányított környezeti feltételek mellett végezzük a vizsgálatokat (SZEGLI, 1979).

Amíg a biomassa és az aktivitás egyenes arányosságot mutat, addig a mélységgel fordított arányosságot mutat az aktivitás. Amíg a biomassa és az aktivitás csökken a mélységgel arányosan, a csökkenés mértéke eltér a különböző talajtípusoknál. Nehéz általánosítani a biomassa vagy az aktivitás szintjét csak a mélység alapján. A talaj típusa ugyancsak fontos annak meghatározására, hogy milyen típusú mikroba populációk vannak jelen. A mélység 75%-ban lehet felelős a biomassa eltéréseiért, de további 11%-ban magyarázható az eltérés a pH, iszap, agyag és szerves összetevők miatt. A mélység 78%-ban magyarázza a mikrobiológiai aktivitás variációit a talajban (RISER-ROBERTS, 1998).

Az aerob talajlégzést általában a termelt CO_2 és a fogyasztott O_2 mérésével határozzák meg, ill. becsülik. Nagyon sokszor azonban csak a CO_2 termelés mértékét határozzák meg - ezt ugyanis az aerobok és az anaerobok egyaránt kibocsátanak. A kibocsátott széndioxid mennyisége mérhető infravörös gázanalízissel, gázkromatográfiával, KOH-ban való elnyelésével, Gilson-respirométerrel, Warburg technikával stb (SZABÓ, 2008).

A biomassa mennyiségének becslése reinokulációs módszerrel is történhet, melynek lényege, hogy a talajmintát sterilizik, majd mikrobákkal újraoltják, ezt követően mérik a CO_2 termelést, ami a könnyen bontható, sterilizálással elpusztított sejtanyagból származik, így becsülhető az eredeti biomassa mennyisége (SZABÓ, 2008). Ezen alapul a kroforom fumigációs-inkubációs módszer (CFI) (JENKINSON - POWLSON, 1976), illetve az extrakciós eljárások. A kloroform fumigációt követően a lehetséges mikrobiális eredetű szén, nitrogén, foszfor vagy kén meghatározása (VANCE

et al., 1987; BROOKES et al., 1985; BROOKES et al., 1982; WU et al., 1994). A mikrobiális biomassza meghatározható a talajból közvetlenül kivont ATP mennyiségének meghatározásával (JENKINSON et al., 1979), illetve a kivont foszfolipidek zsírsav-metilészterre történő átalakítása, majd gázkromatográfiás mennyiségi elemzése alapján (FROSTEGÅRD et al., 1991). A talajból képződött hőmennyiség mérése alapján becslik a biomasszát a mikrokalorimetriás módszerekkel (SPARLING, 1981).

A fluoreszcein észterek használata az enzimaktivitás mérésére először KRAMER és GUILBAULT (1963) által került publikálásra, ahol egy egyszerű eljárásról említik a lipáz aktivitás meghatározására más észterázok jelenlétében.

Az FDA hidrolízis széles körben elfogadott, mint pontos és egyszerű eljárás a teljes mikrobiológiai aktivitás meghatározásához. Az eljárás során a színtelen fluoreszcein diacetátot hidrolizálják a szabad és a membrán kötött enzimek is, létrehozva a színes fluoreszcein végterméket, ami spektrálisan mérhető (SCHNÜRER – ROSSWALL, 1982).

Az FDA hidrolízishez szükséges enzimek bőségesen rendelkezésre állnak a talaj környezetben. Az FDA hidrolízisére a fő lebontó baktériumok és gombák is képesek. A nem specifikus észterázok, proteázok, lipázok, mind képesek az FDA hidrolizálására (SCHNÜRER – ROSSWALL, 1982).

Az FDA módszer korrelál néhány pontos mikrobiális biomassza méréssel, mint az ATP tartalom és a sejt sűrűség vizsgálatok, és az izotóp vezérelt timidine beültetés a mikrobiális DNS-be. Míg ezek a vizsgálatok időigényesek és nehézkesek, addig az enzim vizsgálatok gyorsak és egyszerűek.

Az FDA aktivitás méréseknél problémát jelentett, hogy a fluoreszcein polaritása miatt gyengén szállítódik a membránokon át, és csak a felesleg ürül. Az előzetes kísérletek azonban kimutatták, hogy legalább 40%-os acetonszuszpenzió szükséges a reakció megállításához, ami segít oldani a sejtmembránokat, megkönnyítve a keletkező fluoreszcein kinyerését. Semleges pH-tól eltérő közegben történő kémiai hidrolízis zavarhatja a mérést. A fluoreszcein adszorpciója a talajhoz vizsgálendő, de nem tűnik valós problémának, még magas agyagtartalmú talajoknál sem (SCHNÜRER – ROSSWALL, 1982).

ADAM és DUNCAN (2001) azt tapasztalták, hogy az FDA aktivitás nagyon alacsony homok- és agyagtalajokban, ezért nehezen mérhető. Inhibitornak ők a kloroform/metanol (2:1) használatát ajánlják az acetonszuszpenzió helyett, mely sikeresen leállítja a hidrolízist 50 percen át, anélkül, hogy színvesztést okozna.

Az FDA hidrolízisen alapuló mikrobiológiai aktivitás meghatározási módszer mellett a mérés elvégezhető a sejtekből kivont ATP elemzésével és a már említett széndioxid kibocsátás, illetve oxigén elnyelés mérése alapján is. Minden eljárásnak megvannak a korlátai, és egy adott vizsgálathoz a választást számos tényező határozza meg. Az ATP analízisnek előnye az összes többi vizsgálathoz képest, hogy nem kell előzetes inkubáció, mivel a sejtekből kivont ATP-t használjuk. A módszer nagyon érzékeny, de elővigyázatos kivonás szükséges, hogy megelőzzük az ATP hidrolízisét. Hátránya, hogy speciális felszerelést igényel.

A respirációs mérések előnye, hogy közvetlenül mérik a CO_2 -ot (O_2 -t), és ezzel a szén forgalmának kvantitatív mérését teszik lehetővé a vizsgált rendszerben. Szükséges hozzá több órányi inkubáció, és ellentétben az enzim vizsgálati technikákkal, nehézkes a nagyszámú minták esetében. A dehidrogenáz aktivitás is elterjedt vizsgálat, de nem túl érzékeny és alacsony aktivitás esetén több órás inkubációt igényel (ADAM – DUNCAN, 2001).

2. SAJÁT VIZSGÁLATOK

2.1 A vizsgálatokhoz felhasznált anyagok és módszerek

2.1.1 A vizsgálatban alkalmazott talaj és modellfolyadék jellemzői

A vizsgálataimhoz kiválasztott talajminta egy lehumuszosítás során depóba helyezett mészelepedékes csernozjom talaj felső szintjéből vett minta volt. A talajminta alapvizsgálati adatait és egyéb kémiai tulajdonságait Egyetemünk Talajtani Laboratóriumában korábban már meghatározták (5. táblázat).

5. táblázat: A vizsgált talajminták jellemzői

Mintavételi hely: Kápolnásnyék					
K_A	42	S-érték (mgeé/100g)	27,17	agyag + Fe (%)	25,49
Sótartalom (%)	~ 0,04	H-érték (mgeé/100g)	3,11	por (%)	53,65
pH_(KCl)	7,45	T-érték (mgeé/100g)	30,28	homok (%)	7,63
pH_(Dv)	7,83	hy₁	2,26	humusz (%)	3,70
sűrűség (g/cm³)	2,27	C %	3,70	CaCO₃ (%)	9,52
				összesen (%)	100,00

A kémiai vizsgálatok és a talaj sűrűségének meghatározása BUZÁS (1993) módszerkönyvében foglalt eljárásoknak megfelelően történtek. A talajminták mechanikai összetételét a nemzetközi szabványban foglalt módszertannak megfelelően határozták meg (ISO-DIS 11277/1995).

Az olajvisszatartó képesség mérésekor felhasznált szerves folyadék a gázolajfrakcióhoz közelálló tulajdonságokkal rendelkező, de aromás vegyületet, illó komponenseket nem tartalmazó DUNASOL 180/220 (CAS szám.: 64742-82-1) megnevezésű kőolajipari termék, festékipari oldószer (MOL NyRt. Dunai Olajfinomító, Szászhalombatta) (6. táblázat).

6. táblázat: A DUNASOL 180/220 modellfolyadék jellemzői

DUNASOL 180/220	
Forráspont (°C)	180/210
Sűrűség (20°C) (g m ⁻³)	0,775
Viszkozitás (20°C) (g cm ⁻³)	1,91
Aromás alkotók (mm ⁻¹ %)	0
Cikloalkánok (%)	60,1
Cikloalkánok (%)	
1 gyűrű	25,1
2 gyűrű	12,0
3 gyűrű	2,1
4 gyűrű	0,5
Határfelületi feszültség (folyadék/levegő) (20°C) (N cm ⁻¹)	25
Határfelületi feszültség (olaj/víz) (20°C) (N cm ⁻¹)	45,9

A Dunasolt azért választottuk modellfolyadékként, mert humán és környezeti veszélyessége kicsi, nem robbanásveszélyes, színtelen, enyhe szagú.

2.1.2 A talaj mikrobiológiai aktivitásának meghatározása

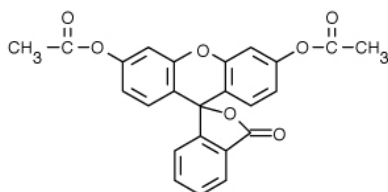
A talajmintákban található mikroorganizmusok összaktivitását fluoreszcein-diacetát (FDA) módszerrel mutattuk ki SCHNÜRER és ROSSWALL (1982), valamint ADAM és DUNCAN (2001) módszere szerint. Az FDA alapvető jellemző adatait a 7. táblázat tartalmazza. A módszer azon alapul, hogy a fluoreszcein-diacetátból a talajban található hidrolitikus enzimek fluoreszceint tesznek szabaddá. A keletkező fluoreszcein mennyisége, fluoreszcenciája vagy jellemző fényelnyelése alapján mérhető.

A vizsgálat során ismétlésenként 2 g talajt mértem be (0,01 g pontossággal). Minden talajmintához 0,2 ml fluoreszcein diacetát reagenst adtam (végkoncentráció 10 µg/ml), majd 40 ml 60mM-os 7,6 pH-jú foszfát-pufferben (pH beállítás 1n-os, majd 10%-os HCl-al) 1 órán át 24°C-on inkubáltam, síkrázógépen 120 rpm rázatással (Memmert WB-22 típusú). Az 1 óra elteltével 40 ml acetont hozzáadásával (1:1 szuszpenzió/aceton arány) állítottam meg az FDA további hidrolízisét.

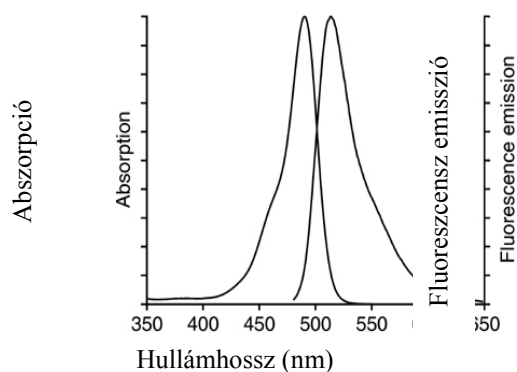
Ezután a szuszpenziókat centrifugáltam 12 percen át 4000 fordulat/perc értéken (Hermle Z200A típusú). A keletkezett fluoreszcein abszorbanciáját a minták felülúszójából, 490 nm hullámhosszon (1. ábrán látható, hogy az abszorpciós maximuma ezen értéken található) mértem HELIOSy típusú spektrofotométeren. A standard koncentrációja 1; 2; 5 és 10 µg fluoreszcein/ml. A vak oldat 50% (V/V) aceton/puffer elegy volt. Az abszorbancia értékekből a műszer közvetlenül számol koncentráció értékeket, melyek a mérést követően kinyomtathatók. A számításhoz

szükséges standard-görbét az 1. melléklet, a mért koncentráció értékeit az 2. melléklet tartalmazza. A teljes mikrobiológiai aktivitás értékét μg fluoreszcein / g talaj / óra egységben adom meg.

7. táblázat: A fluoreszcein-diacetát jellemzői

Molekula képlete:	$\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_7$
Molekulatömeg:	416.39 g
CAS Név:	Spiro(isobenzofuran-1(3H),9'-(9H)-xanthen)-3-one, 3',6'-bis(acetyloxy)-
CAS Szám:	596-09-8
	

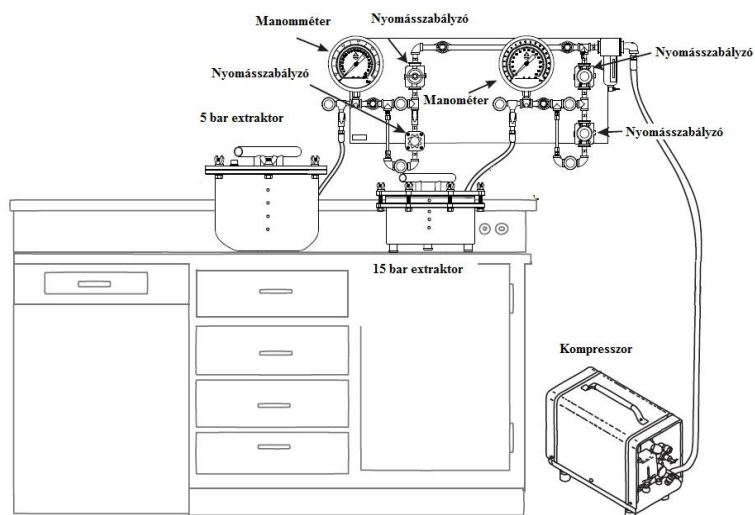
(INVITROGEN CORPORATION, 2011)



1. ábra: A fluoreszcein-diacetátra vonatkozó abszorpció és a fluoreszcenz emissziós spektruma

2.1.3 A talajminták olajvisszatartó képességének meghatározása

A talajminták olajvisszatartó képességének meghatározására a Soilmoisture Equipment Corporation LAB 230 (2. ábra) jelű porózus kerámialapos pF-mérő berendezésnek egy, a Pannon Egyetem Georgikon Kar, Növénytermesztéstani és Talajtani Tanszékén kifejlesztett módosított változatát használtam (MAKÓ, 2002).



2. ábra: A Soilmoisture Equipment Corp. Lab 230 jelű berendezése

A módszer jól alkalmazható sorozatmérésekre. Az extraktorokkal egyszerre 12 db talajminta folyadék-visszatartó képessége különböző nyomásértékeken mérhető. A készülékek cellájába a cég által gyártott 1,0 bar, illetve 5,0 bar levegő-áteresztési küszöbértékkel jellemezhető porózus kerámialapok vannak epoxigyantával hozzáragasztva az olajálló szilikongumi hátlaphoz. A felesleges folyadék teflon elvezető csöveken keresztül távozik az extraktorból, majd egy-egy bűrettában gyűlik össze. A bűretták segítségével ellenőrizhető, hogy beállt-e az egyensúly vagy történik még kifolyás az extraktorokból.

