

VYUŽITIE ORGANO-MINERÁLNEHO KOMPLEXU PRI BIOREMEDIÁCIÍ KONTAMINOVANÝCH PÔD

KATARÍNA DERCOVÁ^a, ZUZANA SEJÁKOVÁ^a, MARIANNA SKOKANOVÁ^a, GABRIELA BARANČIKOVÁ^b, JARMILA MAKOVNÍKOVÁ^c a JAN RŮŽIČKA^d

^a Oddelenie biochemickej technológie, Ústav biotechnológie a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, ^b Výskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy, Bratislava, ^c Regionálna stanica Prešov, Reimanova 1, 080 01 Prešov, ^d Výskumný ústav pôdoznanectva a ochrany pôdy, Bratislava, ^e Regionálna stanica Banská Bystrica, Mládežnícka 36, 974 05, Banská Bystrica, SR, ^f Ústav inžinierstva ochrany životného prostredia, Fakulta technologická, Univerzita Tomáša Bati v Zlíne, nám. TGM 275, 762 72 Zlín, ČR
katarina.dercova@stuba.sk

Došlo 2.2.06, prepracované 24.10.06, prijaté 26.10.06.

Kľúčové slová: bioremediácia, *Comamonas testosteroni*, humínové kyseliny, klinoptilolit, organo-minerálny komplex, PCP, pentachlórphenol, zeolit

Úvod

Imobilizačné procesy pozorované v pôde sú predmetom veľkého záujmu, nakoľko môžu viesť k značnému zníženiu biodostupnosti a tým aj toxicity xenobiotík, napr. pesticídov¹. Schopnosť pôdy zadržiavať organické kontaminanty sa pripisuje adsorpčným javom a chemickým reakciám na aktívnych povrchoch pôdnej organickej hmoty a minerálnych častíc. Pôdna organická hmota umožňuje v priebehu humifikácie inkorporáciu mnohých organických xenobiotík, ktoré sú štruktúrne podobné humusovým látkam^{2,3}. Jav imobilizácie má niekoľko dôležitých dôsledkov: a) množstvo zlúčeniny dostupnej pre interakciu s biotou je znížené, v dôsledku klesajúcej biodostupnosti dochádza k poklesu toxicity; b) vytvorené komplexy zlúčenín sú zvyčajne menej toxické než ich pôvodné zlúčeniny; c) väzba znižuje vyplavovanie chemikálií cez pôdny profil a tak zabráňuje kontaminácii spodných vôd. Nakoľko žiadne negatívne dôsledky imobilizácie neboli v laboratórnom výskume ani v praktických aplikáciách pozorované, je možné tento proces použiť na imobilizáciu a detoxifikáciu nebezpečných zlúčenín ako súčasť dekontaminačných techník⁴.

Organická hmota je považovaná za jeden z najdôležitejších parametrov pôdneho prostredia, ktorý ovplyvňuje pohyb, resp. sorpciu anorganických i organických kontaminantov v pôde. Podporuje prirodzenú schopnosť pôd eliminovať kontaminanty, imobilizovať ich a tým zabrániť napr. ich prieniku do potravinového reťazca. Väzba na humus predstavuje jednu z najdôležitejších reakcií, ktorými sú transformované antropogénne chemikálie v prírode. Humínové kyseliny (HK) reprezentujú spolu s fulvo kyselinami a humínom tri základné frakcie humusu. HK však patria medzi najdôležitejšie frakcie humifikovanej pôdnej organickej hmoty, pretože na rozdiel od fulvo kyselín a humínu, ktoré sa podieľajú asi 8 % na celkovom kolobehu uhlíka, podiel HK je až 16 % (cit.^{5,6}). HK sú mimoriadne aktívne pri interakciách s rôznymi organickými a anorganickými kontaminantami, ovplyvňujú ich mobilitu, biodostupnosť, degradáciu a fytotoxickosť^{7,8}. Organická frakcia pôdy a sedimentov je zodpovedná za sorpciu predovšetkým hydrofóbných zlúčenín, medzi ktoré patria chlórované fenoly, najmä pentachlórphenol (PCP), polychlórované bifenyly (PCB) a polycyklické aromatické uhľovodíky (PAU). V porovnaní s ílovými minerálmi pôd a sedimentov sú nepolárne polutanty sorbované prednostne na organickú hmotu. Rozsah tejto retencie priamo koreluje s rozdeľovacím koeficientom oktanol–voda K_{ow} (vyjadruje hydrofóbcitu príslušnej chemikálie) a percentom organického uhlíka C_{org} v pôde alebo v sedimente. Niektoré kontaminanty, napríklad fenoly, sú prekurzormi HK, zabudovávajú sa do ich štruktúry, čím sa stráca ich charakter toxického kontaminantu⁴. K zabudovaniu do štruktúry však pravdepodobne dochádza len v prítomnosti mikrobiálnych enzýmov, inak táto väzba nebola pozorovaná^{9,10}. Je známe, že HK sa viažu na povrch pôdnych častíc a dokonca i na povrch mikroorganizmov a bol u nich preukázaný i pozitívny vplyv na ich biologickú aktivitu¹¹. Majú teda výrazný potenciál využiteľný v priebehu biodegradačných procesov pri dekontaminácii prostredia.

