

BIODEGRADÁCIÓN ALAPULÓ REMEDIÁCIÓ

SZERVES SZENNYEZŐANYAGOK BIODEGRADÁCIÓJA

Készítette: dr. Gruiz Katalin és dr Molnár Mónika

A remediációs technológiák és a környezeti kockázat

A remediációs technológia kiválasztásánál nem csak a környezetpolitikai és gazdasági megfontolások játszanak szerepet, hanem a szennyező jelenlétéből eredő környezeti, vagyis ökológiai- és humán egészségkockázat is.

A remediálás előtti kockázatnak a nagysága a szennyezett terület környezeti állapotának felmérése alapján határozható meg. A szennyezett terület kockázatát a remediációval a területhasználatától függő, még elfogadható értékre kell csökkenteni. A maradék kockázatokat rövid és hosszútávon egyaránt értékelni kell, mert lehet, hogy a kismértékű, de állandó maradék kockázat összességében nagyobb kockázatot fog jelenteni, mint egyszeri, vagy rövidtávon megnyilvánuló nagyobb kockázat. A döntések előkészítésénél érdemes a kockázat időbeni változását is számításba venni, pl. 5 év, 10 év, 20 év, 50 év és 200 év figyelembe vételével.

A kockázatcsökkentő intézkedések és remediálási munkák végzése során is kell kockázatokkal számolnunk. Egy-egy szennyezőanyag teljes életciklusát figyelembe véve a remediáció előtti, utáni és közbeni kockázatokat is meg kell határoznunk, és figyelembe kell venni az eltávolított, szennyezőanyagban dús frakciók további életútját is.

A remediálási munkákból adódó kockázatoknál meg kell különböztetni a munkahelyi ártalmakat, a tágabb környezetet érintő kockázatoktól. A munkahelyi kockázat a lehatárolt munkaterületen belül marad, „csak” a dolgozókat érinti. A munkaterületen kívül eső veszélyek az ökoszisztémát és a lakosságot érintik. Az érintett területen, a környezeti elemeken és azok nagyságán kívül a területhasználatokból adódó lakossági kockázatokat kell figyelembe venni.

A dolgozókra vonatkozó munkahelyi kockázatokat munkavédelmi előírásokkal, a munkahelyen töltött idő csökkentésével, stb. lehet olyan szintre csökkenteni, hogy az a munkavállaló saját kockázataként még elfogadható legyen.

A remediáció környezeti- és egészségkockázatai

1. A szennyezett terület remediáció előtti kockázata

A környezetbe kikerült szennyezőanyag mennyiségétől, a szennyeződés kiterjedésétől, az elért környezeti elemektől, a terjedés jellegzetességeitől, a terület használatával összefüggő expozíciós utaktól és a szennyező anyag káros hatásaitól függ. Ha a számszerűleg meghatározott kockázat elfogadhatatlan nagyságú, akkor intézkedésre van szükség, mely lehet remediáció, vagy a terület használatának megváltoztatása, esetleg kizárása a használatból, a szennyezett környezeti elem eltávolítása, vagy teljes izolálása, stb. A kockázatcsökkentő intézkedésről történő döntésnél figyelembe kell venni az intézkedésből eredő és az intézkedés utáni állapottal összefüggő kockázatok nagyságát.

Szennyezett területek környezeti kockázatának nagysága az egyes szennyezőanyagok kockázataiból tevődik össze. Kiszámításánál a környezetben mért és/vagy előre jelzett szennyezőanyag koncentrációkból kiindulva becsüljük a kockázatot, a vegyi anyag káros hatásainak ismeretében. Az előre jelzett környezeti koncentrációkat (PEC) egyezményesen a káros hatást még nem mutató szennyezőanyag koncentrációkhoz (PNEC) viszonyítva nyerjük a kockázat mérőszámát, a kockázati hányadost.

$$RQ = \frac{\text{előrejelezhető környezeti koncentráció (PEC)}}{\text{előrejelezhetően károsan még nem ható koncentráció (PNEC)}}$$

2. Remediációs technológia alkalmazásából eredő kockázatok

A remediációs technológia alkalmazásának kockázatai között meg kell különböztetni átmeneti és maradó kockázatokat. El kell különítenünk a munkahelyi, vagyis a munkaterületet és a dolgozókat érintő kockázatokat a munkaterületen kívül eső területek ökoszisztémáját és a területet használó lakosságot érintő kockázatokat.

- Meg kell határozni a technológia hatását a környezet levegőjére, felszíni- és felszín alatti vizeire és talajára, vagyis a technológiát, mint további szennyezések forrását kell tekintenünk. Számításánál figyelembe veendő
 - az alkalmazott berendezések és a szükséges energia,
 - a technológiában használt adalékanyagok,
 - a technológiában használt mikroorganizmusok,
 - a degradáció (biodegradáció) során keletkező toxikus (közti)termékek,
 - a degradáció során megnövekedett hozzáférhetőség, vízdoldhatóság,
 - a szennyezőanyagok és metabolitok megváltozott terjedése és hatása.
- A technológia alkalmazásának humán egészségkockázatai: a dolgozókra és az érintett lakosságra
 - a kikerülő vegyi anyagok toxikus, karcinogén, mutagén, teratogén hatásai és
 - az expozíciós utak (belégzés, bőrkontakt, emésztőrendszeren keresztül) alapján.

A kockázatcsökkentő eljárás vagy remediációs technológia alkalmazása során kikerülő vagy továbbterjedő szennyezőanyagok kockázatát (pl. szél által termőtalajra szállított szennyezőanyag, felszín alatti víz által vízbázisokba vagy felszíni vizekbe jutás, csapadékvízzel kimosás, illó komponensek elpárolgása, felszín megbolygatása miatt új, az eredetitől eltérő tulajdonságú felszín keletkezése, stb.) további kockázatcsökkentő intézkedésekkel lehet az elfogadható szintre csökkenteni. Kockázatcsökkentő intézkedés lehet: pl. a technológia módosítása, kiporzás csökkentése fedéssel, nedvesítéssel, folyamatos talajvízkezelés, terjedés megakadályozására résfalazás vagy állandó depresszió létesítése, esetleg talajvíz-kiszivattyúzása és felszíni kezelése, a munkálatok helyszínéről a csapadékvíz kontrollált elvezetése, a kiszívott talajgáz kezelése, a kezelt felület talajalsóbb rétegeitől való izolálása, stb.

Ahhoz, hogy tervezni lehessen ezeket a másodlagosan vagy utólagosan szükséges kapcsolódó technológiákat, pontosan ismernünk kell a technológia alkalmazása során történő kibocsátások kockázatait, hogy azok közül az elfogadhatatlanul nagyokat csökkentsük le.

