

# **Toxikus vegyi anyagokkal szennyezett területek kockázatának jellemzése integrált kémiai–biológiai–környezettoxikológiai módszeregyüttessel**

DR. GRUIZ KATALIN

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem, Vegyészmérnöki Kar, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék, Környezeti Mikrobiológia és Biotechnológia Kutató Csoport, 1111 Budapest, Szt. Gellért tér 4.

## **A tanulmány célja**

Ez tanulmány egy nagyobb áttekintés első része, mely áttekinti a szennyezett területek felmérésében és monitoringjában, valamint a kockázaton alapuló környezetmenedzsmentben és az ahhoz kapcsolódó döntéstámogató eszközrendszerben alkalmazandó integrált módszeregyüttés a TTT: TalajTesztelő Triád jellemzőit, szükségességét. A második részben a Triád jellemző alkalmazásait ismerteti. A bevezető áttekintések folytatásaként megtalálhatja a környezettoxikológiai részben azokat a módszereket, melyeket szerző kutatócsoportja a BME MGKT Tanszékén fejlesztett ki (Gruiz és mtsai, 2001)

## **A környezeti kockázat**

A kockázat valamely károsnak ítélt jövőbeni esemény bekövetkezésének valószínűsége. Mértéke a kár nagyságának és a bekövetkezés valószínűségének szorzata.

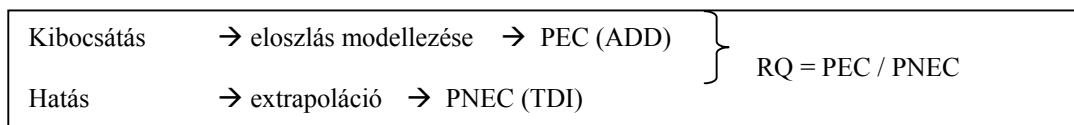
A környezeti kockázat abból adódik, hogy az ökoszisztéma és benne az ember ki van téve a környezetbe került veszélyes anyagoknak és az hat rájuk. A kockázat két fő eleme tehát: a kitettség és a hatás.

A környezetbe kikerült vegyi anyagok kockázatának felméréséhez mennyiségi és minőségi információkra van szükség a vegyi anyagról, a szennyezett környezeti elemről és a szennyezés folyamatáról. Szennyezőanyagok mennyiségi kockázatelemzése vonatkozhat általános vagy konkrét környezetre. Az általános kockázat egy rögzített, általános (pl. Európa, Magyarország) környezetbe kerülő vegyi anyag veszélyességét jellemzi, míg a területspecifikus kockázatelemzés célja, annak megállapítása, hogy egy konkrét területen az előrejelezhető szennyezőanyag-koncentráció kisebb vagy nagyobb-e a károsan még nem ható koncentrációknál, vagyis, hogy elfogadható kockázatot jelent-e az emberre illetve az ökoszisztémára vagy nagyobb annál (Gruiz és mtsai, 2001, Gruiz, 2009).

A kockázatelemzés adatbázisból származó és/vagy mért adatokból indul ki, figyelembe véve a szennyezőanyagokra, a szennyezett közegre és területre, a befogóra vonatkozó információkat, valamint a múlt, a jelen és a jövőbeni területhasználatból adódó receptorokat és expozíciós útvonalakat.

### **A területspecifikus környezeti kockázatelemzés lépései:**

- a szennyezett terület jellemzése
- a szennyezőforrások és a terjedési útvonalak azonosítása
- a kitettség elemzése (kibocsátás mérése, eloszlás feltérképezése) és előre jelezhető koncentrációértékének meghatározása (PEC: Predicted Environmental Concentration)
- a területhasználatokból adódó expozíciós útvonalakon keresztül az emberbe bejutó vegyi anyagok mennyisége átlagos napi dózisban megadva (ADD: Average Daily Dose)
- A vegyi anyagok hatásának ismerete és a károsan még nem ható koncentráció/mennyiség meghatározása (PNEC: Predicted No Effect Concentration/TDI: Tolerable Daily Intake)
- a kockázat elemzése és jellemzése (RQ: Risk Quotient=PEC/PNEC)



1. ábra: A környezeti kockázatelemzés folyamatábrája (Gruiz és mtsai, 2001)

Az 1. ábra a szennyezőanyag forrásából a környezetbe került anyag terjedésének modellezésével megkapható PEC és a hatásokból az ökoszisztémára előrejelezhető koncentrációk számításának menetét és a kettőből a Kockázati Tényező (RQ) kiszámítását mutatja.

**PEC** (Predicted Environmental Concentration): a vizsgált környezeti elemben előrejelezhető szennyezőanyag koncentráció, a környezet kitétsége. A *kitétség* felmérése alapján képzett érték. A már ténylegesen szennyezett területek esetén a PEC érték a kibocsátott mennyiségből vagy a fizikai és kémiai analitikai vizsgálatok eredményeiből származtatható a terjedés modellezésével.

**ADD** (Average Daily Dose): átlagos napi felvétel vagy bevitel, mely a PEC értékből és a statisztikailag felmért éves vagy hetes fogyasztási/beviteli paraméterekből számítható.

**PNEC** (Predicted No Effect Concentration): az előrejelezhető károsan még nem ható koncentráció. A *hatás* felmérése alapján képzett érték. A már ténylegesen szennyezett területek esetén a PNEC értékhez kétféleképpen juthatunk: 1. a szennyezőanyagok teljes körének azonosítása után adatbázisokból 2. a konkrét terület környezeti elemeinek környezettoxikológiai teszteredményeiből. Mindkét esetben extrapolációval kapjuk az ökoszisztémára vonatkozó értéket az egyes tesztorganizmusokra kimért hatásértékekből. Ugyanígy képezhetjük a szennyezőanyagoknak a környezeti elemekre vonatkozó minőségi kritériumait, a hatáson alapuló határértékeket.

**TDI** (Tolerable Daily Intake): ADI (Acceptable Daily Intake) elnevezést is használják és gáznemű anyagok belégzésére az RfC (Reference Concentration) értéket a arra a veszélyes-anyag dózisa illetve koncentrációra amely még nagy biztonsággal nem okoz káros hatást az emberi szervezetben.

**RQ** (Risk Quotient): kockázati tényező, a kockázat mérőszáma, a kitétség és a hatás aránya. **RQ** = előre jelezhető környezeti koncentráció (**PEC**) és az előre jelezhető károsan még nem ható koncentráció (**PNEC**) hányadosa. A már ténylegesen szennyezett területek esetén az RQ azt mutatja meg, hogy egy adott helyen és időpontban modellezéssel kapott szennyezőanyag koncentráció hányszorosan lépi túl a PNEC értéket vagy a jogszabályban rögzített hatáson alapuló határértéket. Egyetlen pontban és időpontban megengedhetjük azt az egyszerűsítést, hogy a mért koncentrációt a határértékhez viszonyítjuk, de ha a szennyezőanyag forrásától vagy a mérési ponttól eltérő helyen és időben, illetve az egész területen számítjuk a kockázatot, akkor mindig modellezni kell a szennyezőanyag terjedését a környezetben (Gruiz, 2002)

1. táblázat: A kockázati tényező értékei és a megfelelő veszélyeztetési szintek (Gruiz és mtsai, 2001, EU-TGD, 1996)

(1) <b>RQ = PEC / PNEC</b>	(2) <b>Veszély</b>
< 0,001	a) elhanyagolható
0,001 – 0,1	b) kicsi
0,1 – 1	c) enyhe
1 – 10	d) nagy
> 10	e) igen nagy

Szennyezett területek felmérésére, különösen a talaj környezeti kockázatának jellemzésére átfogó kémiai–biológiai–környezettoxikológiai módszer-együttest kell alkalmazni, mely a környezeti elemek aktuális toxicitását vagy más káros hatását méri, mert pusztán fizikai-kémiai analitikai vizsgálati eredmények alapján nem tudjuk helyesen megítélni a helyzetet. Előfordul, hogy a legveszélyesebb anyagokat be sem vesszük az analitikai programba, vagy nincs megfelelő analitikai módszerünk a kimutatásukra, esetleg ismeretlen átalakulási termékek keletkeztek a hosszabb ideje szennyezett talajokban. A kölcsönhatásokra sem lehet következtetni a fizikai-kémiai eredményekből. A vegyi anyagok hatásai nem okvetlenül additívek, gyakran tapasztalható szinergizmus vagy antagonizmus. A vegyi anyag és a talajmatrix közötti kölcsönhatás nagyban befolyásolja az aktuális hatást, a biológiai hozzáférhetőséget. A kémiai forma, az oxidációs fok, a kötéstípus (fémeknél: ionos, oxid-hidroxid, atomrácsba, molekularácsba épült, szerves vegyület, komplex, stb.) nagymértékben módosítja a hatást, ezek kémiai analitikai módszerekkel történő megkülönböztetése nem mindig megoldható, nehézkes. Külön említést érdemel a talajokban folyó biodegradáció, biotranszformáció, biológiai kioldás és bioakkumuláció, melyek a kockázatot nagyban befolyásoló biológiai folyamatok, mérésük és jellemzésük csak biológiai vizsgálatokkal lehetséges. Ezért fontos, hogy a talajt mind fizikai-kémiai, mind biológiai-környezettoxikológiai módszerekkel jellemezzük (Gruiz és mtsai, 2001)

Az ökotoxikológiai eredmények magukba foglalják több szennyezőanyag hatását és azoknak a kölcsönhatásoknak az eredményét, amelyek a szennyezőanyag és a környezeti elem anyagai (matrix)

között, vagy több szennyezőanyagnak, valamint a szennyezőanyag és a biota érintett tagjának valamely molekuláris szintű receptora között jöhet létre.

A veszélyeztetett vagy szennyezett környezet vizsgálatára alkalmazott integrált vizsgálati módszer fizikai-kémia és biológiai-ökotoxikológiai eredményeket foglal magába. A szennyezett területek állapotfelmérésére, monitoringjára vagy a remediáció követésére és utómonitoringjára alkalmazott integrált módszeregyüttes olyan összetett információt ad a szennyezett terület állapotáról, amely közvetlenül kapcsolatba hozható a szennyezett terület környezeti kockázatával.