Az Egyetemünk Környezetvédelmi Laboratóriumában fejlesztett műszer további fejlesztése, hogy olyan térben van elhelyezve, ahol a hőmérséklet is szabályozható.

A készülékekben egy kompresszor biztosítja a szükséges nyomást. A kívánt nyomás beállítása nyomásszelepekkel történik, mely manométerrel ellenőrizhető. A készülékek porózus kerámia lapjait minden mérés előtt telíteni kell a vizsgálatban alkalmazott folyadékkal azért, hogy a porózus lapban felhalmozódó levegő ne akadályozza a folyadékáramlását (levegő-áteresztési küszöbérték olaj/víz rendszerre 0,4 bar, illetve 2,0 bar körüli értékű). A különböző nyomáson végzett mérések között szükséges az átnedvesítés, hogy a minták ne közvetlenül a porózus lapokkal érintkezzenek.

Vizsgálataimhoz 30 db 100 cm³ bolygatott talajmintát készítettem a légszáraz talajból. A minták előkészítéséhez a kiválasztott talaj előre meghatározott mennyiségét mintavevő csövekbe töltöttem – a csöveket óvatosan egy gumidugóhoz ütögetve – úgy, hogy térfogattömegük azonos legyen.

A mintákat 2 hétig telítettem a mintatartó cső felső pereméig érő folyadékszint beállítását követően (maximális telítettség; 0 mbar). Ezután a szerves folyadék szintjét csökkentettem úgy, hogy az a talajminta alsó pereméig érjen (alultelítés; 2 mbar).

A továbbiakban két csoportra különítettem el a mintákat. A minták felét folyamatosan alultelített körülmények között tartottam. Ebben az esetben a talajminták mikrobiológiai aktivitását a nyomás változása nem befolyásolja, így lehetőségünk van az enzimaktivitás időbeli változásának vizsgálatára. A maradék 12 minta olajvisszatartó képességét különböző nyomásértékeken határoztam meg (20 mbar; 50 mbar; 150 mbar és 400 mbar nyomásértékeken) porózus kerámialapos extraktorokkal. Minden esetben gravimetriásan mértem a minták tömegét 2-2 hét elteltével (ennyi idő kell, hogy a rendszerben beálljon az egyensúly). Az egyes mérési ponton három ismétlésben 5-5 g talajmintát vettem a kiválasztott csövekből az enzimaktivitási vizsgálatokhoz, amivel a talajok mikrobiológiai tevékenységének mértékét kívántam jellemezni.

Az enzimaktivitási méréseket a Pannon Egyetem, Georgikon Kar Növénytudományi és Biotechnológiai Tanszékének Kémiai és Mikrobiológiai csoportjánál végeztem.

Minden nyomásértéken mintát vettem az extraktorokból kifolyó Dunasolt gyűjtő bürettákból. A modellfolyadék nyomásváltozással, illetve idővel lehetséges kémiai és mikrobiológiai degradációját a bürettákban és az alultelített mintákat tartalmazó zománcozott edényben a két hetes periódusok alatt összegyűlt szerves folyadék gázkromatográfiás elemzésével vizsgáltam. A kromatográfiás mérések Budapesten, a Bálint Analitikai Kft. Laboratóriumában történtek.

Végül a mintákat 105°C-on szárítottam, majd számítottam az abszolút száraz talajra vonatkoztatott szerves folyadék-visszatartó képesség, tömeg és térfogat százalékos értékét (% m/m; % V/V).

2.1.4 A vizsgálatban alkalmazott modellfolyadék gázkromatográfiás analízise

A vizsgálatban alkalmazott modellfolyadék összes szénhidrogén tartalmát (TPH) gázkromatográfiás eljárással, lángionizációs detektálással (GC-FID) határoztuk meg a Bálint Analitika Kft. vizsgáló laboratóriumában.

A gázkromatográfiás módszerek alkalmasak a vizsgált minta komponenseinek elválasztására. A mérési módszer elve, hogy a vizsgálandó mintát gázfázisba visszük, majd a komponensek elválasztása egy helyhez kötött állófázis és egy azzal érintkező mozgó fázis között történik. Az egyes alkotóelemek és az állófázis közötti kölcsönhatás erőssége az adott komponensre jellemző – különböző mértékű - így a mozgófázissal tovább haladó komponensek átlagos sebessége

eltérő lesz. A kolonna (álló fázis) végén ideális esetben a komponensek elkülönülve jelennek meg. A komponensek megjelenéséhez szükséges idő, a retenciós idő jellemző az adott vegyületre. A komponensek mennyiségének számítása pedig a kromatogram csúcsok elemzésével lehetséges.

Ez a módszer (GC-FID) a C10-től a C40-es szénatom számig terjedő komponensek meghatározására alkalmas.

A lángionizációs detektálás (Flame Ionization Detector: FID) elve szerint a szénhidrogén komponensek egy magas hőmérsékletű hidrogén-levegő lángba jutnak, ahol részben ionizálódnak. A mérhető ionáram, amit a szabad ionok hoznak létre, arányos a mintában lévő koncentrációjukkal (US-EPA, 1997).

A kromatográfiás mérést megelőzően a folyadék minták előkészítése a laboratóriumban a talajminták előkészítésére alkalmazott munkautasítás meghatározott lépései szerint történt.

A gázkromatográfiás méréshez előkészített minta összes térfogata 1 cm^3 volt. Ez az alábbi összetevőket tartalmazta a bemérés sorrendjében: 960 μl diklór metán, 10 μl „talajolaj” fantázianevű C36 injektálási standard, 20 μl 1,4-diklór benzol és 10 μl minta.

Az összes szénhidrogén tartalom meghatározására alkalmazott kapilláris gázkromatográf (HP 5890 series II. – GC-FID) kolonnája (RESTEK Rtx-5sil 15 m*0.25 mm*0,25 μm) dimetil poly-siloxánból készült, 325°C-ig alkalmazható. A mérés változó hőmérsékleten történik, a hőmérsékletprogram: 54 perces, utána 21 percig izoterm. Az injektor 290°C, a detektor 280°C és a kolonna 210°C hőmérsékletű.

A mintabevitel megosztás nélküli (Splitless), közvetlenül az oszlopra történik (on column). A vivőgáz hidrogén, a segédgáz nitrogén. A detektálás lángionizációs detektorral történik.

A mért eredmények kiértékelésére a HP Chemstation Integrator szoftvert alkalmaztuk.

A minőségi azonosítás a retenciós idők alapján folyt. A kalibráló függvény érvényességét minden 15-ik minta után ellenőrzik egy független ellenőrző olajjal (5 ppm C36; 50ppm 1,4,diklór-benzén; 50 ppm 1-klór-oktadekán).

A kiértékelés a kalibrálás egyenes alapján a kísérő standard detektált jele alatti területének arányai alapján történik, a kromatogram C10 és C40 közötti tartományának integrálásával.

A vizsgált szerves folyadék minták kromatogramjait a 4. melléklet tartalmazza.

A modellfolyadék komponenseinek ismeretében lehetőségünk nyílik ún. biomarker vegyületek keresésére, összehasonlító elemzések végzésére. Ezek a biomarkerek tájékoztatnak a végbemenő degradáció mikrobiológiai természetéről. Ilyen lehetséges anyagok a hopánok és a szteránok, azonban ezek izolálásához MS detektorra van szükség. Jó közelítéssel tájékoztathat a 17 szénatomszámú prisztán, valamint a hozzá kapcsolható, azonos szénatomszámú normál alkán aránya, illetve a 18 szénatomszámú fitán-alkán arány. Ez annak tulajdonítható, hogy a mikrobák nagyobb mértékben képesek hasznosítani az alkánokat. Ugyanígy alkalmazható a normál alkán – fenantrén arányszám is. Azonban még egyszerűbb eljárással is igazolhatjuk a mikrobiális szénhidrogén lebontást, mégpedig a növekvő szénatomszámok párosításával, majd az ezekből képzett arányszámokkal, pl. $C_{14+16+18} : C_{20+22+24}$. Az arányok eltolódása a kisebb szénatomszámú komponensek felé, bizonyíthatja a szénhidrogének mikroorganizmusok által történő lebontását (Barótfi, 2000).

2.1.5 Az eredmények értékeléséhez felhasznált statisztikai módszerek

A kísérletek eredményeinek statisztikai elemzését a következő módszerekkel végeztem el:

Egytényezős varianciaanalízissel – SPSS 13.0 Duncan-teszttel - vizsgáltam a mért FDA aktivitás értékek közötti összefüggéseket. A gázkromatográfiás (GC-FID) analízis eredményeiből a 9-15 és a 16-40 szénatomszámú komponens arányok, az eltelt idővel, illetve az alkalmazott nyomásértékekkel való kapcsolatának jellemzéséhez is ezt a módszert alkalmaztam. Továbbá, annak eldöntésére is az egytényezős varianciaanalízist használtam, hogy az alacsony szénatomszámú összetevők kipárolgása végbemehetett-e a nyomás emelkedésével.

A modellfolyadék összetételében bekövetkezett, a kontroll Dunasolhoz viszonyított változásainak elemzéséhez is az egytényezős varianciaanalízist választottam, mégpedig az SPSS 13.0 Dunett-tesztjét.

2.2 A vizsgálatok eredményei és értékelésük

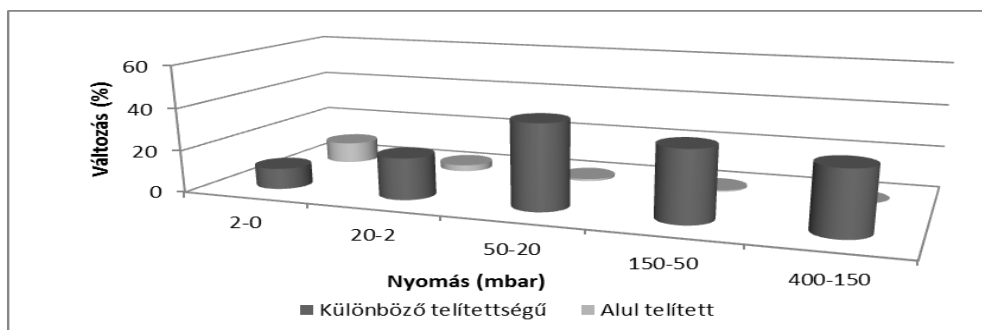
2.2.1 A talajok által a különböző nyomásokon visszatartott szerves folyadék mennyiségének jellemzése

A talajminták három ismétlésben meghatározott átlagos olajvisszatartó képesség értékeit a 8. táblázat tartalmazza.

8. táblázat: A mért olajvisszatartás értékek térfogat-százalékban kifejezve

Alkalmazott nyomás (mbar)	Idő (napok)	Visszatartott olaj mennyisége (V/V%)	Alkalmazott nyomás (mbar)	Visszatartott olaj mennyisége (V/V%)
Maximálisan telített (0 mbar)	14	40,66 ± 0,25	Maximálisan telített (0 mbar)	40,80 ± 0,59
2 mbar	28	36,70 ± 0,63	~2 mbar	36,70 ± 0,63
20 mbar	42	29,42 ± 0,41	~2 mbar	35,58 ± 0,38
50 mbar	56	17,62 ± 0,34	~2 mbar	35,22 ± 0,40
150 mbar	70	11,74 ± 0,35	~2 mbar	34,98 ± 0,36
400 mbar	84	8,22 ± 0,28	~2 mbar	35,00 ± 0,39

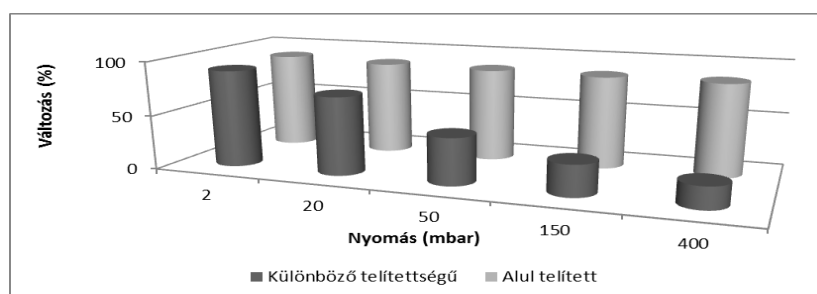
A mért olajvisszatartó képesség értékekből láncviszonyszámokat képezve – a magasabb nyomásértéken mért maradék olajtartalom és az egy léptékkal alacsonyabb nyomás értéken meghatározott olajvisszatartó képesség hányadosa - látható, hogy az átlagos csökkenés mértéke a különböző telítettségű minták esetében 27% körül alakul, míg az alultelített minták esetén 3%-os (a láncviszonyszámokat a 3. melléklet tartalmazza). A 3. ábrán látható módon alakul az átlagos visszatartó-képesség mérséklődésének üteme.



3. ábra: A visszatartott olaj mennyiségének csökkenése az egymást követő minták között

A grafikonon a legnagyobb mértékű változás az 50 mbar-on és a 20 mbar-on mért olajvisszatartó képesség értékek egymáshoz viszonyított arányánál figyelhető meg. Így az 50 mbar egyfajta vízvásztónak tekinthető, e felett a relatív különbségek csökkennek.

A bázisviszonyszámok vizsgálata, bázisként alkalmazva a maximális telítettséghez tartozó térfogat-százalékos olajvisszatartás értékei a 4. ábrán található (a bázisviszonyszámok értékeit a 3. melléklet tartalmazza).



4. ábra: A maximális telítettséghez viszonyított olajvisszatartó képesség százalékos értékei

2.2.2 A minták mikrobiológiai aktivitásának értékelése

A különböző nyomáson kezelt és eltérő időpontokban vett talajminták enzimaktivitásának mérési eredményeit, tehát az abszorbanciából számított fluoreszcein koncentrációkat a 9. táblázatban foglaltam össze. A három ismételtsben végrehajtott mérések eredményei a 2. számú mellékletben tekinthetők meg.