V prirodzenom pôdnom prostredí sú anorganické i organické zložky pôdy vo vzájomnej interakcii. Existuje viacero spôsobov remediácie kontaminovaných pôd využívajúcich chemické, fyzikálno-chemické a biologické postupy. Mnohé z týchto dekontaminačných postupov sú mimoriadne energeticky a ekonomicky náročné a využívajú sa hlavne na silne znečistených lokalitách. Väčšina pôdneho fondu však nevykazuje extrémne hodnoty znečistenia, ale v podstate každá lokalita obsahuje pomerne rôznorodú zmes anorganických i organických polutantov, ktoré za určitých podmienok môžu kontaminovať potravinový reťazec, resp. prenikať do podzemných vôd. Pôda má schopnosť do určitej miery redukovať biodostupné kontaminanty a to ich interakciou s anorganickými (ílové minerály) a organickými (pôdna organická hmota) pôdnymi zložkami, čím sa znižuje ich transport v horizontálnom i vertikálnom smere. V tejto súvislosti preto viacerí autori skúmajú retenčnú schopnosť rôznych anorganicko-organických komplexov. Ílové minerály, ako sú kaolín, zeolit a bentonit, sa využívajú predovšetkým na znižovanie koncentrácie ťažkých kovov^{12–15}. V súčasnosti sa zvy-

šenie účinnosti zeolitov dosahuje jednak prípravou syntetických zeolitov^{16,17}, ale tiež väzbou rôznych organických zlúčenín na zeolit¹⁸. Úspešne boli využité aj sorbenty na báze humínových kyselín izolovaných z rašeliny a hnedého uhlia na zníženie mobility ťažkých kovov v pôde¹⁹.

V tejto práci je organo-minerálny komplex (OMK), pripravený naviazaním lignitových HK na zeolit, študovaný z pohľadu možnej imobilizácie chlórovaných organických kontaminantov. Je potrebné uviesť, že sa jedná o nepedologické použitie výrazu „organo-minerálny komplex“, nakoľko z pedologického hľadiska sa jedná o súbor prirodzených pôdných zložiek, nie umele v laboratóriu pripravený komplex, ako v našom prípade, aj keď pozostáva z prírodných materiálov. Cieľom je sklbenie a využitie excelentných sorpčných vlastností HK ako aj zeolitu^{20,21}, vyvinutie novej metódy na dekontamináciu pôd, založenej na aplikácii OMK do pôdy. Chlórované aromatické zlúčeniny patria medzi nebezpečné kontaminanty v dôsledku vysokej priemyselnej produkcie, značnej perzistencie, bioakumulácie a toxicity. Veľkú skupinu chlórovaných aromatických zlúčenín predstavujú chlórphenoly, ktoré sa v dôsledku svojich vynikajúcich vlastností intenzívne využívali v mnohých odvetviach priemyslu i poľnohospodárstva viac ako 50 rokov. Z tohto dôvodu sa nachádzajú v značných koncentráciách v pôde, vode i sedimentoch. Najväčšie využitie medzi chlórphenolmi mal pentachlórphenol (PCP), ktorý sa ešte v nedávnej minulosti intenzívne používal ako všestranný herbicíd, fungicíd a insekticíd, pri ochrane a konzervácii dreva a tiež pri pestovaní ryže. PCP sa v pôde nachádza aj ako degradačný produkt bežne používaných pesticídov (lindánu, pentachlórbenzenu, kyseliny fenoxiacetátovej a hexachlórbenzenu) a v tejto práci je študovaný ako reprezentant organochlórových aromatických polutantov.

Experimentálna časť

Pôdne typy

Sorpčné a biodegradačné experimenty boli realizované v troch definovaných pôdných typoch odobratých z kľúčových monitorovacích lokalít v rámci siete Monitoringu poľnohospodárskych pôd Slovenska a charakte-

rizovaných podľa FAO: černozem karbonátová, fluvizem glejová a regozem arenická. Detailné charakteristiky týchto pôd sú uvedené v tab. I.

Humínové kyseliny (HK)

HK boli extrahované z Juhomoravského lignitu (lokalita Hodonín)²² modifikovanou metódou IHSS (cit.²³). HK boli charakterizované elementárnou analýzou (CHN), stanovením karboxylovej kyslosti a ¹³C NMR spektrami, z ktorých boli vypočítané percentuálne zastúpenie alifatického (C_{alif}) a aromatického (C_{ar}) uhlíka a stupeň aromaticity (α). Základné parametre HK sú uvedené v tab. II.

Zeolit-klinoptilolit

Zeolit typu klinoptilolit pochádza z Nižného Hrabovca (SR). Detailné charakteristiky zeolitu sú uvedené v tab. III. Zeolit bol charakterizovaný nasledovnými veličinami: iónovo výmennou kapacitou 0,876 mol kg⁻¹ a stabilitou voči kyselinám 79,52 %. Molekulová absorpcia H₂O na zeolit je 20,96 %. Zeolit obsahoval 84 % klinoptilolitu, 8 % nízkotlakového kristobalitu, 3 až 4 % živca a stopy kremeňa.

Organo-minerálny komplex (OMK)

OMK, pripravené na základe už predchádzajúcich prác¹⁴, pozostávali z lignitových humínových kyselín (organická zložka) naviazaných na zeolit typu klinoptilolit (anorganická zložka). HK boli rozpustené v 0,01 M-NaOH o koncentráciách: 5, 25, 50, 100, 200, 500, 1000 a 2000 mg l⁻¹. K 10 g zeolitu bolo pridaných 50 ml roztoku HK. Slepá vzorka predstavovala minerál miešaný s 0,01 M-NaOH. Suspenzia sa miešala 12 h pri laboratórnej teplote. Pevná fáza (OMK) bola centrifugovaná, premytá destilovanou vodou a vysušená pri 50 °C.