A fizikai-kémiai (**K**) és a biológiai-ökotoxikológiai (**B**) eredmények az alábbi összefüggésben lehetnek egymással:

- **K = B**, a kémiai és biológiai eredmények összefüggenek.
- Ha mindkettő kicsi értéket ad, vagyis kis koncentrációt mértünk és a talajminta nem mutatott toxikus hatás sem, akkor a szennyezett terület környezeti kockázata kicsi
- Ha mindkettő nagy értéket ad, vagyis nagy koncentrációt mértünk és egyúttal erős toxicitást, akkor a szennyezett terület környezeti kockázata nagy.
- **K > B**, a kémiai módszerrel mért koncentráció nagy, de a toxikus hatás kicsi. Ez jelentheti azt, hogy a vegyi anyagnak nincs káros hatása, így kevésbé kockázatos, vagy azt, hogy a biológiai rendszerek számára nem hozzáférhető. Ennek oka lehet, hogy a szennyezőanyag más szennyezőanyagokkal vagy a talaj alkotórészeivel olyan kölcsönhatásba lép, mely akadályozza hatásának kifejtését. A  $K > B$  reláció a kockázat megítélése és a remediációs technológia kiválasztása szempontjából fontos eset, hiszen a hatás limitáltsága a körülményektől függ. Ez a kémiai időzített bomba. Ilyen esetekben pontosan ismernünk kell azokat a mechanizmusokat, amelyek a hozzáférhetőséget befolyásolják. Ezek ellenőrzésére mind a technológia alkalmazása, mind az utómonitoring, mind pedig a terület jövőbeni használat során ügyelnünk kell.
- **K < B** eset azt a helyzetet tükrözi, ami nagyon általános a régi szennyezett területek felmérésekor, hogy a kémiai-analitikai programba nem vettük fel az összes biológiai hatással rendelkező vegyi anyagot. Ez azért is gyakori, mert ha még ismerjük is a terület történetét, az ott tárolt, használt vagy kibocsátott vegyi anyagokat (ez is ritkaság), de az illegális lerakás és a természetes folyamatok során keletkező metabolitok általában nem vehetőek be az analitikai programba. Ilyenkor az ökotoxikológiai vizsgálatok figyelmeztetnek a kockázatra. Számottevő toxicitás esetén a hatást okozó vegyi anyag azonosításának meg kell történnie, az állapotfelmérést teljessé kell tenni a kémiai analízissel (Gruiz és mtsai, 2001)

### ***TTT, vagyis a TalajTesztelőTriád***

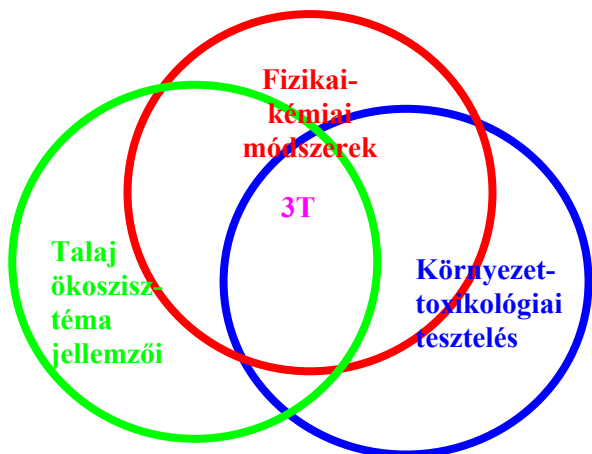
A helyszínspecifikus kockázat mindkét oldala támogatható mérésekkel, de adatbázisokból származó adatok alapján közelítő számítással (becsléssel, extrapolációval) kapott eredmények validálását is szolgálhatják. A PEC oldal jellemzésére talajra specifikus, a szennyezőanyag hozzáférhetőségét is figyelembe vevő mérési módszerek szükségesek, a PNEC oldal jellemzésére biológiai és a környezettoxikológiai mérések.

E hármas mérési módszer egy egymást kiegészítő módszeregyüttest alkot, mely különböző célokra flexibilisen alakítható és használható. Jelen áttekintés feladata, hogy ismertesse a szennyezett talaj jellemzésére alkalmas integrált módszeregyüttes kifejlesztéséhez vezető alapelveket, az integrált módszeregyüttes építőelemeit és útmutatást adjon az alkalmazással kapcsolatban.

Az új szemlélet kiindulópontja az, hogy a talajt nem fekete doboznak, hanem élő, dinamikus rendszernek tekintjük, és igyekszünk megismerni és hasznosítani a talajban létrejövő bonyolult kölcsönhatásokat vagy szükség esetén fellépünk ellenük. A szennyezett talaj még az ép talajnál is összetettebb rendszer, ahol a talaj háromfázisú szervesetlen-szerves kolloid mátrixával nemcsak a fajok százait és egyedek milliárdjait magába foglaló talajmikroflóra, de a komponensek akár százait is tartalmazó szennyezőanyag is kölcsönhatásba lép. A talaj környezeti állapotának megítélése, a

talajszennyező anyagok káros hatásának mérése, a talaj gyógyítását, kockázatának csökkentését célzó mérnöki tevékenység egyaránt megkívánja a talaj komplex kezelését és ismeretét.

A módszeregyüttes – melyet TalajTesztelő Triádnak nevezünk el – fizikai-kémiai, talajbiológiai és ökotoxikológiai módszereket tartalmaz. A fizikai-kémiai módszerek mind a talaj, mind a szennyezőanyag, mind a talaj mikroflóra jellemzését szolgálhatják. A talaj ökológiai jellemzőinek, mikroflórájának felmérése a talaj állapotát statikusan és dinamikusan is képes vizsgálni, hiszen élő rendszerről van szó, melynek külső behatásokra adott válasza kísérletekben provokálható vagy a valóságban követhető. A talajökoszisztéma biológiai és ökológiai jellemzése mind a talaj állapotfelmérésében, mind pedig a bioremediáció követésében, monitoringjában fontos szerepet tölt be. A Triád harmadik tagja az ökotoxikológiai tesztelés elsősorban a szennyezőanyagok hatását méri, a valódi, megnyilvánuló, aktuális hatást, amely sok esetben nem mutat összefüggést a kémiai analízissel mérhető koncentrációval (Gruiz, 2005)



#### **TTT: A TalajTesztelőTriád**

A talaj jellemzése során azonos fontossággal bírnak a fizikai-kémiai vizsgálatok, a talaj biológiai jellemzői és toxicitása. Kiegészítik egymást, információt adnak a szennyezőanyag minőségéről és mennyiségéről, a talaj állapotáról, életképességéről, aktivitásáról, a szennyezőanyag hatásáról és hozzáférhetőségéről, biodegradálhatóságáról és a módszeregyüttes segítségével modellezhető a talaj külső behatásokra

A TalajTesztelőTriád három eleme a felhasználás céljától és részletességétől függően eltérő arányban járulhatnak hozzá a TTT összetételéhez. A TTT nem csak a három elem egymáshoz viszonyított arányában térhet el egymástól, de természetesen a Triád egyes elemein belüli tesztelőmódszer-összetételben is, attól függően, hogy mi a cél és milyen terület talajára fogjuk alkalmazni az eljárást.

Ha a szennyezett terület részletes felmérése és a remediációs technológia tervezése a cél, akkor a Triád három eleme közel azonos jelentőséggel bír.

Ismeretlen, nagyméretű szennyezett terület előzetes felmérése során olcsó screenelő eljárásokat alkalmazunk, ismert szennyezőanyagok esetén elsősorban fizikai-kémiai, azonosítatlan szennyezőanyagok esetén ökoszisztéma felmérést vagy környezettoxikológiai szűrést.

Ha biológiailag bontható szennyezőanyagról van szó és bioremediáció előkészítéséről, akkor a talaj természetes élővilágának, elsősorban a mikroflórának a jellemzésén lesz a hangsúly.

Az Triád egyes elemeinek belső tartalmát egyértelműen megszabja, hogy szerves vagy szervetlen szennyezőanyagról van-e szó, illetve, hogy fizikai-kémiai vagy biológiai remediációs módszert alkalmazunk-e a remediációhoz. A remediáció végeztével a talaj minőségének, ellenőrzésére és felhasználhatóságának eldöntésében elsősorban az ökotoxikológiai módszerek fognak szerepet játszani.

## *A TalajTesztelőTriád három eleme*

### *A fizikai-kémiai módszerek mint a Triád alapelemei*

A fizikai-kémiai mérések történhetnek in situ, on site vagy laboratóriumban. A környezeti paraméterek legtöbbje helyben mérhető/mérendő hiszen a laboratóriumba szállítás közbeni változások elkerülése máskülönben megoldhatatlan. In situ mérjük a vizek pH-ját, a környezeti elemek hőmérsékletét, a redoxpotenciált, az oldott oxigén koncentrációt, a zavarosságot, a vezetőképességet, stb.

A szennyezettség in situ vagy on site mérésére is egyre több lehetőség nyílik: hordozható XRF az elemek teljes spektrumát méri a helyszínen, fémkoncentrációk viszonylag pontos meghatározása lehetséges reagenssel átitatott papírcsíkokkal vagy félkvantitatív, vizuálisan értékelhető, színreakción alapuló kimutatási módszerekkel. Hordozható műszerekkel nagyobb területek felmérése vagy technológiák on site monitorozása is megoldható, mely lehetővé teszi az azonnali beavatkozást. A helyszíni méréseknek egészen más előnyeik vannak, mint a laboratóriumi analízisnek. Ha a szennyeződés kiszűrése, szennyeződéstérképezés, forró pontok, szennyezőforrások azonosítása a célunk, akkor egyszerű, kevésbé pontos, gyors, helyszíni módszert választunk, de ha törvényi feltételekhez kötött döntés büntetés kiszabása a célunk, akkor a minél pontosabb laboratóriumi vizsgálatot kell választanunk.

A talaj háromfázisú rendszer, szilárd, folyadék és gáz halmazállapotú fázisokból áll. Ezeket együttesen vagy külön-külön is analizálhatjuk, jellemezhetjük.

A mintavétel alapvető fontosságú, ennek problémáira és megoldásaira nem térünk ki. Annyit említünk csak, hogy a mintavétel módjának is a vizsgálat céljához és a vizsgálati Triád egyes tagjaihoz kell igazodni, igény szerint eltérő mintavételi, csomagolási, tárolási vagy tartósítási eljárásokkal.

Alapvető különbség van a roncsolásmentes és a roncsolás utáni analitikai módszerek között. A helyszínen végzett fizikai mérések nagy része roncsolásmentes. Ilyenkor a minta heterogenitása és a felületi hatások szabnak határt a reprodukálhatóságnak és a pontosságnak. A roncsolásos eljárások reprodukálhatósága és pontossága általában jobb, de a környezeti realizmusok nagyon rossz lehet. Ez azt jelenti, hogy egyáltalán nem modellezik helyesen a szennyezőanyag környezeti sorsát és hatásait

A szennyezőanyagok különböző formákban lehetnek jelen a környezeti elemek mátrixában. Valamennyi forma egyszerre és azonos hatásfokkal történő kinyerése aligha lehetséges, fémek esetében a királyvizes feltárás, szerves anyagoknál pedig egy poláros és egy apoláros szerves oldószer keveréke (hexán-aceton) közelíti ennek a célnak a kiszolgálását. Még ezeknél a kioldási eljárásoknál sem lehetünk biztosak a tökéletes kioldásban. Gyakran nem is törekszünk totális kioldásra, ill. feloldásra az analízist megelőzően, hanem bizonyos mértékű és specifikus szelektivitás a célunk.

A leggyengébb szorpciótól, az ionos kötésekön keresztül, a molekula- vagy atomrácsgig, a kovalens szerves kötésekig mindenféle erősségű kötés és kötéstípus megtalálható a szennyezőanyagok környezeti elemekhez kötődésekor. A szennyezőanyagok pontos kémiai formájának megállapítása a környezeti mintákban általában nem járható út, gondoljunk csak a fémek speciációjára, amely igen költséges és bonyolult eljárásokkal lehetséges csak. A speciáció (a kémiai formák eloszlásának meghatározása) helyett gyakran többé-kevésbé szelektív kivonási eljárásokat szoktak alkalmazni a környezeti realizmus, illetve az eltérő környezeti viselkedés modellezésére. A legtöbb kivonási eljárás mögött van valamilyen filozófia, hol helyes, hol kevésbé átgondolt. Az egymást követő kivonási lépések is finomíthatják a szennyezőanyagok kötéstípusáról, mozgékonyaságáról, hozzáférhetőségéről, hatásosságáról a kémiai analitikai eredmények alapján alkotható véleményt. De ne tévesszük szem elől, hogy a kémiai hozzáférhetőség szinte sosem egyezik a biológiai hozzáférhetőséggel, vagyis a hatásos, toxikus, bioakkumulálható, stb. koncentrációval.

A TTT céltól függő triádspecifikus fiziko-kémiai mérési módszereket alkalmaz: 1. szűréshez egyszerű in situ méréseket alkalmazhatunk (pl. toxikus fémekre hordozható XRF, talajgáz szénhidrogéntartalmára kalibrált hordozható mérőműszert), 2. a bioremediáció követésére a mikroorganizmusok gázhalmazállapotú anyagcseretermékeinek in situ mérését (pl. CO<sub>2</sub>), vagy a maradék szénhidrogén extrakció utáni laboratóriumi gázkromatográfiás analízisét, 3. Talaj minőségének ellenőrzésére a már azonosított szennyezőanyagok műszeres analízisét, stb. Ezeket a fiziko-kémiai módszereket minden esetben ki kell egészíteni a szennyezőanyag környezetre gyakorolt hatásának mérésével.