3. A technológia befejezése utáni, maradék kockázat

Minden technológia esetében van maradék kockázat. Ez a kockázat kapcsolódhat a helyszínhez, a megváltoztatott helyszínhez (*ex situ* módszereknél), a helyszínen maradt szennyezőanyaghoz, adalékanyaghoz, megváltozott mikroflórához (*in situ* módszereknél). Nem elhanyagolhatóak az eltávolított talaj, üledék, szennyezőanyagban dús frakciók vagy eltávolított koncentrált szennyezőanyag kockázatai, melyek ugyan nem az eredeti szennyeződés helyszínén lépnek fel, hanem a szennyeződést tartalmazó anyag, talaj, üledék, veszélyes hulladék elhelyezésekor.

A maradék kockázat jellemzésénél is érdemes megkülönböztetnünk azt a területet, ahol a munkálatok folytak a tágabb környezettől. A maradék kockázat csökkentésére további intézkedések hozhatóak, pl. a talajvíz kiszivattyúzása és felszíni kezelése még évekig folyhat, amíg csak szükséges a talajvízbe került szennyezőanyagok eltávolítása miatt.

A jellemző maradék kockázatok az alábbiak:

3.1. Ex situ technológia esetén

- az eltávolított szennyezett talaj vagy talajvíz kockázata
- az eltávolítás után keletkező új felszín és egyéb változások miatti kockázatok
- az újrahasznosított tisztított talaj vagy talajvíz kockázata,
- a kivont, dúsított, szennyezőanyagot tartalmazó frakció sorsa

3.2. In situ technológia esetében

- az összetételben, tápanyag-ellátottságban, mikroflórában megváltozott terület
- a metabolitok, szennyezőanyag- és adalékanyag maradékok kockázata
- a remediált terület használatától függő kockázatai (ökológiai és humán egészség).

A bioremediáció és biodegradáció

A bioremediáció alapja általában a biodegradáció, vagy más biológiai-, mikrobiológiai, biokémiai folyamatok, pl. kioldás, stabilizálás, vagyis olyanok, amelyeket mikroorganizmusok (baktériumok, gombák, algák, egysejtű állatok) és/vagy magasabb rendű élőlények (növények, állatok), vagy azok termékei (pl. enzimek) segítségével folyik.

A bioremediáció folyhat természetes körülmények között és a biotechnológus beavatkozásával, vagyis egy technológia alkalmazásával.

A biodegradáció tehát természetes folyamat, mely a különböző környezeti elemekben spontán is folyik. Ha nem a természetes folyamatoknak megfelelő anyagok kerülnek a környezeti elembe, hanem attól eltérő mennyiségű vagy minőségű vegyi anyag, akkor a természet kilendül szokásos egyensúlyából, és

azonnal megindulnak a kompenzálást célzó folyamatok: mikróbaszám növekedés, bontóképes fajok természetes szelekciója, fajeloszlás megváltozása, gyakran felfokozott mutációs szelekciós és DNS rekombinációs folyamatok. A természet mindenáron ismét egyensúlyba szeretne kerülni.

A környezet egészséges reakciója megindul, ha

- a természetestől eltérő arányban jelennek meg bizonyos természetes anyagok (pl. olajszennyeződés), vagy ha
- természetidegen anyagok, un. xenobiotikumok kerülnek a környezetbe.

A talajban élő mikrobaközösségek és magasabb rendű élőlények finom egyensúlya biztosítja pl. a talajba szezonálisan bekerülő szerves hulladékok (elhalt növényi anyag) mineralizációját, vagyis a növények által ismét felvehető szervesanyagok alakítását. Ugyanezek a közösségek képesek a talajba került más hulladékok elbontására és mineralizációjára is. A bontásért felelős gének és a bontó enzimek között egy sor olyan is van, amely véletlenül xenobiotikumokat is elfogad szubsztrátként és abból energiát termel. Más xenobiotikumok bekerülnek a lebontó biokémiai folyamatokba, de belőlük hasznosítható energia nem készül a sejtben, ezt a folyamatot nevezzük kometabolizmusnak.

A biodegradáció tehát valamilyen úton, általában soklépéses bontó folyamatok során biztosítja a toxikus szennyezőanyagok lebomlását, ártalmatlanítását, a káros hatás megszűnését.

Néha azonban előfordul, hogy a xenobiotikum bontás egyik vagy másik lépése az eredeténél még toxikusabb köztterméket, vagy végterméket eredményez, ez a kockázat a nehézfémektől a peszticidekig nagyon sok vegyi anyagnál előfordulhat. Nem csak a biodegradáció, de a kémia vagy termikus kezelések során is előfordulhat (pl. oxidáció, ionizáció, dimerek képződése, polimerizáció, fertőtlenítés klórral, stb.) és a kémiailag módosult vegyületek ismételt mikrobiológiai átalakulásával is számolnunk kell.

A biodegradáció folyhat aerob vagy anaerob körülmények között és léteznek olyan szennyezők, melyek bontása egymást követő aerob és anaerob lépéseket követel.

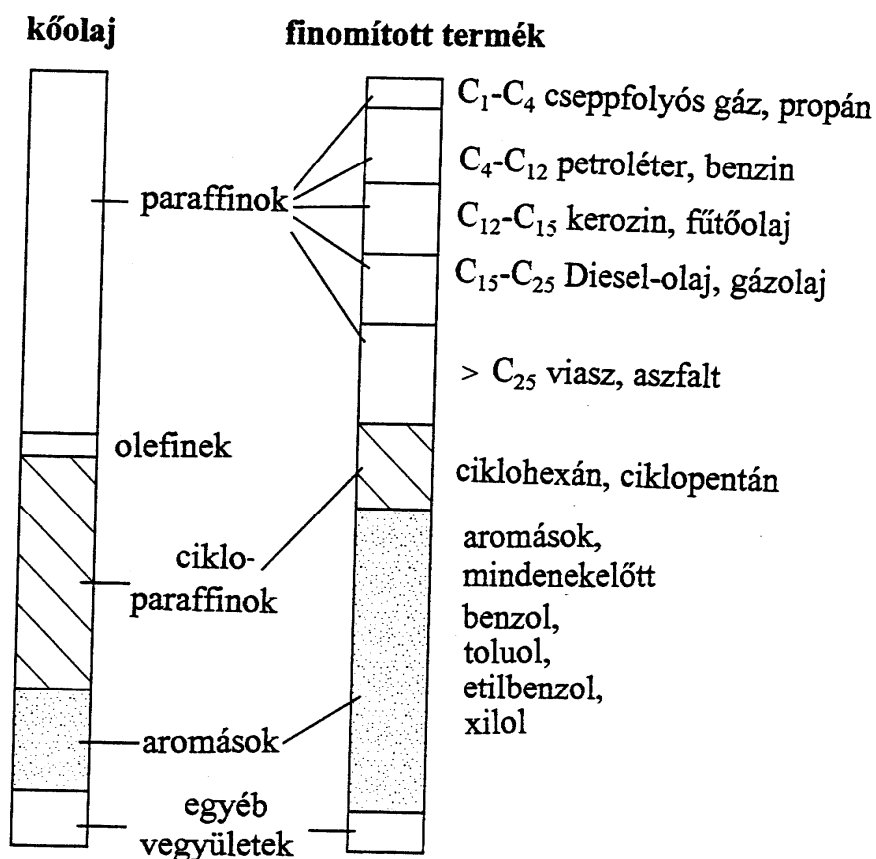
A biodegradálhatóság függ a vegyi anyag szerkezetétől hozzáférhetőségétől. Vannak könnyen bontható szerves anyagok és teljesen perzisztensek is, és a kettő között a skála folytonos. A biodegradálhatóság mértéke pusztán a szerves szennyező szerkezete és oktanol-víz megoszlási hányadosa alapján is megbecsülhető, de ezt az alapértéket nagyon nagy mértékben befolyásolja a helyspecifikus biológiai állapot, az ott élő mikroorganizmusok és magasabb rendű élőlények alkalmazkodóképessége és tűrőképessége. Mindkét tulajdonság spontán is kialakulhat, de az ehhez szükséges idő a napoktól az évtizedekig is változhat, attól függően, hogy csupán az enzimműködést kell megváltoztatni (adaptív enzimek), vagy teljesen új genotípusnak kell-e kialakulnia. Nem véletlen, hogy egy-egy veszélyes, toxikus és nehezen bontható hirt vegyi anyagról az irodalomban nagyságrendekkel eltérő biodegradálhatóságot találunk attól függően, hogy a vizsgált helyszín ökoszisztémája az alkalmazkodás mely fázisában van.