Adsorpcia chlórphenolov na pôdu s prídavkom OMK

OMK bol pridaný do pôdy tak, aby predstavoval 5 hm.%. Sorpčný experiment bol realizovaný v 2 g zmesi pôda-OMK. Zmes sa zaliala 50 ml destilovanej vody

Tabuľka I
Základné charakteristiky sledovaných pôd

Lokalita	Klasifikácia pôdy	pH [H ₂ O]	pH [CaCl ₂]	CaCO ₃ [%]	% frakcie < 0,01 mm	P [mg kg ⁻¹]	K [mg kg ⁻¹]	N _t [mg kg ⁻¹]
Voderady	ČMa ^c	8,12	7,77	1	40	168	230	1531
Nacina Ves	FM _G	5,86	5,46	0	41	26	247	1968
Moravský Ján	RMa	5,55	4,75	0	6	74	223	1643

ČMa^c – černozem arenická karbonátová, FM_G – fluvizem glejová, RMa – regozem arenická

Tabuľka II

Základné charakteristiky pôdnej organickej hmoty (C_{org} , HK/FK, Q_6^4) a humínových kyselín (C, H, N, O, COOH, C_{alif} , C_{ar} , α) sledovaných pôd a lignitu

Pôda/HK	C_{org} [%]	HK/FK	Q_6^4 [%]	Elementárne zloženie [atóm. %]				COOH [meq g ⁻¹ HK]	C_{alif} [%]	C_{ar} [%]	α [%]
				C	H	N	O				
ČMa ^c	1,16	1,3	3,8	47,8	29,5	3,4	19,5	4,2	33,7	42,2	55,6
FM _G	1,43	0,8	4,8	39,9	40,7	3,3	16,1	2,5	46,9	32,8	41,1
RMa	0,75	0,7	4,8	42,6	37,3	3,5	16,7	3,6	41,8	38,6	48,0
Lignit	27,5	–	–	51,1	28,8	1,1	19,1	4,5	34,7	44,0	55,9

Tabuľka III

Základné charakteristiky zeolitu (klinoptilolit)

Rozsah	Zrnitostné zloženie [mm]		Merný povrch [m ² g ⁻¹]	Špecifická hustota [kg m ⁻³]	Vlhkosť [%]
	D ₅₀	d ₈₀			
0,0–0,3	0,062	0,20	135	2333	5,6

a pridal sa PCP v DMSO tak, aby výsledná koncentrácia PCP bola 10 mg l⁻¹. Vzorky sa umiestnili na rotačnú trepačku (180 ot min⁻¹) pri teplote 28 °C na 1 hodinu. Pevná fáza sa scentrifugovala (15 min, 5000 ot min⁻¹), supernatant odliat, extrahoval a analyzoval pomocou HPLC.

Desorpcia chlórphenolov z OMK a pôdy

Po skončení adsorpčného experimentu a centrifugácii sa sediment kvantitatívne preniesol do 100 ml Erlenmeyerovej banky so zábrusom. Na fritu sa navázilo 0,5 g Siliporu za účelom stanovenia množstva odpareného chlórphenolu. Sediment sa okyslil 50 ml zmesi kyseliny dusičnej a sírovej (1:1; pH 2,5) a umiestnil na rotačnú trepačku (180 ot min⁻¹) pri 28 °C na 24 hodín. Po tomto čase sa vzorky scentrifugovali (15 min, 5000 ot min⁻¹), supernatant sa odliat, extrahoval a analyzoval pomocou HPLC.

Mikroorganizmus a biodegradácia

Bakteriálny kmeň *Comamonas testosteroni* CCM 7350 je izolát z čistiarenských kalov s deklarovanou schopnosťou využívať fenol ako zdroj uhlíka. Bol identifikovaný a uložený v Zbierke mikroorganizmov CCM Brno. Biodegradácia PCP v pôde v prítomnosti bakteriálneho kmeňa *C. testosteroni* CCM 7350 prebiehala v laboratórnych podmienkach v reálnej pôdnej vzorke fluvizem, černoze a regozem (bez a s prídavkom OMK) s počiatočnou koncentráciou PCP 10, 50 a 100 mg kg⁻¹. Pre každú počiatočnú koncentráciu PCP sa použili 3 série pôdnych vzoriek. Experiment trval v prvej sérii 7 dní, v druhej sérii 17 a v tretej 24 dní. Pôdne vzorky boli najprv vysterilizované (2 h, 120 kPa) za účelom inaktívácie prirodzenej pôdnej mikroflóry. Všetky tri série vzoriek boli umele kontaminované PCP a inokulované bakteriálnym kmeňom *C. testosteroni* CCM 7350 (0,5 g sušiny na

1 kg pôdy). Vzorky boli pravidelne vlhčené vodou tak, aby sa udržiavala hodnota 60 % maximálnej kapilárnej kapacity a boli priebežne premiešavané za dodržania sterilných podmienok. Statická kultivácia prebiehala v tme pri teplote 28 °C.

Extrakcia chlórphenolov z pôdy

Extrakcia PCP z pôdy bola uskutočnená alkalickou hydrolyzou s NaOH a po následnom okyslení bola uskutočnená destilácia chlórphenolov vodnou parou. Po úprave pH sa uskutočnila extrakcia *n*-hexánom.