## **Környezettoxikológiai tesztelésre alkalmas módszerek**

A környezettoxikológiai módszereket is feloszthatjuk in situ szabadföldi és laboratóriumi vizsgálatokra. Az in situ végzett mérések és vizsgálatok vonatkozhatnak a környezetben megtalálható jellemzőkre, pl. fajok eloszlására, indikátorfajok jelenlétére, bármilyen biomarker kimutatására vagy lehet un. aktív biomonitoring amely a kutatók által a környezetbe helyezett, egységes és kontrollált élőlények viselkedését vagy más jellemzőit (pl. akkumulációját) méri.

A környezettoxikológiai tesztek megkülönböztethetők aszerint is, hogy egy fajt, több fajt, vagy fajoknak a természeteshez közelálló vagy azzal azonos természetes vagy mesterséges összetételét vizsgáljuk-e mikro- vagy mezokozmoszban.

A tesztorganizmus vagy biomarker jellegétől függően a környezeti hatásra vagy a szennyezőanyag hatására adott válasz sokféle lehet. A végpontok lehetnek genetikai változások eredményei (mutációk, fejlődési rendellenességek), letalitás, biokémiai vagy fiziológiai esetleg viselkedésben bekövetkező, mérhető változások, leggyakrabban szaporodás, növekedés, légzés, enzimaktivitások, stb.

A mérési végpontok **akut toxicitás** mérése esetén (rövid idejű kitettség) a koncentráció–hatás görbéről leolvasható 10, 20 50 vagy 90 %-os gátlást okozó koncentrációt, vagy a görbe meredeksége lehet. Ennek megfelelően az alábbi vizsgálati végpontokat szokták, mint eredményt megadni:

LC<sub>10</sub>, LC<sub>20</sub>, LC<sub>50</sub>, LC<sub>90</sub> = letális koncentráció (Lethal Concentration), mely a tesztorganizmus 10, 20, 50 vagy 90 %-ának pusztulását okozza.

EC<sub>10</sub>, EC<sub>20</sub>, EC<sub>50</sub>, EC<sub>90</sub> = hatásos koncentráció (Effect Concentration), mely a mérési vagy vizsgálati végpont 10, 20, 50, 90 %-os csökkenését okozza.

LD<sub>10</sub>, LD<sub>20</sub>, LD<sub>50</sub>, LD<sub>90</sub> = letális dózis (Lethal Dose), mely a tesztorganizmus 10, 20, 50 vagy 90 %-ának pusztulását okozza.

ED<sub>10</sub>, ED<sub>20</sub>, ED<sub>50</sub>, ED<sub>90</sub> = hatásos dózis (Effect Dose), mely a végpont 10, 20, 50, 90 %-os csökkenését okozza (Gruiz, in: KL, 2002)

A koncentráció–hatás görbe meredekségét használva vegyi anyagok toxicitásának jellemzésére eltérő eredményt kaphatunk, mint az EC<sub>x</sub> értékeket használva, hiszen a szigmoid görbék alakja eltérő lehet. Akut toxicitás mérése esetén a tesztelési idő rövidege miatt könnyen elkövethetjük azt a hibát, hogy a hatás csak a teszt idejének lejáta után jelentkezik. Ezt kiküszöbölendő hosszú távú, un. krónikus vizsgálatokat kell végezni. A hosszú távú vizsgálatokban az utódok létrehozására gyakorolt hatást is mérhetjük. Az utódok számát is mérő tesztek a reprodukivitási tesztek.

**Krónikus** toxicitás (hosszú idejű teszt) vizsgálatából az alábbi, a koncentráció–hatás görbe alapján grafikusán vagy statisztikai módszerekkel meghatározott értékeket szokták megadni:

NOEC = (No Observed Effects Concentration), az a legnagyobb koncentráció, amelynek nincs megfigyelhető hatása.

NOEL = (No Observed Effects Level Concentration), az a legnagyobb dózis, amely nem okoz megfigyelhető hatást.

NOAEC = (No Observed Adverse Effects Concentration), az a legnagyobb koncentráció, amely még nem okoz megfigyelhető káros hatást.

NOAEL = (No Observed Adverse Effects Level), az a legnagyobb dózis, amely még nem okoz megfigyelhető káros hatást.

LOEC = (Lowest Observed Effects Concentration) az a legkisebb koncentráció, amelynek hatása már megfigyelhető.

LOEL = (Lowest Observed Effects Level) az a legkisebb dózis, amelynek hatása már megfigyelhető.

MATC = (Maximum Allowable Toxicant Concentration), a szennyezőanyag maximális, még megengedhető koncentrációja. MATC a LOEC és NOEC érték átlagaként számítható. A NOEC és a LOEC egymásból is számíthatóak: pl. NOEC = LOEC/2, (Gruiz, in: KL, 2002).

A krónikus tesztek eredménye tehát vagy az a legnagyobb koncentráció vagy dózisérték, amely statisztikailag még nem mutat szignifikáns hatást vagy az a legkisebb érték mely már mérhető hatást mutat. Az alábbiakban felsoroljuk azokat a tényezőket, amelyek befolyásolják a krónikus teszteredmény megbízhatóságát, jóságát.

- A minta mérete és az ismétlések száma.
- A megfigyelt végpontok száma.

- A vizsgált koncentrációsor (dózissorozat) tagjainak száma, azaz a vízszintes tengely felbontása.
- A végpont mérhetősége.
- A vizsgált szervezet vagy populáció változékonysága a végpont szempontjából.
- Az értékeléshez alkalmazott statisztikai módszer.

Rendkívül fontos az ökotoxikológiai módszerek szabványosítása, hogy a különböző laboratóriumokban mért eredményeket össze lehessen egymással hasonlítani. A standardizált módszerekkel kapott ökotoxikológiai eredmények hasznosságát, előnyeit foglaljuk össze a következőkben.

- Egységes és összehasonlítható módszerek jönnek létre a szabványosítással.
- Standard, törzsgyűjteményben, kereskedelmi forgalomban kapható teszt-organizmusok, tesztrendszerek, előre gyártott készletek szerezhetőek be.
- A mérés és az eredmény megismételhető bármelyik laboratóriumban.
- Kockázatfelmérésre és döntési folyamatok támogatására alkalmas eredményeket ad.
- Egyszerűsített eljárások, különösebb fejlesztés nélkül alkalmazhatóak.
- Ha nagyszámú eredményre van szükség statisztikai értékeléshez, pl. határértékképzéshez, QSAR-hoz vagy kockázatfelméréshez, akkor különböző laboratóriumok eredményei együtt felhasználhatóak.
- Célszerű módosításokkal tudományos kutatási célokra is megfelelnek.

Az elmúlt években több standard módszer született USA-ban és európai államokban, egyesek európai ökotoxikológiai laboratóriumokban végzett ellenőrző körmérésekkel alátámasztva.

A toxicitási tesztek minden esetben statisztikai módszerekkel kell értékelni. Az ökotoxikológiai tesztek nagy idő és munkaigénye miatt a statisztikai értékelés, helyesebben az értékeléshez szükséges mintaszám kompromisszum kérdése. Az utóbbi években egy sor statisztikai eszköz szoftver formájában is hozzáférhetővé vált. Az adatok statisztikai értékelésével minimálisra szoríthatjuk le a vizsgálatok számát. Természetesen ezeket a szoftvereket nem lehet tervezés és előzetes megfontolások nélkül alkalmazni a mérési adatok értékelésére, tehát a vizsgálatok tervezése során a mintaszámot és az ismétlések számát az értékelő statisztikai módszerrel harmonizálva kell megválasztani.

Az egyik legnépszerűbb módszer a **grafikus interpoláció** a toxikus végpontok (pl. EC50) becslésére. Kényelmes módszer és jól használható a dózis–válasz illetve koncentráció–hatás görbék analizálására. Hátránya, hogy nem képes konfidencia intervallumot számítani.

A **probit módszer** terjedt el legszélesebb körben. Az adatokat valószínűségi egységgé (probability unit) transzformálja. Hátránya, hogy olyan adatsorra van szüksége, amely legalább két részleges letalitási eredményt tartalmaz (pl. 7 elpusztult a 20 tesztorganizmusból). Előnye, hogy könnyűszerrel számítja a konfidencia intervallumokat. A **logit módszer** is transzformálja az adatokat, majd megkeresi az adatsorhoz legjobban illeszkedő görbét. Néhány általánosan használt és hozzáférhető program: TOXSTAT, SAS-PROBIT, SPSS-PROBIT, DULUTH-TOX, ASTM-PROBIT.

A **krónikus toxicitási tesztek** statisztikai értékelésében legfontosabb annak a koncentrációnak a meghatározása, amelynek eredménye szignifikánsan eltér a kezeletlen kontrollétól. Az ANOVA alkalmazásának célja általában a MATC meghatározása. Az ANOVA a MATC értéket a LOEC és a NOEC között állapítja meg: **LOEC > MATC > NOEC**.

Az ANOVA variancia-analízis folyamata a következő:

- Az adatok transzformálása.
- A kezeletlen kontroll és a vivőanyagot (pl. oldószert) tartalmazó kontroll összevetése, azonosságának ellenőrzése.
- A kezelt csoportok variancia-analízise.
- A kezelt csoportok összehasonlítása annak megállapítására, hogy melyik különbözik a kezeletlen kontrolltól.

Az ökotoxikológiai tesztek eredményeit koncentráció vagy dózis értékekben adjuk meg, tehát a fizikai-kémiai módszerekével azonos dimenzióban. Ezért a fizikai-kémiai módszerek eredménye közvetlenül összevethető az ökotoxikológiai tesztek eredményével (Gruiz és mtsai, 2001). Az általunk kidolgozott kalibrációs eljárás még azt is lehetővé teszi, hogy a toxicitást pl. szövetlen

szennyezőanyagok esetében valamilyen fém-ekvivalensben fejezzük ki, szerves szennyezőanyagoknál pedig a kalibrációhoz felhasznált szénhidrogén mennyiségében vagy koncentrációjában. A toxicitás ekvivalensek lényege tehát az, hogy akkora hatásról van szó, amekkorát a kalibráláshoz felhasznált, ugyanakkora gátlásnál leolvasott pl. rézvegyület koncentráció okozott volna.

### ***A talajökoszisztéma vizsgálatára alkalmas módszerek***

Az ökoszisztémák jellemzése történhet a helyszínen való felmérés és megfelelő dokumentálás, vagy a laboratóriumba szállított talaj, növény vagy állatminták vizsgálatával.

Leggyakrabban a talajban élő élőlények fajszerkezetének és eloszlásának vizsgálata és statisztikai értékelése történik. A növényi diverzitást általában referenciaterületekhez viszonyítva értékelik, vagy rendszeres monitoring idősorát hasonlítják össze. A talajok mikroflórája szintén vizsgálható referencia talajhoz képest vagy az időben, pl. egy remediációs technológia során.

Gyakori a bioindikátorok, vagy szelektív markerek vizsgálata is. Kiválasztásuk történhet általános ismeretek, vagy helyspecifikus megállapítások alapján. A talajmikroorganizmusok jellemzése során gyakran szelektív táptalajokon növesztett vagy dúsított mikrobákat vizsgálunk minőségi vagy mennyiségi szempontból. Ilyen módon bizonyíthatjuk a talaj mikroflóra adaptálódását toxikus anyagokhoz (pl. a tűrőképesség vagy ellenállóképesség megjelenésével) vagy biodegradálható szennyezőanyagokhoz (PAH-bontó mikroorganizmusok száma, PCB bontó baktériumok jelenléte, stb.)