9. táblázat: A számított fluoreszcein koncentrációk értékei

Inku- bációs idő (nap)	Alkalmazott nyomás (mbar)	Átlagos FDA aktivitás ($\mu\text{g FL/g}$ talaj/h)	DT 1.	Alkalmazott nyomás (mbar)	Átlagos FDA aktivitás ($\mu\text{g FL/g talaj/h}$)	DT 2.
0	Kontroll (légszáraz talaj)	$30,53 \pm 0,76$	-	Kontroll (légszáraz talaj)	$30,53 \pm 0,76$	-
14	Maximálisan telített (0 mbar)	$18,16 \pm 2,29$	A	Maximálisan telített (0 mbar)	$18,16 \pm 2,29$	A
28	Alultelített (2 mbar)	$74,89 \pm 8,32$	B	Alultelített (2 mbar)	$74,89 \pm 8,32$	B
42	20 mbar	$64,70 \pm 23,49$	B	Alultelített (2 mbar)	$109,01 \pm 6,23$	CD
56	50 mbar	$81,42 \pm 10,04$	BC	Alultelített (2 mbar)	$99,37 \pm 2,47$	C
70	150 mbar	$89,91 \pm 11,50$	BC	Alultelített (2 mbar)	$122,30 \pm 8,69$	D
84	400 mbar	$106,35 \pm 7,39$	C	Alultelített (2 mbar)	$149,81 \pm 16,58$	E

DT: Duncan-teszt csoportkódja

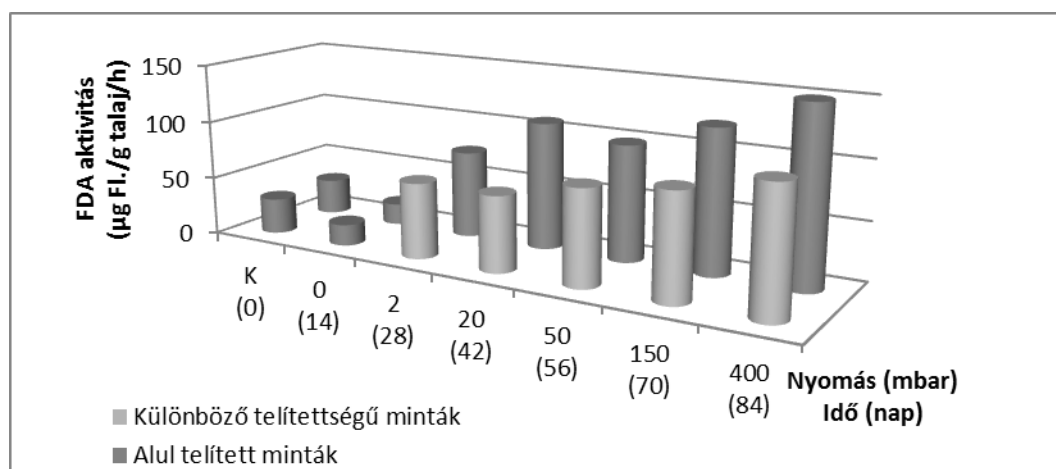
Az FDA aktivitás értékek alapján elmondható, hogy az alultelített mintákban, illetve a különböző nyomásnak kitett talajmintákban az idő múlásával arányosan, kiegyenlítetten növekvő mikrobiológiai aktivitás mértéke.

A Duncan-teszt alapján az alultelített minták esetében az enzimaktivitás értékek szignifikánsan elkülönülnek ($\alpha = 0,05$). A különböző telítettségű minták esetén a mért mikrobiológiai aktivitás egyes eredményei nem különböznek el olyan jelentős mértékben a mérés kezdeti nyomásértékein, mint a folyamatosan alultelített minták esetében.

Statisztikailag igazolható különbséget csak a 400 mbar nyomásértéken végzett enzimaktivitás mérések esetében tapasztaltam.

Az egytényezős varianciaanalízissel (Duncan-teszt: 7. melléklet) összehasonlítottam nyomásértékenként, illetve a kéthetes periódusonként meghatározott enzimaktivitási értékeket. Eredményeim alapján elmondható, hogy az 50 mbar nyomásérték kivételével (56. nap) az alultelített minták, valamint a különböző nyomásértéken kezelt minták FDA aktivitás értékei szignifikánsan különböznek, végül 400 mbar értéken (84. nap) teljesen különválnak.

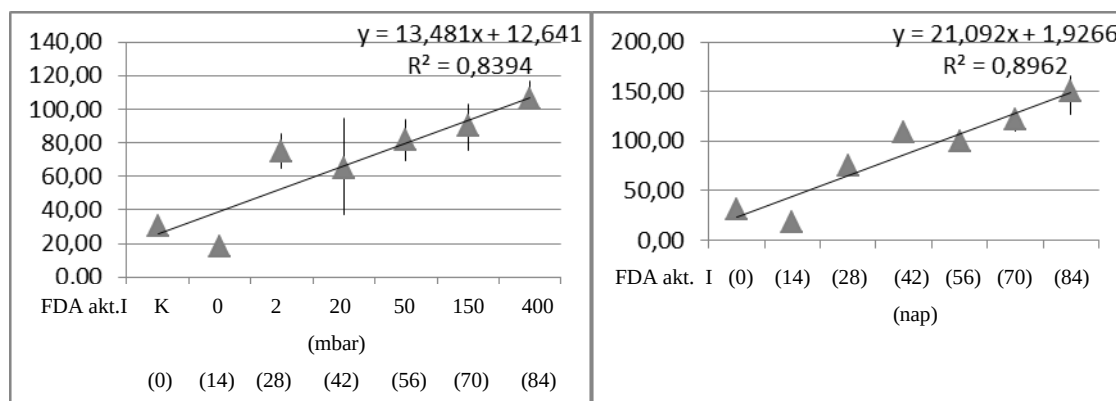
Az 5. ábrán látható grafikonon az aktivitás növekedése még szemléletesebben érzékelhető.



5. ábra: A mikrobiológiai aktivitás növekedése az alkalmazott nyomás (valamint az eltelt idő) függvényében

A kontroll mintához képest a maximálisan telített talajminták aktivitásértékei 40%-os csökkenést mutatnak, majd az alultelített minták sorozatában, amelyek vizsgálatára periodikusan 2 hetente került sor, már lineáris növekedés tapasztalható (6. ábra). A csökkenés annak tulajdonítható, hogy a modellfolyadék – a telítéskor - kitöltötte a talajminta pórusait, ezáltal a mikrobák környezete drasztikusan megváltozott. A megváltozott körülményekhez feltételezhetően nem tudott minden

egyed alkalmazkodni, illetve ebben az anaerob élettérben az egyébként anyagcserét folytató organizmusok aktivitása is lecsökkent.



6. ábra: A különböző nyomáson kezelt és az alultelített mintáknál mérhető FDA aktivitáshoz illesztett regressziós egyenletek

A különböző telítettségű minták aktivitásértékei átlagosan közel 30%-os negatív eltérést mutatnak az 1 óra alatt hidrolizált fluoreszcein-diacetát tekintetében az alultelítettekhez képest (2. melléklet a bázisviszonyszámokat tartalmazza). Az aktivitás növekedése a különböző nyomásértéken kezelt talajoknál szintén lineáris növekedést mutat, azonban a kezdeti 20 mbar nyomáson a mért FDA hidrolízis elmarad az ugyanazon időpontban vizsgált alultelített mintához képest, ezáltal feltételezhető, hogy a további mikrobiális szaporodás és aktivitás egyrészt a kezdeti alacsonyabb érték miatt marad el az alultelített adatsorhoz képest.

A grafikonokra illesztett függvényeket (6. ábra) vizsgálva azonban megállapítható, hogy az alultelített minták esetében a meredekség nagyobb mértékű, tehát az aktivitás növekedése is erőteljesebb. A megfigyelés magyarázata az lehet, hogy a magasabb nyomásérték gátolhatja a mikroorganizmusok anyagcsere-folyamatait, így a mérhető aktivitás is kisebb lesz, mint amit az alultelített minták esetén tapasztalunk.

Az átlagos mikrobiológiai aktivitás növekedési üteme a 20 mbar és az 50 mbar kezelés között 126% körül alakul, majd a 150 mbar alkalmazásával 110%-ra csökken, ami megerősítheti azt, hogy a nyomás gátolja az életképes mikroorganizmusokat (láncviszonyszámok a 2. mellékletben).

Ugyanakkor a másik – mikrobiális tevékenységet feltételezhetően meghatározó – enzimaktivitást korlátozó paraméter - a talajminták szerves folyadéktartalma lehet. A 400 mbar nyomásértéken az enzimaktivitási értékekben ismét emelkedést tapasztaltunk. Feltételezhető tehát, hogy a nyomáshoz történő adaptáción túlmenően, az szerves folyadék tartalom szerepe - mint korlátozó tényező – csökken, így a 150 mbar-os aktivitásérték több mint 118%-ára emelkedik a

400 mbar értéken mérhető FDA aktivitás. Mindemellett statisztikailag meglehetősen nehéz szétválasztani az idő szerepét, illetve a nyomás változásának hatását a talajminták enzimaktivitására.

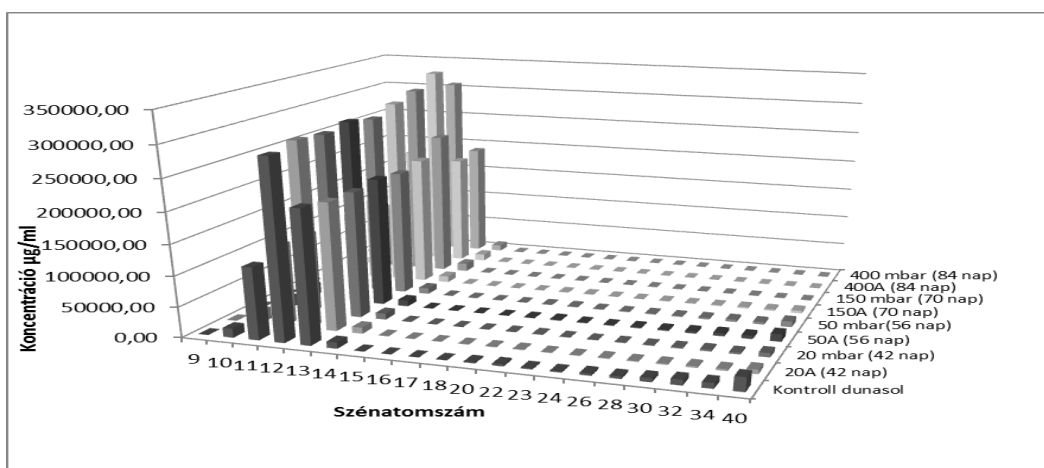
A kétféle kezelés – az azonos nyomásúnak tekinthető alultelített minták, illetve az egyre emelkedő nyomásértéknek kitett minták – között különbség lehet a talajminták nedvességtartalma szempontjából is. Annak ellenére, hogy a mérések kezdetén a mintákat mind légszáraz talajmintából készítettem el, az extraktorokban lévő talajok feltételezhetően alacsonyabb nedvesség-tartalommal rendelkeznek. Számolnunk kell azzal, hogy a laboratórium légteréből vízgőz juthatott a folyamatosan alultelített talajmintákba, hiszen a porózus kerámialapos extraktorok zárt rendszerűek (a levegőnyomás kompresszorral biztosított), szemben az alultelített mintákkal, amelyek ugyan állandó hőmérsékleten, irányított laboratóriumi körülmények között vannak, de nincsenek izolálva a laboratórium légterétől.

A beáramló többlet nedvességtartalom kedvezhetett a mikroorganizmusoknak, hiszen előnyösebb életfeltételeket teremtett a számukra. Mindezt alátámaszthatja az előző alfejezetben ismertetett szerves folyadék-visszatartás minősége az alultelített minták esetében, ahol látszik egyfajta minimális visszatartó-képesség csökkenés az idő függvényében. Hiszen a talajminták felső részét nedvesítő vízgőz kis mértékben kiszoríthatja a kapillárisokban összegyűlt modellfolyadék bizonyos százalékát. Ezáltal nemcsak az emelkedő víztartalom, hanem a csökkenő olajtartalom is pozitívan befolyásolhatja a mérhető FDA aktivitás értékeket.

2.2.3 A modellfolyadék gázkromatográfiás analízisének eredményei

A gázkromatográfiás analízis (GC-FID) mérési eredményeihez kapcsolódó kromatogramok a 4. mellékletben, az eredményeket tartalmazó táblázatok az 5. mellékletben találhatók.

A 7. ábrán az eredményeket az alkalmazott nyomásértékek szerint, a teljes detektált mennyiség százalékában mutatom be, szénatomszám szerint növekvő sorrendben.



7. ábra: A modellfolyadék szénatomszám szerinti összetétele a különböző nyomásértékeken

A modellfolyadék szénatomszám szerinti százalékos összetétele a nyomás változásával és időben változik (8. ábra és az 5. melléklet). Megállapítható, hogy a modellfolyadék (Dunasol) összetételét döntően a 11, 12, 13, 14 és 15 szénatomszámú vegyületek adják (5. melléklet). Ezek a komponensek a kontrollként alkalmazott Dunasol modellfolyadék összetételének 91%-át adják, míg a 400 mbar nyomásértéknek kitett mintából származó szerves folyadékokban már 99,9%-ban mutathatók ki. Ez ad lehetőséget arra, hogy a hosszabb és rövidebb szénláncú komponensek arányának változását jellemezzük a C19-C15 illetve a C16-C40 szénatomszámú komponensek hányadosával. Az így képzett arányszám változása pedig alkalmas lehet a vizsgált modellfolyadék összetételét érintő degradációs folyamatok igazolására.

A 9-től 15-ig és a 16-tól 40 szénatomszámig terjedő komponensek arányainak változásai a különböző kezelések hatására a 10. táblázatban olvashatóak.

10. táblázat: A különböző telítettségű, valamint az alultelített mintákban lévő modellfolyadék magas szénatomszámú frakcióinak változásai

Nyomás (mbar)	Extraktor átlag C9-C15/C16-C40	Duncan-teszt csoportkód	Idő (nap)	Extraktor átlag C9-C15/C16-C40	Duncan-teszt csoportkód
Különböző nyomásértéken			Alultelített minták esetében		
0	10,099	A	0	10,099	A
20	33,272	A	42	33,401	A
50	24,120	A	56	19,305	A
150	636,614	B	70	48,575	A
400	1286,567	C	84	709,927	B

A különböző nyomásértéken kezelt mintákban a nyomás emelkedésével egyértelműen eltolódik az arány az alacsonyabb szénatomszámú összetevők felé, nő a rövidebb szénatomszámú komponensek aránya a hosszabb szénláncúakhoz képest. A Duncan-teszt eredményei alapján a 150 mbar és a 400 mbar, illetve a 84 nap után szignifikánsan eltér a szerves folyadék összetétele a kontroll modellfolyadék összetételétől.

A 11. táblázatban mutatom be a folyamatosan alultelített és a különböző nyomáson kezelt mintákból, illetve a kontrollnak számító DUNASOL 180/220 modellfolyadék összetételének változását jellemző C9-C15/C16-C40 arány értékek összehasonlítását.