Extrakcia, čistenie extraktu

Po skončení destilácie sa obsah predlohy zliat do jednolitrového oddeľovacieho lievika a pH sa upravilo na 1–3. Z kyslého prostredia sa po 5-minútovom pretrepávaní PCP dvakrát extrahoval 15 ml *n*-hexánu. Účinnosť extrakcie PCP bola 80 %. Vrchné organické vrstvy sa zbierali do 100 ml oddeľovacieho lievika, kde sa fázy nechali dokonale oddeliť. Hexánová fáza sa prepúšťala cez vrstvu bezvodého Na₂SO₄ do 100 ml varnej banky s okrúhlym dnom a zábrusom. Nakoniec sa rozpúšťadlo odparilo na vákuovej rotačnej odparke RVO-64 do sucha pri 40–45 °C. Získaný odparok sa rozpustil v 5 ml metanolu a následne bol stanovený HPLC analýzou.

Stanovenie chlórovaných fenolov kvapalinovou chromatografiou

Na stanovenie chlórovaných fenolov bol použitý kvapalinový chromatograf LC-10AT VP firmy Shimadzu. Podmienky HPLC: náplňová kolóna WATREX 250 × 4 mm Nucleosil 120-5 C18, mobilná fáza metanol:voda:kyselina octová (90:10:1), prietok 0,9 ml min⁻¹, spektrofotometric-

ký detektor, citlivosť 1 V/2,5 A. Množstvo chlórovaných fenolov a fenolu vo vzorkách bolo vypočítané pomocou kalibračnej závislosti zostrojenej za rovnakých podmienok. Stanovovalo sa aj množstvo chlórovaných fenolov odparených z média, ktoré sa zachytávali počas experimentu na sorbente Silipor C 18. Sorbent umiestnený na frite v sklenenej kolóne sa premyl 4 ml metanolu a analyzoval pomocou HPLC.

Výsledky a diskusia

Predtým, než sa väzba xenobiotík na OMK využije ako dekontaminačná procedúra, musí byť preskúmaná stabilita viazaného komplexu. Biologické a fyzikálno-chemické faktory, predovšetkým aktivita mikroorganizmov a kyslé dažde, sú považované za primárne faktory, zodpovedné za uvoľnenie viazaných nezabudovaných reziduí polutantov. Z tohto dôvodu je dôležité uskutočniť sorpčné experimenty, stanoviť adsorpciu, desorpciu a retenciu PCP na pôdu a pôdu s daným sorbentom, teda testovaným OMK.

Vplyv kyslých dažďov bol simulovaný znížením pH prídavkom zmesi kyseliny dusičnej a sírovej následne po procese adsorpcie PCP v príslušnej pôdnej vzorke. Inokulum baktérií *C. testosteroni* bolo vnesené do sterilnej pôdy, aby sa eliminovala kompetícia allochtónnych (pridaných) a autochtónnych (prirodzených pôdnych) mikroorganizmov. Všetky experimenty boli merané v troch paralelkách.

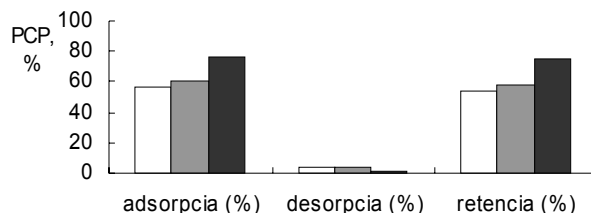
Adsorpcia, desorpcia a retencia PCP v pôdach s OMK

Sorpčné charakteristiky PCP, teda adsorpcia, desorpcia a retencia boli študované v reálnych definovaných vzorkách pôd s prirodzenou mikroflórou (regozem, černoziem a fluvizem) líšiacich sa základnými charakteristikami, ktoré zohrávajú kľúčovú rolu, konkrétne aj pri sorpcii kontaminantov. Veľmi dôležitá je koncentrácia organického uhlíka a prítomnosť aromatických štruktúr (tab. I a tab. II). Adsorpcia PCP bola stanovená po 1 h, desorpcia po 24 h a retencia, teda množstvo zadržaného PCP, bolo vypočítané po odpočítaní desorbovaného množstva od adsorbovaného. V prípade adsorpcie bola v čase dlhšom ako 1 h už dosiahnutá rovnováha medzi voľným a sorbovaným PCP, takže s predlžujúcim sa časom už nedochádzalo k zvyšovaniu adsorbovaného množstva PCP. Okamžitá adsorpcia predstavovala cca 75 % hodnoty adsorpcie po 1 h. Desorpcia bola realizovaná v podmienkach zníženého pH, čo simulovalo kyslé dažde, po pôsobení ktorých sa predpokladá uvoľnenie PCP zo štruktúry OMK pridaného do reálnych pôdnych vzoriek.

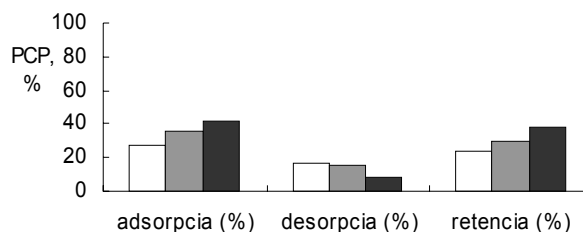
Na prípravu OMK sme použili HK izolované z lignitu. V jednej z našich predchádzajúcich prác²⁴ bolo zistené, že lignitové HK obsahujú niekoľko násobne viac organického uhlíka a aj percentuálne zastúpenie aromatických štruktúr je vyššie ako v prípade HK izolovaných

z pôdnych typov využívaných poľnohospodárskych pôd (tab. II). Práve od týchto parametrov výrazne závisí sorpcia organických kontaminantov. V predchádzajúcich experimentoch sme zistili, že so stúpajúcou koncentráciou HK viazaných na zeolite adsorpcia aj retencia PCP stúpala²⁵. Nakoľko sa v súvislosti s prípravou OMK zistilo, že vyššie koncentrácie ako 5 g kg^{-1} neboli z hľadiska novej technologickej prípravy ekonomické (množstvo naviazaných HK oproti ostávajúcim v roztoku), pracovali sme ďalej s touto koncentráciou, teda $5 \text{ mg HK na } 1 \text{ g zeolitu}$ ¹⁴. Charakteristika použitého zeolitu (klinoptilolitu), ktorý predstavoval anorganickú zložku organominerálneho komplexu, je uvedená v tab. III. Jeho úlohu pri väzbe ťažkých kovov, ktoré sú často súčasťou kontaminácie aj organickými zlúčeninami, sme študovali v prítomnosti Cd a Pb (cit.²⁶).