Genetikai, morfológiai, biokémiai, fiziológiai, kémiai vizsgálati módszereket alkalmazhatunk az egyes fajok kimutatására, jellemzésére, aktivitásuk mérésére. A primer eredményeket statisztikai értékelésnek vetjük alá. Az eredmény lehet kvantitatív (sejtkoncentráció, fajeloszlás), melyekből félkvantitatív vagy kvalitatív mutatókat, indexeket készítenek a talaj ökológiai állapotának jellemzésére (Gruiz és mtsai, 2001; Dobler, és mtsai, 2001; Gruiz, 2005)

A talaj ökoszisztéma összetételének, működésének, aktivitásának vizsgálatára alkalmas módszerek eredményei a kémiai vagy ökotoxikológiai módszerekkel kapott eredményektől eltérő mértékegységben adják meg eredményüket. Az ökológiai jellemzők, nem fejezhetőek ki a szennyezőanyag koncentrációjával, sőt gyakran, indexek, pontszámok vagy más kvalitatív mutatók formájában születnek meg, amelyek nehezen hasonlíthatóak össze a Triádban szereplő másik két vizsgálati típus eredményével (pl. nem adható össze vagy vonható ki a másik két módszerrel kapott eredményből). Így a talaj ökoszisztéma jellemzőit egyelőre kiegészítő információként vesszük figyelembe.

### ***A TalajTesztelőTriád leggyakoribb alkalmazásai***

A következőkben a triád három összetevőjének szempontjából jellemezzük a módszeregyüttes különböző alkalmazásait, amelyek az alábbiak:

1. Környezetünk állapotának integrált monitoringja
2. Szennyezett terület screenelése, szennyezettségi térkép készítése
3. Szennyezett terület részletes állapotfelmérése
4. Szennyezett terület remediációjának tervezése
5. Környezetvédelmi biotechnológia tervezése, előkísérletek
6. Talajremediáció monitoringja
7. A kezelt talaj minősítése



## Szennyezett terület szennyezettségének feltérképezése, screenelés

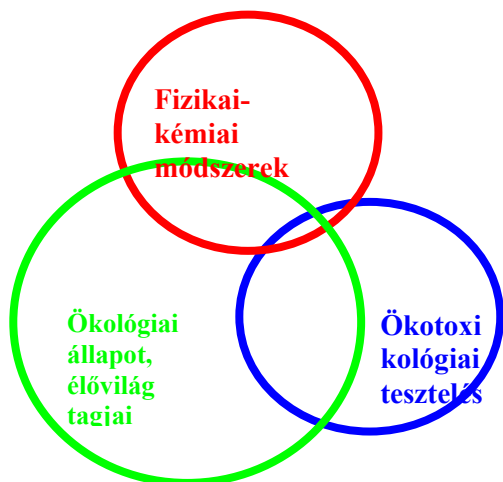
Érdemes megkülönböztetnünk a természetes szennyezett területeket és az intenzíven szennyezett ipari, katonai, hulladéklerakó területeket, vagyis azokat, amelyeknek nincs természetes ökoszisztémája, például nincs vizuálisan is értékelhető növényzete.

Egy szennyezett terület felmérése mindig több lépcsőben kell történjék, hogy költség-hatékony legyen. Optimumot kell találni a lépcsők számában és a felméréssel kapott eredmények hatékonyságában, használhatóságában.

A felmérés első lépéséről van szó, amikor a veszély azonosítása és a szennyezettség durva lehatárolása történik meg. Ebbe a lépcsőbe még a szennyezőanyag kémiai azonosítása sem tartozik okvetlenül bele, főleg, ha az ismeretlen eredetű vagy nagyon összetett, esetleg igen kis koncentrációban is nagyon toxikus vagy mutagén.

A felmérés első lépcsője a káros hatás megjelenésén alapul. A káros hatás első jelei már megmutatkozhatnak a talaj természetes ökoszisztéma tagjain, elsősorban a vizuálisan is megfigyelhető növényzeten. Lehetséges, hogy a káros hatás még nem jelent meg a vizuálisan is észlelhető makroszinten, vagy egyáltalán nem jelent még meg, de potenciálisan jelen van.

Ha a szennyezőanyag káros hatása már megjelent makroszinten, akkor a növényzet vagy az ökoszisztéma más tagjainak abnormális morfológiája vagy pusztulása alkalmas végpont a szennyezettség indikálására és lehatárolására. A makroszinten még nem jelentkező potenciális káros hatásokat korai figyelmeztető rendszerekkel és ökotoxikológiai tesztekkel mérhetjük (Dobler és mtsai, 2001)

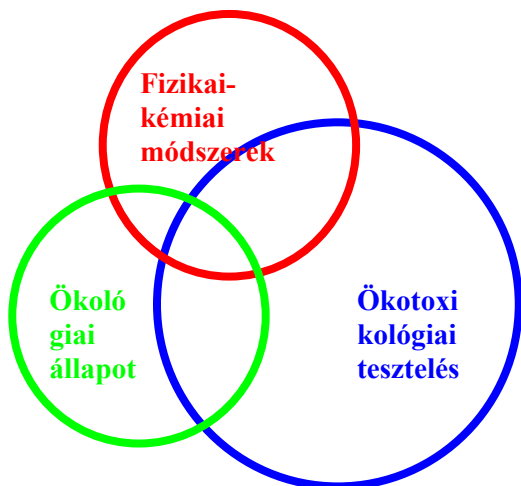


A **TalajTesztelőTriád** elemei közül szennyezett természetes területek állapotfelmérése első lépcsőjében vezető szerep juthat az ökológiai állapotfelmérésének, a vizuálisan könnyen megállapítható sajátosságok, a növényzet vagy az állatvilág összességére vagy egyes tagjaira vonatkozó jellemzők vizuális vizsgálatának. Abban az esetben alkalmasak az ökológiai jellemzők a szennyezettség tényének és kiterjedésének megállapítására, ha a szennyezőanyag(ok) már makroszintű

Az első felmérési lépcsőben alkalmazott makroszintű ökológiai változások szabad szemmel megfigyelhető és speciális szaktudás nélkül is azonosítható jelek, végpontok legyenek: pusztulás, hervadás, sárgulás, növekedésben visszamaradottság, betegség, fajeloszlás (egyes fajok dominanciája), állatok elmenekülése a területről. Ugyanezen jellemzők távérzékelés alapján is megfigyelhetőek, főként kiterjedt területek esetén (EER, 2001)

Amennyiben még nem jelent meg makroszintű ökológiai változás vagy nincs értékelhető, látható élővilág a területen, akkor a talaj- vagy vízminták ökotoxikológiai tesztelése segíthet az első felmérési lépcsőben. A helyesen megválasztott, talajra és más szilárd halmazállapotú környezeti mintára is alkalmas ökotoxikológiai teszt eredménye magában hordozza és integrálja az összes előforduló szennyezőanyag hatását, az egyes szennyezőanyagok kölcsönhatásából eredő hatás-módosulásokat (pl. szinergizmus: az eredő hatás nagyobb, mint az egyenkénti hatások összege), a szennyezőanyag és a mátrix kölcsönhatásait.

Az úgynevezett öröklött szennyezett területek esetében, ahol a szennyezésre vonatkozóan nagyon kevés vagy semmiféle információ nem áll rendelkezésünkre és az eredeti szennyezettséghez illegális lerakatok is adódnak, szinte az egyetlen megoldás az ökotoxikológiai szűrővizsgálat. Ha semmiféle kiindulási információnk sincs, akkor kevésbé alapozhatunk a fizikai-kémiai analitikai módszerekre, hiszen már az analitikai terv elkészítésénél megáll a tudományunk, milyen kivonatból, milyen módszerrel analizáljunk és mit? Ipari területeken és hulladéklerakóknál a természetes ökoszisztéma sem orientáló, hiszen vagy nincs is természetes ökoszisztéma, vagy ha volt is, nehéz lenne használható referenciát találni. A mikro- és makroflóra adaptációja is félrevezető lehet.

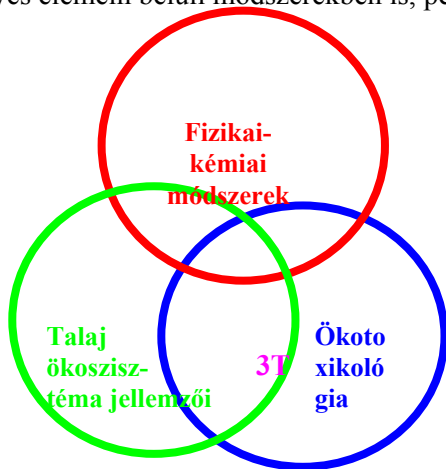


A **TalajTesztelőTriád** használata különös jelentőséggel bír régi, elhagyott, "gazdátlan" katonai vagy ipari területek esetében. Ilyenkor az **ökotoxikológiai tesztelés** döntő fontosságú, hiszen a fizikai-kémiai analitikai módszerek alkalmazhatóságát korlátozza a szennyezőanyagok azonosíthatatlan volta. Ipari vagy katonai területeken, illegális hulladéklerakatok környezetében a természetes növényzet vagy a vizuálisan megfigyelhető egyéb ökoszisztéma-rendellenességek sem irányadóak, félrevezetőek lehetnek.

Ezekben az esetekben az ismeretlen szennyezőanyag-keverék hatására alapozott szűrővizsgálatot kell alkalmaznunk. Egy sor olcsó és gyors ökotoxikológiai teszt létezik, amelyet akár on site, tehát a szennyezett területen is el lehet végezni (nem szükséges a környezeti minta laboratóriumba szállítása). Ilyen olcsó, az angol nomenklatúrában bioassay néven emlegetett mérőmódszer a *Vibrio fischeri* biolumineszcencia-gátlási teszt, vagy az általunk kifejlesztett *Bacillus subtilis* talajkorongos növekedésgátlási teszt (Bekő és mtsai, 1992; Gruiz és Vodicska, 1992; Gruiz, 1994; Gruiz, 2000; Ferwagner 2002; Dobler és mtsai, 2001)

### **Szennyezett terület állapotfelmérése és a remediációs technológia tervezése**

A TalajTesztelő Triád elemei a felmérés céljától és részletességétől függően eltérő arányban járulhatnak hozzá a TalajTesztelőTriád összetételéhez. A TTT nem csak a három elem egymáshoz viszonyított arányában térhet el egymástól, pl. a felmérés fázisa szerint, hanem természetesen a Triád egyes elemein belüli módszerekben is, például a szennyezőanyag fajtájától függően.