A biodegradáció

A biodegradáció vizsgálatokor két jellemző szennyezőanyag-csoport vegyületeiből mutatunk be néhány példát. Külön tárgyaljuk a kőolajszármazékok és a xenobiotikumok esetét.

Kőolajszármazékok

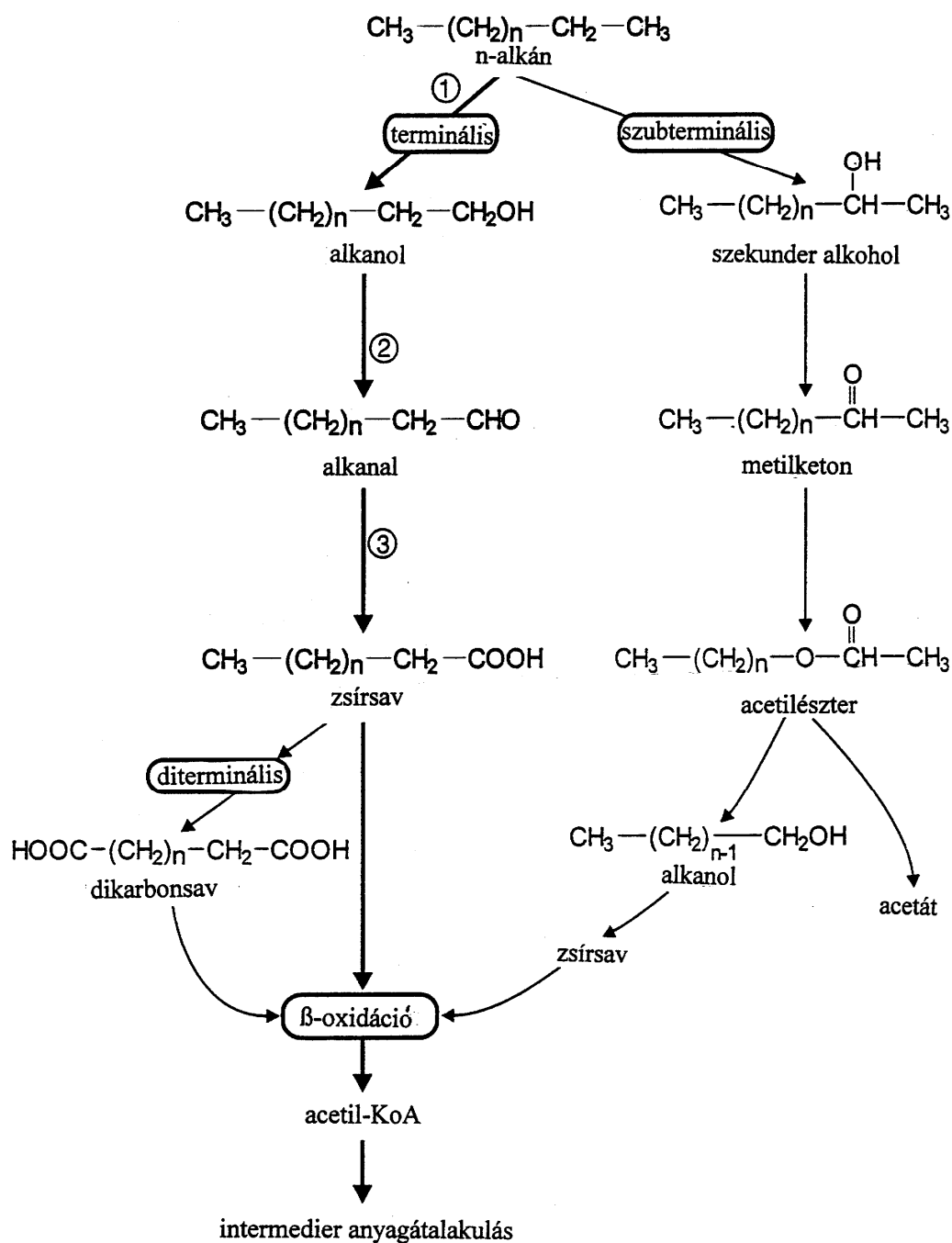
A kőolaj minden frakciója előfordul, mint gyakori szennyező talajban, talajvízben, vízi üledékekben. A kőolaj természetes eredetű fosszilis anyag, összetételét és a belőle készülő finomított termékeket mutatja az 1. ábra. Az ábrával kapcsolatban azt kell tudnunk, hogy nincs tipikus kőolaj, az eredettől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



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

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

Az alkánok lebontásának lényege, hogy terminális oxidációval alkohol képződik (alkán-monooxidáz enzim segítségével), ezt a dehidrogenáz enzimek aldehiddé, majd zsírsavakká alakítják. A zsírsav ezután bekerül a normális béta-oxidációs folyamatba, melynek során széndioxidra és vízre ég el, miközben energia termelődik. Ha diterminálisan indul az oxidáció, akkor a keletkezett oxidált termék, a diterminális oxidáció során acetátot és zsírsavat eredményez amint azt a 2. ábra mutatja.