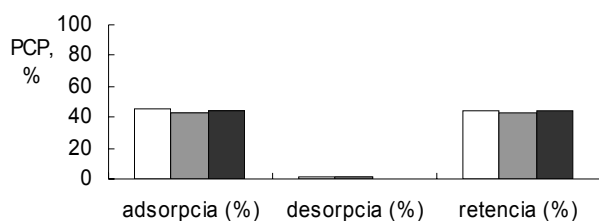
Adsorpcia PCP v nesterilnej pôde s prídavkom OMK bola vyššia ako v samotnej pôde alebo v pôde s prídavkom zeolitu pre pôdny typ regozem a černoziem (obr. 1 a 2). Desorpcia PCP klesala v opačnom poradí. OMK má teda lepší adsorpčno-desorpčný pomer než pôda samotná, resp. pôda so zeolitom. Rozdiel medzi sorpciou kontaminantu na samotnú pôdu, príp. na pôdu so zeolitom a sorpciou na OMK s naviazanými humínovými kyselinami je možné pripísať sorpčným vlastnostiam HK. Tento fakt podčiarkuje úlohu HK v tomto väzobnom procese. Prídavok HK k pôde zvýši počet voľných väzbových miest pre kontami-



Obr. 1. Adsorpcia, desorpcia a retencia PCP (10 mg l^{-1}) v regozemi; □ pôda, ■ pôda + zeolit, ■ pôda + OMK



Obr. 2. Adsorpcia, desorpcia a retencia PCP (10 mg l^{-1}) vo černoze; □ pôda, ■ pôda + zeolit, ■ pôda + OMK



Obr. 3. Adsorpcia, desorpcia a retencia PCP (10 mg l^{-1}) vo fluvizemi; □ pôda, ■ pôda + zeolit, ■ pôda + OMK

nant v dôsledku štruktúry HK, ktoré obsahujú rôzne funkčné skupiny. U fluvizeme, ktorá má najvyšší podiel organického uhlíka z testovaných pôd (tab. II), bola adsorpcia i retencia PCP na rovnakej hodnote v pôde, v pôde so zeolitom i v pôde s prídavkom OMK (obr. 3). Zrejme prídavok sorbentu (v našom prípade OMK) už sorpciu organických kontaminantov naviazaných na organický uhlík podstatnejšie neovplyvní. Zo študovaných pôd sa ako najúčinnější z pohľadu sorpčných charakteristík javí regozem, v ktorej bola dosiahnutá najvyššia adsorpcia a najnižšia desorpcia a tým najvyššia retencia. Uvedený jav je možné vysvetliť nízkou sorpčnou kapacitou regozeme v dôsledku nízkeho obsahu C_{ox} ako aj nízkou kvalitou POH v tomto pôdnom type. Dodanie OMK môže teda výrazným spôsobom ovplyvniť sorpčné charakteristiky daného pôdneho typu.

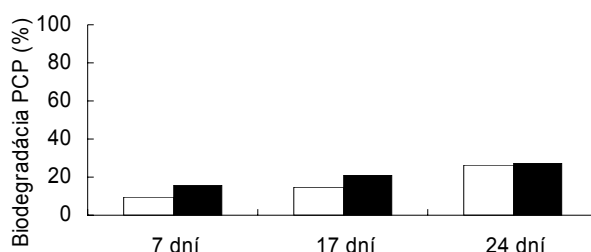
Biodegradácia PCP v pôdach s prídavkom OMK

Po stanovení adsorpcie a retencie bolo našim cieľom študovať funkciu OMK ako možného sorbentu za účelom imobilizácie PCP priamo v pôde počas biodegradácie PCP. Zámerom bolo sledovať sorpciu, teda zníženie biodostupnosti PCP a tým aj možné zníženie jeho toxicity voči prežívaniu a degradačnej aktivite prítomných mikroorganizmov a následne postupné uvoľňovanie reverzibilne viazaného PCP činnosťou mikroorganizmov a znížením pH (simulácia kyslých dažďov) a jeho biodegradáciu.