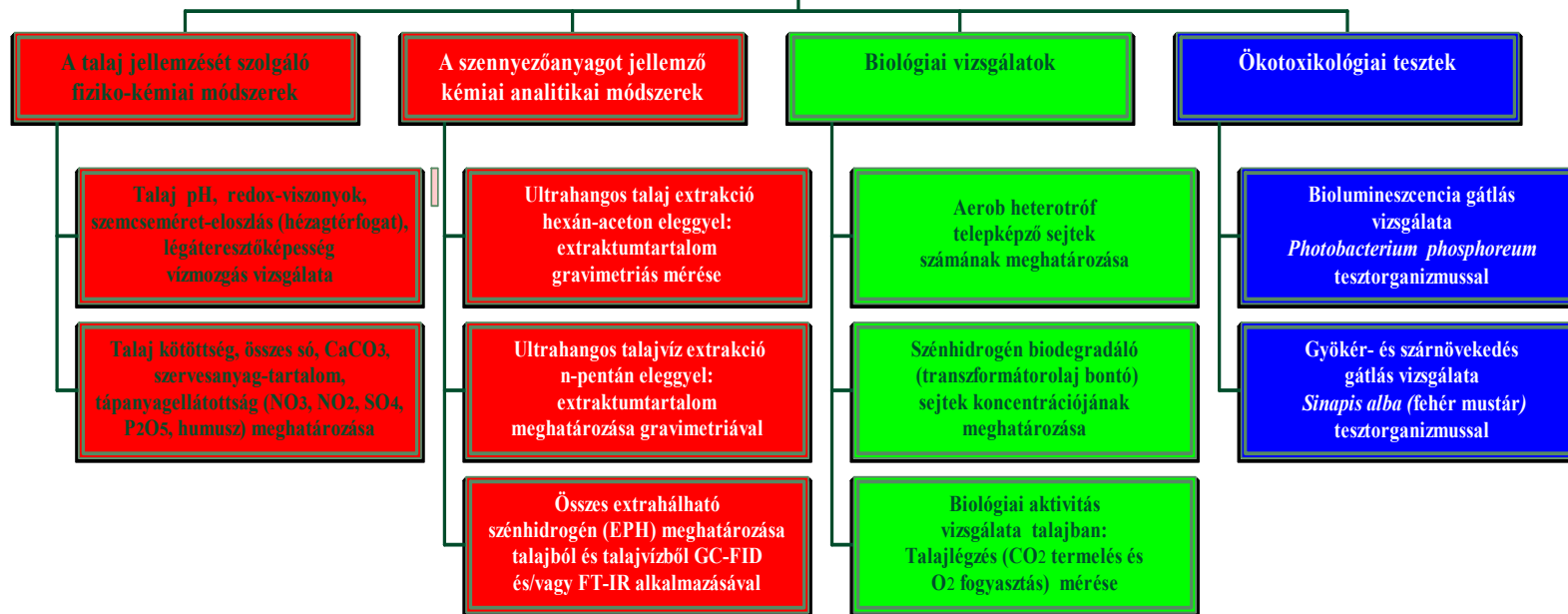
#### **TTTT: TalajTesztelőTriád**

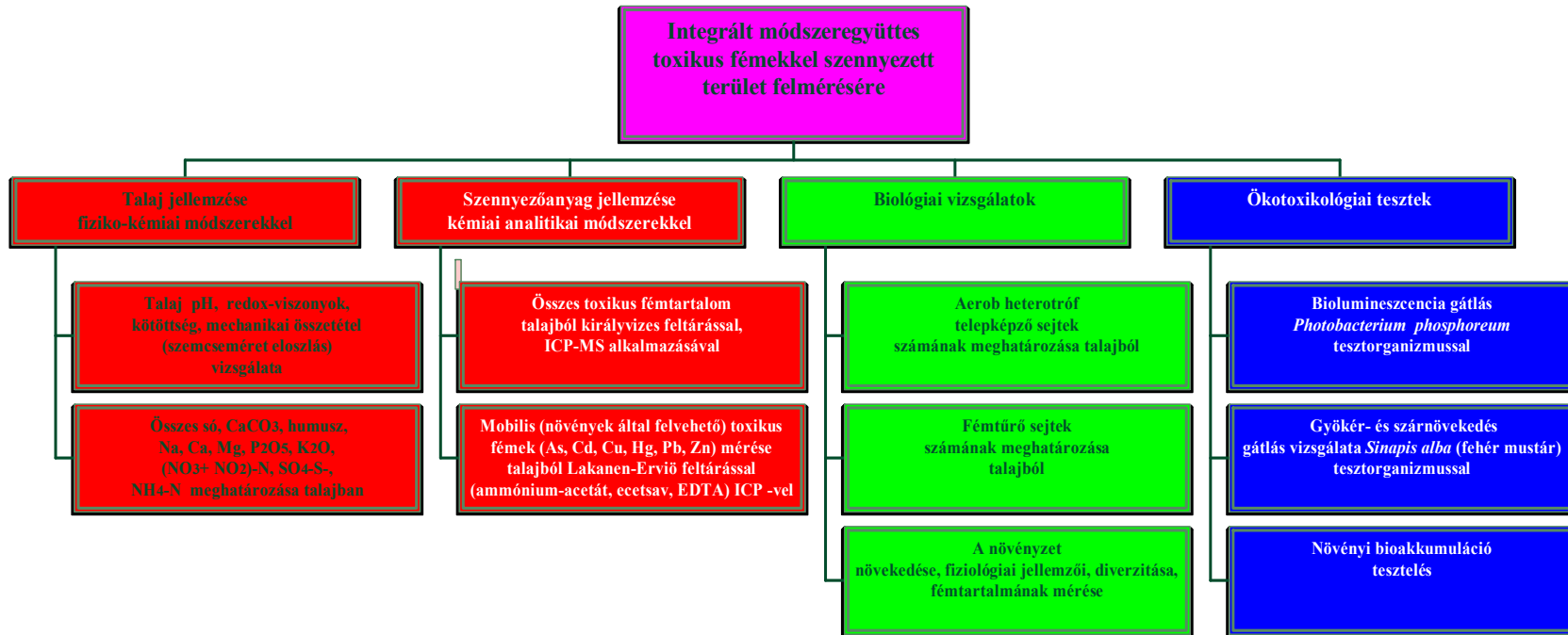
Szennyezett területek részletes felmérések és a technológia tervezése során általában azonos hangsúlyt kapnak a fizikai-kémiai vizsgálatok, a talaj biológiai jellemzői és az ökototoxicitás. Kiegészítik egymást, információt adnak a szennyezőanyag minőségéről és mennyiségéről, a talaj állapotáról, életképességéről, aktivitásáról, a szennyezőanyag hatásáról és hozzáférhetőségéről, biodegradálhatóságáról és modellezhető a talai külső

A talaj milliárdnyi mikroorganizmus élőhelye. A talaj ökológiai állapota mikroszinten ezen mikroorganizmusok állapotával jellemezhető. A mikroorganizmusok jellemzése a technológia kiválasztása és tervezése szempontjából is alapvető, hiszen biotechnológia alkalmazása esetén erre a közösségre fog alapulni a remediációs technológia. Ha nem biotechnológia lesz a megoldás, akkor a mikroflóra kevésbé jelentős, ezért vizsgálatuk egyetlen szempontja a talaj jövőbeni (kezelés utáni) használata, minősítése (Dobler és mtsai, 2001; Gruiz, 2009)

Szerves és szervetlen szennyezőanyagokkal szennyezett területek állapotfelmérésére és a remediációs technológia kiválasztásához és tervezéséhez szükséges módszeregyüttes-javaslatokat mutatunk be a következőkben.

**Integrált módszeregyüttes  
transzformátorolajjal szennyezett  
terület felmérésére**

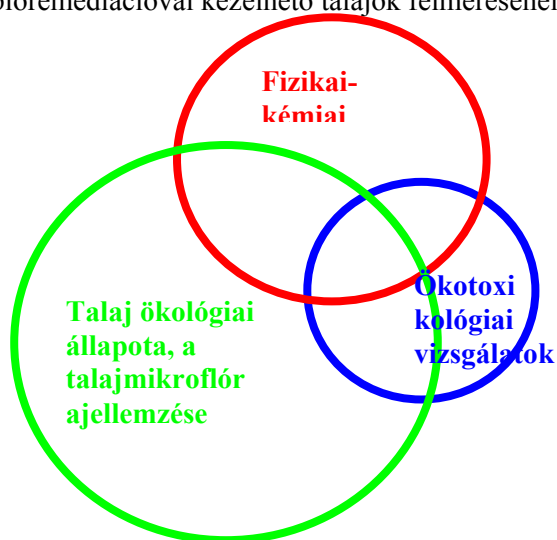




## **Biotechnológia tervezéséhez, az előkísérletek értékeléséhez használt módszeregyüttes**

A szennyezett talaj remediációját szerencsés esetben maga a talaj élővilága képes elvégezni, hiszen a kockázat csökkentése számára a túlélést jelenti. A talaj-ökoszisztéma megoldások sokaságát vonultatja fel, hogy élőhelyének kockázatát elviselhető szintre csökkentse, általában sikerrel. Nagyon nagy kérdés, minden ilyen esetben, hogy ez a talajökoszisztéma számára csökkent kockázat a talajt szintén használó ember számára is kisebb kockázatot jelent-e. Nem mindig, de az esetek jelentős részében igen, ezeket a természetes megoldásokat az biomérnököknek, illetve az ökomérnököknek meg kell ismernie, hasznosítani és amennyiben szükséges intenzifikálnia kell.

Ahhoz, hogy a talaj élővilágának működését saját hasznunkra fordítsuk, ismerni és beavatkozni kell tudnunk a talajban folyó biológiai átalakításokba, biodegradációs és bioakkumulációs folyamatokba. Ezt a mérnöki tevékenységet támogatja az a módszeregyüttes, amit kimondottan a bioremediációval kezelhető talajok felmérésénél követünk.



A **TalajTesztelőTriád** talajbioremediációban történő hasznosítása során a fő hangsúly a talajban élő mikroflóra, a biotechnológia központi magvát alkotó "cell factory" vizsgálatára helyeződik. A mikroflóra mennyisége, minősége, aktivitásai, légzése egyértelműen jellemzik a potenciális és a folyó bioremediációs tevékenységet. Ehhez kiegészítésként szükségesek a kémiai analitikai eredmények, melyek a szennyezőanyag oldaláról is bizonyítják a folyamatok hasznosságát. Az ökotoxikológiai mérések a talaj ellenőrzését szolgálják, esetenként a szennyezőanyag hozzáférhetőségét jellemezhetik.

A biotechnológia alkalmazhatósága a talaj biológiai állapotán, aktivitásán múlik. A szerves szennyezőanyag biodegradációja szolgáltatja leggyakrabban a bioremediáció alapját. Szervetlen szennyezőanyagokkal szennyezett talajnál a toxikus fém vagy más szervetlen anyag vagy elem növények vagy mikroorganizmusok általi felvétele akkor jelent megoldást, ha a felvételt követően mód van a szervetlen elemet tartalmazó élő anyag elkülönítésére és izolált kezelésére. Ebbe a kategóriába tartozik a felszín alatti vizek fitoremediációja (élőgép, gyökérszívó kezelés) és szennyezett telítetlen talaj fitoextrakciója.

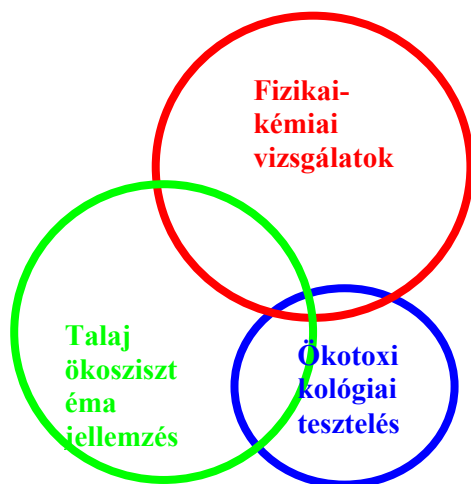
Mind szerves, mind szervetlen szennyezőanyagok esetén jó megoldás a biológiai közreműködéssel történő immobilizáció vagy stabilizáció, bár ezek általában komplex fiziko-kémiai-biológiai folyamatok (szerves szennyezőanyagok fosszilizációja vagy kovalens kötéssel történő beépítése a szerkezeti humuszba és a szervetlenek átalakítása kevésbé mobilis kötésformákká (vö. speciáció).

Biodegradáción alapuló remediációval kapcsolatban 3T fontos része a talajban működő különböző típusú, fajú sejtek koncentrációja, a biodegradáló aktivitásuk (enzimjeik) koncentrációja, a talaj légzése (O<sub>2</sub> és CO<sub>2</sub> mérés) vagy dehidrogenázaktivitása, a légzés aktiválhatósága, az enzimek aktiválhatósága, a külső körülmények hatására adott biokémiai, fiziológiai válaszok, a technológiai paraméterek (T, pH, O<sub>2</sub>, nedvesség, tápanyag, hozzáférhetőséget növelő adalék) változtatásának hatása a talaj mikroflórájára.