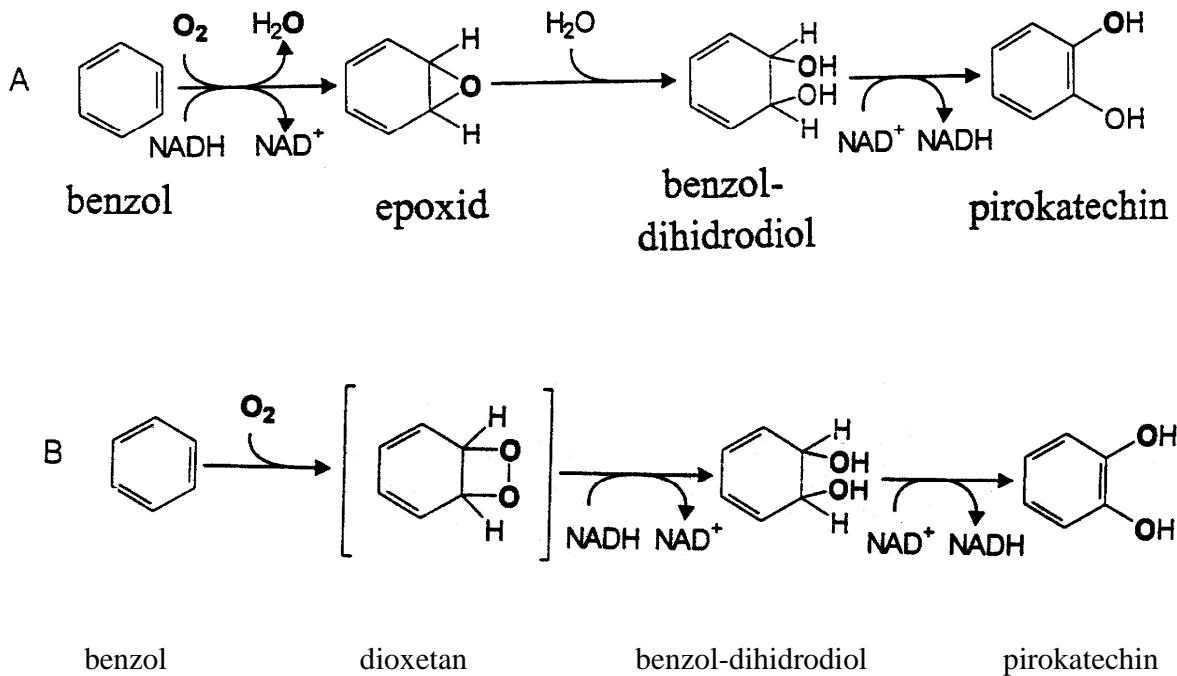
2. ábra: Az alkánok lebontásának biokémiai útjai

(1) alkán monooxigenáz, (2) alkohol dehidrogenáz, (3) aldehyd dehidrogenáz

Az n-alkánok anaerob módon is bomolhatnak, ilyenkor a nitrátlégzés vagy a szulfátlégzés biztosítja a folyamatok oxigénszükségletét.

Az aromás szénhidrogének (BTEX: benzol, toluol, xilol) gyűrűhasításának első lépése a monooxigenáz vagy dioxigenáz reakció.

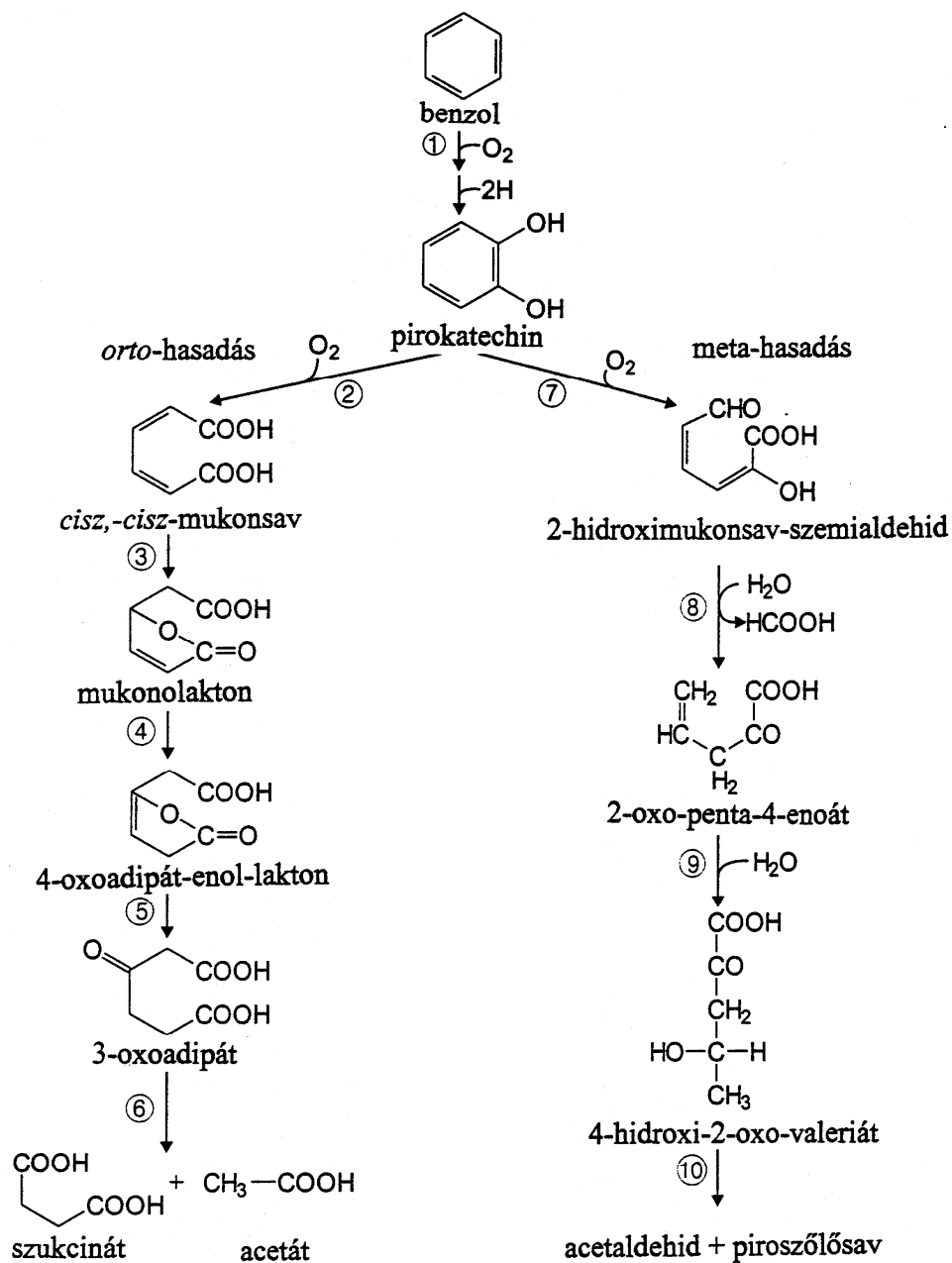
A dioxetán intermediér keletkezése csak feltételezett. Mind a NAD^+ , mind a NADP^+ szerepelhet kofaktorként. A intermediérből keletkező diolt dehidrogenázok pirokatechinné redukálják.