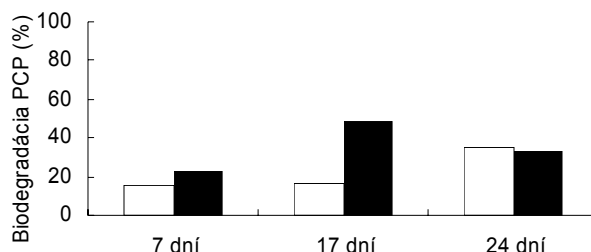
Biodegradácia PCP bola sledovaná pri jeho dvoch počiatočných koncentráciách (10 mg kg^{-1} a 50 mg kg^{-1}) v sterilnej pôde bez prídavku OMK a v pôde s prídavkom OMK. Pôda bola inokulovaná bakteriálnym izolátom *C. testosteroni* CCM 7350 s deklarovanou schopnosťou využívať fenol ako zdroj uhlíka²⁷ za aeróbných podmienok. Vzorky boli analyzované po 7, 17 a 24 dňoch. Jedna z testovaných koncentrácií (10 mg l^{-1}) bola zvolená pod hodnotou ID_{50} pre PCP (15 mg l^{-1}) a druhá nad touto hodnotou (100 mg l^{-1}), teda toxickejšia²⁸. Abiotická degradácia v sterilnej pôde bez prítomnosti mikroorganizmov predstavovala po 24 dňoch maximálne 4 % pridaného PCP, pričom z tohto množstva asi polovica (2 %) boli zachytené na sorbente Silipor v aparátúre a stanovené ako

odpar.

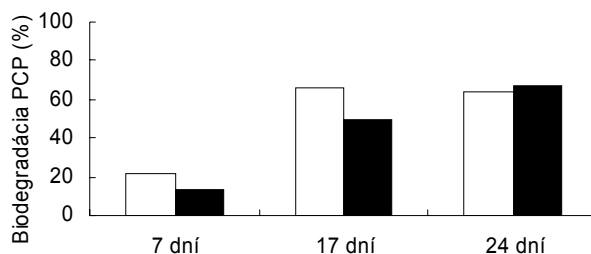
Na obr. 4 a 7 je uvedená biodegradácia PCP v regozemi a na obr. 5 a 8 biodegradácia v černoze. V sérii experimentov s fluvizemou, uvedených na obr. 6 a 9, bola biodegradácia PCP po 7 dňoch výrazne nižšia vo vzorkách s prídavkom OMK ($10 \text{ resp. } 50 \text{ mg kg}^{-1}$ – $14 \text{ resp. } 1 \%$) ako v samotnej pôde ($22 \text{ resp. } 10 \%$). Došlo teda k sorpcii určitého množstva PCP na OMK. Po 17 dňoch degradácia PCP výrazne stúpila v oboch vzorkách, čo naznačuje jeho postupné uvoľnenie PCP z väzby. Degradácia bola však stále nižšia vo vzorkách s prídavkom OMK ($10 \text{ resp. } 50 \text{ mg kg}^{-1}$ – $49 \text{ resp. } 9 \%$) než v samotnej pôde ($10 \text{ resp. } 50 \text{ mg kg}^{-1}$ – $66 \text{ resp. } 32 \%$). Až po 24 dňoch dosiahlo percento degradácie PCP v pôde s prídavkom OMK ($67 \text{ resp. } 36 \%$) hodnotu degradácie PCP v samotnej pôde bez OMK (64%



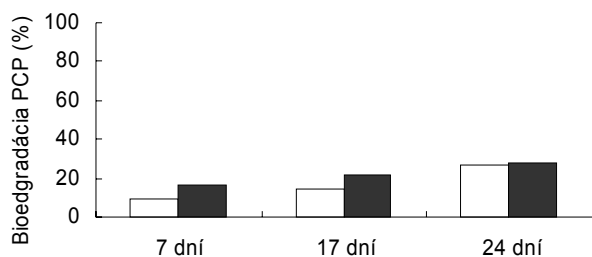
Obr. 4. Biodegradácia PCP (10 mg kg^{-1}) v regozemi bez prídavku a s prídavkom OMK; □ pôda, ■ pôda + OMK



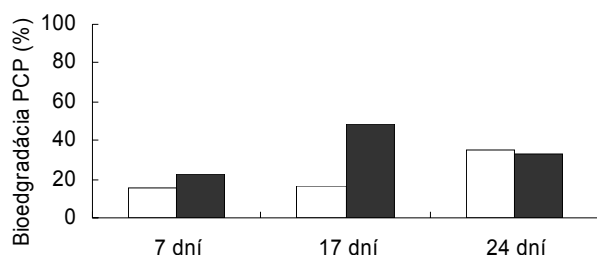
Obr. 5. Biodegradácia PCP (10 mg kg^{-1}) v černoze bez prídavku a s prídavkom OMK; □ pôda, ■ pôda + OMK



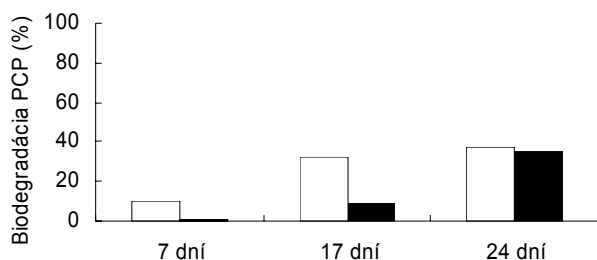
Obr. 6. Biodegradácia PCP (10 mg kg^{-1}) vo fluvizemi bez prídavku a s prídavkom OMK; □ pôda, ■ pôda + OMK



Obr. 7. Biodegradácia PCP (50 mg kg⁻¹) v regozemi bez prídavku a s prídavkom OMK; □ pôda, ■ pôda + OMK



Obr. 8. Biodegradácia PCP (50 mg kg⁻¹) v černozemi bez prídavku a s prídavkom OMK; □ pôda, ■ pôda + OMK