11. táblázat: A különböző telítettségű, valamint az alultelített mintákban lévő modellfolyadék magas szénatomszámú frakcióinak változása és elkülönülése az egyes csoportok között

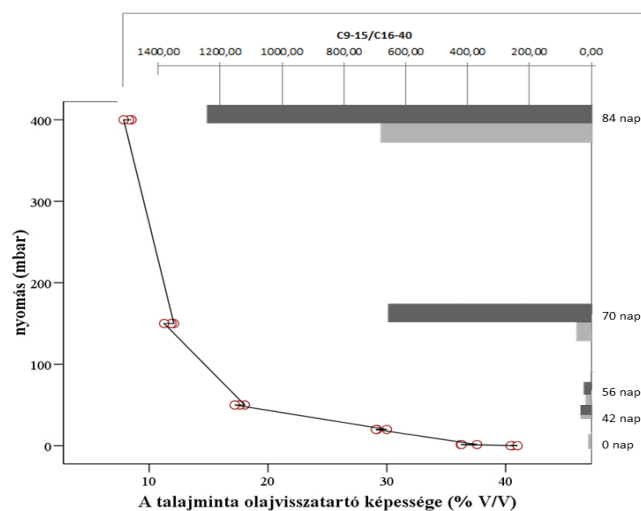
Idő (nap)	Kontroll minta C9-C15/C16-C40 átlaga	D T	Alultelített minták C9-C15/C16- C40 átlaga	D T	Extraktoros minták C9- C15/C16-C40 átlaga	D T
42	10,099	A	33,401	B	33,272	B
56	10,099	A	19,305	B	24,120	B
70	10,099	A	48,575	A	636,614	B
84	10,099	A	709,927	B	1286,567	C

DT: Duncan-teszt csoportazonosító

Látható, hogy már a vizsgálat 42. napjától az alultelítéshez alkalmazott és az extraktorból származó folyadékminták összetétele eltér a kontroll folyadék összetételétől. Az egyetlen kivételt a 150 mbar-hoz tartozó folyadékminta komponenseinek aránya (150A), ami feltételezhetően az összehasonlításul szolgáló 150 mbar nyomásértéken kezelt mintából származó modellfolyadék összetételbeli arányának nagymértékű eltolódása miatt került egy csoportba a kontroll mintával.

A 84. napon, azaz 400 mbar értéken a különböző kezelésnek kitett szerves folyadékok, összetételüket tekintve egyértelműen elkülönülnek.

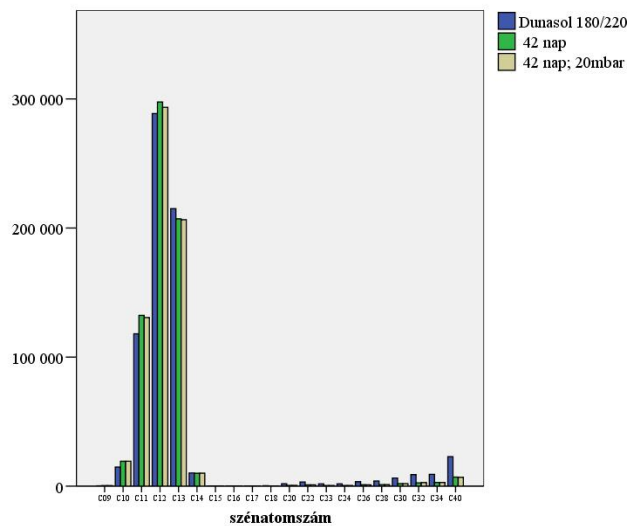
A 8. ábrán együtt ábrázoltam a különböző nyomásértékekhez tartozó olajvisszatartás értékeit, illetve az ahhoz tartozó C9-C15 és C16-C40 arányokat.



8. ábra: A talajminták olajvisszatartó képesség értékeiből képzett függvény, valamint a nyomásokhoz rendelt szénatomszám arányok

A megállapított tendenciák szemléletes ábrázolására készítettem a 9. ábrán látható hisztogramot, amely 42 nap után mutatja be a modellfolyadék összetételét.

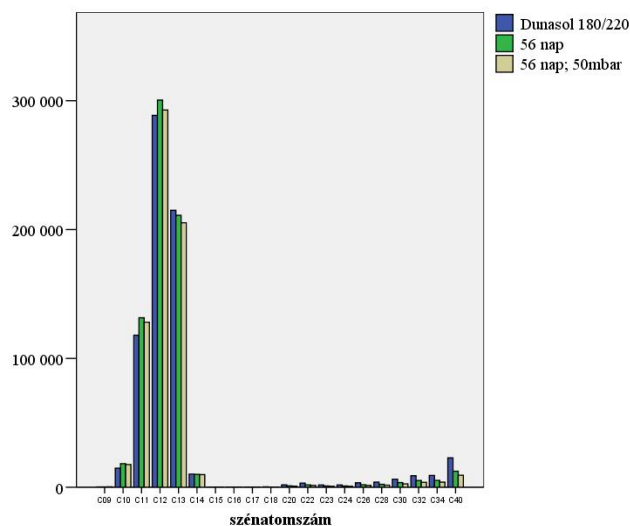
Koncentráció $\mu\text{g/ml}$



9. ábra: A modellfolyadék szénatomszám szerinti összetétele, valamint 42 nap után az alultelített és a 20 mbar nyomásértéken kezelt minták esetében

A 10. ábráról is leolvasható a 14 szénatomszám feletti komponensek csökkenése, valamint a C10, C11 és C12 összetevők koncentrációjának növekedése.

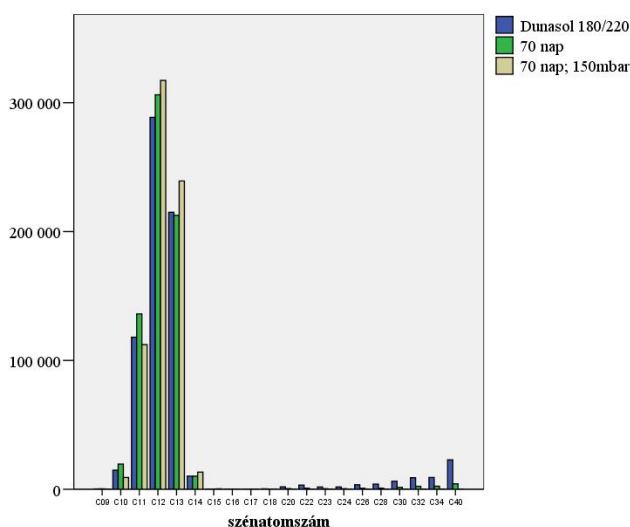
Koncentráció µg/ml



10. ábra: A modellyfolyadék szénatomszám szerinti összetétele, valamint 56 nap után az alultelített és az 50 mbar nyomásértéken kezelt minták esetében

A 11. ábrán a változás hasonló képet mutat, 56 nap elteltével, valamint az 50 mbar nyomásértéken kezelt mintákból származó modellfolyadék esetében is.

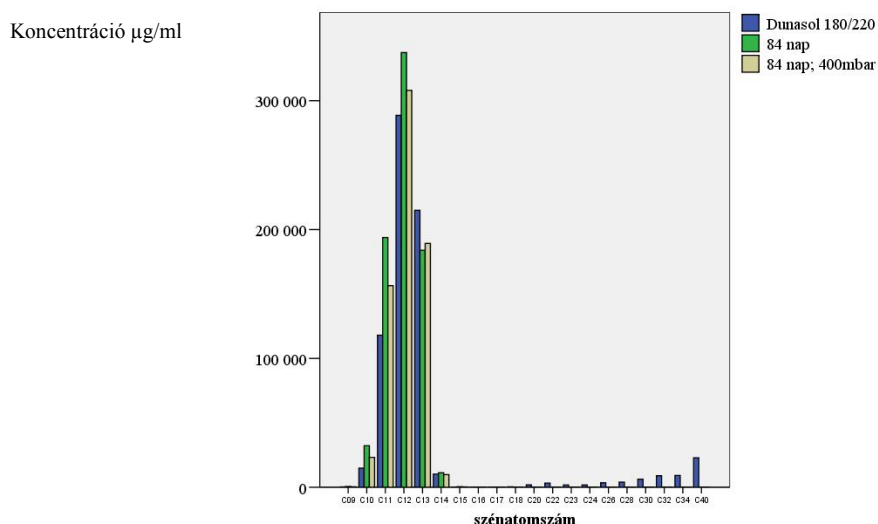
Koncentráció µg/ml



11. ábra: A modellyfolyadék szénatomszám szerinti összetétele, valamint 70 nap után az alultelített és a 150 mbar nyomásértéken kezelt minták esetében

A 11. ábrán bemutatott hisztogramról megállapítható, hogy a magas szénatom számúak aránya továbbra is csökken, A C11, C12 és a C13 mennyisége változatlanul emelkedik, azonban a 150 mbar nyomásértéken kezelt mintából származó szerves folyadék összetétele egyre jelentősebb eltéréseket mutat az alultelített mintáéhoz képest. A legkézenfekvőbb magyarázat az lenne, hogy a

talajminta a talaj fizikai és kémiai tulajdonságaitól függően eltérő mértékben köti meg a szerves folyadék különböző szénlánc hosszúságú molekuláit. Az emelkedő nyomásérték hatást gyakorol a pórusokban korábban megkötött szénhidrogén molekulák viselkedésére és azok - a talajt, majd az extraktort elhagyva -, megjelennek a bűrettában. A molekulák adszorpcióját követően feltételezhető, hogy a különböző molekulasúlyú és méretű molekulák a nyomás érték növelésével eltérő mértékben is deszorbeálódnak, ugyanakkor ez nem magyarázza a hosszú szénláncú komponensek mennyiségének csökkenését.



12. ábra: A modellyfolyadék szénatomszám szerinti összetétele, valamint 84 nap után az alultelített és a 400 mbar nyomásértéken kezelt minták esetében

A 12. ábrán jól látható, hogy a hosszabb szénláncú összetevők a mintában már nem kimutathatók. Alultelített mintáról lévén szó, a mikrobiológiai lebontás lehet a legkövetkezetesebb feltételezés, hiszen apró lépésenként tolódnak el az arányok, az alkotó vegyületek szénatom száma fokozatosan csökken.

A rövidebb szénláncú komponensek mennyisége a nyomás emelésével azonban kisebb mértékben nő, mint az alultelített mintáknál. Feltételeztük, hogy esetleg a nyomás növekedésével egyes komponensek kipárologhatnak, azonban a varianciaanalízis eredményei alapján (9. melléklet) a 150 és 400 mbar nyomáson végzett kezelést követően a vizsgált C9-C15 frakció mérhető mennyisége inkább nőtt. A C15-17 frakció arányának növekedése ezen belül, a mérési sorozat alatt valószínűleg csak részben magyarázható a nagyobb szénlánc hosszúságú összetevők mennyiségének csökkenésével.

3. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

A modellfolyadék statisztikailag szignifikánsan igazolható változásokon megy keresztül a vizsgálatok során, ezt a gázkromatográfiás mérések egyértelműen megerősítik. A talajminták mikrobiológiai aktivitása idővel nő, mind a folyamatosan alultelített, mind a különböző nyomáson kezelt minták esetében is. Ez utóbbi esetben azonban kisebb mértékben.

Kifogástalan bizonyítást azonban nehéz megalkotnom, egyik esetben sem lehet biztosan kijelenteni és elkülöníteni a változásért felelős folyamatokat. A kémiai degradáció, az adszorpciós folyamatok, valamint a mikrobiológiai lebontás egyidejű jelenlétét a jelenlegi feltételek mellett komplikált és spekulatív lenne szétválasztanom, egy-egy esetben megállapítható a dominánsabb folyamat, amely vezérli az átalakulásokat, azonban általános és megrendíthetetlen következtetés a bemutatott adatokból nem vonható le.

Az alultelített minták esetében bekövetkező szerves folyadék-visszatartás értékek eltérései miatt javaslom, hogy a mérések során ezeket a mintákat is izoláljuk a környezeti levegőtől, így elkerülhető, hogy a vízgőztől nedvesedjenek a talajok. A továbbiakban exszikkátorban történő alultelített minták vizsgálata egyértelműen igazolhatja, hogy a mikrobiológiai aktivitás erőteljesebb növekedése ebben az esetben csupán a nagyobb mértékű vízzel való ellátottság következménye, esetleg minden mást kizáróan a nyomás az egyetlen gátló tényező a különböző nyomásértéken kezelt minták vonatkozásában.

A mikrobiológiai degradáció bizonyítására vagy kizárására további vizsgálatok szükségesek. Mindenképpen szükséges sterilizált kontrollminták alkalmazása, ehhez egy teljesen újszerű sterilizálási módszer megtalálása, amely a legcsekélyebben sem befolyásolja a talaj fizikai és kémiai tulajdonságait, azonban a mikroba spórákat is elpusztítja.

A talajban található tápelemek és humuszanyagok, összes szerves széntartalom, illetve a forróvíz-oldható szerves széntartalom meghatározása is segíthetné a vizsgálatok során kapott eredmények értékelését.

A szerves folyadék pontosabb minőségi analízise, esetleges biomarker vegyületek (hopánok, szteránok, izoprenoidok) gázkromatográfiás analizálása tömegspektrométeres detektálással (GC-MS) is jó támpontot jelenthetne a modellfolyadék lebontásának teljes körű értékeléshez.

A sokrétű, és nehezen kezelhető méréseket ki lehetne váltani a változók számának csökkentésével, például speciálisan a vizsgálatainkhoz előkészített talajsorozatokkal, melyekkel meghatározható lenne a mikrobák alternatív szubsztrát hasznosítása, illetve a jelenlegi modellfolyadék helyett, tisztán, egy adott szénatomszámú komponenst tartalmazó szénhidrogén alkalmazása.

További vizsgálatok lennének szükségesek különböző talajtípusokkal is, hiszen a talaj fizikai és kémiai tulajdonságai jelentős mértékben meghatározhatják a talajmintákban lejátszódó, a szerves folyadékok degradációját befolyásoló adszorpció-deszorpció, párolgási és mikrobiológiai folyamatokat.

4. ÖSSZEFOGLALÁS

Az olajszennyeződés a talajokba és vizekbe kerülő nagy mennyiségű kőolaj vagy kőolajszármazék, amely a növény és állatvilágra, a talajok termékenységére, talajvizeinkre és vízbázisainkra károsító hatással van. Ezek a vegyületek a szállító-vezetékek meghibásodása, a felszín alatti tárolótartályok korróziója, a különböző szállító járművek balesete során kerülhetnek a talajokba.

A kármentesítést végző szakemberek számára fontos a szennyezés sorsának, mozgásának előrejelzése, várható kiterjedésének ismerete. A szerves folyadék szennyezések felszín alatti terjedését leíró szimulációs modellek legfontosabb hidrológiai paraméterei a talaj folyadék-visszatartó és -vezető képessége.