3. ábra: Aromások gyűrűhasadásának bevezető lépése monooxigenáz- (A) vagy dioxygenáz (B) - reakción keresztül

A benzol példáján bemutatjuk a két fő bontási útvonalat, az orto- és meta utakat (4. ábra).

A xilol és a toluol gyűrűjének felnyílása a meta útvonalon történik (5. ábra)



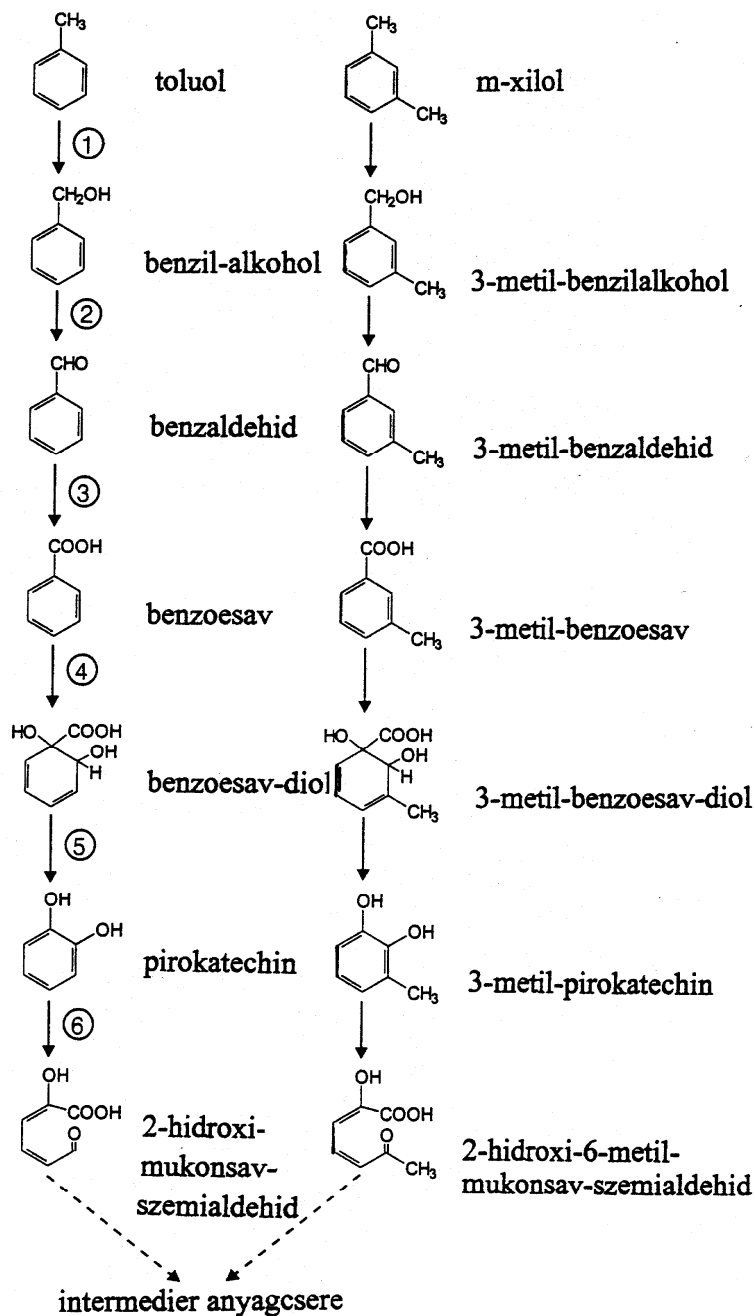
4. ábra. Aromások lebontásának fő útvonalai a benzol példáján bemutatva

Az ábrán, a benzol bontását mutató ábrán a számok az alábbi enzimeket jelölik:

- | | |
|--|---|
| (1) benzol monooxigenáz vagy dioxygenáz, | (2) pirokatechin-1,2 dioxygenáz, |
| (3) muronsav laktonizáló enzim, | (4) mukonolakton izomeráz |
| (5) 4-oxoadipát-enollakton hidroláz, | (6) oxadipát-szukcinil-KoA transzferáz |
| (7) pirokatechin 2,3-dioxygenáz, | (8) hidroxi-mukonsav-szemialdehid hidroláz, |
| (9) oxo-penta-4-enolsav hidroláz, | (10) 4-hidroxi-2-oxo-valeriánsav aldoláz |

A xilol és a toluol gyűrűjének felnyílása a meta útvonalon történik (5. ábra)

A toluol, a p- és m-xilol lebontása azonos módon megy végbe, egy, a TOL plazmid által kódolt enzim segítségével. A perzisztensebb o-xilol lebontása másképp megy végbe.