Obr. 9. Biodegradácia PCP (50 mg kg⁻¹) vo fluvizemi bez prídavku a s prídavkom OMK; □ pôda, ■ pôda + OMK

resp. 37 %). To v podstate znamená, že väzba je reverzibilná a v prítomnosti mikroorganizmov a v podmienkach kyslého pH dochádza k postupnému uvoľneniu PCP pre degradáciu. Pravdepodobne dochádza k čiastočnej transformácii PCP, nie k jeho mineralizácii. Dokazujú to medzi produkty, väčšinou nižšie chlórované fenoly, ktoré boli v tomto štádiu experimentov detegované pomocou HPLC na základe retenčných časov a porovnané s ich štandardami. Celkovo je možné konštatovať, že tendencia procesu sorpcie, uvoľňovania a postupnej degradácie PCP je pre všetky tri študované pôdne typy zhodná. Najvýraznejšie sa efekt sorpcie a následného uvoľňovania prejavuje pri nižšej testovanej koncentrácii PCP (10 mg kg⁻¹). Pri vyššej,

toxickejšej koncentrácii PCP (50 mg kg⁻¹) je pozorovaný počas biodegradácie PCP v regozemi a černozemi aj akýsi čiastočný ochranný príp. stimulujúci efekt zrejme predovšetkým humínových kyselín naviazaných v OMK. Usúdili sme to na základe predbežných pozorovaní buniek v prítomnosti HK pomocou elektrónového mikroskopu. HK vytvárali na povrchu bunky akýsi „ochranný obal“. Vyžaduje si to však v blízkej dobe detailnejšie štúdium ďalších účinkov HK na mikroorganizmy, akými sú možná väzba na bakteriálny povrch, zabránenie priameho toxického efektu pentachlórfenolu na bunky mikroorganizmov a tiež potenciálna stimulácia biodegradácie.

Záver

Na základe našich výsledkov je možné usúdiť, že nami testovaný organo-minerálny komplex, pozostávajúci z lignitových humínových kyselín viazaných na zeolit-klinoptilolit, sa javí ako efektívny zachytávač PCP s potenciálnym využitím pre aplikáciu v remedičných technológiách za účelom podpory prirodzenej schopnosti pôd znižovať množstvo biodostupných kontaminantov. Sorpčné vlastnosti PCP sú podmienené typom pôdy, obsahom pôdnej organickej hmoty, najmä obsahom organického uhlíka a jeho percentuálnym zastúpením v aromatických štruktúrach. Obe zložky použitého OMK, zeolit a humínové kyseliny, sú prírodného pôvodu a nemajú negatívny vplyv na prirodzené pôdne prostredie. Naše predbežné výsledky sú v zhode so zisteniami ďalších autorov, ktorí uvádzajú, že mikrobiálnymi enzýmami katalyzovaná inkorporácia xenobiotík do humusu poskytuje účinnú metódu pre detoxifikáciu nebezpečných polutantov⁴. Rýchla a účinná adsorpcia a nízka desorpcia môžu slúžiť ako alternatívna dekontaminačná technológia pre zníženie obsahu PCP v pôdach. Imobilizáciu tohto kontaminantu na OMK je potenciálne možné použiť v pôde a) s nedostatočným zastúpením prirodzených pôdnych mikroorganizmov, ale aj pri b) dostatočnom zastúpení mikroorganizmov, avšak pri vysokej koncentrácii kontaminantu ako „predúpravu“ následnej biodegradácie. Znížením koncentrácie kontaminantu, znížením jeho biodostupnosti a tým aj možným znížením toxicity voči prítomným mikroorganizmom a následne jeho postupným uvoľňovaním (činnosťou mikroorganizmov a tiež vplyvom kyslých dažďov) sa vytvoria vhodnejšie podmienky pre degradačnú aktivitu prítomných či už pôvodných bakteriálnych kmeňov alebo inokulovaných baktérií.

Práca bola realizovaná v rámci finančnej podpory grantu VEGA MŠ SR (č. 1/1309/04). Autori ďakujú za spoluprácu pri príprave a poskytnutí organo-minerálnych komplexov doc. Ing. M. Pekařovi, PhD. a doc. Ing. M. Klučákovej, PhD. z Ústavu fyzikálnej chémie VUT Brno.

Použité skratky a symboly

C_{org}	koncentrácia organického uhlíka
C_{ox}	koncentrácia oxidovateľného uhlíka
C_{alif}	koncentrácia alifatického uhlíka
C_{ar}	koncentrácia aromatického uhlíka
FAO	Food and Agriculture Organisation
HK	humínové kyseliny
K_{ow}	rozdeľovací koeficient
N_t	celkový dusík
OMK	organo-minerálny komplex
PAU	polycyklické aromatické uhl'ovodíky
PCP	pentachlórfenol
POH	pôdna organická hmota
Q_6^d	spektrálny parameter, reprezentujúci pomer optickej denzity meranej v roztoku humínových kyselín pri 465 a 650 nm. Z fyzikálno-chemického hľadiska reflektuje relatívny obsah dvojitých a aromatických väzieb. Nízka hodnota Q_6^d indikuje vysokú stabilitu a humifikáciu pôdneho humusu.
α	stupeň aromaticity (C_{alif}/C_{ar})

LITERATÚRA

- Hatzinger P., Alexander M.: Environ. Sci. Technol. 29, 537 (1995).
- Calderbank A.: Rev. Environ. Contam. Toxicol. 108, 71 (1989).
- Bollag J. M., Dec J., Huang P. M.: Adv. Agronomy 63, 237 (1997).
- Bollag J. M.: Immobilisation of pesticides in soil through enzymatic reactions. In: *Biotechnology for the Environment: Soil Remediation*, Vol. 3A, (Aghatos N., Reineke W., ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht 93, 2002.
- Lawson G. J., Stewart D.: Coal humic acids. In: *Humic Substances II, In Search of Structure*, (Hayes M. H. B., McCarthy P., Malcolm R. L., Swift R. S., ed.), str. 642. John Wiley & Sons, Chichester 1989.
- Tan K. H.: *Humic Matter in Soil and Environment. Principles and Controversies*, str. 386. Marcel Dekker, New York 2003.
- Clapp C. E., Hayes M. H. B., Senesi N., Bloom P. R., Jardine P. M. (ed.): Humic Substance and Chemical Contaminants. Soil Sci. Soc. Am., Madison 2001.
- Veselá L., Kubal M., Kozler J., Innemanová P.: Chem. Listy 99, 711 (2005).
- Sarkar J., Malcolm R., Bollag J. M.: Soil Sci. Soc. Am. J. 52, 688 (1988).
- Bollag J. M.: Environ. Sci. Technol. 26, 1876 (1992).
- Feifíčovú D., Šnajdr J., Siglová M., Čejková A., Masák J., Jirků V.: Chimia 59, 749 (2005).
- Taylor M. D., Theng B. K. G.: Soil Sci. Plant Anal. 26, 765 (1995).
- Arias M., Barral M. T., Mejuto J. C.: Chemosphere 48, 1081 (2002).
- Barančíková G., Madaras M., Makovníková J., Klučáková M., Pekař M., Dercová K.: *Tretie pôdoznalecké dni v SR*. Zborník referátov z konferencie pôdoznalcov SR. Societas Pedologica Slovaca, VÚPOP Bratislava, A4, CD ROM, (Sobocká J., Jambor P., ed.). Mojmírovce, SR, 22. – 24. jún 2004.
- Reháková M., Čuvanová S., Gaval'ová Z., Rimár J.: Chem. Listy 97, 260 (2003).
- Öste A. L., Lexmond T. M., Riemsdijk van H.: J. Environ. Qual. 31, 813 (2002).
- Vácha R., Podlešáková E., Němeček J., Poláček O.: Plant Soil Environ. 48, 335 (2003).
- Huttenloch O., Roehl K. E., Czurda K.: Environ. Sci. Technol. 35, 4260 (2001).
- Kwiatkowska J., Maciejewska A.: Heavy metals availability for plants under influence of organic matter from brown coal. In: *Humic Substances: Nature's most Versatile Materials*, Proceedings, Boston, str. 295, 2002.
- Bügel M., Szabová T., Leščinská M.: Acta Montan. Slovaca 4, 61 (1999).
- Dercová K., Sejáková Z., Barančíková G., Čechová Z.: *Odborný seminár Prírodné a syntetické zeolity na Slovensku, Bratislava 2005*. Zborník, str. Pr5 1-8, CD ROM. FChPT STU, Bratislava 2005.
- Kučerík J., Pekař M., Klučáková M.: Petrol. Coal 45, 58 (2003).
- Swift R. S.: *Organic Matter Characterization. In: Methods of Soil Analysis*. Part 3. Chemical Methods-SSSA, Book Series, 5, 1011 (1996).
- Barančíková G., Klučáková M., Madaras M., Makovníková J., Pekař M.: Humic Subst. Environ. 3, 3 (2003).
- Dercová K., Vrana B., Baláž Š., Šándorová A.: J. Ind. Microbiol. 16, 325 (1996).
- Dercová K., Barančíková G., Makovníková J., Sejáková Z., Skokanová M.: *Vedecké práce VÚPOP, Bratislava (v tlači)*.
- Dercová K., Barančíková G., Sejáková Z.: *Abstracts Book of 13th Int. Biodeterioration and Biodegradation Symposium, Madrid 2005*. (Garcia A. N., Moreno D. A., ed.), str. 260. Madrid 2005.
- Skokanová M., Dercová K., Sejáková Z.: *Proceedings of Junior Scientist Conference, Vienna 2006*. (Elmenreich W., Kaiser H., ed.), str. 267. Vienna 2006.

K. Dercová^a, Z. Sejáková^a, M. Skokanová^a, G. Barančíková^b, J. Makovníková^c, and J. Růžička^d
(^a*Department of Biochemical Technology, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak Technical University, Bratislava,* ^b*Soil Conservation Research Institute, Prešov,* ^c*Soil Conservation Research Institute, Banská Bystrica, Slovak Republic* ^d*Department of Environment Protection Engineering, Faculty of Technology, Tomáš Baťa University, Zlín, Czech Republic*): **Use of an Organo-Mineral Complex in Remediation of Contaminated Soil**

This contribution provides data on the use of an organo-mineral complex (OMC) to remove chlorinated organic pollutants from soil. The key role in reduction of bioavailability of soil contaminants in soil is played by the organic matter, mainly by humic acids. Adsorption/desorption experiments with pentachlorophenol (PCP) as

a model chloroaromatic compound, were carried out with OMC on the basis of clay mineral (zeolite) and organic matter, both natural products with excellent sorption properties. Their sorption characteristics were studied with three types of unsterilized soil in the presence of indigenous microorganisms. Subsequently, biodegradation of PCP was studied in the same types of sterilized soils bioaugmented with bacterial isolate *Comamonas testosteroni* CCM 7350, with and without addition of OMC. The immobilization effect of OMC depends on the concentration of PCP and organic carbon content in soil. The activity of microorganisms and the effect of acid rains lead to gradual release of the reversibly bound PCP. OMC appeared to be a good trap for PCP with potential application in bioremediation technology. Fast and effective adsorption, and low and gradual desorption may serve as pretreatment steps of biodegradation for reducing the PCP content in soil and thus reducing its potential toxicity.