A vizsgálatom célja annak megállapítása volt, hogy a szerves folyadék-visszatartó képesség mérések során alkalmazott modellfolyadék (Dunasol 180/220) összetételében történik-e változás biológiai és/vagy kémiai degradáció következtében. Eredményeim ezáltal hozzájárulnak mind a mérési, mind a becslési módszer fejlesztéséhez és a kutatás eddigi eredményeinek pontosabb megértéséhez.

A vizsgálataimhoz kiválasztott talajminta egy lehumuszosítás során depóba helyezett mészlepedékes csernozjom talaj felső szintjéből vett minta volt. Az olajvisszatartó képesség mérésekor felhasznált szerves folyadék a gázolajfrakcióhoz közelálló tulajdonságokkal rendelkező, de aromás vegyületet, illó komponenseket nem tartalmazó DUNASOL 180/220. A talajminták olajvisszatartó képességének meghatározására a Soilmoisture Equipment Corporation LAB 230 jelű porózus kerámialapos pF-mérő berendezésnek egy, a Pannon Egyetem Georgikon Kar, Növénytermesztéstani és Talajtani Tanszékén kifejlesztett módosított változatát használtam. A talajmintákban található mikroorganizmusok összaktivitását fluoreszcein-diacetát (FDA) módszerrel mutattam ki. A vizsgálatban alkalmazott modellfolyadék összes szénhidrogén tartalmát (TPH) gázkromatográfiás eljárással, lángionizációs detektálással (GC-FID) határoztam meg.

A modellfolyadék igazolható változásokon megy keresztül a vizsgálatok során, ezt a gázkromatográfiás mérések egyértelműen megerősítik.

A talajminták mikrobiológiai aktivitása az idő előrehaladtával növekedik, azonban ezt a növekedést egyértelműen befolyásolja a nyomás emelkedése, illetve a minták változó olaj- és az alultelített minták esetén feltételezhető víztartalma.

A vizsgálati adatok elemzése során egy-egy esetben meghatároztam a dominánsabb folyamatokat, amelyek vezérlik az átalakulásokat, azonban általános és megrendíthetetlen következtetés a bemutatott adatokból nem vonható le.

A modellfolyadék degradációjának bizonyítására vagy kizárására a jövőben további vizsgálatok szükségesek.

A pontosabb mérési rendszer kidolgozásának elősegítésére azonban kellő biztonsággal és megalapozottsággal tudtam javaslatokat megfogalmazni.

5. IRODALOMJEGYZÉK

- ABRIOLA, L.M. - DEMOND, A.H. /2004/ Migration and entrapment of DNAPL sin heterogeneous systems: impact of waste and porous medium composition. Final report. The University of Michigan, Department of Civil and Environmental Engineering, U.S.
- ADAM, G. – DUNCAN, H. /2001/: Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology & Biochemistry* 33. 943-951. p.
- ALEXANDER, M. /1994/: Biodegradation and Bioremediation. Academic Press, Inc., San Diego, CA.
- AMYX, J. W. - BASS, D. M. - WHITING, R. L. /1960/: Petroleum Reservoir Engineering—Physical Properties. McGraw-Hill Book Company, New York.
- ANTON A. - SIMON L. /1999/: A talaj szennyeződése szerves anyagokkal. In: Simon L. Talajszennyezés, talajtisztítás. 2. kiadás. 33-54. p. Környezetügyi Műszaki Gazdasági Tájékoztató. 5. kötet. Környezetgazdálkodási Intézet Környezet- és Természetvédelmi Szakkönyvtár és Információs Központ, Budapest.
- ATLAS, R. M. /1978/: Microorganisms and Petroleum Pollutants. *Bioscience*. 28. 387–391. p.
- ATLAS, R. M. /1981/: Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiology Review*. 45. 180–209. p.
- BARÓTFI I. /szerk., 2000/: Környezettechnika. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- BARTHA, R. - ATLAS, R.M. /1977/: The microbiology of aquatic oil spills. *Advances in Applied Microbiology* 22. 225–266. p.
- BOSSERT, I. - BARTHA, R. /1984/: The fate of petroleum in soil ecosystems. In ATLAS, R. M. *Petroleum Microbiology*. Macmillan, New York. 435–473. p.
- BOUMA, J. /1989/: Using soil survey data for quantitative land evaluation. *Advances in Soil Science*. 9. 177-213. p.
- BROOKES, P. C., POWLSON, D. S. - JENKINSON, D. S. /1982/: Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 14. 319–329. p.
- BROOKES, P. C. - LANDMAN, A. – PRUDEN, G. - JENKINSON, D.S. /1985/: Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 17. 837–842. p.
- BROWN, H.W. /1951/: Capillary pressure investigations, *Transactions. AIME*. 192. 67-74. p.
- BRUCE, L. G. /1993/: Refined gasoline in the subsurface. *The American Association of Petroleum Geologists Bulletin*. 77. 212-224. p.
- BUZÁS, I. (1993): Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszerkönyv 1. Tótfalusi Tannyomda, Budapest.

- CHARBENEAU, R. J. - WEAVER, J. W. - LIEN, B. K. /1994/: The hydrocarbon spill screening modell (HSSM). 2. US EPA. EPA/600/R-94/039b.
- CONCAWE /1979/: Protection of groundwater from oil pollution. Report No. 3/79. The Hague.
- DRAGUN, J. – BARKACH, J. H. /1999/: Fate of petroleum in soil systems. In KOSTECKI P.: Assessments and remediation of oil contaminated soils. Taylor and Francis. 101-136. p.
- DIBBLE, J. T. - BARTHA, R. /1979/: a. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. Appl. Environ. Microbiol. 37. 729–739. p.
- DICARLO, D. A. – BAUTERS, T. W. J. – STEENHUIS, T. S. – PARLANGE, J.Y. – BIERCK, B. R. /1997/: High-speed measurements of three-phase flow using synchrotron x rays. Water Resources Research. 33. 569 –576. p.
- ELEK B. /2009/: Talajok szerves folyadékvezető- és folyadék-visszatartó- képessége. Phd. dolgozat. Keszthely.
- FEKETE J. – RITZ F. /2003/: Olajmeghatározási módszerek 2.rész. Műszerügyi és Méréstechnikai Közlemények. XXXIX. 72.
- FILEP GY. - KOVÁCS B. - SZABÓ I. /1999/: A káros anyagok reakciói a hulladékot befogadó kőzetekkel. MÁFI tanulmánykötet, Debrecen.
- FIORINZA, S. – OUBRE, L. C. – WARD, H. C. /2000/: Phytoremediation of hydrocarbon-contaminated soils. Lewis Publishers, Boca Raton.
- FROSTEGÅRD, A. - TUNLID, A. - BÅÅTH, E. /1991/: Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. Journal of Microbiological Methods. 14. 151–163. p.
- GRIFFITH, P.C. - FLETCHER, M. /1991/: Hydrolysis of protein and model dipeptide substrates by attached and nonattached marine *Pseudomonas* sp. strain NCIMB 2021. Applied Environmental Microbiology. 57. 2186–2191. p.
- GRUIZ K. /1998/: Remediation methods of contaminated soils. In. FILEP GY. Soil Pollution, Debreceni Agrártudományi Egyetem, Debrecen. 248-273. p.
- HAYDEN, N. J. – VOICE, T. C. /1993/: Microscopic observation of a NAPL in a three-fluid-phase soil system. Journal of Contaminant Hydrology. 12. 217-226. p.
- HERNÁDI H. – MAKÓ A. /2011/: A talaj olajvisszatartó képességének becslése különböző módszerekkel. in: FARSANG A. – LADÁNYI ZS. (szerk.): Talajvédelem különszám. Talajvédelmi Alapítvány, Budapest. 363-370 p.
- INOUE, A. - HORIKOSHI, K. /1991/: Journal of Fermentation and Bioengineering 71. 194–196. p.
- INVITROGEN CORPORATION /2011/:
<http://products.invitrogen.com/ivgn/product/F1303?ICID=search-product>
- JENKINSON, D. S. - POWLSON, D. S. /1976/: The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. 5. A method for measuring soil biomass. Soil Biology and Biochemistry. 8. 209–213. p.
- JENKINSON, D. S. - DAVIDSON, S. A. - POWLSON, D. S. /1979/: Adenosin triphosphate and microbial biomass in soil. Soil Biology and Biochemistry. 8. 167–177. p.

- KARICHOFF, S. W. - BROWN, D. S. – SCOTT T. A. /1979/: Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water Resources* 13. 241-248. p.
- KAUFMAN, D. D. - PLIMMER, J. – IWAN, J. - KLIRIGEBIEL, U. /1972/: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 20, 916
- KEFFORD, B. - KJELLEBERG, S. - MARSHALL, K. C. /1982/: Bacterial scavenging: utilization of fatty acids localized at a solid–liquid interface. *Archives of Microbiology* 133. 257–260. p.
- KNETTING, E. - ZAJIC, J. E. /1972/: Flocculant production from kerosene. *Biotechnology and Bioengineering*. 14. 379–390. p.
- KRAMER, D.N. - GUILBAULT, G.G. /1963/: A substrate for the fluorimetric determination of lipase activity. *Analytical Chemistry*. 35. 588-589. p.
- LAANE, C. - BOEREN, S. - HILHORST, R. - VEEGER, C. /1987/: Optimization of biocatalysis in organic media. In LAANE, C. (szerk): *Biocatalysis in Organic Media*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 65–84. p.
- LEAHY J. G. - COLWELL R. R. /1990/: Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *American Society of Microbiology. Microbiological Reviews*. 54. 305-315. p.
- LEISINGER, T. /1983/: I. General aspects. *Microorganisms and xenobiotic compounds. Experientia*. 39. 1183–1191. p.
- LEVERETT, M. C. /1941/: M. Capillary behavior in porous solids. *Petroleum Transactions. AIME*. 142. 152-169. p.
- LOFFREDO, E. – SENESI, N. /2006/: Fate of anthropogenic organic pollutants in soils with emphasis on adsorption/desorption processes of endocrine disruptor compounds. *Pure and Applied Chemistry*. 78. 947-961. p.
- LIEBEG E. W. - CUTRIGHT, T. J. /1999/: The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in a PAH contaminated soil. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 44. 55-64. p.
- MACKAY, D. M. – ROBERTS, V. R. – CHERRY, J.A. /1985/: Transport of organic contaminants in groundwater. *Environmental Science and Technology*. 19. 384-392 p.
- MADSEN, E. L. /1991/: Determining in situ biodegradation: facts and challenges. *Environmental Science and Technology*. 25. 1663–1673. p.
- MAKÓ A. /2002/: Measuring and estimating pressure-saturation curves on undisturbed soil samples by using water and NAPL. *Agrokémia és Talajtan*. 51. 27-36. p.
- MAKÓ A. - MARCZALI Zs. /1999/: A talajok szerves folyadékokra vonatkozó folyadék-visszatartó képességének laboratóriumi mérése.: XIII. Országos Környezetvédelmi Konferencia és Szakkiállítás, Siófok.
- MARSHALL, K. C. /1976/: *Interfaces in Microbial Ecology*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- MCCUTCHEON, S. C. – JERALD, L. S. /2003/: *Phytoremediation: transformation and control of contaminants*. Wiley-IEEE.
- MICHELICIC, J. R. - LUEKING, D. R. - MITZELL, R. J. - STAPLETON, J. M. /1993/: Bioavailability of sorbed- and separate-phase chemicals. *Biodegradation*. 4. 141–153. p.

- MOLNÁR M. /2006/: Szennyezett talajok ciklodextrinnel intenzifikált bioremediációja a tervezéstől az alkalmazásig. Phd dolgozat, Budapest
- MULIGAN, C. N. – YONG, R. N. /2003/: Natural attenuation of contaminated soils. *Environment International*. 30. 587-601. p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. /1993/: In Situ Bioremediation. When Does It Work? Water Science and Technology Board, Com. Eng. Tech. Systems. National Academy of Sciences. National Academy Press, Washington, D.C.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL /2000/: Natural attenuation for groundwater remediation. National Academy Press, Washington, D.C.
- NÉMETH T. /szerk., 2001/: Kármentesítési kézikönyv 4. - Kármentesítési technológiák. Környezetvédelmi Minisztérium, Budapest, 17. p.
- NOVAK, J. T. - GOLDSMITH, C. D. - BENOIT, R. E. - O'BRIEN, J. H. /1985/: Biodegradation of methanol and tertiary butyl alcohol in subsurface systems. *Water Science and Technology*. 17. 71–85. p.
- PERRY, J.J. /1984/: Microbial metabolism of cyclic alkanes. In ATLAS, R. M.: *Petroleum Microbiology*. Macmillan, New York. 61–97. p.
- PETRUZZELLI, G. – GORINI, F. – PEZZAROSSA, B. – PEDRON, F. /2010/: The fate of pollutants in soil. In. BIANCHI, F. – CORI, L. – MORETTI, F. P. szerk. CNR Environment and health inter-departmental project: present knowledge and prospects for future research. Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma.
- PETTYJOHN, W. A. - HOUNSLOW, A.W. /1983/: Organic compounds and ground-water pollution. *Ground Water Monitoring Review* 3. 41–47. p.
- RAJKAI K. - VÁRALLYAI GY. - PACSEPSZKI, J.A. - CSERBAKOV, R.A. /1981/: A pF-görbék számítása a talaj mechanikai összetétele és térfogattömege alapján. *Agrokémia és Talajtan*. 30. 409-438. p.
- RAJKAI K. /1987-1988/: A talaj víztartó-képessége és a különböző talajtulajdonságok összefüggésének vizsgálata. *Agrokémia és Talajtan*. 36-37. 15-30. p.
- RAJKAI K. /1993/: A talajok vízgazdálkodási tulajdonságainak vizsgálati módszerei. In: Búzás I. (szerk): *Talaj- és agrokémiai vizsgálati módszerkönyv 1. A talaj fizikai, vízgazdálkodási és ásványtani vizsgálata*. INDA 4321 Kiadó, Budapest. 115-160. p.
- RISER - ROBERTS, E. /szerk., 1998/. *Remediation of petroleum contaminated soils: biological, physical, and chemical processes*. Lewis Publishers, New York.
- SCHMIDT, E. L. - PAUL, E. A. /1982/: Microscopic methods for soil microorganisms. In: PAGE, A. L. (szerk.): *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. American Society for Agronomy. Madison, WI. 803–814. p.
- SCHNÜRER, J. – ROSSWALL, T. /1982/: *Applied and environmental microbiology*. 43. 1256-1261 p.
- SCHWARZ, J. R. – WALKER, J. D. – COLWELL, R. R. /1974/: *Developments in Industrial Microbiology*. 15. 239-249. p.

- SEKI, H. /1976/ Method for estimating the decomposition of hexadecane in the marine environment. *Applied Environmental Microbiology*. 31. 439–441. p.
- SEPIC, E. - LESKOVSEK, H. - TRIER, C. /1995/: Aerobic bacterial degradation of selected polyaromatic compounds and nalkanes found in petroleum. *Journal of Chromatography A*. 697. 515–523. p.
- SHAPIRO, L. /1976/: Differentiation in the *Caulobacter* cell cycle. *Annual Review of Microbiology*. 30. 377–402. p.
- SIMS, R. C. - BASS, J. /1984/: Review of in-place treatment techniques for contaminated surface soils. I: Technical Evaluation. EPA Report No. Epa – 540/2 – 84 – 003a.
- SMELT, J. P. /1998/: Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Science and Technology*. 9. 152-158. p.
- SOLANAS, A. M. - PARES, R. - BAYONA, J. M. - ALBAIGES, J. /1984/: Degradation of aromatic petroleum hydrocarbons by pure microbial cultures. *Chemosphere*. 13. 593–601. p.
- SPARLING, G. P. /1981/: Microcalorimetry and other methods to assess biomass and activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 13. 93–98. p.
- SPEIGHT, J. G. /2002/: Handbook of petroleum product analysis. John Wiley and Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- STEFANOVITS P. – FILEP GY. – FÜLEKY GY. /1999/: Talajtan. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- SZABÓ I. M. /1996/: A bioszféra mikrobiológiája II. Akadémia Kiadó, Budapest.
- SZABÓ I. M. /2008/: Az általános talajtan biológiai alapjai. 3. kiadás. Mundus Magyar Egyetemi Kiadó, Budapest.
- SZABÓ I. – SZOBOSZLAY S. - KRISZT B. - HÁHN J. - HARKAI P. - BAKA E. - TÁNCICS A. - KASZAB E. - PRIVLER Z. - KUKOLYA J. /2011/: *Olivibacter oleidegradans* sp. nov. hydrocarbon degrading strain isolated from a clean-up facility (biofilter) set up on a Hungarian hydrocarbon contaminated site. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- SZEGI, J. /1979/: Talajmikrobiológiai vizsgálati módszerek. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- TEXAS RESEARCH INSTITUTE, INC. /1982/: Enhancing the Microbial Degradation of Underground Gasoline by Increasing Available Oxygen. Report to the American Petroleum Institute, Washington, D.C.
- TIDWELL, V. C. – GLASS, R.J. /1994/: X-ray and visible light transmission for laboratory measurement of two-dimensional saturation fields in thin-slab systems, *Water Resources Research*. 30. 2873-2882. p.
- TÓTH Á., TÁNCICS A. /2009/: Baktériumokkal a kőolajszennyezések ellen. *Élet és Tudomány* 2, 45-47. p.
- US-EPA /1996a/: How to effectively recover free product at leaking underground storage tank sites: a guide for state regulators. EPA 510-R-96-001.
- US-EPA /1996b/: A Citizen's Guide to Natural Attenuation. EPA 542-F-96-015.

US-EPA /1997/: Expedited site assessment tools for underground storage tank sites: a guide for regulators. Chapter 6: Field methods for the analysis of petroleum hydrocarbons. EPA 510-B-97-001

US-EPA /1999/: Monitored natural attenuation of petroleum hydrocarbons. EPA/600/F-98/021. Office of Research and Development, Washington, D. C.

US-EPA /2003/: The DNAPL remediation challenge: is there a case for source depletion? EPA/600/R-03/143.

VANCE, E. D. - BROOKES, P. C. - JENKINSON, D. S. /1987/: An extraction method for measuring soil microbial biomass-C. Soil Biology and Biochemistry. 19. 703–707. p.

VAN LOOSDRECHT, M. C. – LYKLEMA, J. – NORDE, W. – ZEHNDER, A. J. /1990/: Influence of interfaces on microbial activity. Microbiology and Molecular Biology Review. 54. 75-87. p.

VERSTRAETE, W. - VANLOOCKE, R. – DEBORGER, R. – VERLINDE, A. /1976/: Modelling of the breakdown and the mobilization of hydrocarbons in unsaturated soil layers, In SHARPLEY J. M. - KAPLAN A. M. (szerk.): Proceedings of the 3rd International Biodegradation Symposium. Applied Science Publishers Ltd., London. 99-112. p.

WEBER, J.B. MILLER, CT. /1989/: Organic chemical movement over and through soil. SSSA Special Publication. 1989. 22. 25-56. p.

WU, J. - O'DONNELL, A. G. - HE, Z. L. - SYERS J. K. /1994/: Fumigation-extraction method for the measurement of soil microbial biomass- S. Soil Biology and Biochemistry. 26. 117–125. p.

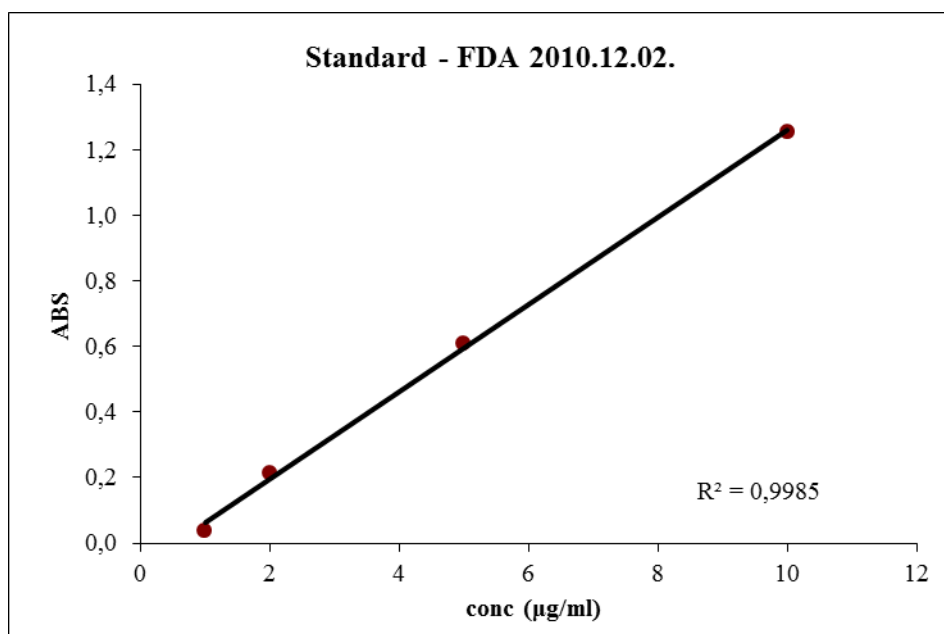
ZOBELL, C. E. /1950/: Assimilation of hydrocarbons by microorganisms. Advances in Enzymology. 10. 443–486. p.

6. MELLÉKLETEK

1. melléklet: Az FDA aktivitás meghatározásához felhasznált standard-görbe, valamint az elkészítéséhez szükséges kalibrációs adatok

Standard pont	Koncentráció (µg/ml)	ABS1	ABS2	ABS3	ABS átlag
1	1	0,0366	0,0366	0,0373	0,0368
2	2	0,2127	0,2139	0,2173	0,2146
3	5	0,6053	0,6091	0,6142	0,6095
4	10	1,2455	1,2520	1,2594	1,2523

ABS=abszorbancia



2. melléklet: A három ismétlésben meghatározott FDA aktivitás értékei

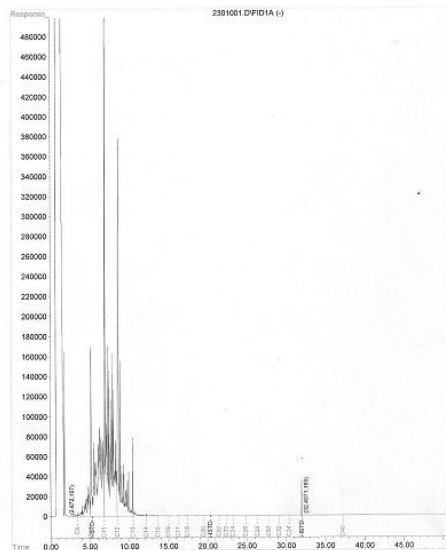
Nyomás (mbar)	Idő (nap)	Ismétlés	FDA aktivitás (µg/g talaj/h)	FDA aktivitás átlag	Bázis-viszony-számok
0	0	1	30,29	30,53	-
0	0	2	31,56	30,53	-
0	0	3	29,75	30,53	-
0	14	1	21,34	18,16	59,48
0	14	2	16,03	18,16	59,48
0	14	3	17,11	18,16	59,48
2	28	1	64,70	74,89	245,30
2	28	2	85,08	74,89	245,30
2	28	3	74,89	74,89	245,30
2	42	1	101,38	109,01	357,06
2	42	2	116,64	109,01	357,06
2	42	3	109,01	109,01	357,06
20	42	4	37,60	64,70	211,92
20	42	5	61,61	64,70	211,92
20	42	6	94,90	64,70	211,92
2	56	1	101,93	99,37	325,48
2	56	2	96,03	99,37	325,48
2	56	3	100,14	99,37	325,48
50	56	4	93,72	81,42	266,69
50	56	4	69,13	81,42	266,69
50	56	4	81,42	81,42	266,69
2	70	1	129,10	122,30	400,59
2	70	2	127,77	122,30	400,59
2	70	3	110,02	122,30	400,59
150	70	4	103,27	89,91	294,50
150	70	5	75,19	89,91	294,50
150	70	6	91,26	89,91	294,50
2	84	1	156,41	149,81	490,70
2	84	2	166,00	149,81	490,70
2	84	3	127,03	149,81	490,70
400	84	4	102,29	106,35	348,35
400	84	5	116,72	106,35	348,35
400	84	6	100,04	106,35	348,35

3. melléklet: A vizsgálatok során meghatározott olajvisszatartás értékek, valamint az azokból számított viszonyszámok

Nyomás (mbar)	Idő (nap)	Ismétlés	Szerves folyadék- visszatartás (V/V%)	Szerves folyadék- visszatartás átlag (V/V%)	Bázis- viszony- számok (%)	Lánc-viszony- számok (%)
0	14	1	40,56	40,66	-	-
0	14	2	40,42			
0	14	3	41,00			
2	28	1	37,59	36,70	90,27	90,27
2	28	2	36,23			
2	28	3	36,29			
2	42	1	36,10	35,58	87,51	96,95
2	42	2	35,45			
2	42	3	35,20			
20	42	4	29,18	29,42	72,36	80,16
20	42	5	30,00			
20	42	6	29,08			
2	56	1	35,78	35,22	86,62	98,98
2	56	2	34,91			
2	56	3	34,97			
50	56	4	18,04	17,62	43,33	59,88
50	56	4	17,61			
50	56	4	17,20			
2	70	1	35,49	34,98	86,03	99,32
2	70	2	34,73			
2	70	3	34,72			
150	70	4	12,08	11,74	28,87	66,62
150	70	5	11,87			
150	70	6	11,26			
2	84	1	35,54	35	86,07	100,05
2	84	2	34,80			
2	84	3	34,65			
400	84	4	8,51	8,22	20,22	70,04
400	84	5	8,30			
400	84	6	7,85			

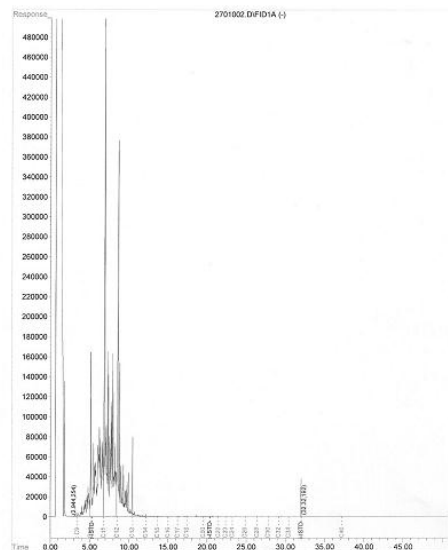
4. melléklet A gázkromatográfiás vizsgálatok (GC-FID) kromatogramjai

File name : D:\23-10923\2301001.D
Sample name: Dunaol 180/220 1 higitas 11-2/158
Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
Acquired : 26 Sep 2011 11:4 using Acqmethod OLAJFR.M
Vial number: 23



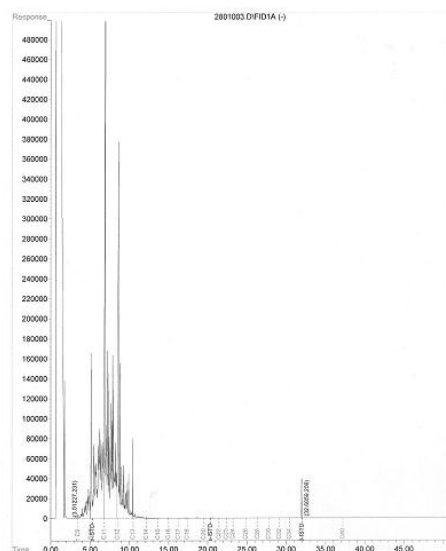
Baseline corrected, advanced TPH analysis
Multiplier: 100
Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\2701002.D
Sample name: Dunaol 180/220 2 higitas 11-2/159
Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
Acquired : 26 Sep 2011 12:5:4 using Acqmethod OLAJFR.M
Vial number: 27



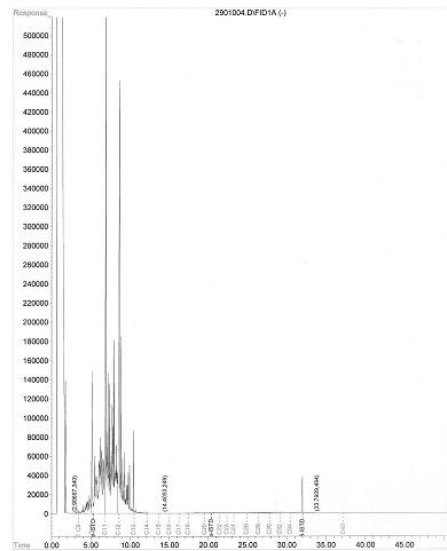
Baseline corrected, advanced TPH analysis
Multiplier: 100
Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\2801003.D
Sample name: Dunaol 180/220 3 higitas 11-2/160
Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
Acquired : 26 Sep 2011 12:6:4 using Acqmethod OLAJFR.M
Vial number: 28