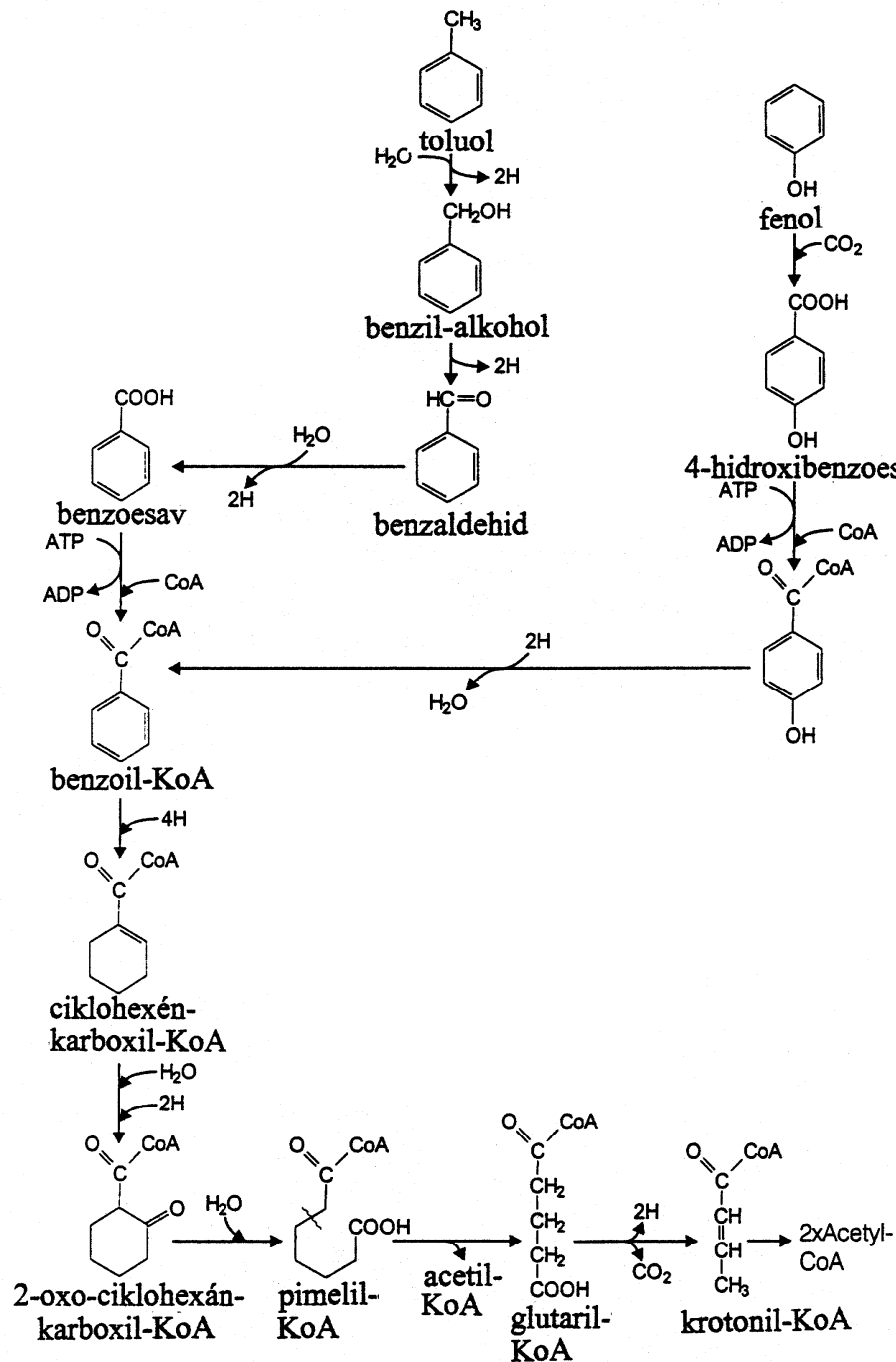


5. ábra: Toluol és xilol aerob lebontása meta helyzetű gyűrűhasadással

- | | |
|---------------------------------|----------------------------------|
| (1) xilol oxidáz, | (2) benzil-alkohol dehidrogenáz, |
| (3) benzaldehid dehidrogenáz, | (4) benzoesav dioxigenáz, |
| (5) benzoesavdiol dehidrogenáz, | (6) pirokatechin 2,3-dioxigenáz |

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

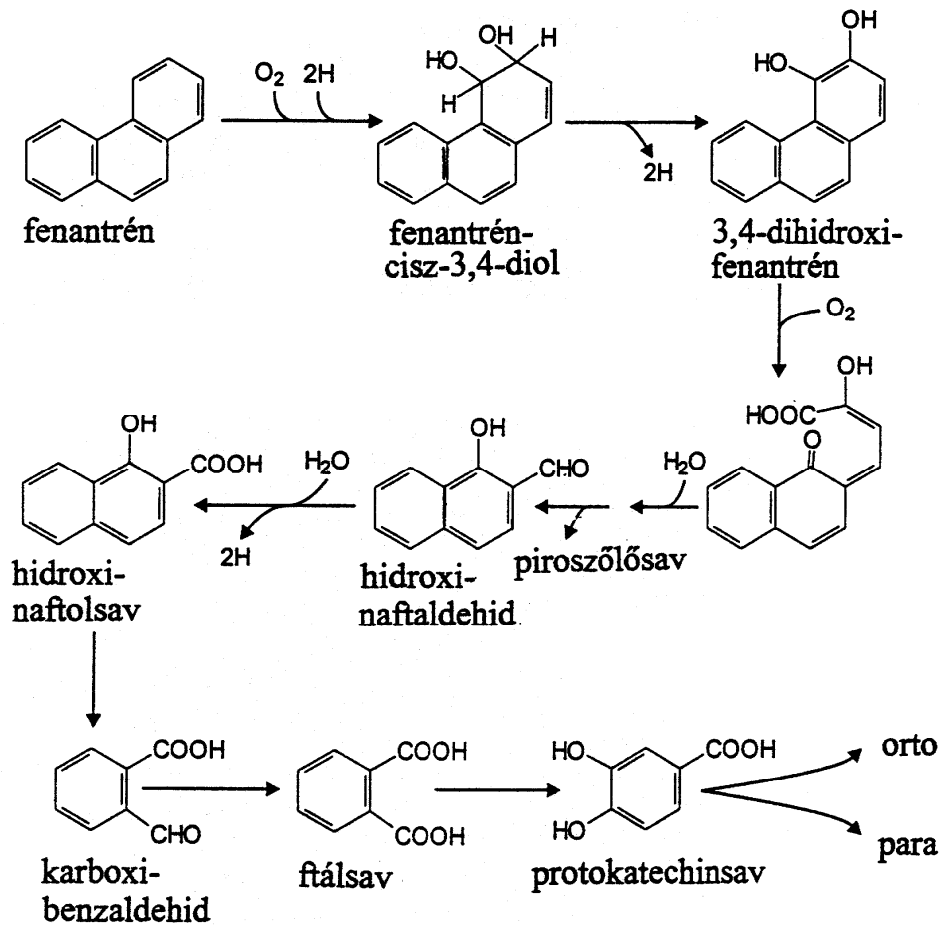
Inert vegyületek, mint például a toluol és a fenol hidratálással, dehidrogénezéssel és dekarboxilezés-sel aktivált központi metabolittá benzoil-KoA-vá alakíthatók, majd a gyűrű protonelvonással dearomatizálható. Végül hidrolitikus gyűrűhasadás történik és a lebontás β -oxidációval megy végbe.



6. ábra: Aromások anaerob lebontása

A policiklikus aromás szénhidrogének (PAH-ok) bontása a gyűrűszám növekedésével egyre nehezebben megy. A PAH bontást a fenantrén példáján mutatjuk be.