A talaj kezelést szolgáló biotechnológiák esetében a biológiai dominanciával jellemezhető 3T módszeregyüttes használandó a bioremediáció minden szakszában, az előzetes kísérletekhez, a modellkísérletekhez, a mikrokozmoszokhoz, a szabadföldi technológia monitoringjához.

A biológiai jellemzéshez képest a monitoring során akkor nő a fiziko-kémiai vizsgálatok jelentősége, ha a biológiai tevékenységet magát (pl. légzésmérés) vagy annak eredményét (szennyezőanyag csökkenés, pH változás) viszonylag egyszerű fizikai-kémiai analitikai eljárással tudjuk követni.

## Bioremediáció monitoringja



### TTT: TalajTesztelőTriád

A bioremediáció monitoringja során a kémiai jellemzők és a talaj működésére a "cell factory" állapotára vonatkozó információknak egyensúlyban kell lenniük. A fizikai-kémiai vizsgálatok egy része a biológiai működés jellemzését és követését szolgálja (légzés, metabolitok).

Az ökotoxikológiai tesztesés a technológia fő fázisban kisebb jelentőségű, főként a biztonságot szolgálja vagy felvilágosítást ad a szennyezőanyag hozzáférhetőségéről. *In situ* technológiák esetében az ökotoxikológiai jelentősége nagyobbá válhat, ha szerepe a technológia kibocsátásának ellenőrzése. A remediáció befejező fázisában a talaj minőségét szolgálhatják.

A remediáció során végzett technológiamonitöring több szerepet is betölt:

1. Lehetővé teszi a technológia vezetését, optimumon való működtetését
2. A beavatkozások irányítását
3. A technológiából történő kibocsátás kontrollját
4. A technológia végértékének ellenőrzését, a kezelt talaj minőségét.

A fiziko-kémiai mérések nem csak a talaj és szennyezőanyag analízisét, de a talajmikroflóra működését mutató kémiai paraméterek mérését is szolgálják. Ezeknek a méréseknek főleg *in situ* alkalmazott technológiákban van különös jelentőségük, ahol a mintavétel a talaj szilárd fázisából nehézkes, emiatt a technológiamonitöring a gáz és folyadékfázis monitoringján keresztül oldódik meg.

A biológiai állapotot jellemző mutatók így a sejtszámok, a fajeloszlás, a légzés, az enzimaktivitások egyértelműen jelzik az átalakító tevékenységet végző mikroflóra állapotát, amely a technológia központi magva, amelynek optimális működéséről a technológusnak kell gondoskodnia a technológiai paraméterek beállításával. A biológiai állapot központba állításával juthatunk az optimális tápanyagellátottság, a levegőmennyiség, a talaj állaga, hőmérséklete, pH-ja stb. paraméterek értékekhez, melyeket aztán főleg fizikai-kémiai mérésekkel kontrollálunk.

A szennyezőanyagot, ahogy eddig mindig, kémiai koncentrációja vagy hatása alapján követhetjük. A szennyezőanyag hatása a remediáció vége fele kritikus, hiszen addigra már hatástalannak kellene lennie. Technológia folyamán is keletkezhetnek toxikus melléktermékek és ezek terjedése is kritikus lehet, pl. *in situ* technológiák során, ezért az ökotoxikológiai tesztesést a technológia folyamán a vegyi anyag természetétől függő mértékben a vége felé intenzívebben alkalmazzuk.

Ökotoxikológiai tesztekkel a toxikus szennyezőanyag biológiai hozzáférhetőségét is követhetjük, hiszen a hozzáférhetőség feltétele a biodegradációnak és előfordul, hogy limitáló tényező. Ha a technológia során a hozzáférhetőség limitálónak válik, akkor a technológus két dolgot tehet: vagy gondoskodik a hozzáférhetőség növeléséről (tenzidek, ciklodextrinek, hőmérsékletnövelés alkalmazása), vagy ha egy biztonságos határon túl csökken a hozzáférhetőség, akkor ezt a csökkent állapotot stabilizálja (oxidatív körülmények, humuszképződés irányába eltolás)

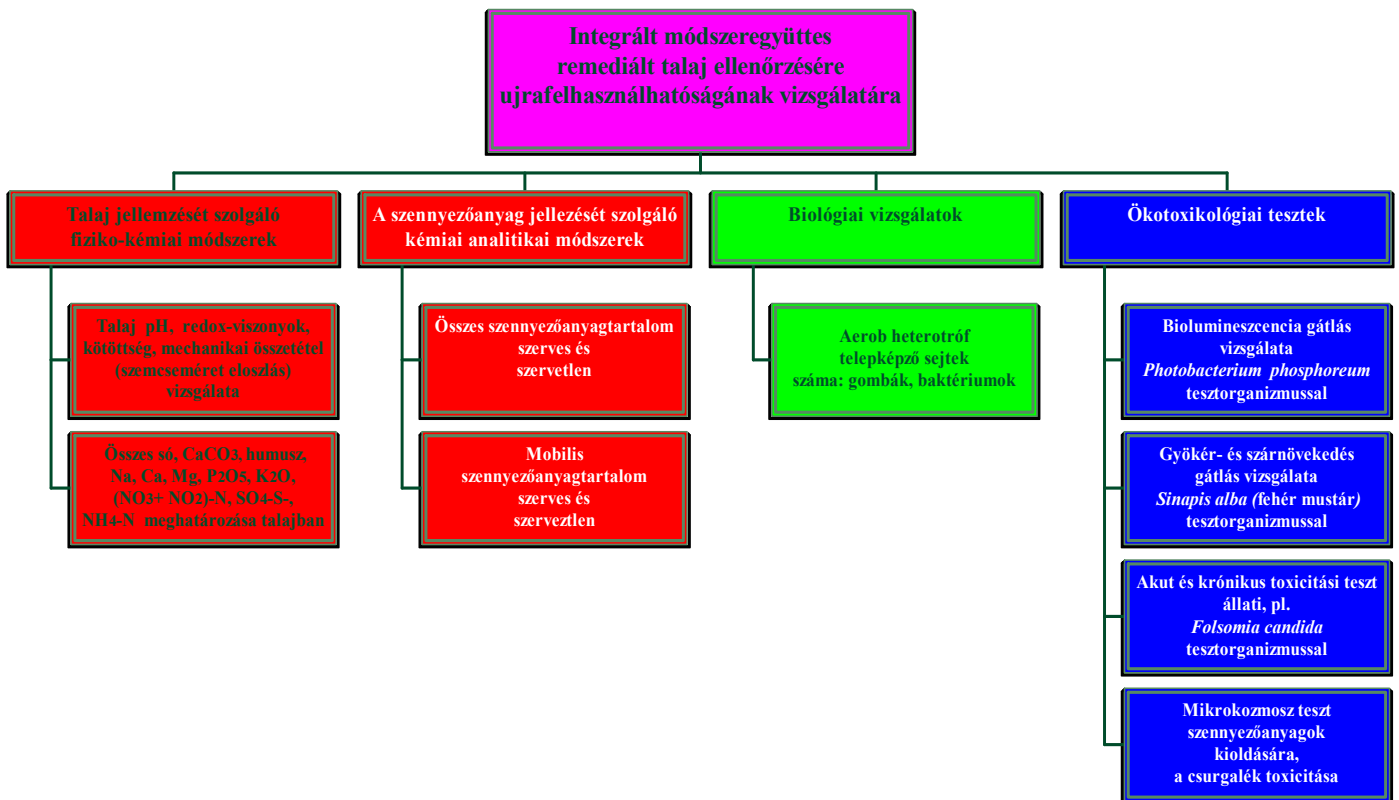
## A kezelt talaj minősítése



A **TalajTesztelőTriád** három tagja a remediáció során azonos hangsúlyt kap, de a remediáció befejeztével a talaj minősítésében a fizikai-kémiai és az ökotoxikológiai módszerek lesznek mérvadóak. A remediált talaj jövőbeni használata, a talajkezelő telepen kezelt talaj újrafelhasználhatósága annak kockázatától függ.

Ismert szennyezőanyagok kémiai analízisén kívül a talaj egészének hatását, kockázatát a toxikológiai tesztek adják meg (akut toxicitás, krónikus toxicitás, mutagén, teratogén hatás, a szennyezőanyag bioakkumulálhatósága, stb.).

Ma még kevésbé foglalkoztatja a gyakorlati szakembereket a szennyezett vagy a kezelt talaj újrafelhasználása. A talajok bizonyos célra történő használhatósága csupán kémiai jellemzőknek, szennyezőanyag koncentráció-határoknak eleget téve használhatóak. Ez a kémiai szemlélet nagymértékben korlátozza gondolkodásunkat és a talajok ésszerű és gazdaságos felhasználását. Az egyedi kockázatelemzés során sem kötelező feltétel az ökotoxikológiai tesztelés. A kezelt talajok ökotoxikológiai tesztelésen alapuló minősítésére való igény minden környezetközponturn gondolkodást célzó országban és tevékenységben megjelenik, az egységesített és szabványosított megoldások még váratnak magukra. Fontosságukat és sürgősségüket mi sem mutatja jobban, minthogy nélkülük egy immobilizáción vagy stabilizáción alapuló remediációs technológia eredményét – a jelenlévő kémiai koncentráció ellenére nagymértékben vagy teljesen lecsökkent kockázatot – meg sem tudjuk ítélni.



### ***Az egyes biológiai és ökotoxikológiai tesztek és alkalmazási területei***

Ebben a fejezetben összefoglaló áttekintést adunk azokról a biológiai és környezettöxicológiai módszerekről, melyekre ismert eljárás létezik és amelyeket célszerű a TTT elemeként alkalmazni, ha vegyi anyagoktól eredő szennyezetté, helyszínspecifikus környezeti kockázat felmérése a célunk (Calow, 1993, Landis és Yu, 1999; Gruiz és mtsai, 2001, Gruiz, 2009)

### ***A talajban élő közösség biológiai vizsgálata***

#### ***A talajmikroflóra vizsgálata***

#### ***Aerob heterotróf telepképző baktériumok és gombák száma***

Szennyezett területek állapotfelmérése: abszolút értéke a talaj általános állapotáról ad felvilágosítást. Szennyezett területek monitoringja során a szennyezőanyaghoz való adaptációt illetve a szennyezőanyag hatását mutatja.



Remediációs technológia követésekor a technológiai paraméterek és a biológiai folyamat ellenőrzését egyaránt szolgálhatják (Molnár és mtsai, 2000; Molnár, 2007)

Baktériumok és gombák megkülönböztethetőek megfelelő, baktériumok vagy gombák szaporítására szelektivitás biztosító táptalajok használatával.

#### *Mikroorganizmusok diverzitása*

Állapotfelmérés: a talajban élő mikroorganizmusok eloszlásának vizsgálata pl. faj szerint (fajeloszlás), biokémiai potenciál szerint (szubsztráthasznosítás ujjlenyomata), fiziológiai tulajdonságok szerint (fakultatív anerobok, nitrátlégést végzők, stb.) a közösségen belüli jellegzetességeket mutatja (Dobler és mtsai, 2001, Nagy, 2009).

Monitoring: szennyezett területek talajának mikroflórája első lépésben közösség szintű változásokkal reagál a szennyezőanyag jelenlétére. Ennek a változásnak a kimutatása történhet a szennyezetlen talajhoz képest, vagy az időben a szennyezést követően vagy a remediáció során.