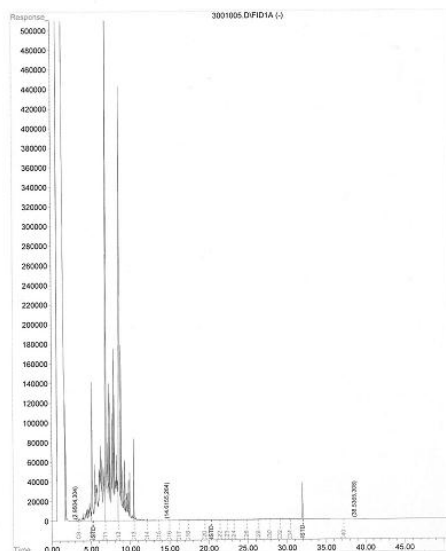
Baseline corrected, advanced TPH analysis
Multiplier: 100
Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\2901004.D
Sample name: Dunaol 180/220 4 higitas 11-2/161
Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
Acquired : 26 Sep 2011 12:7:4 using Acqmethod OLAJFR.M
Vial number: 29



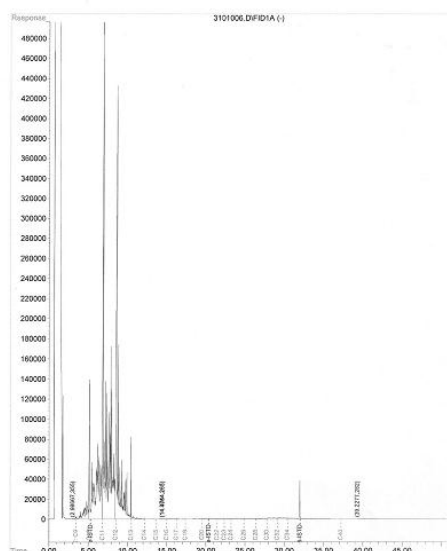
Baseline corrected, advanced TPH analysis
Multiplier: 100
Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3001005.D
 Sample name: Dunasol 180/220 5 higitas 11-2/162
 Misc. Info : VEGYSS LAKOSSÁGI
 Acquired : 26 Sep 2011 128:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 30



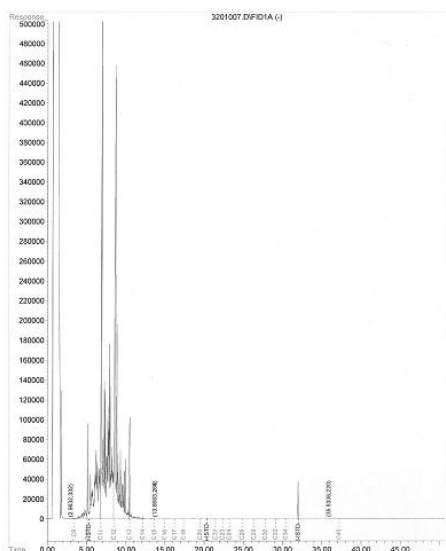
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3101006.D
 Sample name: Dunasol 180/220 6 higitas 11-2/163
 Misc. Info : VEGYSS LAKOSSÁGI
 Acquired : 26 Sep 2011 129:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 31



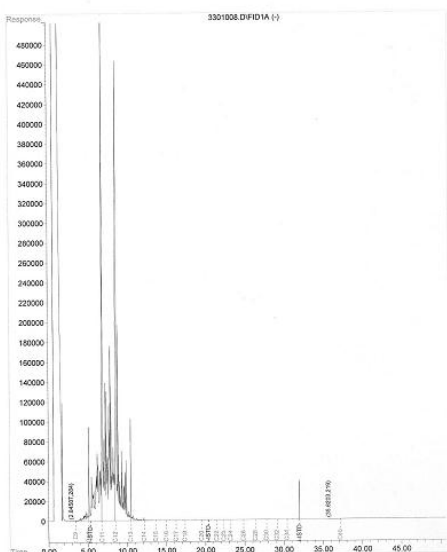
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3201007.D
 Sample name: Dunasol 180/220 7 higitas 11-2/164
 Misc. Info : VEGYSS LAKOSSÁGI
 Acquired : 26 Sep 2011 130:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 32



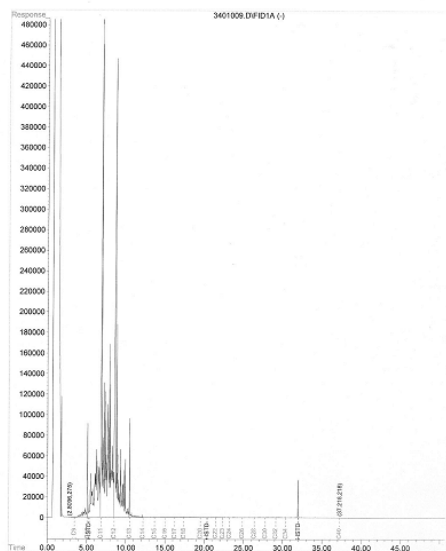
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3301008.D
 Sample name: Dunasol 180/220 8 higitas 11-2/165
 Misc. Info : VEGYSS LAKOSSÁGI
 Acquired : 26 Sep 2011 131:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 33



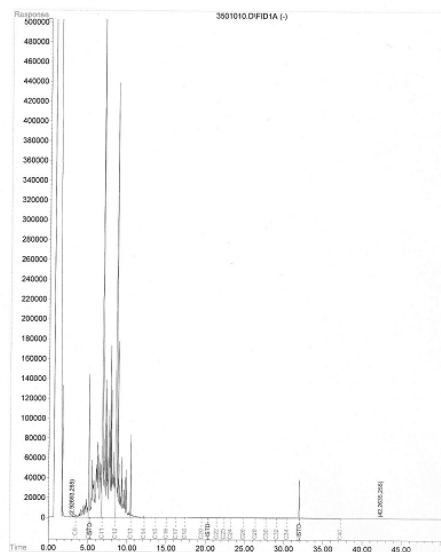
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3401009.D
 Sample name: Dunasol 180/220 9 higitas 11-2/166
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 12:4 using Acqmethod OLAJPR.M
 Vial number: 34



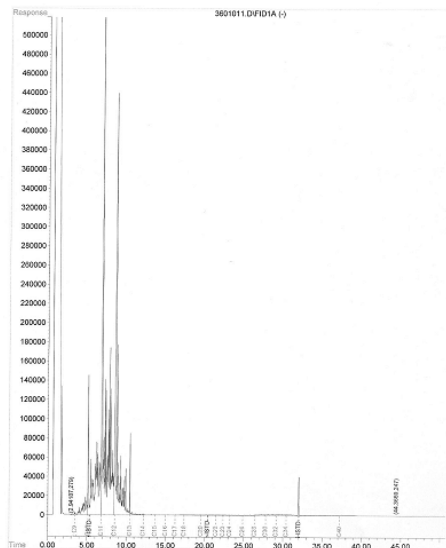
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3501010.D
 Sample name: Dunasol 180/220 10 higitas 11-2/167
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 1:4 using Acqmethod OLAJPR.M
 Vial number: 35



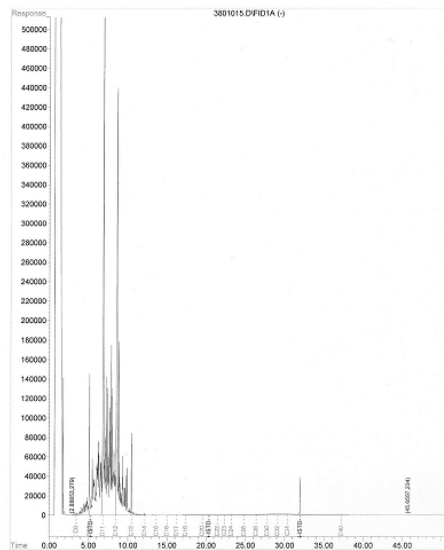
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3601011.D
 Sample name: Dunasol 180/220 11 higitas 11-2/168
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 2:4 using Acqmethod OLAJPR.M
 Vial number: 36



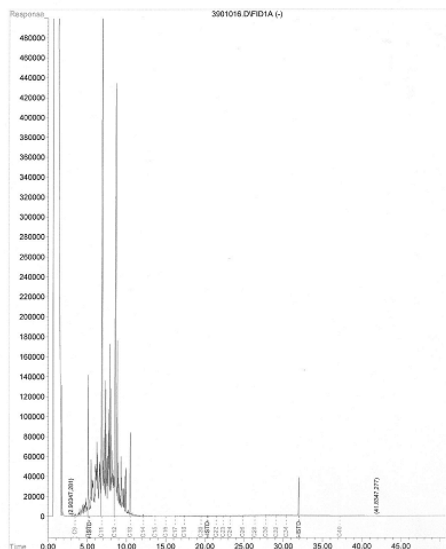
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3801015.D
 Sample name: Dunasol 180/220 12 higitas 11-2/169
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 6:4 using Acqmethod OLAJPR.M
 Vial number: 38



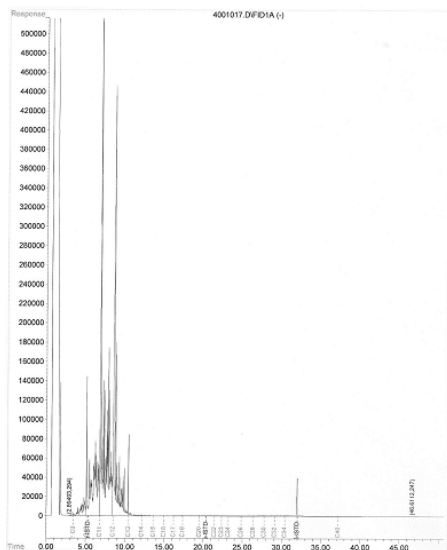
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\3901016.D
 Sample name: Dunasol 180/220 13 higitas 11-2/170
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 7:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 39



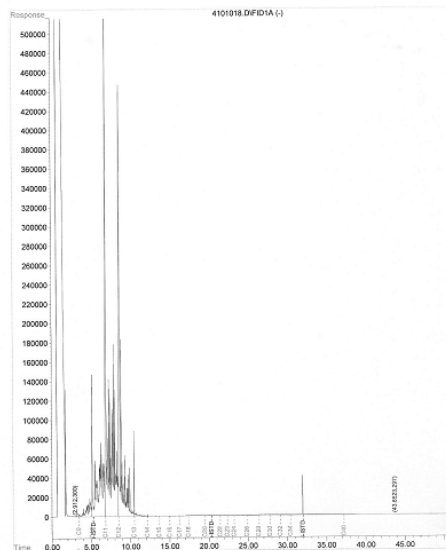
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4001017.D
 Sample name: Dunasol 180/220 14 higitas 11-2/171
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 8:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 40



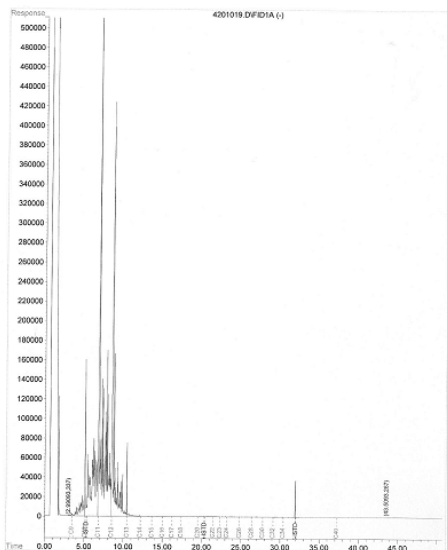
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4101018.D
 Sample name: Dunasol 180/220 15 higitas 11-2/172
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 9:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 41



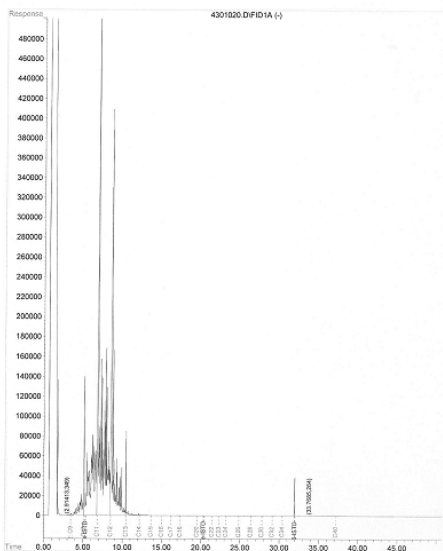
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4201019.D
 Sample name: Dunasol 180/220 16 higitas 11-2/173
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 10:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 42



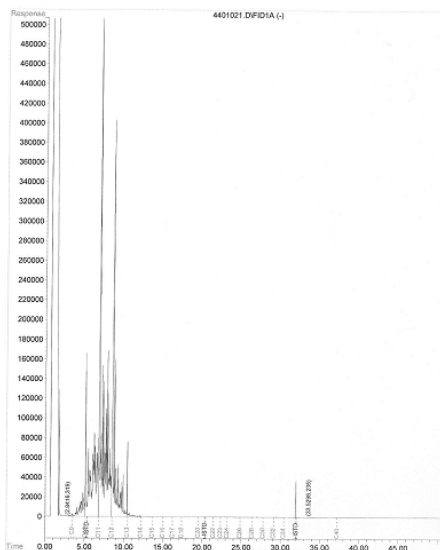
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4301020.D
 Sample name: Dunasol 180/220 17 higitas 11-2/174
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 11:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 43



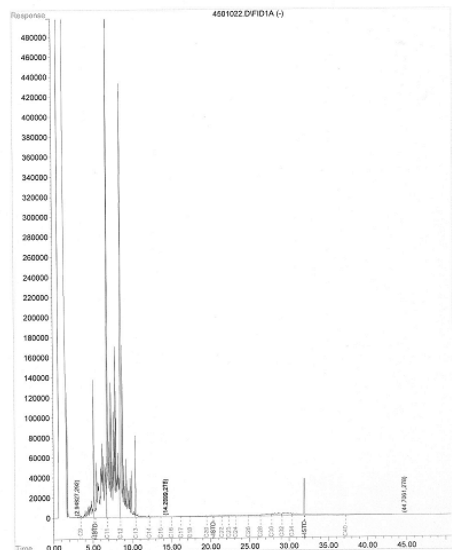
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4401021.D
 Sample name: Dunasol 180/220 18 higitas 11-2/175
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 13:2:5 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 44



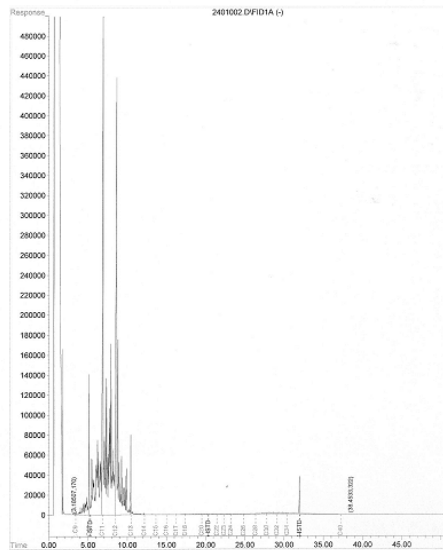
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4501022.D
 Sample name: Dunasol 180/220 19 higitas 11-2/176
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 12:1:5 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 45



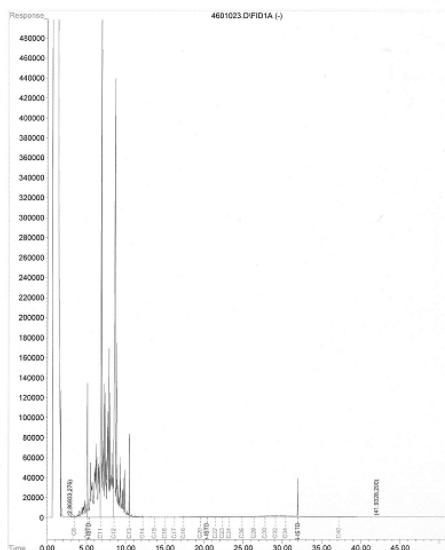
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\2401002.D
 Sample name: Dunasol 180/220 20 higitas 11-2/177
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 26 Sep 2011 13:2:4 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 24



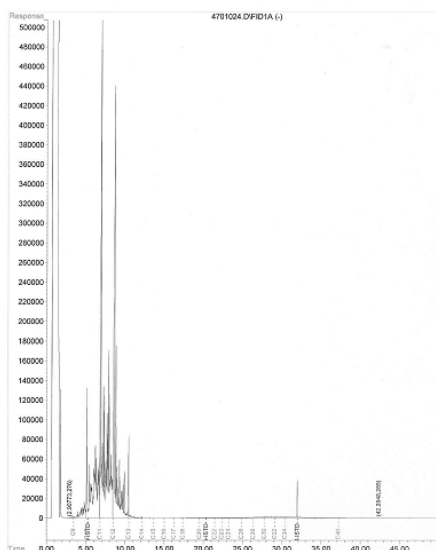
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4601023.D
 Sample name: Dunasol 180/220 21 higitas 11-2/178
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 122:5 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 46



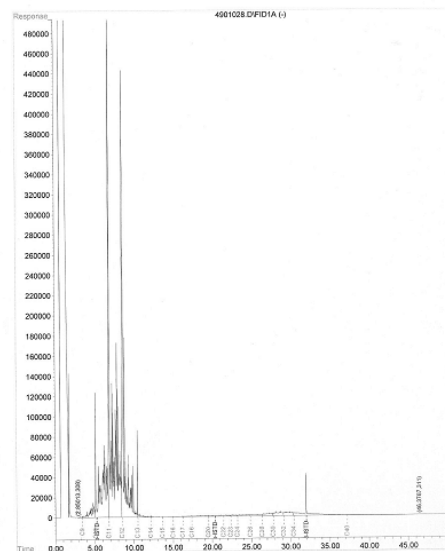
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4701024.D
 Sample name: Dunasol 180/220 22 higitas 11-2/179
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 123:5 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 47



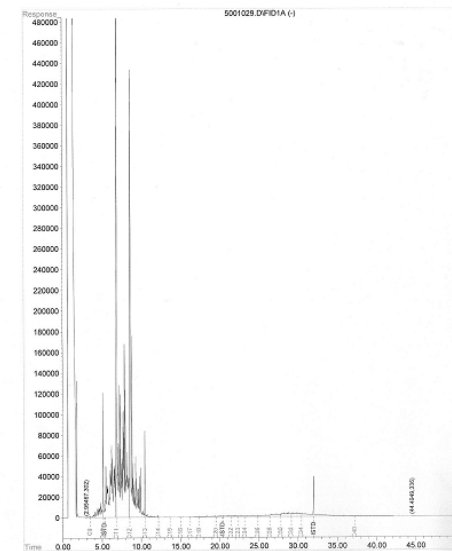
Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\4901028.D
 Sample name: Dunasol 180/220 31 higitas 11-2/188
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 127:5 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 49



Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

File name : D:\23-10923\5001029.D
 Sample name: Dunasol 180/220 32 higitas 11-2/189
 Misc. Info : VEGYES LAKOSSÁGI
 Acquired : 27 Sep 2011 128:5 using Acqmethod OLAJFR.M
 Vial number: 50



Baseline corrected, advanced TPH analysis
 Multiplier: 100
 Background file: D:\23-10916\2703033.D

5. melléklet: A gázkromatográfiás (GC-FID) mérések során meghatározott szerves folyadékok
összetétele

Nyomás (mbar)	Kontroll Dunasol	Kontroll Dunasol	Kontroll Dunasol	2	2	2
Idő (nap)	0	0	0	42	42	42
Ismétlés	1	2	3	1	2	3
Szénatom-szám	Koncentráció µg/ml					
9	267,20	276,30	250,00	454,80	428,20	433,10
10	14455,20	15160,30	14830,70	19744,20	19128,40	18985,20
11	114997,10	119963,50	119119,30	135120,80	131277,60	130619,60
12	282787,90	293676,10	289559,80	303306,60	295335,60	294320,20
13	211700,40	219240,00	214108,80	210922,50	205484,60	204947,20
14	10155,30	10546,50	9916,10	10185,80	9905,50	9904,40
15	208,50	234,80	191,50	256,90	231,60	234,40
16	24,00	29,40	24,30	34,40	17,40	19,60
17	86,30	83,10	77,90	52,50	36,80	55,90
18	341,00	344,10	325,60	150,30	132,10	147,30
20	1884,80	1927,80	1842,20	656,20	622,60	632,30
22	3317,60	3271,00	3254,20	1106,10	1062,40	1081,90
23	1844,80	1892,20	1805,10	603,90	564,80	582,60
24	1819,70	1865,10	1767,40	587,40	563,10	572,00
26	3481,50	3576,90	3377,60	1107,50	1096,00	1093,60
28	3974,60	4069,90	3888,10	1246,30	1223,40	1233,20
30	6292,70	6464,50	6200,10	2010,40	1974,60	1974,30
32	8937,60	9232,00	8775,10	2872,20	2816,10	2082,40
34	9164,00	9504,50	8951,90	2957,30	2917,00	2880,80
40	23293,10	23491,60	21812,20	6872,20	7043,40	7234,90

Nyomás (mbar)	20	20	20	2	2	2
Idő (nap)	42	42	42	56	56	56
Ismétlés	1	2	3	1	2	3
Szénatomszám	Koncentráció µg/ml					
9	473,40	467,10	444,50	367,00	166,50	356,40
10	19469,30	19648,60	18931,00	19301,80	18032,60	17672,70
11	131299,40	132393,60	128290,20	138104,20	128673,10	127909,10
12	294978,30	296607,30	289012,40	315630,60	293539,90	292406,40
13	208107,10	206810,60	204465,50	221832,80	206398,50	205052,90
14	10187,80	10013,90	10023,50	10430,30	9757,60	9810,70
15	241,60	244,00	235,40	227,70	268,10	209,50
16	16,50	27,60	22,00	25,20	43,40	14,10
17	23,20	48,70	39,80	91,90	78,10	54,30
18	112,00	143,50	127,00	291,20	225,10	177,60
20	606,50	617,50	588,00	1453,80	1034,50	844,80
22	1088,60	1107,30	1014,70	2529,90	1759,60	1476,10
23	589,50	590,30	556,30	1407,00	971,80	806,80
24	571,40	575,90	554,30	1386,00	956,50	795,20
26	1084,50	1104,10	1058,50	2665,10	1822,40	1521,10
28	1203,80	1244,30	1204,90	3034,10	2072,20	1735,40
30	1953,60	2007,00	1946,80	4827,70	3373,40	2814,20
32	2792,20	2855,00	2769,80	6876,60	4854,20	4028,90
34	2883,90	2959,60	2861,60	7056,00	4984,00	4164,80
40	6522,00	7410,10	6737,30	17454,20	10075,90	9764,60

Nyomás (mbar)	50	50	50	2	2	2
Idő (nap)	56	56	56	70	70	70
Ismétlés	1	2	3	1	2	3
Szénatomszám	Koncentráció µg/ml					
9	351,20	351,20	351,20	375,00	430,60	360,40
10	17672,70	17672,70	17672,70	19622,40	20107,90	19060,60
11	128159,30	128159,30	128159,30	136700,10	138772,10	132881,30
12	292814,40	292814,40	292814,40	308148,50	311867,70	298610,20
13	205303,30	205303,30	205303,30	214369,80	216455,80	207196,50
14	9852,00	9852,00	9852,00	10249,90	10357,40	9849,50
15	232,40	232,40	232,40	228,50	221,60	179,30
16	30,00	30,00	30,00	58,30	27,20	33,00
17	48,20	48,20	48,20	28,50	34,60	42,70
18	172,20	172,20	172,20	95,60	127,10	126,20
20	840,50	840,50	840,50	474,00	598,20	588,70
22	1431,30	1431,30	1431,30	729,80	975,20	951,60
23	782,00	782,00	782,00	336,60	499,70	492,70
24	769,70	769,70	769,70	302,70	485,00	478,60
26	1471,10	1471,10	1471,10	535,20	899,90	906,80
28	1675,10	1675,10	1675,10	623,40	1013,10	1022,70
30	2699,10	2699,10	2699,10	1287,10	1740,30	1704,20
32	3855,50	3855,50	3855,50	2016,80	2521,30	2443,90
34	3993,30	3993,30	3993,30	2072,00	2605,10	2556,30
40	9362,70	9362,70	9362,70	2295,70	5037,70	5339,30

Nyomás (mbar)	150	150	150	2	2	2
Idő (nap)	70	70	70	84	84	84
Ismétlés	1	2	3	1	2	3
Szénatomszám	Koncentráció µg/ml					
9	154,80	135,10	171,10	898,40	510,30	506,30
10	9254,00	9233,90	9037,60	34948,50	31239,20	30697,80
11	112573,00	113685,50	110553,00	209591,40	187544,20	184399,10
12	318426,00	321757,40	311897,90	365766,30	326369,00	320093,00
13	240380,40	242851,40	234719,00	200053,50	177641,20	174300,30
14	13464,40	13515,30	13082,90	12359,90	10762,20	10626,40
15	408,90	352,00	369,10	560,60	336,30	368,90
16	84,80	37,40	61,70	158,80	37,20	83,80
17	87,20	24,90	54,30	130,07	23,80	61,70
18	120,30	69,00	76,60	136,60	64,40	97,60
20	205,70	145,20	145,30	227,40	206,00	228,70
22	178,90	136,70	162,70	247,80	196,20	178,90
23	46,60	31,50	40,40	70,90	28,80	40,10
24	35,30	23,60	31,60	56,50	31,10	37,00
26	55,30	36,50	48,40	79,00	45,40	51,80
28	25,30	15,70	24,90	48,30	14,70	22,20
30	72,50	58,80	71,80	104,10	48,40	49,30
32	73,30	65,50	72,70	75,60	35,00	31,20
34	99,00	91,10	98,10	81,60	65,70	57,30
40	204,10	197,00	210,40	80,00	57,20	63,10

Nyomás (mbar)	400	400	400
Idő (nap)	84	84	84
Ismétlés	1	2	3
Szénatomszám	Koncentráció µg/ml		
9	378,60	275,90	435,10
10	23007,30	20694,30	26059,00
11	149871,60	153793,60	165963,90
12	303573,00	310244,30	310516,40
13	195256,10	189083,20	183504,80
14	9041,80	10812,70	9617,70
15	217,40	311,90	253,20
16	32,70	32,00	35,30
17	35,50	29,60	24,70
18	52,10	52,40	34,90
20	57,80	74,70	34,90
22	73,00	93,90	61,30
23	11,00	25,20	12,60
24	6,10	19,80	8,80
26	22,10	30,80	19,30
28	13,30	7,50	2,30
30	36,40	65,60	16,30
32	27,70	52,20	15,70
34	58,10	59,00	57,90
40	193,80	79,50	95,80

6. melléklet: Az FDA aktivitás értékelésekor elvégzett egytényezős varianciaanalízis eredményei

Inku-bációs idő (nap)	Alkalmazott nyomás (mbar)	Átlagos FDA aktivitás ($\mu\text{g FL/g talaj/h}$)	Duncan-teszt eredményei	Duncan-teszt csoportkód
0	Kontroll (légszáraz talaj)	$30,53 \pm 0,76$	-	-
14	Maximálisan telített (0 mbar)	$18,16 \pm 2,29$	18,16133	A
28	Alultelített (2 mbar)	$74,89 \pm 8,32$	64,70133	B
42	20 mbar	$64,70 \pm 23,49$	74,89000	B
56	50 mbar	$81,42 \pm 10,04$	81,42400	BC
70	150 mbar	$89,91 \pm 11,50$	89,90844	BC
84	400 mbar	$106,35 \pm 7,39$	106,35111	C

Inku-bációs idő (nap)	Alkalmazott nyomás (mbar)	Átlagos FDA aktivitás ($\mu\text{g FL/g talaj/h}$)	Duncan-teszt eredményei	Duncan-teszt csoportkódjai
0	Kontroll (légszáraz talaj)	$30,53 \pm 0,76$	-	-
14	Maximálisan telített (0 mbar)	$18,16 \pm 2,29$	18,16133	A
28	Alultelített (2 mbar)	$74,89 \pm 8,32$	74,89000	B
42	Alultelített (2 mbar)	$109,01 \pm 6,23$	109,00867	CD
56	Alultelített (2 mbar)	$99,37 \pm 2,47$	99,36711	C
70	Alultelített (2 mbar)	$122,30 \pm 8,69$	122,29511	D
84	Alultelített (2 mbar)	$149,81 \pm 16,58$	149,81244	E

Alultelített minta			Extraktoros minták			Alultelített minták		
Idő (nap)	Átlag	Duncan-teszt csoportok	Idő (nap)	Átlag	Duncan-teszt csoportok	Idő (nap)	Átlag	Duncan-teszt csoportok
28	74,89000	AB	42	64,70133	A	42	109,00867	B
28	74,89000	A	56	81,42400	AB	56	99,36711	B
28	74,89000	A	70	89,90844	A	70	122,29511	B
28	74,89000	A	84	106,3511	B	84	149,81244	C

*7. melléklet: A 9-től 15 szénatomszámig terjedő komponensek nyomásértékenként eltérő értékeinek
összehasonlító egytényezős varianciaanalízise*

Nyomás (mbar)	Átlag koncentrációk (µg/ml)	Duncant-teszt csoportkód
0	647132.6000	A
20	660781.5000	A
50	654385.3000	A
150	692007.5667	B
400	687637.2667	B

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, Dr. Makó Andrásnak és Dr. Csitári Gábornak a dolgozat elkészítéséhez nyújtott segítségért, Hernádi Hildának, valamint az Agrokémiai és Talajtani Laboratórium és a Mikrobiológiai Laboratórium valamennyi dolgozójának a vizsgálatok elvégzésében nyújtott önzetlen támogatásért és nem utolsósorban Bódy Bernadettnek, aki a végső simításokban is nélkülözhetetlennek bizonyult.