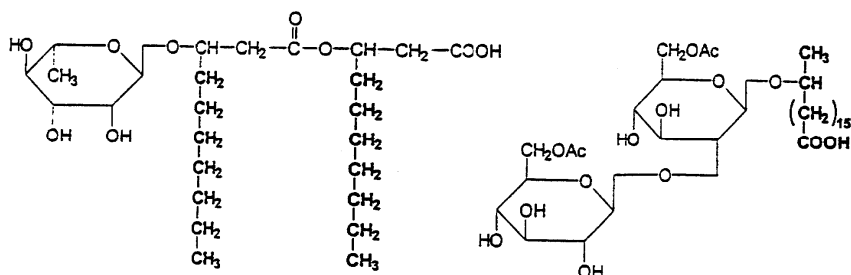
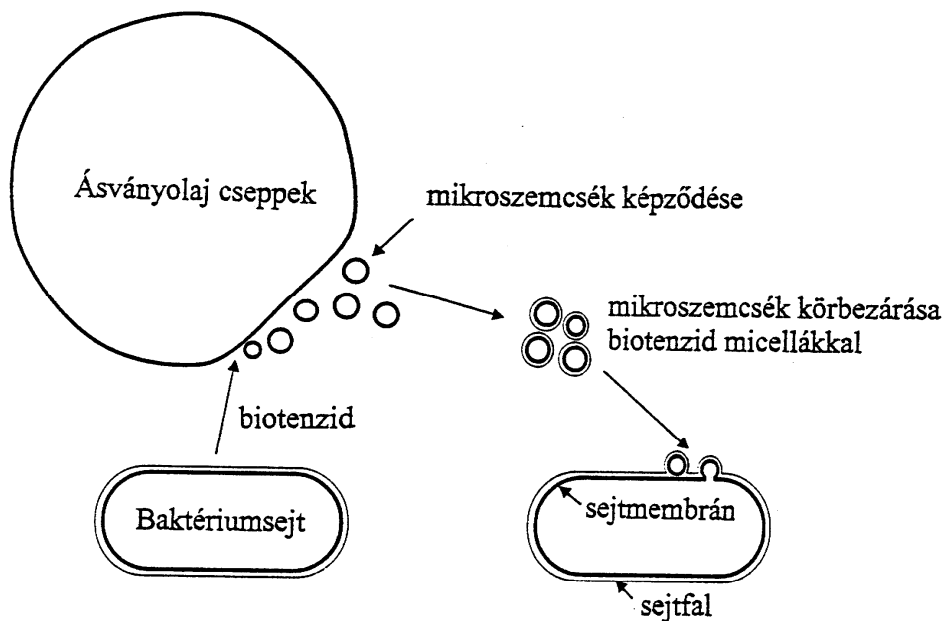
A lebontás a dioxigenázok és a dihidrogenázok reakciójával kezdődik az egyik gyűrűn, amit egy extradiol gyűrűhasadás követ. A felnyitott gyűrű lebontása során piroszőlősav keletkezik. A további gyűrűk bontása is hasonló elvek alapján megy végbe.



7. ábra: A fenantrén bakteriális lebontása

Biotenzidek, a mikroorganizmusok által termelt felületaktív anyagok megkönnyítik a nem vízoldható szénhidrogének felvételét a sejtek számára. Említésre méltó a *Pseudomonas* fajok ramnolipidje és a *Torula* gombafaj szoforóz-lipidje. A 8. ábra bemutatja az apoláros szénhidrogének mikrocseppekké alakulását és bejutását a membránon keresztül a sejtekbe.

A mikroorganizmusok által kiválasztott biotenzidek csökkentik az olajcseppek felületi feszültségét, így mikrocseppek jönnek létre, amiket egy biotenzid réteg vesz körül. Ebben az emulgeált formában jutnak a sejt felületére, és lépnek kapcsolatba a sejtmembránnal. A zsírok a lipofil fázisban helyezkednek el.



8. ábra: Biotenzidek szerepe a szénhidrogének felvételében

Xenobiotikumok

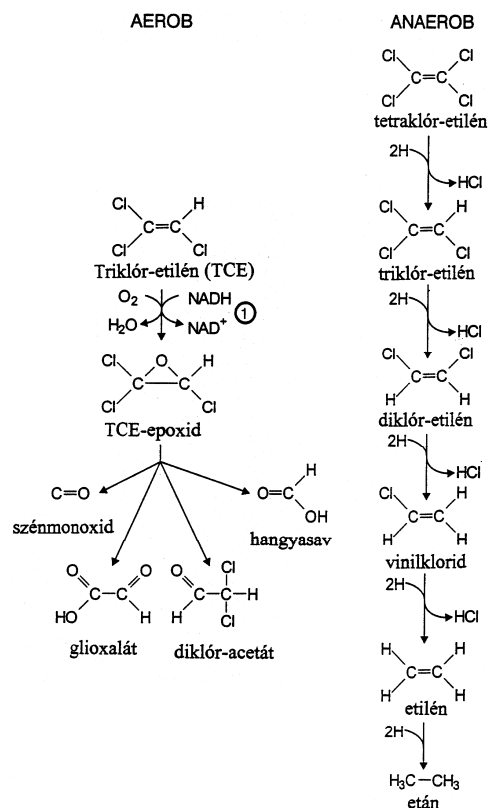
A kőolaj természetes eredetű anyag, a xenobiotikumok viszont olyanok, melyek a környezet, a természet számára idegenek, antropogén eredetűek. Egyes enzimek szerencsés esetben elfogadják ezeket a xenobiotikumokat szubsztrátként, mert azok méretben és alakban megegyeznek, vagy nagyon hasonlítanak az ökoszisztéma tagjai által ismert természetes anyagokra. Ez nem mindig történik meg, a bonthatatlan perzisztens vegyületek bontását a természet nem tudja megoldani.

A következőkben néhány gyakori xenobiotikum biodegradációjának lehetséges módjait mutatjuk be.

Alifás klórozott szénhidrogének

Aerob és anaerob út is lehetséges.