#### *Toxikus fémeket tűrő sejtek koncentrációja*

Szennyezettség indikálása: toxikus fémekkel szennyezett talajokban megnő a toxikus fémeket tűrő mikroorganizmusok, baktériumok, gombák és egysejtű állatok száma. A hosszú idő óta fémekkel erősen szennyezett talajban teljesen átlagos sejtszámok mérhetőek.

A fém-tűrő sejtek mennyiségének növekedése a szennyezettség és az adaptálódás jelzője.

Állapot- és kockázatfelmérés: a környezeti kockázat megítélésében döntő lehet, hogy a tűrőképesség megjelenése a tűrőképességért felelős már meglévő gének bekapcsolását jelenti-e, vagy ezen gének elterjedését a közösségben. Ha a tűrőképesség akkumulációval jár együtt, akkor ezek a tűrőképes fajok nagy szerepet játszanak a fémek körforgalmában, immobilizálásában is.

#### *Szénhidrogént vagy egyéb szennyezőanyagot bontó sejtek koncentrációja*

Szennyezett terület felmérése során a konkrét, ismert szennyezőanyag bontását végző mikroorganizmusok indikálják a szennyezőanyag jelenlétét.

A szennyezett terület részletes állapot- és kockázatfelmérésében fontos információ a talajközösség szennyezőanyaghoz való hozzájárása és a biodegradációs folyamatok létezése, melyek a kockázat csökkenését biztosíthatják, így remediáció alapját képezhetik.

A természetes folyamatok követése és a bioremediáció során is alapvető a biodegradációt végző sejtek mennyisége, mely arányos a biotechnológia lefolyásáért felelős katalizátor állapotával (Molnár, et al; 2009; Leitgieb et al, 2007)

#### *Biodegradációs tesztek és mikrokozmoszok*

Szennyezett területek állapotfelmérésekor döntő lehet a biodegradáció meglétének bizonyítása, de ugyanilyen fontos lehet a kémiai módszerekkel azonosított szennyezőanyag biodegradálhatóságának vizsgálata (Gruiz és mtsai, 2001, Gruiz, 2005, Molnár et al, 2009)

Tehát a biodegradációs tesztek kétféleképpen alkalmazhatjuk: vizsgálhatjuk a szennyezőanyag biodegradálhatóságát és a talaj közösségének biodegradáló képességét. A két eltérő célnak azonos metodikákkal tehetünk eleget. A különbség annyi, hogy a biodegradálhatósági teszt referencia talajjal vagy más „általános” mikroflórát tartalmazó közeggel történik, helyszínspecifikus adaptációk maximális kizárásával, addig a biodegradációs teszt esetében a konkrét talajnak vagy egyéb közegnek döntő szerepe van és az eredmény magába foglalja az adaptáció eredményét is.

A szennyezőanyag kockázatát nagymértékben csökkentheti, ha a szennyezőanyag biodegradálható és ha a talaj mikroflórája képes a biodegradációra.

A biodegradáció vizsgálata történhet a szennyezőanyag, mint szubsztrát felhasználásának és elfogyásának vizsgálata útján mikrokozmosz tesztekben vagy a bontó mikroflóra bármilyen biokémiai vagy fiziológiai funkciójának, pl. légzésének vizsgálatán keresztül.



### *Talajlégzés zárt palack tesztben*

A talaj állapotának, légzési aktivitásának felméréséhez a szennyvizek szabványosított BOI-értékének méréséhez hasonló eljárást alkalmazhatunk. Ilyenkor a jó minőségű, életképes talaj légzési görbéjéhez hasonlítjuk a szennyezett talajét (Gruiz, 2005; Molnár et al, 2009)

Ugyanez a rendszer dinamikus vizsgálatokra is alkalmas: szennyezőanyag biodegradálhatóságának, a talaj adaptálódóképességének, toxikus hatásokra való reakciójának vizsgálatára.

### *Talajlégzés mikrokozmoszban*

A valóságot jól tükröző rendszerben mérjük a talaj légzését a felhasznált O<sub>2</sub> és a termelt CO<sub>2</sub> értékeit mérjük (Molnár et al, 2009)

A talaj részletes állapotfelméréséhez és monitoringjához fontos információt adhat a talaj légzésének, aktivitásának szintje illetve annak változása az időben.

Dinamikus vizsgálatokban mérhetjük a talaj szennyezettségre, különféle szennyezőanyagok megjelenésére adott, légzéssel jellemezhető válaszát, a válasz nagyságát és megjelenésének gyorsaságát. Ezzel követhetjük a természetes szennyezőanyagbomlást és a biodegradáción alapuló remediációs technológiákat.

A technológia tervezéséhez szükséges technológiai paraméterek kimérhetőek a légzési mikrokozmoszban. A környezeti paraméterek, tápanyagok és egyéb adalékok hatásán kívül kimérhető a levegőztetés hatása is (vö. zárt palack teszt).

### *Nitrifikáció és denitrifikáció tesztelése*

A talajlégzéshez hasonlóan fontos aktivitás a talajban a nitrifikáció, és még egy sor nitrogénanyag-csere-folyamat (denitrifikáció, légköri nitrogénkötés, ammonifikáció) (Leitgib, 2007)

Állapotfelmérés során a nitrifikáció mértéke arányos a talaj mérgezettségével, jól mutatja az adaptáció meglétét is.

A denitrifikáció az anaerob talajzónák jellemzését szolgálja. A telített talajban folyó biodegradációt mutatja az intenzív denitrifikáció, melynek eredményeképpen lecsökken a nitrát-szint.

Természetes szennyezőanyag-csökkenés monitorozásában és a bioremediáció követésében fontos információt szolgáltat.

### *Konkrét fajok azonosítása*

Szennyezett terület állapotfelmérésben és monitoringjában sokrétű szerepet játszik az egyes mikroorganizmus fajok azonosítása.

Ezek lehetnek indikátorfajok, a konkrét kockázatért vagy biokémiai folyamatért felelős fajok.

Indikátorként a szennyezőanyagot tűrő vagy bontó mikroorganizmust használhatunk.

Konkrét kockázatokért felelősek a patogén *mikroorganizmusok* (*Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, stb.).

Hasznosak vagy hasznosíthatóak a természetes szennyezőanyagcsökkenésben vagy a bioremediációban működő "cell factory" egyes tagjai, pl. a szénhidrogénbontó, cellulózbontó, kometabolikus, stb. baktériumok vagy gombák.

Az egyes mikroorganizmusok izolálása és azonosítása történhet genetikai (DNS-technikákkal), biokémiai (specifikus biokémiai reakciók) vagy fiziológiai alapon (szelektív vagy elektív táptalajok, szaporítási körülmények, stb.) segítségével.

### *Kioldási mikrokozmosz*

A mikrokozmoszok közül a kioldási mikrokozmoszt emeljük ki, hiszen azt a talaj által veszélyeztetett talajvíz kockázatának megítélésében fontos szerepet játszik. A talajból esővízzel mobilizálódó szennyezőanyagok transzportjáról (vagy éppen visszatartásáról) van itt szó. Minden szennyezőanyagnál nagy jelentőséggel bír, de legfőképpen a vízdoldhatóknál és azoknál, ahol a kioldás jelentős mikrobiológiai folyamatokkal társul, pl. szulfid-tartalmú kőzeteket tartalmazó talajból való kioldás, ahol a szulfidból kénsavat képző kemolitotróf baktériumok működése eredményeképpen folyamatos savanyodás és intenzív kilúgzás jellemzi a talajt (Gruiz and Vaszita, 2009; Feigl, 2010)

## ***Növényzet vizsgálata***

### *Növényzet megléte és a fajok diverzitása*

Szennyezett természetes területek azonosítására és a szennyezettség lehatárolására jól használható, a vizuálisan is felmérhető növényzet megléte és állapota. A növényzet pusztulása, sárgulása a már bekövetkezett károk alapján mutatja a szennyezettséget.

A növényzet fajeloszlása bonyolultabb, statisztikailag is helytálló vizsgálatokon alapul, mind állapotfelmérésre, mind monitoringra használható (EER, 2001)

### *Tűrőképes fajok megjelenése*

A szennyezettség indikálására és a terület kockázatának megítélésére valamint monitoringra alkalmas a tűrőképes növényi fajok megjelenésének vizsgálata. Vizuálisan felmérhető, statisztikailag értékelhető. Fémtűrő, alacsony pH-t tűrő ismert fajok felmérése a szennyezettség kiterjedésének megállapítására, behatárolásra is alkalmas.

### *Növényi bioakkumuláció*

Szennyezett területek állapotfelmérésében és kockázatának megítélésében alapvető fontosságú a növényzet szennyezettsége, a növények bioakkumulációs hajlama, hiszen, a növény, mint a tápláléklánc legalsó tagja a rá épülő trófikus szintekért is felelős.

Természetes és művelt területek növényzete egyaránt vizsgálható és vizsgálandó, mind állapotfelmérés, mind monitoring során (Feigl, 2009)

Fitoremediáció (akár fitoextrakció, akár fitostabilizáció) során a technológiamonitöring része a növények fémtartalmának folyamatos mérése.

Ökotoxikológiai tesztként is alkalmazható (Feigl, 2009)

## ***Ökotoxikológiai tesztek***

Elsősorban laboratóriumi ökotoxikológiai tesztek javasolunk állapotfelmérés, monitoring, technológiamonitöring vagy talajminősítés céljára. Az itt felsorolt tesztek a három fázisú (szilárd) talaj tesztelésére alkalmas, direkt kontaktust biztosító metodikát jelentik.

## ***Bakteriális biotesztek***

### *Vibrio fisheri biolumineszcencia-gátlás*

Az egyik legelterjedtebb bakteriális ökotoxikológiai teszt. Egy viszonylag nagy érzékenységgű tesztorganizmus, a szennyezőanyagokat tekintve is széles-spektrumú.

Szennyezett területek állapotfelmérésében, szennyezettség és kockázattérképezésben, környezetmonitoringban elterjedt.

Jól bevált technológiamonitöringra és remediált talajok minősítésére is.

USA által elsősorban vizekre és oldatokra szabványosított eljárás a Microtox, de ettől eltérő eljárások is ismertek (DIN szabvány). Szerzők az USA szabványhoz árult mérőrendszerrel olcsóbb és gyorsabb eljárást dolgoztak ki talajra (Gruiz és mtsai, 2001)

### *Bacillus subtilis talajkorongos módszer*

Jelen szerzők által kidolgozott toxicitás-szűrő módszer. A speciális célra szelektált talajbaktérium közepesen érzékeny nehézfémekre, elsősorban cinkre, rézre és kadmiumra, ezért ezekkel a fémekkel szennyezett területek szennyezettség térképezésére alkalmas, gyors, olcsó eljárás (Gruiz és mtsai, 2001).

### *Azotobacter chroococcum talajblokk módszer*

Közepes érzékenységgű talajbaktérium, toxicitás-szűrésre alkalmas.

### *Azotobacter agile növekedési teszt*

Nagyérzékenységű talajbaktérium, széles spektrumú érzékenységgel. Szennyezettség indikálására és környezetmonitoringra alkalmas (Gruiz et al, 2001)

#### *Pseudomonas fluorescens* növekedési teszt

Változó érzékenységű talajbaktérium. Szennyezettség indikálására és környezetmonitoringra alkalmas, a szennyezőanyagra való érzékenységet előzetesen bizonyítani kell.

#### *Azotobacter agile* dehidrogenázaktivitás

Még a növekedési tesztnél is érzékenyebb módszer, állapotfelmérésre, környezeti monitoringra és technológiamonitoringra egyaránt bevált, mind szerves, mind szervesetlen szennyezőanyagok esetében (Gruiz és mtsai, 2001)

#### *Pseudomonas fluorescens* dehidrogenázaktivitás

Érzékeny módszer, állapotfelmérésre, környezeti monitoringra és technológiamonitoringra egyaránt bevált, mind szerves, mind szervesetlen szennyezőanyagok esetében.

#### *Mutagenitási tesztek*

A toxikus anyagok nagy része mutagén is. Az ökotoxikológiai tesztektől átvezetnek a toxicitási tesztek felé, hiszen eredményük alapján a mutagén kockázatok becslése lehetséges, tehát az eredmény egyaránt vonatkoztatható az ökoszisztémára és az emberre.

Alkalmazhatóak szennyeződéstérképezésre, közvetlen kockázattérképezésre, szennyezett területek állapotfelmérésére és monitoringjára. Technológiamonitoringra kevésbé alkalmazzák, viszont a kezelt talaj minősítésében fontos szerepet kapnak (Hajdú, 2009)

#### *Növényi biotesztek*

A talaj élővilágának – a mikroorganizmusok mellett – másik legfontosabb tagjai a növények. Vizuálisan is megfigyelhetőek, a tápláléklánc alapját képezik és egyes szennyezőanyagokra nagyon érzékenyek. Toxicitás mérésén kívül a bioakkumuláció kimutatására és számszerűsítésére használjuk őket leggyakrabban.

#### *Csírázásgátlás különféle tesztnövényekkel*

Leggyakoribb tesztnövény a fehérmustár (*Sinapis alba*), de más növényi magvak is alkalmasak. A szennyezőanyagok nagy része gátolja a csírázást. A csírázásgátlás arányos a szennyezőanyag koncentrációjával illetve hatásával.

Szennyezett talaj állapotfelmérésére és minősítésére ajánlható. (Gruiz és mtsai, 2001)

#### *Gyökér- és szárnövekedési-gátlási teszt*

Széles körben alkalmazott teszt, állapotfelmérésre, monitoringra, talaj újrahasznosíthatóságával kapcsolatos vizsgálatokra. Technológia-monitoringra is bevált. A fehérmustár mellett egy sor más növény is használható, így retek, zsázsa, sárgarépa, saláta, búza, kukorica, stb. A vizsgálat és a mérés manuálisan történik, ezért nagyon munkaigényes. Tapasztalataink szerint a szárnövekedés jobban korrelál a toxicitással, a gyökernövekedést ugyanis nem egyértelműen a csökkenés irányába befolyásolják a toxikus anyagok, sokszor megnyúlással reagálnak a gyökerek, keresve a nem szennyezett talajrészleteket (Gruiz és mtsai, 2001)

#### *Növényi biomassza termelési teszt*

A növényi biomassza-termelés egyértelmű és jó végpont, de a teszt viszonylag hosszú időt vesz igénybe, így inkább a szennyezett vagy kezelt talaj mezőgazdasági alkalmazása esetén végzett teszt

#### *Bioakkumulációs teszt*

Szennyezett vagy kezelt talaj kockázatának, a szennyezőanyag mobilitásával arányos kockázatának megítéléséhez szükséges teszt. A talaj immobilizációs vagy stabilizációs módszerekkel történő

remediációja során fontos teszt. A fitoremediációban alkalmazandó növények tesztelésében alapvető. Tápláléklánc vizsgálatok alapvető tesztje. Biokoncentrációs faktor megállapítására alkalmas teszt (Feigl, 2009)

### ***Állati biotesztek***

Az állati tesztorganizmusok a talajjal direkt módon érintkeznek, ezért kitétségük igen nagy. Válaszaik környezeti realitása igen nagy, fontos trófikus szintet képviselnek (Riepert és Kula, 1996, Gruiz és mtsai, 1998a)

### ***Egysejtűek (Colpoda, Tetrahymena) letalitása és növekedésgátlása***

A talajlakó egysejtűek érzékenyen reagálnak a szennyezőanyagokra, de növekedésük, letalitásuk vagy bármely más biokémiai vagy fiziológiai válaszuk nehezen mérhető teljes talajban, ezért leggyakrabban a talajvíz, talajoldat, a pórusvíz vagy csurgalékok vizsgálatára szokták használni (Leitgib, 2007)

### ***Nematoda teszt***

Fentiekhez hasonló okokból a talajoldat vagy csurgalékvizek tesztelésére alkalmazzák.

### ***Collembola teszt***

Teljes talaj vizsgálatára is alkalmas, akut és krónikus teszt egyaránt kidolgozott, főleg szerves szennyezőanyagokra, azok közül is az illékonyakra érzékeny. Állapotfelmérésre, monitoringra, talajminősítésre egyaránt használható. Egyes szennyezőanyagok esetében technológia-monitoringra is (Molnár, 2007; leitgib, 2007).

### ***Földigiliszta teszt***

Teljes talaj vizsgálatára is alkalmas, akut és krónikus teszt egyaránt kidolgozott. Közepesen érzékeny, jól adaptálódó tesztorganizmus. Bioakkumulációs tesztre is alkalmas.

### **Irodalmi hivatkozások**

- Bekő, J., Csiszér, A., Horváth, B., Munkácsy, M., Pap, Á., Zsilák, V. (1992) Gyöngyösoroszi és környéke nehézfém-szennyezettségének vizsgálata. Diplomamunka, BME, MGKT
- Calow, P. (1993) Handbook of Ecotoxicology, Blackwell Science Ltd.
- DIN 38412 (1991) Photobacterium phosphoreum test, German Standard
- Dobler, R.; Burri, P.; Gruiz, K.; Brandl, H and Bachofen, R. (2001) Variability in Microbial Populations in Soil Highly Polluted with Heavy Metals on the Basis of Substrate Utilisation Pattern Analysis – Journal of Soils and Sediments, 1(3) 151–158
- EER: EuroEcoRisk (2001) The use of the results of plant diversity for risk assessment, Report, BME, MGKT
- EU-TGD (1996) Technical Guidance Document in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment of new and Notified Substances and Commission Regulation (EC). No 1488/94 on Risk Assessment for existing Substances. EU, Brussels
- Feigl, V.; Gruiz, K.; Bagi, A.; Hajdu, Cs. and Tolner, M.: Microcalorimetry: A sensitive end point in soil toxicity testing – In: Program and abstract book of the 14th International Symposium on Toxicity testing, ISTA14, 2009, 30 August–04 September, Metz, France, p.116, 2009
- Feigl, V.; Uzinger, N. and Gruiz, K. (2009) Chemical stabilisation of toxic metals in soil microcosms, Land Contamination and reclamation, Vol 17 (3–4), 483–494
- Ferwagner, A.. (2002) Toxikus fémek okozta környezeti kockázat felmérése és jellemzése. Diplomamunka, BME, MGKT.
- Gruiz K; Horváth, B. and Molnár M.(2001): Környezettoxikológia, Műegyetemi Kiadó, Budapest
- Gruiz, K. (1994) Bioassay to assess contaminated soil, In: Proceedings of the Second International Symposium and Exhibition on Environmental Contamination in Central and Eastern Europe. Budapest, p. 231–233.

- Gruiz, K. (2000) When the chemical time bomb explodes? – Chronic risk of toxic metals at a former mining site – In: ConSoil 2000, Thomas Telford, Leipzig, pp. 662–670
- Gruiz K. (2002) In: Környezetvédelmi és Természetvédelmi Lexikon, Akadémiai Kiadó, Budapest,
- Gruiz, K. (2005). Biological tools for the soil ecotoxicity evaluation: Soil Testing Triad and the interactive ecotoxicity tests for contaminated soil. In: Fava, F. & Canepa, P. Eds, Innovative approaches to the bioremediation of contaminated sites, Soil Remediation Series NO 6, (pp. 45–70). Venice, Italy, INCA
- Gruiz, K. (2009) Integrated and Efficient Assessment Of Polluted Sites, Land Contamination and reclamation, Vol 17 (3–4), 371–384
- Gruiz, K. and Vodicska, M. (1992) Assessing Heavy Metal Contamination in Soil Using a Bacterial Biotest – In: Soil Decontamination Using Biological Processes; In: Proc. of an International Symposium, Karlsruhe, 6–9. December 1992, pp. 848–855. Dechema, Frankfurt am Main
- Gruiz, K., Molnár, M., and Bagó, T. (1999) Interactive bioassay for environmental risk assessment – In: Proc. of SECOTOX'99, Munich, March 15–17.
- Gruiz, K., Molnár, M., and Bagó, T. (1999) Interactive bioassay for environmental risk assessment – In: Proc. of SECOTOX'99, Munich, March 15–17
- Gruiz, K.; Molnár, M.; Szakács, T. and Bagó, T. (1998a) New biological and Ecotoxicological Methods to Support Risk Assessment and Soil Remediation – In.: Contaminated Soil 98, pp. 1051–52, Thomas Telford, London
- Gruiz, K.; Murányi, A.; Molnár, M. and Horváth, B. (1998) Risk Assessment of Heavy Metal Contamination in the Danube Sediments from Hungary – Water Science and Technology 37 (6–7) p. 273–281
- Gruiz, K and Vaszita, E.: Microcosm models and experiments: types and application, In: Land Contamination & Reclamation 17 (3–4), pp. 463–464
- Hajdú, Cs., Gruiz, K and Fenyvesi, É. (2009) Bioavailability and bioaccessibility dependent mutagenicity of PCP, Land Contamination and reclamation, Vol 17 (3–4), 473–482
- Horváth, B.; Gruiz, K. and Sára, B. (1996) Ecotoxicological Testing of Soil by Four Bacterial Biotests, Toxicological and Environmental Chemistry 58, 223–235
- Horváth, B.; Gruiz, K. and Sára, B. (1996) Ecotoxicological Testing of Soil by Four Bacterial Biotests, Toxicological and Environmental Chemistry 58, 223–235
- Landis, W.G. and Yu, M.H. (1999) Introduction to Environmental Toxicology: impact of chemicals upon ecological systems, CRC Press LLC, New York, Boca Raton, Florida
- Leitgib, L; Gruiz, K.; Fenyvesi, É.; Murányi, A; Szejtli, J.(2005) Integrated Methodology for Technology Monitoring, Conference on Natural Attenuation – In: Proceedings of the 2nd European Conference on Natural Attenuation, Soil and Groundwater. Risk Management, 18–20 May, Frankfurt am Main, Dechema,
- Leitgib, L.; Kálmán, J. and Gruiz, K. (2007) Comparison of bioassays by testing whole soil and their water extract from contaminated sites – In: Chemosphere 66, pp. 428–434,
- Molnár, M; Fenyvesi, É.; Gruiz, K.; Szécsényi-nagy, Z.; Horváth, B. and Szejtli, J. (2000) Application of cyclodextrins for enhancing bioremediation – In: Proc. Of ConSoil 2000, Leipzig, Germany, pp. 1246–1247
- Molnár, M; Fenyvesi, É.; Gruiz, K.; Illés, g.; Nagy, Z.; Hajdu, Cs. And Kánnai, P. (2009) Laboratory testing of biodegradation in soil: a comparison of chemical and biological methods, Land Contamination and reclamation, Vol 17 (3–4), 495–508
- Molnár, M.; Gruiz, K. and Halász, M. (2007) Integrated methodology including toxicity test-battery to evaluate the bioremediation potential of creosote contaminated soils in lab-scale experiments, Periodica Polytechnica, Chem. Engineer, 51 (1), 23–32
- MSZ 21976-17:1993 Települési szilárd hulladékok vizsgálata. Csíranövényteszt
- MSZ 21978-30:1988 Veszélyes hulladékok vizsgálata. Azotobacter agile teszt
- Riepert, F. and Kula, Ch. (1996) Development of Laboratory Methods for Testing effects of Chemicals and Pesticides on Collembola and Earthworms, Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Parey Buchverlag Berlin-Dahlem
- Sarkady, A. (2009) In situ measurements: short overview and description of the Field Portable XRF and its application, Land Contamination and reclamation, Vol 17 (3–4), 431–442