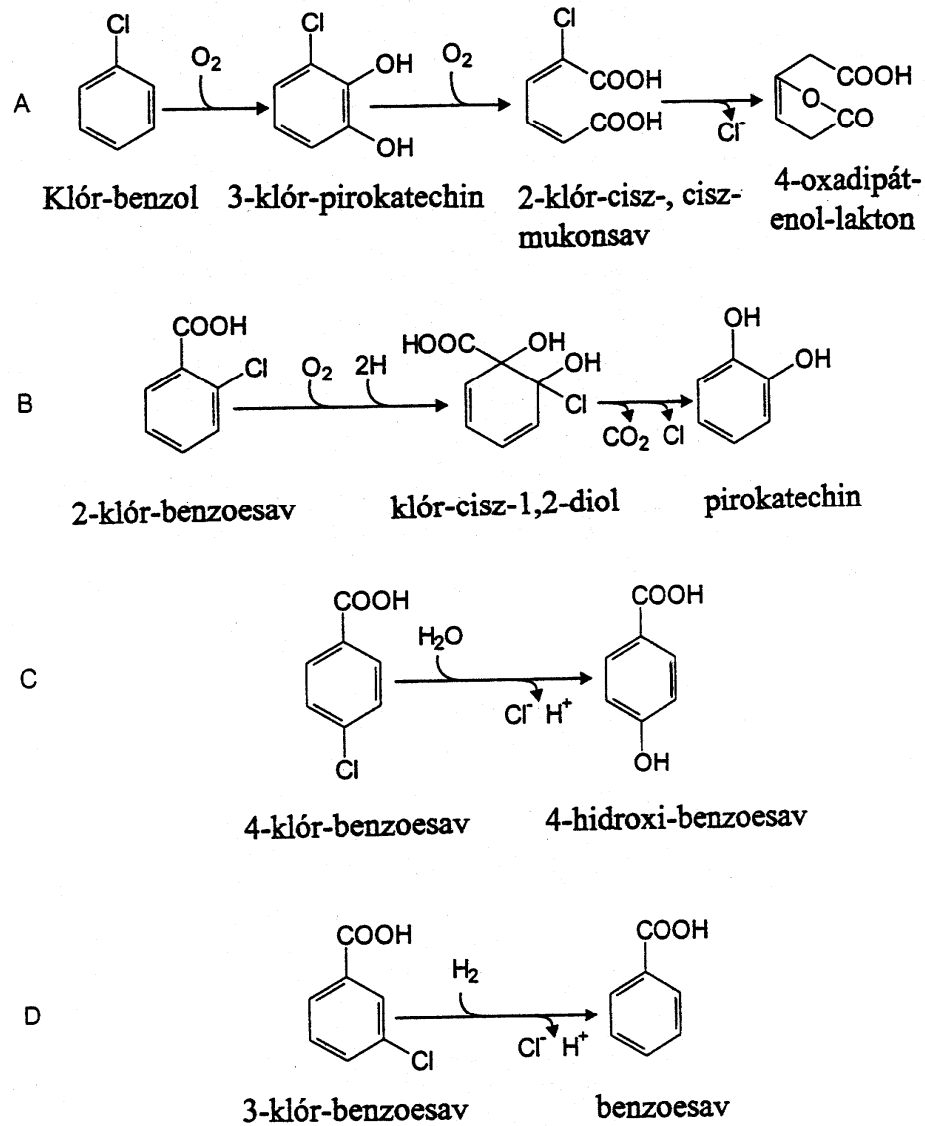
A metanotróf baktériumok a metán-monooxygenáz enzim segítségével bontják pl. a triklóretilént, de rajta kívül még egy sor más klórozott szénhidrogént (pl. cisz- és transz-diklóretilén) is. Az anaerob bontás végeredménye a deklórozott alkán és sósav. A folyamat során a klór elektronakceptor szerepét játssza. A többszörös klórozás termodinamikailag előnyösebb, ezért bontásuk jobb eséllyel folyik. Az aerob lebontás során - metanotróf baktériumok által - az epoxi-képzés kulcsreakcióját a (1) a metán-monooxygenáz katalizálja. Az instabil molekula extracellulárisan szét darabolódik különböző termékekre. Az anaerob lebontást redukzív dehalogénezéssel különböző anaerob baktériumok végzik.



9. ábra: A tetraklór-etilén és a triklór-etilén aerob és anaerob lebontása

Monoaromások dehalogénezése

A klórozott aromások, mint a klórbenzol és a klórfenol (peszticidalapanyagok) sikeresen bonthatóak, ha a deklórozás valahogy megtörténik, pl. gyűrűhasítás után, oxidatív, redukzív, vagy hidrolitikusan.

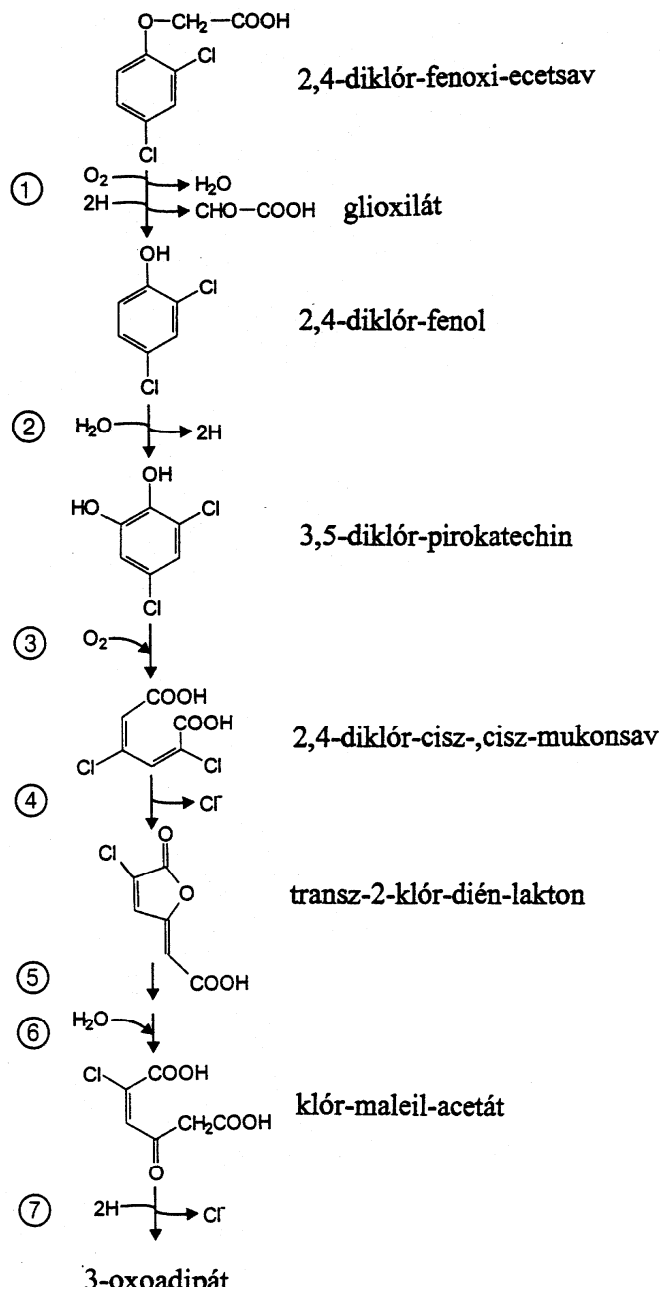


10. ábra Monoaromások dehalogénezésnek mechanizmusa

A: deklórozás gyűrűhasadás után, B: Oxidatív dehalogénezés, C: Hidrolitikus dehalogénezés, D: Reduktív dehalogénezés.

Herbicidek lebontása: 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav (2,4-D)

A 2,4-D (perzisztens herbicid) lebontására pJP4 plazmidot hordozó baktérium törzs képes.



11. ábra: 2,4-diklór-fenoxi-ecetsav (2,4-D) lebontása

- 1) 2,4-D monooxygenáz,
- 2) 2,4-diklór-fenol hidroxiláz,
- (3) 3,5-diklór-pirokatechin dioxygenáz,
- (4) 2,4-diklór-mukonsav cikloizomeráz,
- (5) transz-klór-dién-lakton izomeráz,
- (6) klór-dién-lakton hidroláz,
- (7) klór-maleil-ecetsav reduktáz

ERROR: ioerror
OFFENDING COMMAND: imagemask

STACK: