ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Βιοδιαθεσιμότητα βαρέων μετάλλων σε εδάφη

Αθουσάκη Ανδριανή
Διπλωματούχος Πολιτικός Μηχανικός

Επιβλέπουσα: κα Βενιέρη Δανάη
Λέκτορας Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας



Χανιά, Ιούλιος 2009

Περιεχόμενα

Εισαγωγή……..Σελίδα 3

Κεφάλαιο 1ο

Βαρέα Μέταλλα ……Σελίδα 5

-Χρώμιο……..…….Σελίδα 10

-Μόλυβδος…..…….Σελίδα 14

-Υδράργυρος……Σελίδα 18

-Μαγγάνιο……Σελίδα 23

Κεφάλαιο 2ο

Βιοδιαθεσιμότητα……...……...Σελίδα 27

-Ορισμοί……...Σελίδα 27

-Διάγραμμα εκτίμησης βιοδιαθεσιμότητας……..Σελίδα 36

Κεφάλαιο 3ο

Βιοδιαθεσιμότητα βαρέων μετάλλων…….Σελίδα 37

-Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα βαρέων μετάλλων στα εδάφη……..….Σελίδα 40

-Δείκτες βιοδιαθεσιμότητας……..Σελίδα 43

-Βακτήρια βιοανιχνευτές…….……..Σελίδα 43

-Βακτήρια που περιέχουν πλασμίδια…….Σελίδα 44

-Βακτήρια ανθεκτικά στα αντιβιοτικά……...Σελίδα 45

-Παρουσία και έκφραση καταβολικών γονιδίων…...Σελίδα 46

-Διακύμανση βιοδιαθεσιμότητας ανάλογα με το είδος του μετάλλου……Σελίδα 47

Κεφάλαιο 4ο

Τρόποι εκτίμησης βιοδιαθεσιμότητας……Σελίδα 50

-Βιομιμητικές προσεγγίσεις……..Σελίδα 50

-Μικροβιακοί δείκτες βιοδιαθεσιμότητας…….....Σελίδα 50

-Βιολογικοί ανιχνευτές και άμεση μέτρηση βιοδιαθεσιμότητας……...……,…Σελίδα 51

-Παραδείγματα μελετών……...Σελίδα 60

Κεφάλαιο 5ο

Βιοαποκατάσταση……...Σελίδα 70

-Επιρροή της βιοδιαθεσιμότητας στη φυτοαποκατάσταση εδαφών μολυσμένων με βαρέα μέταλλα……..Σελίδα 70

-Παραδείγματα φυτοαποκατάστασης περιοχών μολυσμένων με βαρέα μέταλλα……...Σελίδα 72

-Καινοτόμες μικροβιακές προσεγγίσεις για την αποκατάσταση εδαφών και ιζημάτων μολυσμένων με βαρέα μέταλλα……Σελίδα 73

-Διαφορές μεταξύ των μηχανισμών πρόσληψης υποστρώματος από φυτά και μικροοργανισμούς….Σελίδα 74

Κεφάλαιο 6ο

Επιλογές βελτίωσης βιοδιαθεσιμότητας βαρέων μετάλλων……....Σελίδα 77

- Πιθανές περιοχές μελλοντικής έρευνας, μελλοντικές προοπτικές-ερωτήματα……....Σελίδα 81

Κεφάλαιο 7ο

Σύνοψη-Συμπεράσματα……....Σελίδα 84

Εισαγωγή

Η εργασία ‘Βιοδιαθεσιμότητα βαρέων μετάλλων σε εδάφη’ εκπονήθηκε στα πλαίσια του διατμηματικού μεταπτυχιακού προγράμματος ειδίκευσης ΄Έλεγχος Ποιότητας και Διαχείριση Περιβάλλοντος’ και υπό την επίβλεψη της κυρίας Βενιέρη Δανάη, διδάσκουσα του μαθήματος ‘Περιβαλλοντική Μικροβιολογία’.

Αρχικά, στο 1ο κεφάλαιο γίνεται αναφορά στις ιδιαίτερες ιδιότητες των βαρέων μετάλλων που μας οδήγησαν στη μελέτη τους καθώς και στις αρχές που τα διέπουν. Δίνονται πληροφορίες που αφορούν γενικά τα μέταλλα, αλλά και συγκεκριμένα τα χρώμιο, μόλυβδο, υδράργυρο και μαγγάνιο, τον τρόπο εισαγωγής τους στο περιβάλλον, τον τρόπο έκθεσης και εισαγωγής τους στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς και τις επιπτώσεις που επιφέρουν στο περιβάλλον και τον άνθρωπο.

Στο 2ο κεφάλαιο αποσαφηνίζονται οι όροι της βιοαποικοδόμησης, της βιοαποκατάστασης, της βιοπροσιτότητας, της βιοσυσσώρευσης και της βιοσυγκέντρωσης. Στη συνέχεια παρατίθενται ορισμοί που υπάρχουν στη βιβλιογραφία οι οποίοι περιγράφουν την έννοια της βιοδιαθεσιμότητας και συγκεκριμένα γίνεται προσπάθεια προσδιορισμού της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων. Στο τέλος του κεφαλαίου παρατίθεται σχεδιάγραμμα που περιγράφει τον τρόπο εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων.

Το 3ο κεφάλαιο επικεντρώνεται στη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στα εδάφη. Δίνονται γενικές πληροφορίες που αφορούν τα μέταλλα και την παρουσία τους στα εδάφη ενώ παρουσιάζονται και αναλύονται οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα τους στα εδάφη. Στη συνέχεια περιγράφονται οι μικροβιακοί δείκτες μέτρησης της βιοδιαθεσιμότητας και πιο συγκεκριμένα τα βακτήρια βιοανιχνευτές, βακτήρια που περιέχουν πλασμίδια και βακτήρια που είναι ανθεκτικά σε αντιβιοτικά. Τέλος, στον πίνακα 1 παρουσιάζεται η διακύμανση της βιοδιαθεσιμότητας ανάλογα με το είδος του μετάλλου σε διάφορα ιζήματα ή εδάφη.

Στο 4ο κεφάλαιο παρουσιάζονται οι τρόποι με τους εκτιμάται η βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων. Γίνεται ανάλυση των βιολογικών μεθόδων και των μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται ενώ αναφέρονται τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα των

μεθόδων αυτών σε σχέση με τις φυσικοχημικές μεθόδους εκτίμησης. Στη συνέχεια παρατίθενται παραδείγματα μελετών όπου χρησιμοποιούνται μικροοργανισμοί ή φυτά για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας μετάλλων σε διάφορα εδάφη-αργιλώδη ή αμμώδη-. Σε αρκετές από τις μελέτες ερευνάται η επίδραση της χρήσης βελτιωτικών ουσιών στο χρόνο αλλά και στο βαθμό βιοδιαθεσιμότητας.

Το 5ο κεφάλαιο αναφέρεται στην βιοαποκατάσταση μολυσμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών. Αναλύεται η επιρροή της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων στη φυτοαποκατάσταση εδαφών μολυσμένων με αυτά και δίνονται δυο παραδείγματα πραγματικών περιστατικών όπου επιχειρήθηκε φυτοαποκατάσταση. Έπειτα αναλύονται καινοτόμες μικροβιακές προσεγγίσεις βιοαποκατάστασης και επιχειρείται ο διαχωρισμός των μηχανισμών πρόσληψης των μετάλλων από φυτά και μικρόβια.

Στο 6ο κεφάλαιο αναπτύσσονται οι επιλογές βελτίωσης της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων σε εδάφη, οι οποίες συνοψίζονται στη χρήση συγκεκριμένων μικροβίων/φυτών και βελτιωτικών ανάλογα με το υπό μελέτη μέταλλο. Παρουσιάζονται, τέλος οι πιθανές μελλοντικές προοπτικές, οι πιθανές περιοχές μελλοντικής έρευνας καθώς και ερωτήματα που απασχολούν αλλά και που πρόκειται να απασχολήσουν μελλοντικά τους επιστήμονες/

Το τελευταίο κεφάλαιο περιέχει μια σύνοψη της εργασίας καθώς και γενικά συμπεράσματα.

Κεφάλαιο 1ο

Βαρέα Μέταλλα

Η ικανότητα των μετάλλων να προκαλέσουν τοξικό κίνδυνο κάτω από ορισμένες συνθήκες και η δυνατότητα τους να βλάψουν τον άνθρωπο και το περιβάλλον ήταν και εξακολουθεί να είναι ο κύριος λόγος για τον οποίο αυτά μελετώνται. Τα ανόργανα μέταλλα, όπως και τα μίγματα που περιέχουν μέταλλα, έχουν μοναδικά χαρακτηριστικά τα οποία τυπικά δεν λαμβάνονται υπόψη από τους επιστήμονες κατά τη μελέτη των οργανικών συστατικών. Παραδείγματος χάριν, τα μέταλλα δε δημιουργούνται ούτε καταστρέφονται από βιολογικές διεργασίες αλλά μπορούν να μετασχηματίζονται από μια χημική μορφή σε κάποια άλλη. Οι ουδέτερες μορφές των περισσότερων μετάλλων και κάποιων από τα μίγματα τους δεν είναι άμεσα διαλυτά, γεγονός που έχει ως αποτέλεσμα τα τεστ τοξικότητας που βασίζονται σε διαλυτά άλατα πιθανά να υπερεκτιμούν την τοξικότητα και βιοδιαθεσιμότητα αυτών των συστατικών. Κάποια μέταλλα, όπως ο χαλκός Cu, είναι απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία σε χαμηλές συγκεντρώσεις ενώ τοξικά σε μεγαλύτερες, και άλλα, όπως ο υδράργυρος Hg και ο μόλυβδος Pb, δεν έχουν κάποια γνωστή βιολογική λειτουργία. Επειδή τα μέταλλα υπάρχουν εκ φύσεως, οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που ρυθμίζουν τη συσσώρευση τους σε αυτά, ιδιαίτερα όσον αφορά τη συσσώρευση των απαραίτητων στοιχείων.

Κάποιες βασικές αρχές που ισχύουν για τα μέταλλα είναι οι ακόλουθες:

1. Τα μέταλλα είναι φυσικά συστατικά του περιβάλλοντος που διαφέρουν σε συγκεντρώσεις ανάλογα με την περιοχή στην οποία συναντώνται.
2. Σε όλα τα μέσα (νερό, έδαφος, αέρας), απαντώνται μίγματα μετάλλων, ενώ συχνά τα μέταλλα εισάγονται στο περιβάλλον ως μίγματα.
3. Κάποια μέταλλα είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της καλής υγείας των ανθρώπων, των ζώων, των φυτών και άλλων μικροοργανισμών.
4. Η περιβαλλοντική χημεία επηρεάζει σημαντικά την κατάληξη των μετάλλων και τις επιπτώσεις τους στον άνθρωπο και στους υπόλοιπους πιθανούς υποδοχείς.

5. Η τοξικοκινητικότητα και η τοξικοδυναμική των μετάλλων εξαρτάται από τη φύση του μετάλλου, τη μορφή αυτού ή του μίγματος το οποίο το περιέχει, καθώς και από τη δυνατότητα του οργανισμού να το ρυθμίζει και/ή αποθηκεύει.

Περαιτέρω ανάπτυξη των παραπάνω αρχών:

1. Τα μέταλλα είναι φυσικά συστατικά του περιβάλλοντος που διαφέρουν σε συγκεντρώσεις ανάλογα με την γεωγραφική θέση.

Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί έχουν αναπτυχθεί παρουσία μετάλλων στο περιβάλλον και έχουν προσαρμοστεί ώστε να υπομένουν διάφορα επίπεδα συγκεντρώσεων τους, ενώ πολλά ζώα και φυτά παρουσιάζουν γεωγραφική κατανομή που αντανακλά τις διαφοροποιημένες απαιτήσεις και ανοχές συγκεκριμένων μετάλλων.

Ως αποτέλεσμα της αστικοποίησης οι παρούσες συγκεντρώσεις των μετάλλων είναι πολύ υψηλότερες σχετικά με αυτές που απαντώνται φυσικά και είναι σημαντικό να διαχωρίζονται μεταξύ των φυσικών επιπέδων συγκεντρώσεων και αυτών που προκύπτουν από διάφορες ανθρωπογενείς δραστηριότητες.

Η διατροφή των ανθρώπων και των ζώων ποικίλλει, γεγονός που ερμηνεύει τη μεγάλη διαφοροποίηση στη λήψη μετάλλων μέσω της διατροφής τόσο χρονικά όσο και χωρικά,

2. Σε όλα τα μέσα (νερό, έδαφος, αέρας), απαντώνται μίγματα μετάλλων, ενώ συχνά τα μέταλλα εισάγονται στο περιβάλλον ως μίγματα.

Κάποια μέταλλα όταν βρίσκονται μαζί στο ίδιο περιβάλλον δρουν αθροιστικά, άλλα δρουν αυτόνομα και κάποια άλλα ανταγωνιστικά ή συνεργιστικά.

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μετάλλων μέσα σε οργανισμούς συμβαίνουν όταν αυτά ανταγωνίζονται για τη την κατάληψη περιοχών δέσμευσης (binding locations) σε συγκεκριμένα ένζυμα ή υποδοχείς κατά τη διάρκεια διαδικασιών όπως η απορρόφηση (absorption), η απέκκριση (excretion) και η απομάκρυνση (sequestration).

Κατά τη διάρκεια εκτέλεσης πειραμάτων με κάποιο μέταλλο, είναι σημαντικό να είναι γνωστή η παρουσία και η ποσότητα άλλων μετάλλων, ώστε να μπορούν να ερμηνευθούν σωστά τα αποτελέσματα.

3. Κάποια μέταλλα είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της καλής υγείας των ανθρώπων, των ζώων, των φυτών και άλλων μικροοργανισμών.

Δυσμενείς επιπτώσεις σε κάποιον οργανισμό ενδεχομένως θα προκύψουν εάν απαραίτητα μέταλλα δεν είναι διαθέσιμα στις απαιτούμενες ποσότητες. Αυτή η πιθανή έλλειψη μπορεί να αυξήσει την ευπάθεια των οργανισμών έναντι και άλλων παραγόντων, περιλαμβανομένων αυτών που σχετίζονται και με άλλα μέταλλα.

Υπερβολικές ποσότητες στοιχειακών μετάλλων μπορεί να επιφέρουν δυσμενείς επιπτώσεις, εάν αυτές ξεπερνούν τους ομοιοστατικούς μηχανισμούς του οργανισμού.

Η αναγκαία λήψη συγκεκριμένης ποσότητας ενός μετάλλου πρέπει να θεωρείται ως μέρος της σχέσης δόσης-ανταπόκρισης για τα απαραίτητα μέταλλα και η μορφή της σχέσης αυτής πιθανά να διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό. Για έναν συγκεκριμένο πληθυσμό η δόση αναφοράς που ορίζεται για να τον προστατεύει από φαινόμενα τοξικότητας δεν πρέπει να τίθεται μικρότερη από τη δόση που προσδιορίζεται ως απαραίτητη.

4. Η περιβαλλοντική χημεία επηρεάζει σημαντικά την κατάληξη των μετάλλων και τις επιπτώσεις τους στον άνθρωπο και στους υπόλοιπους πιθανούς υποδοχείς.

Αντίθετα από τις οργανικές χημικές ουσίες, τα μέταλλα ούτε δημιουργούνται ούτε καταστρέφονται από βιολογικές ή χημικές διεργασίες, εν τούτοις αυτές οι διεργασίες μπορούν να μετασχηματίσουν κάποιο μέταλλο από ένα είδος σε κάποιο άλλο (ανάλογα με το σθένος) και μπορούν να το μετατρέψουν από οργανική σε ανόργανη μορφή. Όσον αφορά την περιβαλλοντική χημεία και την επίδραση της στα μέταλλα πρέπει να ληφθούν υπόψη τα παρακάτω θέματα:

Η μορφή του μετάλλου επηρεάζει τη βιοπροσβασιμότητα,(βιοπροσιτότητα-bioaccessibility) τη βιοδιαθεσιμότητα την τελική έκβαση και τις επιπτώσεις.

Η μορφή του μετάλλου επηρεάζεται από τις ιδιότητες του περιβάλλοντος, όπως είναι το pH, η υγρασία, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, το οργανικό κλάσμα ή η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων.

Τα μέταλλα που σχηματίζουν ενώσεις με οργανικές ουσίες έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά και διέπονται από διαφορετικές αρχές από ότι τα ανόργανα μέταλλα.

5. Η τοξικοκινητικότητα και η τοξικοδυναμική των μετάλλων εξαρτάται από τη φύση του μετάλλου, τη μορφή αυτού ή του μίγματος το οποίο το περιέχει, καθώς και από τη δυνατότητα του οργανισμού να το ρυθμίζει και/ή αποθηκεύει.

Οι διεργασίες που διέπουν τα μέταλλα είναι δυναμικές (διαφέρουν ανάλογα με τον τρόπο έκθεσης, τη συγκέντρωση, το μέταλλο και τον οργανισμό), και για αυτό το λόγο ασκούν άμεση επιρροή στην έκφραση της τοξικότητας.

Όσον αφορά την κινητική και την δυναμική των μετάλλων πρέπει να ληφθούν υπόψη τα παρακάτω θέματα:

Κάποια μίγματα μετάλλων βιοσυσσωρεύονται σε ιστούς και αυτή η συσσώρευση σχετίζεται με την τοξικότητα τους.

Τελευταίες μελέτες δείχνουν ότι πρέπει να αποφεύγεται η χρησιμοποίηση τιμών του συντελεστή βιοσυγκέντρωσης (BCF-Bioconcentration Factor) και του συντελεστή βιοσυσσώρευσης (BAF- Bioaccumulation Factor) ως γενικοί δείκτες-κριτήρια για τιμές κατωφλιούγια την εκτίμηση και πρόβλεψη της βιοσυσσώρευσης μετάλλων.(Chapman *et al*, 1996, McGeer *et al* 2003)*

Οι συντελεστές BCF/BAF καθιστούν μια σημαντική παράμετρο όταν μειώνεται η δυνατότητα υπολογισμών διαμέσου διαφορετικών συνθηκών έκθεσης.

Η μεταφορά των μετάλλων μέσω της τροφής μπορεί να θεωρηθεί ως μια σημαντική διαδρομή έκθεσης.

Τα μοντέλα βιοσυσσώρευσης που βασίζονται στην κινητική (π.χ DYNBAM) έχει αποδειχθεί ότι περιγράφουν με ακρίβεια τη βιοσυσσώρευση που προκύπτει από διαφορετικές διαδρομές έκθεσης στα μέταλλα και μπορούν να θεωρηθούν ως εναλλακτικά της θεώρησης με BCF/BAF, όταν βέβαια τα αναγκαία δεδομένα είναι διαθέσιμα.

Αρκετοί οργανισμοί έχουν αναπτύξει φυσιολογικούς ή ανατομικούς τρόπους για να ρυθμίζουν ή/και αποθηκεύουν συγκεκριμένα μέταλλα μέχρι κάποιο επίπεδο έκθεσης ώστε τα μέταλλα να μη βρίσκονται σε μορφή, συγκέντρωση, ή σημείο όπου θα μπορούν να προκαλέσουν τοξική επίδραση.

Υπάρχει περίπτωση το όργανο ή ο ιστός στον οποίο εκδηλώνεται η τοξικότητα να είναι διαφορετικός από τον ιστό ή το όργανο στο οποίο το μέταλλο συσσωρεύεται και πιθανά να επηρεάζεται από την κινητική του. Τα όργανα-στόχος μπορεί να διαφέρουν από είδος σε είδος, κυρίως λόγω διαφορών όσον αφορά την απορρόφηση, κατανομή/διανομή (distribution) και έκκριση.

Οι πιθανότητα καρκινογενέσεων εξαρτάται από τη διαδρομή έκθεσης καθώς και από τη μορφή του μετάλλου.

Η ευαισθησία σε κάποιο μέταλλο διαφέρει ανάλογα με την ηλικία, το φύλο, το στάδιο της κύησης, τις διατροφικές συνήθειες και την κληρονομικότητα.

*BCF: η αναλογία της συγκέντρωσης ιστού σε –ή κοντά σε-σταθερή κατάσταση(steady state- προς τη συγκέντρωση του νερού, κατά την έκθεση σε νερό μονάχα. Ορίζεται συνήθως από εργαστηριακά πειράματα.

BAF: η αναλογία της συγκέντρωσης ιστού σε –ή κοντά σε-σταθερή κατάσταση (steady state- προς τη συγκέντρωση του νερού προερχόμενη από έκθεση σε νερό, έδαφος ή ίζημα. Ορίζεται συνήθως από μελέτες πεδίου. [(1)Fairbrother Anne. et al., 2007]

Η αποδέσμευση μιας χημικής ουσίας- ενός βαρέος μετάλλου- δεν συνεπάγεται απαραίτητα ότι θα εκτεθούν άτομα σε αυτή. Έκθεση νοείται μόνο από μετά από επαφή με την ουσία αυτή, δηλαδή μόνο μετά από εισπνοή, πόση, βρώση ή επαφή. Η παρουσία βαρέων μετάλλων έχει ως επακόλουθο τη μετάδοση τους στο υπόγειο νερό και στα φυτά και έπειτα στο σώμα του ανθρώπου. Οι επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου από την έκθεση σε βαρέα μέταλλα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Οι κυριότεροι είναι η δόση, η διάρκεια και ο τρόπος της έκθεσης, τα κληρονομικά χαρακτηριστικά και τα φυσικά γνωρίσματα του εκτιθέμενου οργανισμού, όπως επίσης και η ταυτόχρονη έκθεση του σε άλλες χημικές ουσίες. Σημαντικό ρόλο έχουν επίσης η ηλικία του ατόμου, το φύλο, η διατροφή, ο τρόπος ζωής καθώς και το επίπεδο της υγείας του.

Παρακάτω δίνονται πληροφορίες για το χρώμιο, τον υδράργυρο, το μόλυβδο και το μαγγάνιο, τέσσερα από τα πλέον επικίνδυνα για την ανθρώπινη υγεία μέταλλα. [(2)Agency for Toxic Substances and Disease Registry]

Χρώμιο

Γενικά

Το χρώμιο είναι ένα φυσικό ιχνοστοιχείο που βρίσκεται σε πετρώματα, σε εδάφη, σε ηφαιστειακή σκόνη και αέρια καθώς και σε ζωντανούς οργανισμούς. Βρίσκεται στο περιβάλλον σε διάφορες μορφές, οι συνηθέστερες από τις οποίες είναι το Cr(0), Cr(III), τρισθενές και Cr(IV), εξασθενές. Το Cr(III) είναι απαραίτητο φυσικό συστατικό που χρησιμοποιείται από τον ανθρώπινο οργανισμό για την υποκίνηση της λειτουργίας της ινσουλίνης στους ιστούς και της μετέπειτα χρησιμοποίησης του λίπους, της ζάχαρης και των πρωτεϊνών. Το Cr(IV) και το Cr(0) είναι κυρίως βιομηχανικά παράγωγα, ενώ τα μίγματα χρωμίου δεν συνδέονται με κάποια συγκεκριμένη μυρωδιά ή γεύση. Το Cr(0) είναι στερεό και έχει χρώμα γκρι του ατσαλιού, ενώ παρουσιάζει μεγάλο σημείο τήξης. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή ατσαλιού και άλλων κραμάτων μετάλλου. Το φυσικό ορυκτό χρωμίτης που απαντάται στο Cr(III) χρησιμοποιείται στις εσωτερικές επενδύσεις βιομηχανικών κλιβάνων και υψικαμίνων, για παρασκευή κραμάτων μετάλλου και σε χημικά μίγματα. Τα μίγματα χρωμίου, κυρίως των Cr(III), τρισθενές και Cr(IV), εξασθενές που παράγονται από τη βιομηχανία χρησιμοποιούνται για επιμεταλλώσεις, για παρασκευή βαφών στη βυρσοδεψία και σε συστατικά διατήρησης ξύλου. Μικρότερες ποσότητες χρησιμοποιούνται για την παραγωγή υλικών ανασταλτικών της σκουριάς και της διάβρωσης, στη βιομηχανία υφασμάτων καθώς και για την παραγωγή toner για εκτυπωτές.

Χρώμιο και περιβάλλον

Το χρώμιο εισάγεται στο περιβάλλον συνήθως στην τρισθενή και εξασθενή μορφή του μέσω φυσικών και ανθρωπογενών διεργασιών. Τα επίπεδα του τρισθενούς χρωμίου στον

αέρα αυξάνονται λόγω των εκπομπών της καύσης άνθρακα και πετρελαίου. Τα επίπεδα του εξασθενούς χρωμίου στον αέρα αυξάνονται από τη χημική βιομηχανία, την οξυγονοκόλληση ανοξείδωτου χάλυβα και τη χρήση μιγμάτων που περιέχουν εξασθενές χρώμιο. Τα επίπεδα του εξασθενούς χρωμίου στον αέρα αυξάνονται επίσης από τα απόβλητα διεργασιών γαλβανισμού. Τα επίπεδα τόσο του τρισθενούς όσο και του εξασθενούς χρωμίου στα νερά αυξάνεται από τα βυρσιδεψία και τη βιομηχανία χρωμάτων. Η αύξηση των επιπέδων του τρισθενούς και του εξασθενούς χρωμίου στα εδάφη οφείλεται στη διάθεση προϊόντων που περιέχουν χρώμιο, στα απόβλητα της βιομηχανίας που χρησιμοποιεί χρώμιο καθώς και από την τέφρα πετρελαίου από τις εγκαταστάσεις παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας.

Στα εδάφη, το μεγαλύτερο ποσοστό του χρωμίου δε διαλύεται στο περιεχόμενο νερό και δεσμεύεται στο έδαφος. Κάποιο μικρό ποσοστό, ωστόσο διαλύεται στο νερό και μπορεί να μετακινηθεί σε μεγαλύτερα βάθη προς το υπόγειο νερό. Η κίνηση του χρωμίου στα εδάφη εξαρτάται από το είδος και την κατάσταση του εδάφους και από αρκετούς άλλους παράγοντες.

Έκθεση

Η έκθεση στο χρώμιο μπορεί να συντελεστεί μέσω του εισπνεόμενου αέρα, του πόσιμου νερού, της τροφής ή με επαφή. Η συγκέντρωση του χρωμίου στον αέρα και το νερό κυμαίνεται σε χαμηλά επίπεδα (αέρας: 0,03μg/m3, νερό<2ppb). Ο πιο συνήθης τρόπος έκθεσης του τρισθενούς χρωμίου είναι μέσω της διατροφής. Το Cr(III) βρίσκεται σε πολλά είδη τροφών, ενώ πολλές μέθοδοι επεξεργασίας, αποθήκευσης και παρασκευής πιθανά μπορούν να αλλάξουν την περιεχόμενη ποσότητα χρωμίου. Η χρήση οικιακών συσκευών, συντηρητικών ξύλου, τσιμέντου και προϊόντων καθαρισμού επιβαρύνουν τον οργανισμό με χρώμιο.

Οι εργαζόμενοι σε βιομηχανίες που επεξεργάζονται ή χρησιμοποιούν χρώμιο ή μίγματα του εκτίθενται σε πολύ υψηλότερα -από τα κανονικά- επίπεδα χρωμίου. Κίνδυνος υπάρχει για εργαζόμενους σε βιομηχανίες παρασκευής βαφών, σε εργαζόμενους σε βυρσοδεψία, συντηρητές και επισκευαστές εκτυπωτών, εργαζόμενοι σε βιομηχανίες μπαταριών, κηροποιούς, ελαιοχρωματιστές, εργαζόμενοι σε βιομηχανία τσιμέντων και άλλοι. Τέλος, σε υψηλότερα επίπεδα χρωμίου εκτίθενται οι καπνιστές.

Εισαγωγή χρωμίου στον ανθρώπινο οργανισμό

Όπως προαναφέρθηκε το χρώμιο εισάγεται στον ανθρώπινο οργανισμό με εισπνοή αέρα, πόση νερού και κατανάλωση τροφών. Γενικά, το Cr(IV) απορροφάται πιο εύκολα από το Cr(III), μετά όμως την εισαγωγή του Cr(IV) στον οργανισμό μετατρέπεται σε Cr(III). Με την εισπνοή αέρα που περιέχει χρώμιο, τα σωματίδια του χρωμίου εναποτίθενται στους πνεύμονες. Τα σωματίδια που εναποτίθενται βαθειά πιθανά να παραμείνουν στους πνεύμονες αρκετό διάστημα με αποτέλεσμα να περάσουν στο αίμα, και έπειτα σε όλο τον οργανισμό. Το χρώμιο έπειτα θα περάσει από τους νεφρούς και θα αποβληθεί από τον οργανισμό μέσω των ούρων. Όλοι καταναλώνουν ημερησίως ποσότητες χρωμίου, μέσω νερού ή τροφής, οι περισσότερες από τις οποίες αποβάλλονται εντός ολίγων ημερών. Ένα μικρό μόνο ποσοστό (0,4-2,1%) διαπερνά το έντερο και περνά στο αίμα. Το Cr(III) των τροφών συνδέεται με άλλα μίγματα και εισέρχεται ευκολότερα στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω του στομάχου. Η μορφή αυτή του χρωμίου χρησιμοποιείται από τον οργανισμό για την εκτέλεση φυσικών διεργασιών.

Επιπτώσεις στην υγεία

Το τρισθενές χρώμιο είναι απαραίτητο φυσικό συστατικό για τη διατήρηση της καλής υγείας των οργανισμών, βοηθώντας στο μεταβολισμό της ζάχαρης, της πρωτεΐνης και του λίπους. Για τους ενήλικες συνιστάται δόση 50-200 μg την ημέρα. Έχει εκτιμηθεί ότι στις ΗΠΑ η ημερήσια λήψη κυμαίνεται μεταξύ 60-80 μg την ημέρα. Ωστόσο, η διατροφή πολλών ανθρώπων είναι φτωχή σε Cr(III), με αποτέλεσμα ο οργανισμός να χάνει την ικανότητα μεταβολισμού των ζαχάρων, των πρωτεϊνών και του λίπους. Τα αποτελέσματα της έλλειψης αυτής είναι χάσιμο βάρους ή μειωμένη ανάπτυξη και δυσλειτουργία του νευρικού συστήματος.

Πολλά είναι τα προβλήματα από την έκθεση σε χρώμιο. Η εισπνοή μεγάλων ποσοτήτων προκαλεί ερεθισμό της μύτης, φτάρνισμα, κνησμό, ενώ έχουν αναφερθεί και περιστατικά όπου παρατηρήθηκε τρύπα στη ρινική κοιλότητα. Η μακροχρόνια έκθεση σε υψηλά ποσοστά χρωμίου-100 ή μέχρι 1000 φορές μεγαλύτερα από αυτά που συναντώνται στη φύση- έχει συσχετιστεί με τη δημιουργία καρκίνου του πνεύμονα. Το εξασθενές χρώμιο θεωρείται ως η κύρια αιτία εμφάνισης καρκίνου σε εργαζομένους οι

οποίοι ήταν εκτεθειμένοι σε υψηλά ποσοστά χρωμίου στο περιβάλλον εργασίας τους. Η εισπνοή μεγάλων ποσοτήτων εξασθενούς χρωμίου για μικρά χρονικά διαστήματα δεν έχει συνδεθεί με καρκίνο, υπάρχουν όμως ενδείξεις ότι επιβαρύνει τα άτομα με πρόβλημα άσθματος. Η εισπνοή τρισθενούς χρωμίου δεν επιφέρει προβλήματα στους οργανισμούς. Από την άλλη, ποσοστό εργαζομένων που χειρίζονταν υγρά ή στερεά που περιείχαν εξασθενές χρώμιο παρουσίασε δερματικό έλκος. Όσον αφορά το Cr(0),δεν υπάρχουν στοιχεία για σαφή αποτελέσματα, ωστόσο υπάρχουν ενδείξεις για συμβολή του στη μείωση της γονιμότητας ή στη δημιουργία γενετικών ανωμαλιών, αν και οι πιθανότητες για τις παραπάνω δυσλειτουργίες δεν είναι μεγάλες.

Όσον αφορά τα παιδιά, γενικά οι επιπτώσεις από τη έκθεση σε χρώμιο είναι ίδιες με αυτές των ενηλίκων και δεν υπάρχουν ενδείξεις για περαιτέρω ευαισθησία των παιδιών. Ωστόσο μελέτες συνδέουν την έκθεση σε εξασθενές χρώμιο με γενετικές ανωμαλίες νεογνών. Το εξασθενές χρώμιο έχει επίσης συνδεθεί με θανάτους, σκελετικές δυσμορφίες και μειωμένη ανάπτυξη νεογνών ζώων που έχουν χρησιμοποιηθεί σε πειράματα. Ωστόσο αντιστοιχία των παραπάνω με τις επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων δεν έχει γίνει. Στο μέλλον αναμένονται πιο ενδελεχή πειραματικά δεδομένα για τις επιπτώσεις του τρισθενούς χρωμίου όσον αφορά τις γενετικές ανωμαλίες που εμφανίζονται σε νεογνά.

Μια μελέτη πάνω σε ζώα έδειξε ότι μεγαλύτερη ποσότητα τρισθενούς χρωμίου εισάγεται στο σώμα ενός νεογνού από ότι στο σώμα ενός ενηλίκου, ωστόσο δεν υπάρχουν στοιχεία για ανάλογη εκτίμηση για το εξασθενές χρώμιο. Μέχρι το 2000 δεν υπήρχαν πληροφορίες που να υποδηλώνουν διαφορές μεταξύ ενηλίκων και ανηλίκων όσον αφορά τους ιστούς στους οποίους μπορεί να ανιχνευθεί χρώμιο, ή όσον αφορά το χρόνο που απαιτείται για την αποβολή του από το ανθρώπινο σώμα. Ωστόσο, μελέτες έχουν δείξει ότι το χρώμιο διαπερνά τον πλακούντα και μπορεί να συσσωρεύεται σε εμβρυικούς ιστούς, ενώ παρατηρήθηκε ότι γυναίκες που εργάζονταν ή ζούσαν κοντά σε μέρη με υψηλές συγκεντρώσεις χρωμίου μετέφεραν μέσω του αίματος στο έμβρυο ποσότητες χρωμίου, πολλές φορές σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Τέλος, υπάρχουν ενδείξεις ότι ποσότητες χρωμίου μεταφέρονται από τη μητέρα στο νεογνό μέσω του θηλασμού. [(3) Agency for Toxic Substances and Disease Registry]

Μόλυβδος

Γενικά

Ο μόλυβδος είναι φυσικό μέταλλο, έχει χαμηλό σημείο τήξης και γαλαζωπό χρώμα. Ωστόσο, σπάνια συναντάται σα φυσικό μέταλλο, ενώ τις περισσότερες φορές είναι συνδεδεμένο με δύο ή περισσότερα στοιχεία σχηματίζοντας μίγματα.

Ο μεταλλικός μόλυβδος είναι ανθεκτικός έναντι διάβρωσης. Όταν εκτίθεται σε αέρα ή νερό, σχηματίζεται ένα λεπτό φιλμ γύρω από το μέταλλα που λειτουργεί ως προστατευτικό. Πλάθεται και μορφοποιείται εύκολα και σε συνδυασμό με άλλα μέταλλα σχηματίζει διάφορα κράματα. Ο μόλυβδος και τα κράματά του συναντώνται σε αποθήκες μπαταριών, σε βλήματα και πυρομαχικά, σε κάλυπτρα καλωδίων και σε φύλλα που χρησιμοποιούνται για την προστασία από τη ραδιενέργεια. Ωστόσο η πιο μαζική χρήση του μολύβδου αφορά στις μπαταρίες των οχημάτων.

Μίγματα μολύβδου χρησιμοποιούνται σε βαφές, σε στιλβωτικά και σε στεγανοποιητικά. Τα τελευταία χρόνια η ποσότητα του χρησιμοποιούμενου μολύβδου για την παρασκευή των παραπάνω έχει μειωθεί για την ελαχιστοποίηση των επιβλαβών επιπτώσεων στους οργανισμούς. Μέχρι και την αρχή του 1996, όπου και απαγορεύθηκε, στις ΗΠΑ, χρησιμοποιούνταν πρόσθετα μολύβδου στη βενζίνη για την αύξηση των οκτανίων. Παρόλα αυτά χρήση πρόσθετων μολύβδου γίνεται και στις μέρες μας σε υπό ανάπτυξη χώρες, ενώ χρησιμοποιείται ακόμη τετραεθυλομόλυβδος σε καύσιμα για τα αεροπλάνα.

Μεγάλες ποσότητες μολύβδου που χρησιμοποιείται στη βιομηχανία προέρχεται από ορυχεία- πρωτογενής μορφή- ενώ πολλές ποσότητες, ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια, προκύπτουν από την ανακύκλωση άχρηστων μετάλλων- δευτερογενής μορφή. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι το 97% των παλαιών μπαταριών ανακυκλώνονται.

Μόλυβδος και περιβάλλον

Ο μόλυβδος είναι φυσικό μέταλλο, παρόλα αυτά τα μεγαλύτερα ποσά που εκλύονται στο περιβάλλον προέρχονται από ανθρωπογενείς δραστηριότητες. Ως αποτέλεσμα των

δραστηριοτήτων του ανθρώπου, η ποσότητα του μολύβδου το 2007 ήταν 1000 φορές μεγαλύτερη από ότι το 3 αιώνες πριν, με τη μεγαλύτερη αύξηση να συμβαίνει μεταξύ του 1950 και του 2000. Ο μόλυβδος εισάγεται στο περιβάλλον από τις εκπομπές ορυχείων, από εργοστάσια, από καύση άνθρακα, πετρελαίου και αποβλήτων, ενώ πριν από την απαγόρευση της χρήσης βελτιωτικών μολύβδου στη βενζίνη, το μεγαλύτερο ποσοστό μολύβδου προερχόταν από τις εκπομπές των οχημάτων. Από τη στιγμή που σωματίδια μολύβδου εισαχθούν στην ατμόσφαιρα, μπορούν να μεταφερθούν σε μακρινές αποστάσεις, ιδιαιτέρως εάν είναι μικρού μεγέθους. Ο μόλυβδος δύναται να απομακρυνθεί από την ατμόσφαιρα με τη βοήθεια της βροχής, ή με την απόθεση των σωματιδίων στο έδαφος, και έπειτα στο νερό.

Ο μόλυβδος συνδέεται με δυνατούς δεσμούς με τα μόρια του εδάφους και παραμένει στα υψηλότερα στρώματα του εδάφους. Πολύ σημαντικές θεωρούνται οι ποσότητες του μολύβδου από χρήσεις του παρελθόντος, ιδιαιτέρως από τη χρήση στη βενζίνη, στις βαφές των σπιτιών και στα εντομοκτόνα, μιας και παραμένουν στα υψηλά στρώματα του εδάφους.

Μικρά ποσοστά μολύβδου θα περάσουν από τα σωματίδια του εδάφους στα επιφανειακά ή υπόγεια νερά. Γενικότερα ο μόλυβδος παραμένει προσκολλημένος στα εδαφικά σωματίδια για πολλά χρόνια. Η απομάκρυνση του δύναται να συμβεί εάν η βροχή είναι όξινη, ενώ εξαρτάται από τον τύπο του μίγματος του μολύβδου και από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους.

Κάποια μίγματα μολύβδου μπορούν να αλλάξουν μορφές, σε καμία περίπτωση όμως δεν μπορούν να αποσυντεθούν, ενώ τα επίπεδα του μολύβδου σε έναν ζωντανό οργανισμό μπορούν να συσσωρευτούν σε αυτόν. Τέλος, ο μόλυβδος δύναται να περάσει στην τροφική αλυσίδα εάν κάποιο ζώο ή άνθρωπος καταναλώσουν μολυσμένη με μόλυβδο τροφή.

Έκθεση

Ο μόλυβδος βρίσκεται κυρίως σε εδάφη, και πιο συγκεκριμένα κοντά σε αυτοκινητόδρομους, σε παλιά σπίτια, σε δεντρόκηπους με οπωροφόρα, σε περιοχές

όρυξης, σε βιομηχανικές περιοχές, σε κλιβάνους αποτέφρωσης και σε Χώρους Απόθεσης Απορριμμάτων και σε Χώρους Υγειονομικής Ταφής Απορριμμάτων. Άνθρωποι που ζουν κοντά σε τέτοιες περιοχές πιθανά να εκτεθούν σε μόλυβδο ή μίγματα του μέσω εισπνοής αέρα, πόσης νερού, βρώσης φαγητού ή καταπίνοντας σκόνη.

Όσον αφορά τα τρόφιμα, επικίνδυνα θεωρούνται τα φυλλώδη λαχανικά- πχ μαρούλι- που έχουν καλλιεργηθεί σε επιμολυσμένο με μόλυβδο έδαφος, ενώ έχει εξαλειφθεί στις αναπτυγμένες χώρες το παλαιότερο πρόβλημα των κουτιών κονσέρβας που κατασκευάζονταν από μόλυβδο. Εκτεθειμένοι πρέπει να θεωρούνται και οι καπνιστές.

Μεγάλη επικινδυνότητα κρύβουν οι παλιές σωληνώσεις ύδρευσης, οι οποίες κατασκευάζονταν με χρήση μολύβδου, ιδιαίτερα όταν το νερό της περιοχής θεωρείται «όξινο». Ιδιαίτερη μνεία έχει δοθεί ώστε οι ψύκτες που βρίσκονται σε δημόσιους χώρους να μην κατασκευάζονται με τη χρήση μολύβδου. Η έκθεση από εισπνοή έχει μειωθεί πολύ μετά από την απαγόρευση χρήσης μολύβδου στη βενζίνη, ενώ η δερματική επαφή είναι καθημερινή, μέσω κυρίως σκόνης που περιέχει μόλυβδο.

Πολλές κατηγορίες εργαζομένων εκτίθενται σε μόλυβδο και κυρίως αυτοί που εργάζονται σε βιομηχανίες εξευγενισμού, σε πλαστικές βιομηχανίες, σε χυτήρια, σε βιομηχανίες παρασκευής μπαταριών καθώς και σε εργαστήρια οξυγονοκολλήσεων και συγκολλήσεων, ενώ προβλήματα αντιμετωπίζουν και εργάτες που εργάζονται στον κλάδο των κατασκευών-κατεδαφίσεων και οι ελαιοχρωματιστές.

Εισαγωγή μολύβδου στον ανθρώπινο οργανισμό

Το μεγαλύτερο ποσοστό του μολύβδου που εισάγεται στον ανθρώπινο οργανισμό προέρχεται από την κατάποση σχετικά μεγάλων σωματιδίων του μετάλλου. Παρόλα αυτά, αυτά τα σωματίδια δεν εισέρχονται σε μεγάλο βαθμό στο αίμα έτσι ώστε να μεταφερθούν σε άλλους ιστούς. Η ποσότητα που θα κυκλοφορήσει εξαρτάται από το πότε καταναλώθηκε το τελευταίο γεύμα από το άτομο, από την ηλικία του και κατά πόσο έχουν διαλυθεί τα σωματίδια του μολύβδου. Έρευνες έχουν δείξει ότι εάν το άτομο δεν έχει καταναλώσει τροφή για μια μέρα θα απορροφηθεί το 60-80% της ποσότητας που υπάρχει στο στομάχι, ενώ εάν έχει φάει απορροφάται από το αίμα μόνο το 6%. Εισαγωγή στο αίμα γίνεται κυρίως διαμέσου των πνευμόνων από τα εισπνεόμενα μόρια μολύβδου. Μικρό ποσοστό απορροφάται μετά από δερματική επαφή, ενώ μετά την εισαγωγή του

μολύβδου στο σώμα, αυτό μεταφέρεται στους μαλακούς ιστούς –συκώτι, πνεύμονες, σπλήνα, μύες και καρδιά-. Μετά από αρκετές εβδομάδες το μεγαλύτερο ποσοστό περνά στα κοκάλα και στα δόντια. Το 94% του μολύβδου που υπάρχει σε έναν ενήλικα βρίσκεται στα κόκαλα του. Ο μόλυβδος δεν βιοαποικοδομείται, οπότε σε περίπτωση μη αποβολής του συσσωρεύεται στα κόκαλα και σε ιστούς.

Επιπτώσεις στην υγεία

Οι επιπτώσεις της έκθεσης σε μόλυβδο παρουσιάζονται κυρίως στο νευρικό σύστημα. Μακροχρόνια έκθεση οδηγεί σε μειωμένη απόδοση σε τεστ μέτρησης της λειτουργίας του νευρικού συστήματος, ενώ μπορεί να προκαλέσει αδυναμία στα δάχτυλα, τους καρπούς ή τους αγκώνες. Επίσης δημιουργεί προβλήματα πίεσης σε μεσήλικες και ηλικιωμένους, ενώ θεωρείται και αιτία εμφάνισης αναιμίας. Σοβαρά προβλήματα εμφανίζονται σε συκώτι και εγκέφαλο και υπάρχει ακόμα και η πιθανότητα θανάτου. Σε έγκυες γυναίκες πιθανά να προκαλεί αποβολή εμβρύου, ενώ οι άντρες πιθανά να εμφανίσουν αδυναμία παραγωγής σπερματοζωαρίων.

Μέχρι και το 2007 δεν υπήρχαν καταληκτικά συμπεράσματα όσον αφορά την υπαιτιότητα της έκθεσης σε μολύβδου για την εμφάνιση καρκίνου. Ωστόσο, μετά από πειράματα σε ποντίκια η DHHS- The Department of Health and Human Services ο μόλυβδος θεωρείται επικίνδυνος για δημιουργία καρκίνου, ενώ η EPA έχει προσδιορίσει το μόλυβδο σαν πιθανή καρκινική ουσία.

Ο μόλυβδος είναι ιδιαίτερα επικίνδυνος για την υγεία των παιδιών. Από έμβρυα ακόμη εκτίθενται σε μόλυβδο, εάν εκτίθεται και η μητέρα. Μεγαλώνοντας, εκτίθενται συνεχώς και όπως και οι ενήλικες μπορεί να καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες μολύβδου καθημερινά. Μέχρι και το 2007 δεν είχε οριστεί ασφαλές επίπεδο μολύβδου στο αίμα.

Η μεγάλη κατανάλωση μολύβδου οδηγεί σε αναιμία, βλάβη στο συκώτι, κολικούς στομάχου, αδυναμία μυών και ζημιά στον εγκέφαλο, επιπτώσεις που δύναται να μετριαστούν με τη χορήγηση φαρμάκων. Η κατανάλωση μικρότερων ποσοτήτων επιφέρει μικρότερες αλλά ταυτόχρονα σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία των παιδιών, όπως προβλήματα στο αίμα, την ανάπτυξη και τη συμπεριφορά. Η απομάκρυνση του παιδιού από την πηγή του μολύβδου βοηθάει στην αποκατάσταση της υγείας του αν και δεν υπάρχουν σαφής ενδείξεις ότι θα αποφευχθούν και οι μακροχρόνιες επιπτώσεις.

Έκθεση σε ακόμη μικρότερες ποσότητες μολύβδου επηρεάζει την πνευματική και σωματική ανάπτυξη των παιδιών. Η έκθεση σε μόλυβδο της μητέρας μπορεί να προκαλέσει πρόωρη κύηση και νεογνά με βάρος μικρότερο του κανονικού. Όταν έμβρυα, βρέφη ή μικρά παιδιά εκτεθούν σε μόλυβδο, υπάρχει η πιθανότητα μεγαλώνοντας να εμφανίσουν νοητική καθυστέρηση.

Τα παιδιά που έχουν εκτεθεί σε μόλυβδο δεν παρουσιάζουν κάποιο εμφανές σύμπτωμα, ωστόσο με μια εξέταση αίματος οι γιατροί μπορούν να αποφανθούν για το ποσοστό της έκθεση, ενώ με μια ακτινογραφία των άκρων του γίνεται εμφανής η συσσώρευση μολύβδου στα κόκαλα. [(4)Agency for Toxic Substances and Disease Registry]

Υδράργυρος

Γενικά

Ο υδράργυρος είναι ένα φυσικό στοιχείο που εμφανίζεται με τρεις μορφές στο περιβάλλον, ως μεταλλικός υδράργυρος, ως ανόργανος και ως οργανικός. Έχει χρώμα ασημί-άσπρο και γυαλίζει, είναι υγρό σε θερμοκρασία δωματίου και χρησιμοποιείται σε θερμόμετρα και σε διακόπτες ηλεκτρικών συσκευών. Σε θερμοκρασία δωματίου κάποιο ποσοστό του μεταλλικού υδραργύρου εξατμίζεται προς άοσμα και άχρωμα αέρια. Ανόργανα μίγματα υδραργύρου ή άλατα αυτού, θεωρούνται οι ενώσεις του υδραργύρου με οξυγόνο, θείο ή χλώριο, ενώ οργανικά μίγματα θεωρούνται οι ενώσεις του υδραργύρου με πιο διαδεδομένη το μεθυλυδράργυρο. Ο υδράργυρος είναι φυσικό συστατικό του περιβάλλοντος, εξορύσσεται και χρησιμοποιείται για διάφορες χρήσεις όπως για παραγωγή αέριου χλωρίου και καυστικής σόδας. Χρησιμοποιείται επίσης στα θερμόμετρα, βαρόμετρα, μπαταρίες και ηλεκτρικούς διακόπτες ενώ παλαιότερα στην οδοντιατρική. Κάποιο ανόργανα μίγματα υδραργύρου χρησιμοποιούνται για παρασκευή μυκητοκτόνων και αντιβακτηριδιακών καθώς και στις βαφές.

Υδράργυρος και περιβάλλον

Ο υδράργυρος είναι ένα φυσικό συστατικό του περιβάλλοντος που προέρχεται από τη μετάβαση των ορυκτών σε βράχους και έδαφος. Ωστόσο, η ανθρώπινη δραστηριότητα έχει συνεισφέρει στην αύξηση των εκπομπών του υδραργύρου στην ατμόσφαιρα. Πολλοί επιστήμονες έχουν εκτιμήσει ότι τα επίπεδα του υδραργύρου λόγω της βιομηχανοποίησης έχουν αυξηθεί 3 με 6 φόρες. Το 80% των εκπομπών οφείλεται στην καύση ορυκτών καυσίμων, στις ορύξεις και τον εξευγενισμό, το 15%ελευθερώνεται στο περιβάλλον από το έδαφος λόγω χρήσης λιπασμάτων, μυκητοκτόνων και αποβλήτων και το υπόλοιπο 5% από εργοστασιακά απόβλητα.

Τα βακτήρια, το φυτοπλαγκτόν και οι μύκητες έχουν την ικανότητα να μετατρέπουν ανόργανο υδράργυρο σε μεθυλυδράργυρο ο οποίος όταν έρχεται σε επαφή με το έδαφος μπορεί και παραμένει δεσμευμένος σε αυτό. Επίσης ο υδράργυρος μπορεί να γίνει μέρος της τροφικής αλυσίδας με τη μορφή μεθυλαργύρου, να συσσωρευτεί σε ψάρια και έπειτα νε μεταφερθεί και στον άνθρωπο. Από την άλλη η συσσώρευση του στα φυτά είναι συνήθως μικρή εξαιρουμένης αυτής που συμβαίνει στα μανιτάρια που αναπτύσσονται σε μολυσμένα εδάφη.

Έκθεση

Μια πιθανή πηγή έκθεσης που δύναται να μολύνει μεγάλο μέρος πληθυσμού είναι τα οδοντιατρικά αμαλγάματα. Αυτή η πηγή μπορεί να αποτελέσει μέχρι και το 75% της ημερήσιας έκθεσης ενός ατόμου σε υδράργυρο. Ο υδράργυρος χρησιμοποιείται ευρέως για την κατασκευή θερμοστατών, βαρομέτρων, θερμομέτρων και πιεσόμετρων. Ωστόσο, κίνδυνος υπάρχει μόνο σε περίπτωση ζημιάς του προστατευτικού περιβλήματος και εξάτμισης του περιεχομένου υδραργύρου. Εκτιθέμενοι είναι και οι πληθυσμοί που καταναλώνουν μολυσμένα ψάρια, εισπνέουν μολυσμένο αέρα, κυρίως περιοχές που βρίσκονται κοντά σε εγκαταστάσεις καύσης ορυκτών, ή τρώνε τρόφιμα που έχουν καλλιεργηθεί σε μολυσμένα εδάφη. Επικίνδυνα έχουν αποδειχθεί τα ζιζανιοκτόνα και συνιστάται η περιορισμένη και υπό οδηγίες χρήση τους. Επίσης, μεγάλη προσοχή πρέπει να δίνεται σε ιατρικά προϊόντα που περιέχουν υδράργυρο και που έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης τους καθώς συνετή πρέπει να είναι και η χρήση προϊόντων κοσμητικής που περιέχουν υδράργυρο-απολυμαντικά, κρέμες σώματος, αντισηπτικά-.

Πολλά επαγγέλματα παρουσιάζουν μεγάλη επικινδυνότητα έκθεσης σε υδράργυρο, κάποια από αυτά είναι εργαζόμενοι παραγωγής ηλεκτρικού εξοπλισμού, εργαζόμενοι στην επεξεργασία του μετάλλου, εργαζόμενοι στις κατασκευές και ιδιαίτερα οι ηλεκτρολόγοι καθώς και ιατρικό προσωπικό που χειρίζεται μηχανήματα ή υλικά που περιέχουν υδράργυρο.

Εισαγωγή υδραργύρου στον ανθρώπινο οργανισμό

Ο υδράργυρος μπορεί να εισέλθει στον ανθρώπινο οργανισμό με διάφορους τρόπους. Ένας από αυτούς είναι η κατάποση σωματιδίων, η οποία όμως δε θεωρείται ιδιαιτέρως επικίνδυνη διότι ο υδράργυρος δεν περνά στο αίμα. Αντιθέτως με την εισπνοή υδραργύρου το 80% της εισπνεόμενης ποσότητας περνά από τους πνεύμονες στο αίμα και έπειτα σε όλο τον οργανισμό. Όταν ο μεταλλικός υδράργυρος προσβάλλει τον εγκέφαλο μετατρέπεται σε ανόργανο και παγιδεύεται για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ο μεταλλικός υδράργυρος μπορεί επίσης να περάσει από την έγκυο γυναίκα στο αναπτυσσόμενο έμβρυο. Το μεγαλύτερο ποσοστό του υδραργύρου που συσσωρεύεται στο σώμα παραμένει στους νεφρούς, ενώ κάποιο μικρότερο στον εγκέφαλο. Ωστόσο, μεγάλες ποσότητες του απορροφημένου υδραργύρου αποβάλλονται μέσω των ούρων και των κοπράνων.

Ο ανόργανος υδράργυρος από το αίμα μεταφέρεται σε διάφορους ιστούς αλλά συνήθως αποβάλλεται εντός ολίγων εβδομάδων. Όση ποσότητα δεν αποβάλλεται συσσωρεύεται στους νεφρούς και λιγότερο εύκολα από ότι ο μεταλλικός υδράργυρος στον εγκέφαλο. Ο ανόργανος υδράργυρος μεταφέρεται επίσης δυσκολότερα από ότι ο μεταλλικός από τη μητέρα στο νεογνό, αλλά περνά σχετικά εύκολα από τη μητέρα που θηλάζει στο βρέφος.

Η μορφή του υδραργύρου που απορροφάται σε μεγαλύτερο ποσοστό από τον ανθρώπινο οργανισμό, και ιδιαίτερα από το γαστρεντερικό τοίχωμα, είναι ο μεθυλυδράργυρος, (σε ποσοστό 95% απορρόφηση). Η εισαγωγή του μεθυλυδραργύρου γίνεται κυρίως με την κατανάλωση μολυσμένων ψαριών και λιγότερο μέσω της δερματικής επαφής. Ο μεθυλυδράργυρος μπορεί όπως και ο οργανικός να μετατραπούν σε ανόργανο υδράργυρο μέσα στο ανθρώπινο σώμα. Όταν η διαδικασία αυτή συμβαίνει στον εγκέφαλο τότε ο υδράργυρος δύναται να παραμείνει στην περιοχή για μεγάλο χρονικό διάστημα. Εάν δεν απομακρυνθεί ο μεθυλυδράργυρος αμέσως μετά την έκθεση

μπορεί να παραμείνει στο ανθρώπινο σώμα για μήνες, ενώ μελέτες έχουν αποδείξει ότι διαπερνά από τη μητέρα στο βρέφος μέσω του θηλασμού.

Επιπτώσεις στην υγεία

Το νευρικό σύστημα είναι ιδιαιτέρως ευαίσθητο στον υδράργυρο. Μόνιμες βλάβες στον εγκέφαλο και τους νεφρούς έχουν αναφερθεί μετά από κατανάλωση ποσοτήτων μολυσμένων ψαριών από μεθυλυδράργυρο. Σοβαρές βλάβες έχουν επίσης αναφερθεί μετά από έκθεση σε υψηλά επίπεδα μεταλλικού υδραργύρου, ενώ δεν υπάρχουν σαφής ενδείξεις για το μέγεθος των επιπτώσεων του ανόργανου υδραργύρου στον εγκέφαλο και τους νεφρούς, εφόσον η μεταφορά του από το αίμα στα όργανα αυτά είναι μια δύσκολη διαδικασία.

Ο μεταλλικός υδράργυρος που έχει εξατμιστεί και ο οργανικός υδράργυρος προσβάλουν διάφορες περιοχές του εγκεφάλου καθώς και διάφορες λειτουργίες του. Κάποια από τα συμπτώματα που παρουσιάζονται είναι αλλαγές της προσωπικότητας (οξυθυμία, ντροπαλότητα, νευρικότητα), ρίγη, αλλαγές στην όραση (στένωση του οπτικού πεδίου), κώφωση, έλλειψη συνεργασίας των μυών και δυσκολίες στη μνήμη.

Ιδιαίτερα ευαίσθητα όπως προαναφέρθηκε είναι και οι νεφροί, διότι ο υδράργυρος συσσωρεύεται σε αυτά και προκαλεί σοβαρές βλάβες. Όλες οι μορφές του υδραργύρου προκαλούν βλάβες εάν οι ποσότητες της έκθεσης είναι μεγάλες. Υπάρχει παρόλα αυτά η δυνατότητα αυτοκαθαρισμού από τους νεφρούς εάν βεβαίως η βλάβη που έχει προκληθεί δεν είναι μεγάλη.

Μια βραχυπρόθεσμη έκθεση σε μεγάλες ποσότητες υδραργύρου ή μια μακροπρόθεσμη έκθεση σε μικρές ποσότητες (γεγονός που μπορεί να συμβαίνει σε χώρους εργασίας) προκαλεί βλάβες στο εσωτερικό του σώματος και ερεθισμούς στους πνεύμονες, που έχουν ως επακόλουθα αίσθηση βάρους στο στήθος, καψίματος των πνευμόνων και βήχα. Μελέτες έχουν επίσης δείξει ότι η έκθεση σε υδράργυρο δεν επηρεάζει την ικανότητα τεκνοποίησης, ενώ η δερματική επαφή έχει αποδειχτεί ότι προκαλεί αλλεργικές αντιδράσεις σε αρκετό πληθυσμό.

Όσον αφορά τον ανόργανο υδράργυρο, δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες για μακροπρόθεσμη έκθεση σε χαμηλές ποσότητες. Από τα υπάρχοντα δεδομένα ωστόσο αποδεικνύεται ότι εκτός από τους νεφρούς επηρεάζονται το στομάχι και τα έντερα,

προκαλώντας διάρροιες, ναυτία ή έλκη. Έχουν επίσης αναφερθεί καρδιακά προβλήματα, όπως υψηλός καρδιακός ρυθμός και πίεση, σε παιδιά που κατανάλωσαν τυχαία χλωριούχο υδράργυρο.

Όπως προαναφέρθηκε, υπάρχει σοβαρός κίνδυνος μόλυνσης των βρεφών από υδράργυρο τόσο μέσα στη μήτρα όσο και μέσω του θηλασμού από τη μητέρα. Οι επιπτώσεις γενικά είναι αντίστοιχες με αυτές των ενηλίκων. Εμφανίζεται παρόλα αυτά μια ασθένεια που σχετίζεται με την έκθεση σε υδράργυρο και παρουσιάζεται κυρίως σε παιδιά και λιγότερο σε εφήβους ή ενήλικες. Η ασθένεια ονομάζεται 'ακρωδυνία' ή 'ροζ ασθένεια' και τα συμπτώματα της είναι κράμπες των κάτω άκρων, ερεθιστικότητα και αφύσικη ερυθρότητα του δέρματος που συνοδεύεται με απολέπιση των χεριών, της μύτης και των φτερνών. Σε αρκετές περιπτώσεις έχουν αναφερθεί και φαγούρα, οιδήματα, πυρετό, υψηλή πίεση, αϋπνία και αδυναμία.

Όσον αφορά τα προβλήματα στο νευρικό σύστημα, αναφέρθηκε ότι είναι αντίστοιχα των προβλημάτων που παρουσιάζονται στους ενήλικες. Ωστόσο, η προσβολή του οργανισμού από μεθυλυδράργυρο επιφέρει σημαντικότερες επιπτώσεις σε ένα παιδί από σε κάποιον ενήλικα λόγω της ικανότητας της ουσίας να διαπεράσει ευκολότερα στον παιδικό εγκέφαλο και να παρέμβει στις λειτουργίες του.

Οι επιπτώσεις που συνδέονται με προβλήματα ανάπτυξης επέρχονται κυρίως από το μεθυλυδράργυρο. Η έκθεση ξεκινά ακόμα και όταν το βρέφος βρίσκεται στη μήτρα της μητέρας. Οι επιπτώσεις μετά από μικρή έκθεση στην ουσία είναι μικρή μείωση στο IQ ή εγκεφαλικά προβλήματα που μπορούν να εντοπιστούν με ειδικά, πολύ ευαίσθητα νευροφυσιολογικά τεστ. Σε περιπτώσεις όπου η έκθεση είναι μεγάλη οι παρατηρούμενες συνέπειες είναι πιο σοβαρές. Σε πολλές τέτοιες περιπτώσεις οι επιπτώσεις δεν εμφανίζονται άμεσα με τη γέννηση του βρέφους αλλά αργότερα. Παρουσιάζει αργή ανάπτυξη, όσον αφορά το περπάτημα ή την ομιλία, ενώ σε πιο δύσκολες περιπτώσεις εμφανίζονται προβλήματα στον εγκέφαλο, πνευματική καθυστέρηση, έλλειψη συνεργασίας των μυών και ανικανότητα κίνησης. Άλλες πιθανές επιπτώσεις σε παιδιά των οποίων η μητέρα είχε εκτεθεί σε μεγάλες ποσότητες υδραργύρου είναι η τύφλωση, αποπληξία, αδυναμία και ανικανότητα ομιλίας.

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η σοβαρότητα της έκθεσης είναι μεγάλης σημασίας, ιδίως όταν γίνεται αναφορά σε παιδιά, ενώ δεν πρέπει κανείς να ξεχνά ότι ο

βαθμός των επιπτώσεων είναι συνάρτηση τόσο του μεγέθους της έκθεσης όσο και της διάρκειας. [(5)Agency for Toxic Substances and Disease Registry]

Μαγγάνιο

Γενικά

Το μαγγάνιο είναι ένα φυσικό στοιχείο που βρίσκεται σε διάφορα είδη πετρωμάτων δίχως ιδιαίτερη οσμή ή γεύση. Το καθαρό μαγγάνιο έχει ασημί χρώμα, ωστόσο δε συναντάται σε αυτήν την μορφή στο περιβάλλον, αλλά σε συνδυασμό με άλλα στοιχεία και κυρίως οξυγόνο, θείο και χλώριο. Τα μίγματα αυτά είναι στερεής μορφής και δεν εξατμίζονται. Ωστόσο, υπάρχει η πιθανότητα να αιωρηθούν μικρά κομμάτια στον αέρα ή να διαλυθούν στο νερό. Το μαγγάνιο, όπως και όλα τα μέταλλα μπορεί να αλλάζει μορφές αλλά όχι να αποικοδομείται. Ενέργειες εκμετάλλευσης γίνονται σε περιοχές όπου τα πετρώματα έχουν υψηλά ποσοστά μαγγανίου τα οποία και εξορύσσονται. Το μαγγάνιο χρησιμοποιείται για τη παραγωγή ατσαλιού, μπαταριών, συμπληρωμάτων διατροφής καθώς και σα συστατικά κεραμικών, λιπασμάτων και ζιζανιοκτόνων. Το μαγγάνιο εμφανίζεται σε ανόργανη-προϊόντα καύσης μηχανών, σκόνη από εργοστάσια μπαταρίας-μορφή και σε οργανική-βελτιωτικά βενζίνης, ζιζανιοκτόνα, μίγμα που χρησιμοποιείται στα νοσοκομεία για διάγνωση καρκίνου.

Μαγγάνιο και περιβάλλον

Το μαγγάνιο και τα μίγματα του είναι φυσικά στοιχεία του περιβάλλοντος που απαντώνται συνήθως ως στερεά και ως μικροσωματίδια στο νερό, ενώ στον αέρα απαντώνται με τη μορφή μορίων που προσομοιάζουν σε σκόνη και απομακρύνονται από αυτόν ανάλογα με το μέγεθος, το βάρος και την πυκνότητα τους.

Εκτός από φυσικό στοιχείο, το μαγγάνιο παράγεται και από ανθρωπογενείς δραστηριότητες και κύρια από την απελευθέρωση εκπομπών από τη βιομηχανία και την καύση ορυκτών καυσίμων. Πιο συγκεκριμένα, πηγές αιωρούμενων σωματιδίων μαγγανίου αποτελούν εργοστάσια παραγωγής ατσαλιού, σιδήρου, παραγωγής ηλεκτρικής ενέργειας, σκόνη από ανεξέλεγκτες εξορυκτικές δραστηριότητες καθώς και από καύση

βενζίνης με βελτιωτικά. Το μαγγάνιο που προέρχεται από τις παραπάνω ανθρωπογενείς δραστηριότητες μπορεί να εισέλθει στο υπόγειο νερό αλλά και στο έδαφος. Μια πηγή μαγγανίου είναι τα ζιζανιοκτόνα και κυρίως τα maneb και mancozeb, τα οποία περιέχουν το μέταλλο και πιθανά να το απελευθερώνουν κατά τη διάρκεια της συσκευασίας τους ή κατά τη διάρκεια της εφαρμογής τους στις σοδειές.
Η EPA καθώς και άλλες οργανώσεις έχουν θέσει όρια συγκέντρωσης του μετάλλου για το πόσιμο νερό του δικτύου και για το εμφιαλωμένο νερό (0.05ppm), καθώς και για τις συγκεντρώσεις των αποβλήτων εργοστασίων και βιομηχανιών σε μαγγάνιο.

Έκθεση

Το μαγγάνιο είναι φυσικό στοιχείο και ως εκ τούτου η έκθεση σε αυτό είναι συνεχής και νοείται ως ‘έκθεση σε κανονικά επίπεδα’. Ωστόσο, υπάρχουν πληθυσμιακές ομάδες οι οποίες εκτίθενται σε μεγαλύτερες των κανονικών συγκεντρώσεις. Κάποιες από αυτές είναι: εργαζόμενοι σε εργοστάσια παραγωγής μαγγανίου-ορυχεία, καθώς και σε εργοστάσια παραγωγής ατσαλιού, όπου οι εργαζόμενοι εκτίθενται κυρίως στο μαγγάνιο μέσω της εισπνοής μικρών σωματιδίων. Επίσης, άνθρωποι που κατοικούν κοντά σε βιομηχανικές ζώνες, καθώς και κοντά σε εργοστάσια που χρησιμοποιούν για την παραγωγή ενέργειας καύση ορυκτών εκτίθενται σε μαγγάνιο λόγω της παρουσίας του στις εκπομπές. Στα μεγάλα αστικά κέντρα πολλοί άνθρωποι εκτίθενται καθημερινά στο μαγγάνιο-στάσεις λεωφορείων, βενζινάδικα- ενώ αντίστοιχα πολλοί αγρότες έρχονται σε επαφή με το μέταλλο κατά την εφαρμογή ζιζανιοκτόνων στις καλλιέργειες τους. Οι απλοί πολίτες μπορούν να αποφύγουν την έκθεση σε μαγγάνιο ξεπλένοντας καλά τα φρούτα και τα λαχανικά ώστε πιθανά υπολείμματα να απομακρύνονται.

Εισαγωγή μαγγανίου στον ανθρώπινο οργανισμό

Το μαγγάνιο εισάγεται στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της τροφής και του νερού καθώς και από τον εισπνεόμενο αέρα και σε συγκεντρώσεις απαραίτητες για τη διατήρηση της σωστής υγείας. Ωστόσο, κάτοικοι περιοχών με εργοστάσια πιθανώς να εισπνέουν αέρα με υψηλή συγκέντρωση σε μαγγάνιο ή να τρέφονται με τροφές και να

πίνουν νερό με συγκεντρώσεις σε μαγγάνιο μεγαλύτερες από τις φυσιολογικές. Συνήθως το 3% με 5% της ποσότητας μαγγανίου που εισέρχεται στον οργανισμό παραμένει σε αυτόν. Στην περίπτωση εισπνοής, τα μικροσωματίδια μαγγανίου εισέρχονται στα πνευμόνια και πιθανά με τη διάλυση τους να εισαχθούν στα αίμα. Ωστόσο, ακόμα δεν έχει ποσοτικοποιηθεί το ακριβές ποσοστό που μπορεί να περάσει από τα πνευμόνια στο αίμα. Γενικά, ο ανθρώπινος οργανισμός έχει την ικανότητα να διατηρεί μια ισορροπία όσον αφορά την ποσότητα του μαγγανίου και υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί αυτοπροστασίας, ωστόσο, εάν η λαμβανόμενη ποσότητα είναι πολύ μεγάλη ο οργανισμός μπορεί να αποτύχει στην προσπάθεια του να την αφομοιώσει.

Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το μαγγάνιο είναι αναγκαία ουσία για τη διατήρηση της υγείας των ανθρώπων και η έλλειψη του μπορεί να προκαλέσει θρόμβωση, δερματικά προβλήματα, αλλαγές στο χρώμα των τριχών, χαμηλή χοληστερίνη και προβλήματα στο μεταβολισμό.

Ωστόσο, η υπερβολική λήψη μαγγανίου μπορεί επίσης να προκαλέσει πολλά προβλήματα. Εργαζόμενοι σε ορυχεία μαγγανίου που έχουν εκτεθεί σε υψηλά ποσοστά μαγγανίου παρουσιάζουν διανοητικά και συναισθηματικά προβλήματα, ενώ οι κινήσεις τους γίνονται αδέξιες και αργές. Ο συνδυασμός των παραπάνω συμπτωμάτων χαρακτηρίζει μια ασθένεια που ονομάζεται ‘manganise’ και προσβάλει άτομα που έχουν υποστεί χρόνια έκθεση σε μαγγάνιο, το οποίο και τελικά προσβάλει το μέρος εκείνο του εγκεφάλου που ελέγχει τις κινήσεις του σώματος. Τα περισσότερα συμπτώματα πιθανά να βελτιωθούν έπειτα από φαρμακευτική αγωγή, ωστόσο η βλάβη στον εγκέφαλο θεωρείται χρόνια και αργά ή γρήγορα και με τη διακοπή των φαρμάκων τα συμπτώματα επιστρέφουν. Εργαζόμενοι σε εργασίες όπου το επίπεδο έκθεσης είναι μικρότερο σε σύγκριση με τους εργαζομένους σε ορυχεία εμφανίζουν ελαφρύτερης μορφής συμπτώματα.

Μελέτες έχουν δείξει ότι η εισπνοή σωματιδίων μαγγανίου έχει ως αποτέλεσμα την εμφάνιση νευρολογικών προβλημάτων παρόμοιων με αυτά που παρουσιάζουν εργαζόμενοι που εκτίθενται καθημερινά στο χώρο εργασίας τους σε μαγγάνιο. Τα προβλήματα ήταν πιο έντονα σε άτομα ηλικίας άνω των 50 ετών.

Διάφορες μελέτες έχουν διεξαχθεί για τον προσδιορισμό των επιπτώσεων από την έκθεση σε μαγγάνιο. Μια από αυτές έδειξε ότι η πόση νερού ψηλής συγκέντρωσης σε μαγγάνιο είχε ως αποτέλεσμα να παρουσιαστούν επιπτώσεις ανάλογες του 'manganise', ενώ σε κάποια άλλη μελέτη, η πόση επίσης νερού με μαγγάνιο επέφερε στα άτομα που έλαβαν μέρος μυϊκούς πόνους, αδυναμία και τρεμάμενα χέρια. Σε μια τρίτη μελέτη, το αποτέλεσμα της λήψης τροφής πλούσιας σε μαγγάνιο ήταν να προκληθούν αρρώστιες που προσβάλουν το νευρικό σύστημα.

Η εισπνοή σωματιδίων μαγγανίου προκαλεί αναπνευστικά προβλήματα και ενόχληση των πνευμόνων, ενώ καθιστά το άτομο επιρρεπές σε αρρώστιες του αναπνευστικού, όπως πνευμονία. Η μακροχρόνια εισπνοή σωματιδίων μαγγανίου φέρεται αν είναι υπεύθυνη για την ανικανότητα που παρουσιάζουν κάποιοι άνδρες για τεκνοποίηση. Γίνονται έρευνες για τη διερεύνηση και χαρακτηρισμό του μαγγανίου ως καρκινογόνου ή όχι στοιχείου. Κάποια πειράματα σε ζώα έχουν καταλήξει στο ότι το μαγγάνιο ευθύνεται για κάποιου είδους καρκίνο, ωστόσο σύμφωνα με την EPA το μαγγάνιο δε συγκαταλέγεται στα χαρακτηρισμένα ως καρκινογόνα στοιχεία.

Γενικά έχει αποδειχτεί ότι τα αποτελέσματα είναι μεγαλύτερης κλίμακας στα άτομα ηλικίας άνω των 50 ετών, ωστόσο κατηγορία υψηλού κινδύνου θεωρούνται τα παιδιά. Δυο μελέτες που διεξήχθησαν σε παιδιά έδειξαν ότι αυτά που είχαν λάβει μεγαλύτερες του κανονικού ποσότητες μαγγανίου μέσω τροφής και νερού επέδειξαν χαμηλές επιδόσεις στο σχολείο και σε τεστ μέτρησης συντονισμού. Προβλήματα έχουν επίσης αναφερθεί για παιδιά που λόγω βλάβης στο συκώτι δεν μπορούν να αποβάλουν το πλεονάζων μαγγάνιο. Τα παιδιά αυτά παρουσιάζουν αδυναμία συντονισμού και κίνησης των άκρων τους, μη ισορροπία κατά το βάδισμα και τρεμούλιασμα των χεριών. Τέλος, υπάρχουν στοιχεία που συντελούν στο ότι έκθεση σε μεγαλύτερα του κανονικού επίπεδα μαγγάνιο έχουν ως πιθανό αποτέλεσμα την αποβολή εμβρύων από έγκυες γυναίκες. [(6)Agency for Toxic Substances and Disease Registry]

Κεφάλαιο 2ο

Βιοδιαθεσιμότητα

Πριν την ανάλυση της 'βιοδιαθεσιμότητας' θεωρείται απαραίτητη η ερμηνεία της 'βιοδιαποικοδόμησης'(biodegradation) καθώς και της βιοαποκατάστασης (bioremediation). Αρκετοί μελετητές έχουν ορίσει τη βιοαποικοδόμηση ως τη μερική απλοποίηση ή την ολική καταστροφή ενός μορίου από ρυπαντές διαμέσου σύνθετων αντιδράσεων που καταλύονται με τη βοήθεια μικροοργανισμών και φυτών. Η βιοαπακατάσταση έχει οριστεί ως η σκόπιμη βιοαποικοδόμηση ή συσσώρευση ενός ρυπαντή με σκοπό την αποβολή του από την περιοχή όπου έχει αποτεθεί. Οι τεχνικές βιοαποκατάστασης χρησιμοποιούν τις δυνατότητες των μικροοργανισμών και των φυτών για να εξαλειφθεί ή να μειωθεί η συγκέντρωση ενός ρυπαντή σε ανεκτά επίπεδα.(EPA, Report on Bioavailability of Chemical Wastes With Respect to the Potential for Soil Bioremediation). Παρόλα αυτά, τα βαρέα μέταλλα , καθώς είναι ανόργανες ουσίες δεν μπορούν να βιοαποικοδομηθούν, δύναται όμως να μεταβληθεί η κινητικότητα τους διαμέσου αντιδράσεων οξειδοαναγωγής, απορρόφησης, μεθυλίωσης και καθίζησης με τη διαμεσολάβηση μικροοργανισμών ή φυτών.

Έχουν δοθεί πολλές ερμηνείες του όρου 'βιοδιαθεσιμότητα'. Κάποιες από αυτές είναι οι παρακάτω:

Ο πρώτος ορισμός έγινε από τους Southgate *et al*., 1989 και σύμφωνα με αυτούς:

' Μέχρι προσφάτως ήταν κοινή πεποίθηση 'ότι η θρεπτική αξία των τροφών ήταν συνώνυμη της θρεπτικής τους σύνθεσης, όπως αυτή καθορίζεται από τη χημική ανάλυσή τους. Οι περιορισμοί της πεποίθησης αυτής έγιναν αντιληπτοί κυρίως σε σχέση με την κατανάλωση ιχνοστοιχείων, ενώ πρόσφατα πολλές μελέτες δίνουν έμφαση στην ανάγκη κατανόησης και ποσοτικοποίησης της εντερικής απορρόφησης και του επακόλουθου μεταβολισμού όλων των θρεπτικών κατηγοριών.

Η βιοδιαθεσιμότητα έχει οριστεί ως το κλάσμα του θρεπτικού συστατικού το οποίο απορροφάται και μεταβολίζεται μέσω φυσικών μονοπατιών. Ο ορισμός αυτός περιέχει δύο πορίσματα: Πρώτον, ότι η βιοδιαθεσιμότητα δεν είναι ιδιότητα της τροφής αλλά της ανταπόκρισης του ατόμου σε αυτήν. Δεύτερον, απεικονίζει την ενσωμάτωση των διεργασιών μέσω των οποίων μια θρεπτική ουσία που έχει εισέλθει στο στομάχι γίνεται βιοδιαθέσιμη.

Ο παραπάνω ορισμός μπορεί να αφορά την επιστήμη της διαιτολογίας, παρόλα αυτά εμπεριέχει ενδιαφέροντα θέματα, όπως οι ότι χημικές αναλύσεις πιθανά να υπερεκτιμούν το ποσό μιας ουσίας που πραγματικά απορροφάται και μεταβολίζεται, καθώς και ότι η βιοδιαθεσιμότητα δεν είναι κληρονομική ιδιότητα των ουσιών που εξετάζονται αλλά περισσότερο αντανακλά την ανταπόκριση ενός συστήματος σε κάποιες διεργασίες.

Ο Alexander έδωσε το 1999 στα πλαίσια μιας εργασίας του για τη βιοαποικοδόμηση και τη βιοαποκατάσταση έναν άλλο ορισμό για τη βιοδιαθεσιμότητα, κάνοντας την μετάβαση από τη διατροφή του ανθρώπου στους χημικούς ρυπαντές στο έδαφος. Σύμφωνα με τον Alexander:

Η διαθεσιμότητα πολλών χημικών ουσιών επηρεάζεται από διάφορες διεργασίες. Σε κάποιες από αυτές, το μίγμα είναι ευδιάκριτο και μπορεί να απομακρυνθεί άμεσα με συμβατικές μεθόδους εξαγωγής. Η απόδειξη της μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας αυτών των μιγμάτων είναι η παρατηρούμενη μείωση του ρυθμού βιοαποικοδόμησης. Σε άλλες διεργασίες, το μίγμα μπορεί να απομακρυνθεί μόνο με τεχνικές έντονης εξαγωγής. Η απόδειξη μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας ενός τέτοιου μίγματος είναι η παρατηρούμενη μείωση του ρυθμού βιοαποικοδόμησης με το χρόνο ή η σχεδόν ολοκληρωτική αντίσταση του μορίου στην καταστροφή που προκαλούν τα μικρόβια.

Σε αυτό το στάδιο της ανάπτυξης της γνώσης ενός θέματος το οποίο χαρακτηρίζεται από σύγχυση είναι συνετό να γίνει διαχωρισμός τριών κατηγοριών μορίων μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας:

- *Μη απορροφημένα μίγματα σε μικροπόρους σε κάποια απόσταση από τα κύτταρα που έχουν τα απαιτούμενα ένζυμα.*

- *Μίγματα τα οποία είτε εισέρχονται και συγκρατούνται μέσα σε νανοπόρους, είτε κατανέμονται μέσα στα στερεά, και*
- *Χημικά τα οποία δημιουργούν σύμπλοκα με χουμικά συστατικά δημιουργώντας μοριακά είδη, τα οποία αν και περιέχουν το αρχικό μόριο θεωρούνται νέο είδος.*

Στα παραπάνω μίγματα πρέπει να προστεθούν και αυτά που είναι ελάχιστα βιοδιαθέσιμα , λόγω της απορρόφησης τους σε στερεές επιφάνειες ή λόγω της παρουσίας τους με NAPLs (Non-Aqueous Phase Liquids) στην άμεση περιοχή του μικροβιακού κυττάρου που έχει τα κατάλληλα ένζυμα.

Οι Scow and Johnson το 1997, στα πλαίσια μιας εργασίας τους για τις γεωεπιστήμες, έδωσαν έναν ορισμό που αφορά τόσο τους οργανικούς ρυπαντές όσο και τη βιοδιαθεσιμότητα των **βαρέων μετάλλων**. Οι Scow and Johnson υποστηρίζουν ότι είναι πολλές οι διεργασίες που εκτελούνται στους οργανικούς και χημικούς ρυπαντές που υπάρχουν στα εδάφη για τη μείωση της τοξικής και μικροβιακής διαθεσιμότητας. Σύμφωνα με τους Scow and Johnson

Ο όρος <u>βιοδιαθεσιμότητα</u> προσδιορίζει την κατάσταση του χημικού κλάσματος που είναι διαθέσιμο για λήψη ή/και μεταφορά από ζώντες οργανισμούς. Αν και σχετίζεται αρχικά με την οικοτοξικότητα, και συχνά αναφέρεται σε οργανικούς και χημικούς ρυπαντές , ο όρος βιοδιαθεσιμότητα σχετίζεται και με φυσικά οργανικά συστατικά. Ωστόσο, το «πρόβλημα» της βιοδιαθεσιμότητας υπάρχει για τους μικροοργανισμούς πολύ περισσότερο διάστημα από ότι έχει υπάρξει η παρουσία ξενοβιοτικών χημικών στο περιβάλλον.

Η απορρόφηση, η μη διαλυτότητα και άλλες σχετικές διεργασίες ελέγχουν τη βιοδιαθεσιμότητα πολλών ρυπαντών στους μικροοργανισμούς στο έδαφος και τα ιζήματα.

Οι Baveye and Bladon έδωσαν το 1999 έναν ορισμό της βιοδιαθεσιμότητας, δίνοντας βάση κυρίως στην τοξικολογία, τη φυσική και τη χημεία των οργανικών ουσιών. Σύμφωνα με τους Baveye and Bladon:

Η ιδέα της βιολογικής διαθεσιμότητας προτάθηκε για πρώτη φορά το 1975 στο συνέδριο National Science Foundation, που αφορούσε τις διεργασίες που εξελίσσονται σε ένα

οικοσύστημα και τους οργανικούς ρυπαντές. Η ερμηνεία της βιοδιαθεσιμότητας στηρίχθηκε τότε στη χημεία. Από τότε οι χημικοί και οι βιολόγοι έχουν αναπτύξει ανεξάρτητες ερμηνείες για τη βιοδιαθεσιμότητα. Οι χημικοί έχουν ορίσει τη βιοδιαθεσιμότητα στα πλαίσια της χημικής μορφής με την οποία εμφανίζεται ένα στοιχείο ή ένα μίγμα μια δεδομένη στιγμή. Αντίστοιχα, οι βιολόγοι έχουν υποθέσει ότι η χημική μορφή είναι σχετική μόνο με την παρουσία ενός αποδέκτη. Ωστόσο, έχουν ορίσει τη βιοδιαθεσιμότητα βασιζόμενοι στο ποσοστό του μίγματος το οποίο θα μπορούσε να διαπεράσει έναν οργανισμό κάτω από ορισμένες συνθήκες.

Σύμφωνα πάντα με τους Baveye and Bladon δεν θεωρείται αναγκαίο να γίνει επιλογή ενός από τους δύο τρόπους προσέγγισης του θέματος, δηλαδή της ερμηνεία της βιοδιαθεσιμότητας θεωρώντας είτε μόνο το ποσό ενός ξενοβιοτικού οργανισμού που μπορεί να διαπεράσει ένα εξωτερικό όριο ή της προσέγγισης που σχετίζει την απορροφημένη ποσότητα με την ικανότητα του περιβάλλοντος ενός οργανισμού να παρέχει ή ελευθερώσει τον ξενοβιοτικό οργανισμό.

Ο Maier το 2000 έδωσε μια άλλη ερμηνεία του όρου, δίνοντας έμφαση στο Page: 31 μεταβολισμό οργανικών ρυπαντών από μικροοργανισμούς

Σύμφωνα με τον Maier:

Η βιοδιαθεσιμότητα μπορεί να οριστεί ως το ποσό του ρυπαντή που μπορεί να ληφθεί άμεσα από μικροοργανισμούς και να αποικοδομηθεί. Η σπουδαιότητα της βιοδιαθεσιμότητας έγκειται στο ότι ελέγχει τους ρυθμούς βιοαποικοδόμησης. Η βιοδιαθεσιμότητα ελέγχει τη βιοαποικοδόμηση διότι τα μικροβιακά κύτταρα πρέπει να καταναλώσουν ενέργεια για ενεργοποιήσουν γονίδια που ελέγχουν καταβολικά μονοπάτια. Εάν η συγκέντρωση του ρυπαντή είναι πολύ μικρή η παραπάνω πρόκληση δεν συμβαίνει. Ενδογενείς μικροβιακοί πληθυσμοί που ζουν σε εδάφη συνήθως αναπτύσσονται με αργούς ρυθμούς ενώ συχνά ζουν σε περιβάλλοντα φτωχά σε θρεπτικά συστατικά. Η παρουσία ρυπαντών επιφέρει σημαντικές επιπτώσεις στις μεταβολικές ιδιότητες τέτοιων κυττάρων. Υπάρχουν τρεις περιπτώσεις αποτελεσμάτων από τη διαφοροποίηση της βιοδιαθεσιμότητας των ρυπαντών. Στην πρώτη δε θα συμβεί βιοαποικοδόμηση διότι το βιοδιαθέσιμο ποσό του ρυπαντή δεν θα είναι αρκετό για να δικαιολογηθεί η δαπάνη ενέργειας για την πρόκληση βιοαποικοδόμησης. Στη δεύτερη περίπτωση, σε χαμηλές συγκεντρώσεις βιοδιαθέσιμου

ποσού, τα μικροβιακά κύτταρα πιθανά να βιοαποικοδομήσουν τους ρυπαντές, λειτουργώντας όμως περισσότερο σε λανθάνουσα κατάσταση (resting stage) παρά σε ενεργητική (growing stage).Σε αυτήν την περίπτωση θα συμβεί βιοαποικοδόμηση, η οποία όμως θα είναι περιορισμένη μιας και νέα κύτταρα δε θα δημιουργούνται. Στην τρίτη περίπτωση, θα υπάρχει αρκετός βιοδιαθέσιμος ρυπαντής για να προκαλέσει βιοαποικοδόμηση σε ενεργό στάδιο. Σε αυτήν την περίπτωση έχουμε τους ευνοϊκότερους ρυθμούς αποκατάστασης.

Υπάρχουν ωστόσο διάφοροι περιορισμοί που πιθανά να περιορίσουν τη βιοδιαθεσιμότητα των οργανικών μιγμάτων στο περιβάλλον. Κάποιες από αυτές μπορεί να είναι χαμηλή διαλυτότητα, η απορρόφηση και αποκλεισμός μικροπόρων.

Μια άλλη ερμηνεία δίνουν οι *Bosma et al.,1997* , στα πλαίσια εργασίας τους για τον περιορισμό της βιοδιαθεσιμότητας οργανικών μιγμάτων λόγω μεταφοράς μάζας σε εδάφη Συγκεκριμένα:

Ειδικά σε περιοχές μολυσμένες για μεγάλα χρονικά διαστήματα, κάποιο μέρος του ρυπαντή δεν μπορεί να βιοαποικοδομηθεί Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα των ρυπαντών σε εδάφη και ιζήματα που έχουν μολυνθεί για παρατεταμένα χρονικά διαστήματα και η αιτία πρέπει να αναζητηθεί στον ρυπαντή και όχι στα θρεπτικά συστατικά. Η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας με το χρόνο αναφέρεται από πολλούς ως 'γήρανση' και μπορεί να προκληθεί από:

- *Αντιδράσεις χημικής οξείδωσης και ενσωμάτωσης των παραγώγων στο φυσική οργανική ύλη.*
- *Αργής διάχυσης του ρυπαντή σε πολύ μικρούς πόρους και απορρόφηση τους σε οργανική ύλη.*
- *Μετασχηματισμό ημι-άκαμπτων φιλμ γύρω από NAPLs (non-aqueous-phase liquids) που θα παρουσιάζουν μεγάλη αντίσταση έναντι μεταφοράς.*

Το 1997 ο Alexander έδωσε μια ερμηνεία του όρου βιοδιαθεσιμότητα στα πλαίσια μιας εργασίας του για τη διαχείριση μολυσμένων εδαφών από οργανικούς ρύπους. Σύμφωνα με τον Alexander :

Είναι σημαντικό να γίνει μια παρατήρηση όσον αφορά τον όρο βιοδιαθεσιμότητα . Κάποιες φορές θεωρείται συνώνυμος της τοξικότητας για ένα ή παραπάνω είδη, κάποιες φορές ισοδύναμος με τη βιοαποικοδόμηση από μικροοργανισμούς και κάποιες άλλες συνώνυμος της λήψης ή της αφομοίωσης. Ένα μίγμα μπορεί να αφομοιωθεί και, αν και τοξικό, να μην προκαλέσει ζημιά διότι δεν μεταφέρθηκε σε ιστό, κύτταρο ή ενδοκυτταρική περιοχή όπου η τοξικότητα μπορεί να εκδηλωθεί. Κάποια χημική ουσία μπορεί να προσληφθεί από μικροβιακά κύτταρα αλλά και σε αυτήν την περίπτωση να μην βιοαποικοδομείται λόγω έλλειψης των απαραίτητων καταβολικών ενζύμων. Ωστόσο, οι όροι 'λήψη' και 'αφομοίωση' προσεγγίζουν καλύτερα τη βιοδιαθεσιμότητα. Λόγω της μικρής έρευνας πάνω στο θέμα ο όρος βιοδιαθεσιμότητα μπορεί να χρησιμοποιείται εμπεριέχοντας και τις έννοιες της τοξικότητας και της βιοαποικοδόμησης.

Οι *Loehr et al* το 1997 ασχολήθηκαν με την τοξικολογία και τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των οργανικών ουσιών, των εκρηκτικών υλών και των μετάλλων σε εδάφη τονίζοντας ότι η βιοδιαθεσιμότητα είναι ένα μέτρο που εξαρτάται από τον υποδοχέα, τη διαδρομή λήψης, το χρόνο της έκθεσης και το στοιχείο που περιέχει το χημικό. Συγκεκριμένα:

Η βιοδιαθεσιμότητα είναι ένα μέτρο της πιθανότητας που έχει μια χημική ουσία να εισέλθει στον οργανισμό ενός αποδέκτη. Είναι σχετική με το βιολογικό είδος του υποδοχέα, τη διαδρομή εισόδου, το χρόνο της έκθεσης καθώς και το στοιχείο που περιέχει το χημικό.

Είναι ευρέος αναγνωρισμένο ότι η ανταπόκριση ενός οικοσυστήματος ή ενός πληθυσμού που βρίσκεται σε κίνδυνο δεν εξαρτάται από τη συνολική συγκέντρωση μιας χημικής ουσίας στο μέσο το οποίο ο αποδέκτης ανήκει, αλλά ελέγχεται μόνο από το ποσοστό το οποίο είναι βιολογικά διαθέσιμο. Ωστόσο, τα δυσμενή αποτελέσματα που επιφέρει η έκθεση των εδαφών σε ρύπους εξαρτώνται κυρίως από τις φυσικοχημικές διεργασίες που οδηγούν στην απομόνωση (sequestration) καθώς και από τις βιολογικές διεργασίες που πιθανά θα οδηγήσουν στην χημική αποδέσμευση (release) και συσσώρευση σε ένα οικοσύστημα. Για την καθιέρωση ορίων ποιότητας εδαφών , είναι αναγκαίο να μελετηθούν και να γίνουν πιο κατανοητές οι φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες και μηχανισμοί που ελέγχουν τη χημική αποδέσμευση και λήψη ρύπων από εδάφη και ιζήματα.

Ζητήματα που εμπεριέχονται στον όρο βιοδιαθεσιμότητα:

<u>Φυσικοχημική βιοδιαθεσιμότητα:</u> Το κλάσμα μιας χημικής ουσίας που δεν απομονώνεται σε κάποια στερεά ουσία και καθίσταται ανενεργό.

<u>Άμεση βιοδιαθεσιμότητα</u>: Όλη ή μέρος της χημικής ουσίας που δεν απομονώνεται και είναι άμεσα διαθέσιμο προς είσοδο σε συγκεκριμένους υποδοχείς και που εξαρτάται άμεσα από τη διαδρομή και τη διάρκεια της έκθεσης.

<u>Βιοδιαθεσιμότητα που ενεργοποιείται από οργανικά ουσίες:</u>

Το κλάσμα μιας χημικής ουσίας ,που πιθανά αρχικά να θεωρείται απομονωμένη, όπου είναι διαθέσιμη έπειτα από επεξεργασία του εδάφους/ιζήματος από μικροοργανισμούς.

Βασικά, η βιοδιαθεσιμότητα ορίζεται από συνθήκες πεδίου και όλες οι δοκιμές και οι υποκαταστάτες που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της βιοδιαθεσιμότητας πρέπει να υπόκεινται έλεγχο της αξιοπιστίας τους από μετρήσεις πεδίου

[(7)Madsen Eugene, 2003.]

Σύμφωνα με το U.S National Research Council (2003) οι διεργασίες που αφορούν τη βιοδιαθεσιμότητα, περιλαμβάνουν την απελευθέρωση ενός ρυπαντή, τη μεταφορά του, την άμεση επαφή και λήψη του από μια βιολογική μεμβράνη και την ενσωμάτωση του σε κάποιο βιολογικό σύστημα.

Σύμφωνα με την EPA και το Framework for Metals Risk Assessment που έχει συνταχθεί από τους επιστήμονες της κρίνεται αναγκαίο να ερμηνευθούν συνοπτικά οι έννοιες της βιοπροσιτότητας (bioaccessibility), βιοδιαθεσιμότητας (bioavailability), της βιοσυσσώρευσης (bioaccumulation) και της βιοσυγκέντρωσης (bioconcentration).

- Η βιοπροσιτότητα: αναφέρεται στην ποσότητα του περιβαλλοντικά διαθέσιμου μετάλλου που αλληλεπιδρά με την επιφάνεια επαφής ενός οργανισμού (πχ μεμβράνη), και είναι διαθέσιμο να απορροφηθεί. Περιβαλλοντικά διαθέσιμο μέταλλο είναι θεωρείται το συνολικό ποσό ενός μετάλλου που είναι διαθέσιμο για ώστε να δεχθεί φυσικές, χημικές και βιολογικές επιρροές μετατροπής (πχ μεταφορά), και δεν είναι απομονωμένο σε ένα περιβαλλοντικό στοιχείο.

— Βιοδιαθεσιμότητα ενός μετάλλου είναι η έκταση στην οποία βιοπροσιτά μέταλλα μπορούν να απορροφηθούν μέσα ή πάνω και διαμέσου των μεμβρανών των οργανισμών, εκφρασμένο σαν κλάσμα της συνολικής ποσότητας του μετάλλου στο οποίο ο οργανισμός εκτίθεται άμεσα-επιφάνεια ρόφησης- σε κάποιο συγκεκριμένο διάστημα και υπό συγκεκριμένες συνθήκες,
— Βιοσυσσώρευση είναι η καθαρή συγκέντρωση ενός μετάλλου σε δεδομένο ιστό ενός οργανισμού και είναι το αποτέλεσμα της έκθεσης του οργανισμού σε όλα τα μέσα- αέρα, νερό, εδάφη, ιζήματα- και απεικονίζει την καθαρή ισορροπία μάζας μεταξύ λήψης και απέκκρισης.
— Βιοσυγκέντρωση είναι η καθαρή συσσώρευση ενός μετάλλου σε έναν οργανισμό που είναι αποτέλεσμα μονάχα της άμεσης λήψης από υδάτινο περιβάλλον.

Η βιοδιαθεσιμότητα ενός μετάλλου, συνεπώς και ο επακόλουθος κίνδυνος διαφέρει ανάλογα με τις φυσικές, χημικές και βιολογικές συνθήκες κάτω από τις οποίες εκτίθεται ένας οργανισμός.

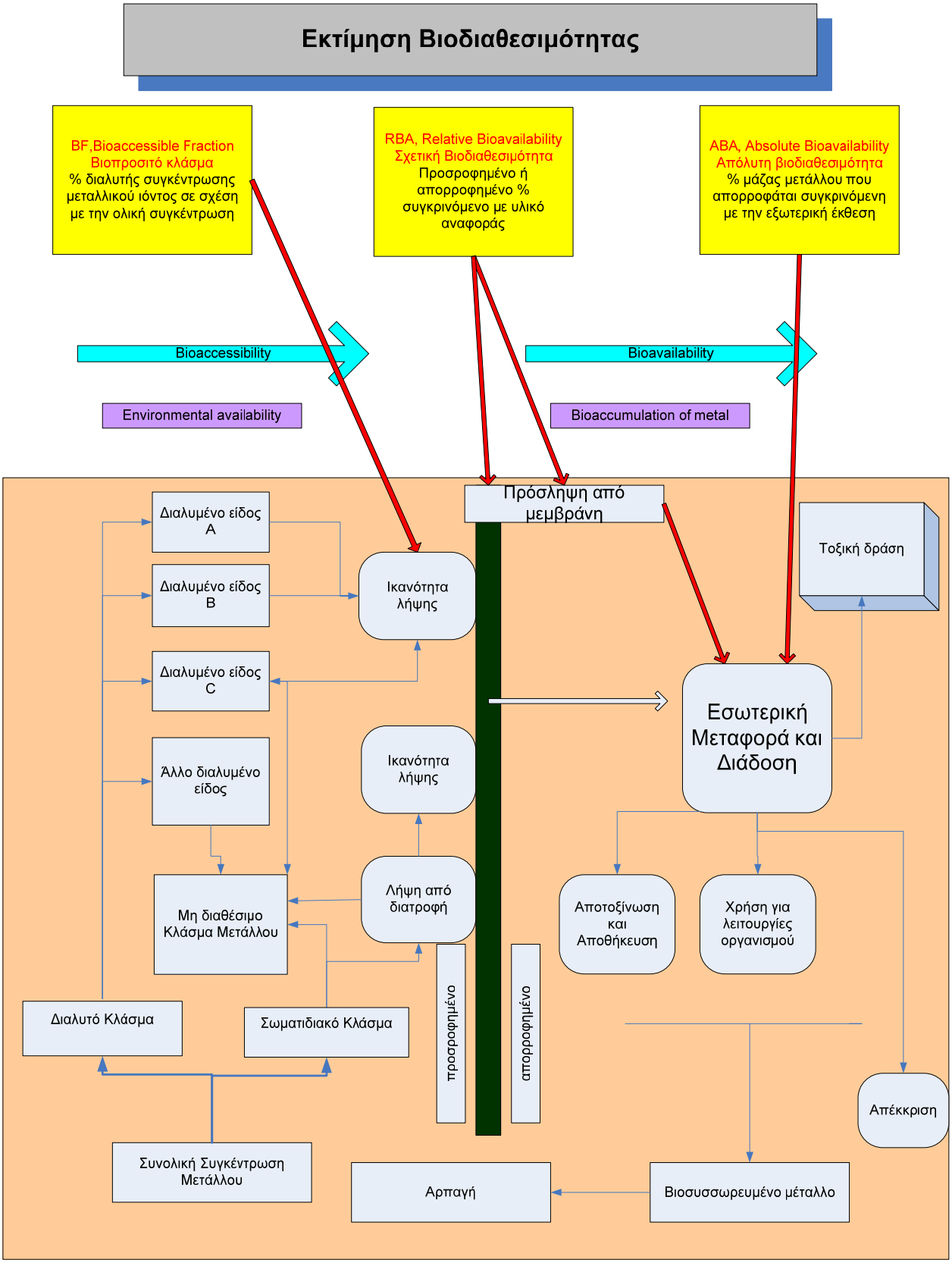
Η βιοδιαθεσιμότητα είναι ένα ορισμένο μέγεθος μέτρησης όσον αφορά τα σπονδυλωτά, όπου η λήψη ενός μετάλλου θεωρείται άμεση λειτουργία της συγκέντρωσης του στη διατροφή. Δεν είναι παρά ταύτα μια αντίστοιχα απλή διαδικασία όσον αφορά άλλους ανώτερους οργανισμούς όπου η κατανάλωση τροφής είναι δύσκολο να μετρηθεί και όπου τα μέταλλα βρίσκονται στο άμεσο περιβάλλον του οργανισμού, έχοντας τη δυνατότητα να εισαχθούν στον οργανισμό και με άλλους τρόπους εκτός της διατροφής. Σε αυτήν την περίπτωση, η βιοδιαθεσιμότητα πρέπει να θεωρηθεί περισσότερο ως εννοιολογικός όρος και όχι ως μετρήσιμο μέγεθος..

Η περιβαλλοντική διαθεσιμότητα αναφέρεται στην ικανότητα του μετάλλου να αντιδρά με άλλα στοιχεία και να υπόκειται σε διάφορες διεργασίες μεταφοράς και αλλαγής φύσης. Ένα διαθέσιμο μέταλλο δεν απομονώνεται σε σημείο του περιβάλλοντος και αποτελεί το συνολικό ποσό ενός μετάλλου που δυνητικά μπορεί να θεωρηθεί ως βιοδιαθέσιμο, σε δεδομένη στιγμή και υπό ορισμένες συνθήκες (πχ δυνατότητα επαφής και εισόδου σε οργανισμό). Η διαθεσιμότητα ενός μετάλλου, σύμφωνα με τα παραπάνω θεωρείται δυναμική ιδιότητα, η οποία αλλάζει σύμφωνα με τις περιβαλλοντικές αλλαγές. Το βιοδιαθέσιμο κλάσμα (BF, Bioaccessible Fraction) ενός μετάλλου είναι το κλάσμα

του περιβαλλοντικά διαθέσιμου μετάλλου που αλληλεπιδρά με την επιφάνεια επαφής του οργανισμού και είναι δυνητικά διαθέσιμο για να απορροφηθεί από τον οργανισμό.

Οι ιδιότητες που αφορούν τη βιοπροσιτότητα, τη βιοδιαθεσιμότητα και τη βιοσυγκέντρωση συσχετίζονται και μπορεί να αφορούν αβιοτικούς (πχ οργανικός άνθρακας) ή βιοτικούς παράγοντες (πχ λήψη και μεταβολισμός). Η επίτευξη μιας συνεπούς και ακριβούς μεθόδου μέτρησης της ποσοτικής διαφοράς- δημιουργία άμεσα συγκρίσιμων μεγεθών- της βιοδιαθεσιμότητας ανάμεσα στα μέταλλα που υπάρχουν στο περιβάλλον.

Παρακάτω παρουσιάζεται μια σχηματική εκτίμηση των διαδικασιών βιοδιαθεσιμότητα. Ο BF μετράται χρησιμοποιώντας *in vitro* μεθόδους (πχ τεχνητό στομάχι), αλλά θα έπρεπε να ελέγχεται η αξιοπιστία του με *in vivo* μεθόδους.. Ο RBA συνήθως εκτιμάται ως το σχετικό απορροφούμενο κλάσμα, συγκρινόμενο με κάποιο μεταλλικό άλας αναφοράς(συνήθως υπολογίζεται βάση της δόσης και χρησιμοποιείται για την εκτίμηση κινδύνου στον άνθρωπο). Ο ABA είναι δυσκολότερο να μετρηθεί και χρησιμοποιείται λιγότερο για την εκτίμηση κινδύνου στον άνθρωπο και περισσότερο για εκτίμηση οικολογικού κινδύνου όταν εκτιμάται η βιοσυσσώρευση τροφική μεταφορά.
[(8)Fairbrother Anne et al. 2007]


Εκτίμηση Βιοδιαθεσιμότητας
BF,Bioaccessible Fraction
Βιοπροσιτό κλάσμα
% διαλυτής συγκέντρωσης μεταλλικού ιόντος σε σχέση με την ολική συγκέντρωση
RBA, Relative Bioavailability
Σχετική Βιοδιαθεσιμότητα
Προσροφημένο ή απορροφημένο % συγκρινόμενο με υλικό αναφοράς
ABA, Absolute Bioavailability
Απόλυτη βιοδιαθεσιμότητα
% μάζας μετάλλου που απορροφάται συγκρινόμενη με την εξωτερική έκθεση
Bioaccessibility
Bioavailability
Environmental availability
Bioaccumulation of metal
Διαλυμένο είδος A
Διαλυμένο είδος B
Διαλυμένο είδος C
Άλλο διαλυμένο είδος
Πρόσληψη από μεμβράνη
Τοξική δράση
Ικανότητα λήψης
Ικανότητα λήψης
Εσωτερική Μεταφορά και Διάδοση
Λήψη από διατροφή
Μη διαθέσιμο Κλάσμα Μετάλλου
Αποτοξίνωση και Αποθήκευση
Χρήση για λειτουργίες οργανισμού
προσροφημένο
απορροφημένο
Διαλυτό Κλάσμα
Σωματιδιακό Κλάσμα
Απέκκριση
Συνολική Συγκέντρωση Μετάλλου
Αρπαγή
Βιοσυσσωρευμένο μέταλλο

Κεφάλαιο 3

Βιοδιαθεσιμότητα βαρέων μετάλλων

Ο προσδιορισμός του βιοδιαθέσιμου κλάσματος ενός μετάλλου είναι το πρώτο απαραίτητο βήμα για την εκτίμηση των πιθανών κινδύνων που σχετίζονται με την παρουσία του μετάλλου αυτού στο έδαφος. Ως βιοδιαθέσιμο κλάσμα νοείται το ποσοστό της συνολικής ποσότητας του μετάλλου που είναι διαθέσιμο προς ενσωμάτωση σε κάποιον ζωντανό οργανισμό. Η συνολική συγκέντρωση κάποιου μετάλλου δεν αντιστοιχεί απαραίτητα με τη βιοδιαθεσιμότητα αυτού. Παραδείγματος χάριν, ένα μέταλλο μπορεί να ενσωματωθεί σε κάποιο αδρανές πέτρωμα και παρά την υψηλή του συγκέντρωση να μην είναι άμεσα διαθέσιμο προς ενσωμάτωση σε κάποιο ζωντανό οργανισμό έχοντας ως αποτέλεσμα οι σχετικές περιβαλλοντικές επιπτώσεις να είναι μικρές . Αντίστοιχα, η ύπαρξη μικρότερης συγκέντρωσης ενός πιο ενεργού μετάλλου σε ένα έδαφος πιθανά να επιφέρει δυσμενέστερες επιπτώσεις. [(9)David John and Leventhal Joel]

Τα μέταλλα λόγω της τοξικής τους φύσης δεν επιδέχονται βιοαποκατάστασης. Αντιθέτως με τα οργανικά, τα μέταλλα δεν μπορούν να υποβιβαστούν με βιολογικές, χημικές ή φυσικές μεθόδους σε αβλαβή υποπροϊόντα. Η χημική φύση, και ως εκ τούτου η βιοδιαθεσιμότητα ενός μετάλλου μπορεί να αλλάξει μέσω οξείδωσης ή αναγωγής, ωστόσο η αρχική φύση του παραμένει ίδια διότι τα βαρέα μέταλλα δεν δύναται ούτε να αποσυντεθούν θερμικά ούτε να αποικοδομηθούν με μικροβιολογικές διεργασίες. Ως εκ τούτου, είναι δύσκολη η απομάκρυνση τους από το περιβάλλον. Πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι η συνολική συγκέντρωση ενός μετάλλου στο περιβάλλον δεν αντανακλά απαραίτητα το βαθμό τοξικότητας ή βιοδιαθεσιμότητας του, καθιστώντας δύσκολη την εκτίμηση του κινδύνου που αυτά επιφέρουν. Ο Sposito (1989) χαρακτηρίζει ως βιοδιαθέσιμα τα μέταλλα που είτε βρίσκονται είτε μπορούν κάποια στιγμή να εμφανιστούν με τη μορφή ελεύθερων ιόντων. Τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες να αποσαφηνιστεί η σημασία των βιοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων ενός μετάλλου. [(10) Maier Raina *et al*., 2006)]

Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στα εδάφη είναι μια σύνθετη λειτουργία που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η συνολική συγκέντρωση και η μορφή του μετάλλου, η ορυκτολογία του εδάφους, το pH, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, η θερμοκρασία, το συνολικό οργανικό περιεχόμενο-σωματιδιακό και διαλυμένο-, καθώς και η ποσότητα της περιεχόμενης υγρασίας κυρίως σε ξηρές περιοχές. Πολλοί από τους παραπάνω παράγοντες έχουν εποχιακές διακυμάνσεις και αλληλοσχετίζονται, καθιστώντας την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας ακόμη πιο δύσκολη. Επίσης, η εκτίμηση της βιοσυσσώρευσης και της βιοδιαθεσιμότητας θεωρείται επίπονη διότι εξαρτάται από αρκετούς βιολογικούς παράγοντες η επιρροή των οποίων είναι σχεδόν άγνωστη

Συχνά επικρατεί σύγχυση μεταξύ του ολικού και του βιοδιαθέσιμου κλάσματος ενός μετάλλου. Στο περιβάλλον τα βιοδιαθέσιμα μέταλλα είναι γενικά διαλυμένα σε κολλοειδή ή σε εδαφικές επιφάνειες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει αναπτυχθεί για τον καθορισμό και τη συσχέτιση μεταξύ τοξικότητας και βιοδιαθεσιμότητας μετάλλων. [(11)David John and Leventhal Joel]

Η τοξικότητα των μετάλλων εκδηλώνεται με διάφορους τρόπους όπως αντικαθιστώντας άλλα απαραίτητα μέταλλα σε μοριακούς δεσμούς- πχ το κάδμιο αντικαθιστά το σίδηρο-, αναστέλλοντας ενζυματικές λειτουργίες ή διασπώντας τη δομή των νουκλεϊκών οξέων. Η τοξικότητα των μετάλλων θεωρείται από πολλούς ανάλογη της συγκέντρωσης τους ωστόσο πρόσφατες έρευνες έχουν δείξει ότι σε αρκετές περιπτώσεις οι υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων ενεργοποιούν μηχανισμούς αντίστασης που αυξάνουν την αντοχή των μικροβίων έναντι αυτών. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η τοξικότητα και η βιοδιαθεσιμότητα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη μορφή με την οποία παρουσιάζεται το μέταλλο.

Τα μέταλλα χωρίζονται σε δυο κατηγορίες:

- Βιοδιαθέσιμα:

1. Διαλυτά
2. Μη απορροφημένα
3. Κινητά

- Μη βιοδιαθέσιμα:

1. Προσροφημένα σε ιζήματα
2. Σε σύμπλοκα με άλλα μόρια.
3. Απορροφημένα
4. Μη ευκίνητα

Η βιοδιαθέσιμη συγκέντρωση είναι το κλάσμα που απορροφάται από τους οργανισμούς και καθίσταται τοξικό για αυτούς.

Οι περιβαλλοντικοί κίνδυνοι που προκύπτουν από τα μέταλλα σχετίζονται κυρίως με την κινητικότητα τους καθώς και με τη συγκέντρωση τους. Υψηλές συγκεντρώσεις στο έδαφος έχει συνήθως ως αποτέλεσμα τη λήψη μεγαλύτερης ποσότητας μετάλλου από τα φυτά και περαιτέρω διάθεση του σε οργανισμούς, ενώ μέταλλα που παραμένουν σε στερεή φάση στο έδαφος παρουσιάζουν μειωμένη πιθανότητα πρόκλησης αρνητικών περιβαλλοντικών επιπτώσεων.

Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις μετάλλων απαντώνται γενικότερα σε εδάφη και όχι σε νερά. Το γεγονός δικαιολογείται από την τάση των μετάλλων να συσσωρεύονται στα εδάφη από να διαλύονται και να μεταφέρονται με τη βοήθεια του νερού. Η ικανότητα των εδαφών για ανταλλαγή κατιόντων επιτρέπει στα μέταλλα να προσκολλώνται σε εδαφικά σωματίδια και να συσσωρεύονται.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαφοροποίηση των μετάλλων στα εδάφη ως προς το είδος (speciation) είναι πολλοί και χωρίζονται σε βιοτικούς και αβιοτικούς. Οι παράγοντες αυτοί επηρεάζουν επίσης την τοξικότητα και βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων- σε μικροβιακούς πληθυσμούς- κάποιοι από τους οποίους είναι: η χημεία των μετάλλων, η απορρόφηση σε αργιλώδη ορυκτά και οργανικές ουσίες, το pH, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και οι παρόντες μικροοργανισμοί. Όλοι οι παραπάνω παράγοντες αλληλεπιδρούν και επηρεάζουν τη μορφή, τη βιοδιαθεσιμότητα και τη συνολική τοξικότητα του μετάλλου στο περιβάλλον. Ωστόσο, πρέπει να τονιστεί ότι ο προσδιορισμός της συνολικής συγκέντρωσης ενός μετάλλου στο έδαφος δεν αρκεί για την πρόβλεψη της τοξικότητας αυτού προς βιολογικά συστήματα. Ουσιαστική σημασία έχει το βιοδιαθέσιμο ποσό του μετάλλου.

Παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στα εδάφη

Χημεία μετάλλου

Η κατάληξη και η βιοδιαθεσιμότητα ενός μετάλλου καθορίζεται σε μεγάλο ποσοστό από τη μορφή αυτού και πιο συγκεκριμένα εάν παρουσιάζεται σαν κατιόν ή σαν ανιόν. Τα περισσότερα μέταλλα εμφανίζονται ως κατιόντα, παρουσιάζουν δηλαδή θετικό φορτίο όταν βρίσκονται ελεύθερα και είναι πιο δραστικά και ενεργά όταν έρχονται σε επαφή με αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες. Ωστόσο, στα εδάφη, τα μέταλλα σε μορφή κατιόντος-όπως ο μόλυβδος- αλληλεπιδρούν ισχυρά με αρνητικά φορτία που βρίσκονται σε αρνητικά φορτισμένες αργιλώδεις επιφάνειες και με ανιόντα αλάτων όπως φωσφορικά και θειϊκά άλατα. Επίσης, τα θετικά φορτισμένα μέταλλα αλληλεπιδρούν με αρνητικά φορτισμένα σύμπλοκα όπως τα υδροξείδια και οι θειόλες που συνήθως βρίσκονται σε χουμικά κατάλοιπα. Δυστυχώς, τα θετικά φορτισμένα μέταλλα έλκονται και από αρνητικά φορτισμένες επιφάνειες κυττάρων από όπου μπορούν να απορροφηθούν και να προκαλέσουν τοξικότητα. Τα θετικά φορτισμένα μέταλλα απορροφούνται τόσο από εδαφικά σωματίδια όσο και από επιφάνειες κυττάρων ανάλογα με την ισχύ τους. Το μέγεθος και το φορτίο του θετικά φορτισμένου μετάλλου καθορίζει και το μέγεθος της απορρόφησης. Τα θετικά φορτισμένα μέταλλα ανταγωνίζονται για τις περιορισμένες ελεύθερες θέσεις στα εδάφη, με τα μεγαλύτερα σε μέγεθος πολυσθενή μέταλλα να αντικαθιστούν μικρότερα μονοσθενή στοιχεία όπως το νάτριο. Όπως είναι γνωστό τα περισσότερα τοξικά μέταλλα είναι μεγάλα, δισθενή, θετικά φορτισμένα και προσροφόνται εύκολα, ως εκ τούτου δεν είναι άμεσα διαθέσιμα προς ανταλλαγή. Αντιθέτως τα αρνητικά φορτισμένα μέταλλα έλκονται από θετικά φορτισμένες επιφάνειες. Στα εδάφη, τα ανιόντα μπορούν να απορροφηθούν από αρνητικές φορτισμένες αργίλους με γεφύρωση δισθενών κατιόντων, χρησιμοποιώντας κατιόντα όπως το Ca^{2+} ,ή Mg^{2+}.
Όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό, η κατάληξη των μετάλλων επηρεάζεται άμεσα από τη φύση τους και το σθένος τους.

Ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων

Ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων είναι η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων. Η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων εξαρτάται από το οργανικό περιεχόμενο του εδάφους καθώς και από το ποσοστό αυτού σε άργιλο και αντανακλά την ικανότητα του εδάφους για την απορρόφηση μετάλλων. Ωστόσο, η τοξικότητα των μετάλλων σε εδάφη με υψηλή ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων -οργανικά και αργιλώδη- είναι συχνά μικρή ακόμα και όταν υπάρχουν σε αυτό μέταλλα σε υψηλή συνολική συγκέντρωση. Αντιθέτως, αμμώδη εδάφη με χαμηλή ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων- και μικρή ικανότητα δέσμευσης μετάλλων- παρουσιάζουν μειωμένη μικροβιακή δραστηριότητα σε χαμηλές συγκεντρώσεις μετάλλων, γεγονός ενδεικτικό της τοξικότητας.

Αρχικά, οι φορτισμένες περιοχές στα αργιλώδη ορυκτά αλληλεπιδρούν με τα ιόντα μετάλλου λόγω ηλεκτροστατικών δυνάμεων. Τα οξείδια και τα υδροξείδια των μετάλλων παρέχουν τις απαραίτητες επιφάνειες για την απορρόφηση τους. Τα οξείδια σιδήρου, αλουμινίου και μαγγανίου μορφοποιούν κολλοειδή σωματίδια τα οποία, παρουσία νερού, δημιουργούν μορφές ικανές να συγκρατήσουν μέταλλα στα εδάφη.

Το οργανικό περιεχόμενο των εδαφών περιλαμβάνει μη χουμικά συστατικά, όπως υδρογονάνθρακες, πρωτεΐνες και νουλεϊκά οξέα, τα οποία υπό κανονικές συνθήκες είναι άμεσα αποικοδομήσιμα, όπως επίσης και λιγότερο αποικοδομήσιμες ουσίες όπως λιγνίνη, κυτταρίνη και ημικυτταρίνη. Τα μη χουμικά οργανικά συστατικά του εδάφους δεν χαρακτηρίζονται ως σταθερές ενώσεις και ως εκ τούτου δεν επηρεάζουν ιδιαίτερα την κατάληξη των μετάλλων. Βραχυπρόθεσμα ωστόσο, τα οργανικά οξέα διασπώνται ($COOH \rightarrow COO^- + H^+$) και το ανιόν που ελευθερώνεται πιθανά να δημιουργήσει παρουσία κατιόντων μετάλλου διαλυτά σύμπλοκα, μειώνοντας με τον τρόπο αυτό τη βιοδιαθεσιμότητα του. Το αποτέλεσμα αυτό εξαρτάται από το pH του εδάφους, με την έννοια ότι σε χαμηλές τιμές pH η παραπάνω αντίδραση δεν πραγματοποιείται.

Αντιθέτως, τα χουμικά συστατικά είναι σχετικά σταθερά και συνήθως επικαλύπτουν τις επιφάνειες των σωματιδίων του εδάφους. Τα συστατικά αυτά περιέχουν μια ποικιλία λειτουργικών ομάδων που είναι ικανές να αλληλεπιδρούν με τα μέταλλα. Κάποιες από

αυτές τις λειτουργικές ομάδες είναι καρβοξύλια, καρβονύλια, φαινόλες, υδροξύλια, αμίνες, ιμιδαζόλες, σουλφυδρύλια και σουλφονικές ομάδες. Μέταλλα που έχουν δημιουργήσει σύμπλοκα με χουμικά συστατικά γενικά δεν είναι βιοδιαθέσιμα και προκαλούν μικρότερες επιπτώσεις στα βιολογικά συστήματα.

Οξειδοαναγωγικό δυναμικό

Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων μεταβάλλεται με τις συνθήκες οξειδοαναγωγής. Υπό οξειδωτικές ή αερόβιες συνθήκες (+800 μέχρι 0 mV) τα μέταλλα συνήθως βρίσκονται υπό μορφή κατιόντος, π.χ Cu^{2+}, Cd^{2+}, Pb^{2+}. Αντιθέτως, αναγωγικές ή αναερόβιες συνθήκες (0 έως -400 mV), που συνήθως επικρατούν σε ιζήματα ή κορεσμένα εδάφη, συνήθως έχουν ως αποτέλεσμα την ιζηματοποίηση των μετάλλων.

Το pH

Γνωρίζοντας το pH ενός συστήματος είναι δυνατόν να εκτιμηθεί η διαλυτότητα ενός μετάλλου και κατά συνέπεια να εκτιμηθεί και η βιοδιαθεσιμότητα του. Σε υψηλές τιμές pH τα μέταλλα παρουσιάζονται κυρίως ως αδιάλυτα ορυκτά μετάλλων φωσφορικών αλάτων και εστέρων ή αλάτων ανθρακικών οξέων ενώ σε χαμηλές τιμές pH εμφανίζονται συνηθέστερα με τη μορφή ελεύθερων ιόντων ή ως διαλυτά οργανικά μέταλλα. Το pH ενός συστήματος επηρεάζει επίσης την απορρόφηση των μετάλλων στις εδαφικές επιφάνειες. Η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με το pH του εδάφους. Όπως αναφέρθηκε, όσο αυξάνεται το pH τόσο μειώνεται η διαλυτότητα του μετάλλου. Ωστόσο, το πραγματικό αποτέλεσμα της μεγάλης τιμής του εδαφικού pH είναι η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του. Αντιθέτως, όσο μειώνεται η τιμή του εδαφικού pH η διαλυτότητα του μετάλλου αυξάνεται, το σθένος του μετάλλου μειώνεται αυξάνοντας έτσι τη βιοδιαθεσιμότητα του. Τα αρνητικά φορτισμένα μέταλλα που βρίσκονται σε εδάφη με χαμηλό pH απορροφώνται καθώς το θετικό φορτίο του εδάφους αυξάνεται. Όταν η τιμή του pH αυξάνεται, η κατάληξη των αρνητικά

φορτισμένων μετάλλων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως το οξειδοαναγωγικό δυναμικό και τη μορφή του μετάλλου.

Η επιρροή του pH, του οξειδοαναγωγικού δυναμικού και η ύπαρξη οργανικών ουσιών όσον αφορά τη χημική μορφή και τη φύση των μετάλλων επιδεικνύει τη σπουδαιότητα και τη δυσκολία που υπάρχει στον προσδιορισμό της βιοδιαθεσιμότητας τους. Το φαινόμενο καθίσταται ακόμη δυσκολότερο λόγω της πολυπλοκότητας αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μικροβίων και των μετάλλων. [(12) Maier Raina *et al*., 2006.]

Δείκτες βιοδιαθεσιμότητας

Τα χημικά μίγματα συχνά απορροφούνται από σωματίδια εδάφους, όπως είναι τα αργιλώδη ορυκτά, και καθίστανται μη διαθέσιμα προς τους οργανισμούς. Η βιοδιαθέσιμη συγκέντρωση θα είναι ίση ή μικρότερη από τη συνολικά χημικά εκχυλίσιμη συγκέντρωση. Από περιβαλλοντική σκοπιά, το βιοδιαθέσιμο κλάσμα ενός μίγματος είναι πιο σχετική παράμετρος από ότι το χημικά εκχυλίσιμο κλάσμα. Η βιοδιαθεσιμότητα ενός μίγματος στο έδαφος μπορεί να μετρηθεί με τη χρήση μικροοργανισμών. Οι δείκτες βιοδιαθεσιμότητας απεικονίζουν/εκφράζουν μετρήσεις που αφορούν τα επίπεδα πληθυσμού των μικροοργανισμών.

Βακτήρια βιοανιχνευτές

Τα βακτήρια βιοανιχνευτές είναι σχεδιασμένα ώστε να ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένες καταστάσεις στρες (πχ τοξικότητα) μέσω της χρήσης γονιδίων αναφοράς. Κατάλληλα βακτήρια μπορούν να επιλεγούν από το περιβάλλον, να τροποποιηθούν γενετικά, συγχωνεύοντας γονίδια αναφοράς (πχ βιοφωτισμού) στα γονίδια που μας ενδιαφέρουν και με τον τρόπο αυτό να δίνουν προκαθορισμένο σήμα σε συγκεκριμένη ανταπόκριση. Ουσιαστικά, οπτική ίνα συνδέεται με τη κυτταρική μεμβράνη των βακτηρίων λειτουργώντας έτσι ως βιοανιχνευτής για την in situ παρακολούθηση της τοξικότητας στα εδάφη.

Διαθέσιμα στις μέρες μας είναι βακτήρια βιοανιχνευτές που ανταποκρίνονται στον υδράργυρο ή σε χρωμικά άλατα ή στον ψευδάργυρο . Τα βακτήρια βιοανιχνευτές που ανταποκρίνονται στον ψευδάργυρο έχουν χρησιμοποιηθεί κατά την μελέτη βιοδιαθεσιμότητας σε εδάφη, όπου και αποδείχτηκε ότι η χρήση τους ήταν η πιο ενδεδειγμένη μέθοδος. Διατίθενται βακτήρια βιοανιχνευτές για οικοτοξικές αναλύσεις (Remedios, Microtox).

Βακτήρια που περιέχουν πλασμίδια

Η συχνότητα των βακτηρίων που περιέχουν πλασμίδια έχει αποδειχτεί ότι είναι υψηλότερη σε μολυσμένα εδάφη από ότι σε καλλιεργήσιμα εδάφη και αυξάνεται ακόμη περισσότερο με την προσθήκη βαρέων μετάλλων. Συνεπώς, η μέτρηση του αριθμού των βακτηρίων που περιέχουν πλασμίδια ή του αριθμού των πλασμιδίων στα εδάφη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γενικός δείκτης των ρύπων. Η αύξηση του αριθμού των πλασμιδίων καθιστά αναγκαία τον έλεγχο και ταυτοποίηση του παράγοντα που την προκαλεί.

Υπάρχουν δυο μέθοδοι προσδιορισμού της ύπαρξης πλασμιδίων στα εδάφη, η ενδογενής προσέγγιση και η εξωγενής. Κατά την ενδογενή προσέγγιση πραγματοποιείται αρχικά καλλιέργεια των βακτηρίων, απομόνωση των πλασμιδίων τους και τέλος μελέτη τους κατόπιν ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα αγαρόζης. Κατά την εξωγενή προσέγγιση μελετώνται έμμεσα τα πλασμίδια κάποιου εδάφους, χρησιμοποιώντας κατάλληλα βακτήρια-δέκτες που δεν περιέχουν πλασμίδια. Τα βακτήρια αυτά αναμιγνύονται με εδαφικό δείγμα για χρόνο ικανό ώστε να συλλέξουν (με σύζευξη) τα πλασμίδια που υπάρχουν στα γηγενή βακτήρια. Έπειτα, τα πλασμίδια εξάγονται και μελετώνται όπως στην ενδογενή προσέγγιση.

Το μεγαλύτερο μειονέκτημα της ενδογενούς διαδικασίας εξαγωγής πλασμιδίων είναι ότι αναλύει μονάχα το κλάσμα των εδαφικών βακτηρίων που αναπτύσσεται σε καλλιέργεια καθώς πολλά περιβαλλοντικά στελέχη δεν καλλιεργούνται. Το βήμα αυτό αποκλείεται κατά την εξωγενή διαδικασία. Ωστόσο, μονάχα ευκίνητα πλασμίδια που πολλαπλασιάζονται με σύζευξη μπορούν να απομονωθούν με τη μέθοδο αυτή. Η

συχνότητα και η μεταβλητότητα του αριθμού των πλασμιδίων στα διάφορα είδη εδαφών πρέπει να καθορίζεται ώστε η μέθοδος να μπορεί να τυποποιηθεί.

Βακτήρια ανθεκτικά σε αντιβιοτικά

Η περιορισμένη χρήση αντιβιοτικών (πχ παρακινητές ανάπτυξης) στη γεωργία έχει μειώσει αλλά όχι εξαλείψει τα ανθεκτικά σε αντιβιοτικά βακτήρια που βρίσκονται στα ζώα κτηνοτροφικών μονάδων καθώς και στις τροφές . Οι αστικές εκροές, οι οποίες περιέχουν επίσης αντιβιοτικά, έχει αποδειχτεί ότι έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των βακτηρίων που είναι ανθεκτικά σε αντιβιοτικά σε παραποτάμια περιβάλλοντα. Κατάλοιπα αντιβιοτικών έχουν ανιχνευτεί στην έξοδο περιοχών με ειδικά φυτά καθαρισμού αποβλήτων (φυτοαποκατάσταση), σε λιπάσματα και γενικότερα σε αγροτικές περιοχές . Αν και οι μετρήσεις των συγκεντρώσεων των καταλοίπων των αντιβιοτικών στους μικροοργανισμούς είναι συνήθως σε επίπεδα χαμηλότερα από την Ελάχιστη Απαγορευτική Συγκέντρωση (MIC, minimum inhibitory concentration), είναι ικανές ωστόσο να προκαλέσουν την ανάπτυξη -στα εδαφικά οικοσυστήματα- βακτηρίων που θα είναι ανθεκτικά σε αντιβιοτικά. Πολύ λίγα είναι, ωστόσο, γνωστά για την ύπαρξη ανθεκτικών μικροοργανισμών σε αγροτικά εδάφη. Η μόλυνση με βαρέα μέταλλα πιθανά να καθορίζει έμμεσα την παρουσία ανθεκτικών βακτηρίων στα αντιβιοτικά, εφόσον έχει παρατηρηθεί ότι υπάρχει σχέση ανάμεσα στην ανθεκτικότητα και της συγκέντρωσης υδραργύρου σε παραποτάμια ιζήματα. Επομένως, η παρακολούθηση ανθεκτικών σε αντιβιοτικά βακτηρίων δε θα βοηθήσει μονάχα στην εκτίμηση ενός πιθανού κινδύνου για τη δημόσια υγεία αλλά μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί και ως δείκτης βιομηχανικής και αστικής μόλυνσης (διήθηση ή επιφανειακή απορροή).

Η εκτίμηση ανθεκτικών βακτηρίων επιτυγχάνεται είτε με καλλιεργητικές είτε με μοριακές τεχνικές. Οι μέθοδοι που βασίζονται σε καλλιέργειες με μέσα ανάπτυξης που περιέχουν αντιβιοτικά (tetracycline, kanamycin, etc) είναι πολύ καλά εδραιωμένες, φθηνές και μπορούν εύκολα να υλοποιηθούν σε κάποιο πρόγραμμα ελέγχου. Με τη χρήση αυτών των μεθόδων εκτιμώνται ο αριθμός των βακτηρίων και το MIC. Ένα μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι κάποια περιβαλλοντικά βακτήρια δεν δύνανται να

καλλιεργηθούν. Το πρόβλημα αυτό μπορεί να ξεπεραστεί με την εφαρμογή μοριακών τεχνικών, οι οποίες εκτιμούν το μέγεθος των πληθυσμών των ανθεκτικών γονιδίων. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν PCR και ανάλυση με μοριακά γονίδια ανιχνευτές για την ανίχνευση συγκεκριμένου γονιδίου που ανθίσταται σε κάποιο εδαφικό δείγμα και έπειτα να εφαρμοστούν ποσοτικές PCR μέθοδοι.

Από τη στιγμή που ελάχιστα είναι γνωστά για την ύπαρξη ανθεκτικών σε αντιβιοτικά βακτηρίων σε αγροτικά εδάφη, κρίνεται απαραίτητο να πραγματοποιούνται κάποια βασικά τεστ που θα ερευνούν τις πιθανές διαφορές μεταξύ των περιοχών που έχουν υποστεί κάποια θεραπεία (με λίπασμα ή ιλύς) και σε αυτές που δεν έχουν. Η παρακολούθηση των βακτηρίων που είναι ανθεκτικά σε αντιβιοτικά γίνεται με μετρήσεις των βιοδιαθέσιμων συγκεντρώσεων των αντιβιοτικών με χρήση βακτηρίων-ανιχνευτών ή βακτηρίων που περιέχουν πλασμίδια, όπως αναφέρεται και παραπάνω.

Παρουσία και έκφραση καταβολικών γονιδίων

Όταν είναι γνωστή η πορεία αποικοδόμησης ενός χημικού μίγματος (πχ ζιζανιοκτόνο), τα ένζυμα που παίρνουν μέρος στην αποικοδόμηση καθώς και τα καταβολικά γονίδια μπορούν να αναγνωριστούν και να ποσοτικοποιηθούν. Η παρουσία αποικοδομήσιμων χημικών μιγμάτων σε εδάφη θεωρείται ότι προκαλεί υψηλότερη παρουσία και έκφραση των αντίστοιχων καταβολικών γονιδίων. Αυτό οφείλεται είτε στην ανάπτυξη των βακτηρίων είτε στην εξάπλωση των καταβολικών γονιδίων στη μικροβιακή κοινότητα. Τα καταβολικά γονίδια πιθανά ωστόσο να είναι παρόντα λόγω της ανάμιξης τους στην αποικοδόμηση οργανικών μιγμάτων. Η παρουσία συγκεκριμένων καταβολικών γονιδίων, ωστόσο, δίνει πληροφορίες όσον αφορά την ικανότητα των εδαφών να τροποποιήσουν ή να αποικοδομήσουν ξενοβιοτικά μίγματα. Μια μεγαλύτερη έκφραση των καταβολικών γονιδίων είναι ένδειξη, από την άλλη πλευρά, μερικής ή ακόμη και ολικής αποικοδόμησης του αντίστοιχου οργανικού μίγματος.

Πολλές είναι οι μέθοδοι που έχουν προταθεί για τον προσδιορισμό της παρουσίας και της έκφρασης συγκεκριμένων καταβολικών γονιδίων. Κάποιες από αυτές είναι η συμβατική καλλιέργεια αποικοδομητών (μύκητες, βακτήρια) μετρήσεις της

δραστηριότητας συγκεκριμένων ενζύμων-κλειδιά, καθώς και μοριακές μέθοδοι εντοπισμού καταβολικών γονιδίων (πχ PCR, qPCR), καθώς και μετρήσεις της έκφρασης τους (πχ mRNA, rRNA, βακτήρια βιοανιχνευτές).

Η πιθανότητα της αποικοδόμησης ενός ξενοβιοτικού συστατικού στα εδάφη μπορεί να εκτιμηθεί με την επώαση ενός εδαφικού δείγματος με το μίγμα προς ανάλυση και κατόπιν με τον προσδιορισμό του ρυθμού κυτταρικής αναπνοής (μέτρηση ραδιοσημασμένου CO_2) ή με την ανάπτυξη του κυττάρου. Η μέθοδος της επώασης χρησιμοποιείται επίσης για την απομόνωση consortia ή καθαρών καλλιεργειών ικανών να αναπτυχθούν και να αποικοδομήσουν συγκεκριμένα ξενοβιοτικά μίγματα. Η εκτίμηση, ωστόσο, εξαρτάται εξ ολοκλήρου από τη δραστηριότητα των μικροοργανισμών καθώς και την ικανότητα τους να καλλιεργούνται τους στις παρεχόμενες συνθήκες επώασης.[(13)Nielsen, M.N. and Winding, A. 2002]

Διακύμανση βιοδιαθεσιμότητας ανάλογα με το είδος του μετάλλου

Στον παρακάτω πίνακα περιλαμβάνονται εκτιμήσεις βιοδιαθεσιμότητας σε εδάφη και ιζήματα. Σχεδόν οι μισές εκτιμήσεις αφορούν υδάτινα εκχυλίσματα, ενώ στις υπόλοιπες έγινε ανάλυση άμεσης επαφής για μολυσμένα ή μη δείγματα. Σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις το βιοδιαθέσιμο κλάσμα του μετάλλου βρέθηκε να είναι μικρότερο από το 100% της συνολικής του συγκέντρωσης. Οι πραγματικές τιμές διαφοροποιούνταν ανάλογα το δείγμα, το μέταλλο και το στέλεχος του ανιχνευτή παρουσιάζοντας απόκριση από 0.1 έως 50%.

Σίγουρα οι τροποποιημένοι οργανισμοί που αναφέρονται παραπάνω είναι ένα σπουδαίο, απλό, εύχρηστο και οικονομικό εργαλείο για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στα εδάφη, ενώ δίνεται και η δυνατότητα ποσοτικοποίησης του μη βιοδιαθέσιμου κλάσματος του ρυπαντή. Το μέγεθος του μη βιοδιαθέσιμου κλάσματος είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την εκτίμηση του κινδύνου που προκαλούν τα μέταλλα, καθώς και για τον καθορισμό στόχων σε οποιαδήποτε προσπάθεια αποκατάστασης. Ωστόσο, δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα ή

εφαρμογή ή χρήση τροποποιημένων βακτηρίων για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας βαρέων μετάλλων σε πραγματικό σχέδιο αποκατάστασης πεδίου.

Ως έναν βαθμό η έλλειψη εφαρμογής και υλοποίησης ενός τόσο χρήσιμου εργαλείου οφείλεται στο γεγονός ότι δεν έχει ακόμα αναγνωριστεί από εθνικούς και διεθνής οργανισμούς. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι και το National Framework for Metals Risk Assesment (Fairbrother et al., 2007) της EPA στο οποίο δε γίνεται συγκεκριμένη αναφορά σε εκτιμήσεις με τη χρήση βιολογικών ανιχνευτών. Η τυποποίηση και η επικύρωση των μεθόδων εκτίμησης βιοδιαθεσιμότητας με τη χρήση βακτηριακών ανιχνευτών θα βοηθήσει στην υιοθέτηση της και από άλλους επιστήμονες καθώς και στην εφαρμογή της μεθόδου σε πραγματικές συνθήκες πεδίου. [(14) Magrisso Sagi *et al*., 2007]

Στοιχείο	Στρώμα	Εδαφικό δείγμα	Χρόνος επαγωγής	Βιοδιαθεσιμότητα %	Αναφορά
As	WE	Polluted (3)	120 min	15-35	Turprinen et al., 2003
As	WE	Polluted (30)	60 min	0.2-47	Flynn et al., 2003
As	GW	Polluted (52)	90 min	50-110	Trang et al., 2005
As	GW	Polluted (2)	120 min	76-92	Liao et al., 2006
Cd	SL	Spiked (1)	120 min	12	Ivask et al., 2002
Cd	WE	Spiked (1)	120 min	0.6	Ivask et al., 2002
Cd	SL	Polluted (50)	120 min	0.5-50	Ivask et al., 2004
Cd	WE	Polluted (50)	120 min	0.1-0.27	Ivask et al., 2004
Cd	Acetic acid extract	Polluted (40)	120 min	0.14-13.9	Kahru et al., 2005
Cd	SL	Polluted (5)	120 min	0-55	Liao et al., 2006
Cr	SL	Spiked (1)	120 min	46	Ivask et al., 2002
Cu	SL	Spiked (1)	90 min	19-39	Brandt rt al., 2006
Cu	WE	Spiked (1)	90 min	0.6-3.8	Brandt rt al., 2007
Hg	SL	Spiked (1)	120 min	40	Ivask et al., 2002
Hg	WE	Spiked (4)	120 min	0.26-7.6	Petanen and Romantschuk, 2003
Hg	WE	Polluted (10)	300 min	20-66	Bontidean et al, 2004
Hg	WE	Polluted (6)	120 min	0	Lappalainen et al., 2000
Hg	WE	Spiked (1)	120 min	1.3	Ivask et al., 2002
Hg	WE	Polluted (10)[a]	120 min	0-0.8	Ivask et al., 2007
Hg	WE	Spiked (2)	70-90 min	0-0.16	Rasmussen et al., 2000
Ni	SL	Polluted (8)	>12h	<DL	Everhart et al., 2006
Ni	Ca(NO3)2	Polluted (8)	>12h	50-60	Tibazarwa et al., 2001
Pb	SL	Polluted (50)	0.24-8	0.24-8	Ivask et al., 2004
Pb	WE	Polluted (50)	0.1-0.14	0.1-0.14	Ivask et al., 2004
Pb	Acetic acid axtract	Polluted (5)	0.25-0.55	0.25-0.55	Kahru et al., 2005
Pb	SL	Spiked (10)	0-12	0-12	Geebelen et al., 2003
Zn	SL	Spiked (1)	120 min	2.6	Tandy et al., 2005
Zn	SL	Polluted (0)	120 min	27	Diels et al., 1999

a. Ίζημα ποταμού.
WE: Εκχύλισμα ποταμού, GW: Υπόγειο νερό, SL: Εδαφικό διάλυμα πηλού,
DL: Όριο ανίχνευσης.

Κεφάλαιο 4ο

Τρόποι εκτίμησης βιοδιαθεσιμότητας

Βιομιμητικές προσεγγίσεις

Οι βιομιμητικές προσεγγίσεις προσομοιάζουν το διαχωρισμό των ρυπαντών μεταξύ του νερού των πόρων και του οργανισμού. Μια προσέγγιση είναι η SPME. Σε αυτήν χρησιμοποιείται μια ίνα που περιέχει, πχ κάποια υδροφοβική ουσία, και απομακρύνει τους υδροφοβικούς ρυπαντές από την υδατική φάση. Επειδή χρησιμοποιείται μόνο μια μικρή ίνα, που περιέχει μικρή ποσότητα υδροφοβικού υλικού, μόνο μια πολύ μικρή ποσότητα ενός ρυπαντή μπορεί να εκχυλιστεί από την υδατική φάση. Η ίνα έπειτα τοποθετείται σε συγκεκριμένο όργανο, όπως αέριο χρωματογράφο ή HPLC. Η SPME έχει το πλεονέκτημα ότι μόνο οι ευδιάλυτοι ρυπαντές θα διαχωριστούν μεταξύ της υδατικής φάσης και της ίνας. Η μέθοδος 'δίσκου C-18' προσεγγίζει παρόμοια τη βιοδιαθεσιμότηταμε τη μέθοδο SPME. [(15)Sijm D. *et al*.., 1999]

Μικροβιακοί δείκτες διαθεσιμότητας

Για την εκτίμηση του βαθμού μόλυνσης και των επιπτώσεων στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία χρησιμοποιούνται δυο βασικές προσεγγίσεις. Η πρώτη περιλαμβάνει φυσικοχημικές αναλύσεις ενώ η δεύτερη βασίζεται σε βιολογικές αναλύσεις. Όσον αφορά τη δεύτερη κατηγορία, οι εκτιμήσεις που γίνονται αφορούν τη συνολική επίπτωση ενός μετάλλου πάνω σε έναν πληθυσμό το οποίο είναι αποτέλεσμα συνεργιστικών και ανταγωνιστικών διεργασιών. Οι περισσότερο χρησιμοποιούμενοι οργανισμοί που παίρνουν μέρος στις βιοεκτιμήσεις είναι φυτά ή καρκινοειδή (*Daphnia*), ενώ μεγάλος αριθμός ελεγκτικών συστημάτων που έχουν τυποποιηθεί χρησιμοποιούν το βακτήριο *Vibrio fisheri*. Η βιοδιαθεσιμότητα των μιγμάτων εκτιμάται με τη χρήση τεστ κατά τα

οποία γίνεται προσπάθεια διάκρισης μεταξύ του βιοδιαθέσιμου κλάσματος ενός μίγματος και της συνολικής συγκέντρωσης που καθορίζεται με χημικές αναλύσεις.



Daphnia

Όπως παρουσιάστηκε στο δεύτερο κεφάλαιο, η βιοδιαθεσιμότητα αφορά το βαθμό στον οποίο και το ρυθμό με τον οποίο ένα συστατικό απορροφάται από έναν οργανισμό (The American Heritage Dictionary of the English Language, 4th Edition, 2007). Για την εκτίμηση του βιοδιαθέσιμου κλάσματος ενός μετάλλου έχουν προταθεί και χρησιμοποιηθεί αρκετές αναλυτικές μέθοδοι. Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνει φυσικοχημικές τεχνικές εξαγωγής, αρκετές από τις οποίες έχουν ως στόχο να μιμηθούν την έκθεση στην οποία υπόκεινται ανθρώπινοι οργανισμοί ή τη λήψη του ρυπαντή από φυτά, ενώ στη δεύτερη ανήκουν τεχνικές βιοεκτίμησης. Οι τεχνικές βιοεκτίμησης

περιλαμβάνουν μεθοδολογίες που βασίζονται σε μοριακές προσεγγίσεις, κυτταρικές καλλιέργειες, απομονωμένους ιστούς και οργανισμούς καθώς και σε προσεγγίσεις που περιλαμβάνουν ολόκληρους τους οργανισμούς. Συνήθως, εξετάζεται η δερματική και η γαστρεντερική απορρόφηση, η αφομοιωτική απόδοση και η βιοσυσσώρευση.

Η χρήση βακτηρίων για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων ανώτερων οργανισμών και αυτό διότι εμφανίζονται σε μεγάλους και ομογενείς πληθυσμούς, απαιτούν μικρό χρόνο για τον πολλαπλασιασμό τους, διατηρούνται και αποθηκεύονται εύκολα, έχουν χαμηλό κόστος και δίδουν γρήγορα αποτελέσματα. Επιπλέον, τα βακτήρια επιδέχονται γενετικών τροποποιήσεων ώστε να ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένα χημικά. Οι βασικές αρχές της μεθόδου έχει αναπτυχθεί σε πολλές εργασίες.

Βιολογικοί ανιχνευτές και άμεση μέτρηση βιοδιαθεσιμότητας

Η ανάπτυξη της βιοτεχνολογίας τα τελευταία χρόνια έχει ανοίξει το δρόμο της δημιουργίας νέων τεχνικών μέτρησης του βιοδιαθέσιμου κλάσματος ενός μετάλλου σε εδαφικά δείγματα.

Πολλά είδη μικροοργανισμών παράγουν ένζυμα που χρησιμοποιούνται για το μετασχηματισμό ανόργανων τοξικών ουσιών όπως είναι τα μέταλλα. Ο συντονισμός των γονιδίων που κωδικοποιούν το μεταβολικό μονοπάτι του μετασχηματισμού είναι απαραίτητος για τη διαβίωση και ικανοποιητική λειτουργία του μικροοργανισμού που δρα ως ξενιστής. Σε ένα τυπικό γενετικό σύστημα, η γονιδιακή έκφραση (μεταγραφή mRNA) ενεργοποιείται όταν το ‘σωστό’ μίγμα-παρακινητής ανιχνευτεί στο περιβάλλον του μικροοργανισμού. Αυτή η μορφή ελέγχου επιτυγχάνεται με την αλληλεπίδραση μιας μεταγραφικής πρωτεΐνης-ενεργοποιητή με το μίγμα-παρακινητή (ή συχνά με το ίδιο το τοξικό μέταλλο), όπως επίσης και με RNA-πολυμεράσες και DNA που κωδικοποιούν απαραίτητες αποτοξινοτικές πρωτεΐνες.

Την τελευταία δεκαετία, πολλοί ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει τεχνικές γενετικής μηχανικής με σκοπό να συνδυάσουν τα γονίδια που σχετίζονται με την αναγνώριση του μετάλλου στο περιβάλλον με γονίδια αναφοράς, όπως το *lux* γονίδιο, το οποίο προκαλεί μια bacterial luciferase αντίδραση. Ωστόσο, βιοδείκτες αυτού του τύπου μπορούν να

κατασκευαστούν τοποθετώντας γονίδια αναφοράς υπό τον έλεγχο ενεργοποιητών μεταγραφής (μαζί με τους αντίστοιχους υποκινητές, Willardson *et al*., 1998). Υπό κατάλληλες συνθήκες, μπορεί να καθιερωθεί μια άμεση σχέση μεταξύ της συγκέντρωσης του μετάλλου και την δραστηριότητα του ενζύμου αναφοράς, όπως είναι η εκπομπή φωτός. Έχουν αναπτυχθεί βιοανιχνευτές τόσο για οργανικές (Heitzer et al., 1994; King et al., 1991; Willardson et al., 1998) όσο και για ανόργανες ουσίες (Corbisier et al., 1999; McGrath et al., 1999), όπως τα μέταλλα.

Συχνά, το σύστημα ανίχνευσης στους βιοανιχνευτές είναι ολόκληρο το βακτηριακό τοίχωμα και ως εκ τούτου, εξ ορισμού, η ποσότητα που μετράται είναι η βιοδιαθέσιμη. Έτσι, ως έναν βαθμό η τεχνική με τους βιοανιχνευτές προσφέρει έναν άμεσο τρόπο ανίχνευσης των βιοδιαθέσιμων περιβαλλοντικών ρυπαντών. Η μέθοδος με τους βιολογικούς ανιχνευτές προσφέρει τη δυνατότητα απελευθέρωσης από τις δυσκολίες της χημικής εξαγωγής και άλλων αναλυτικών διεργασιών.

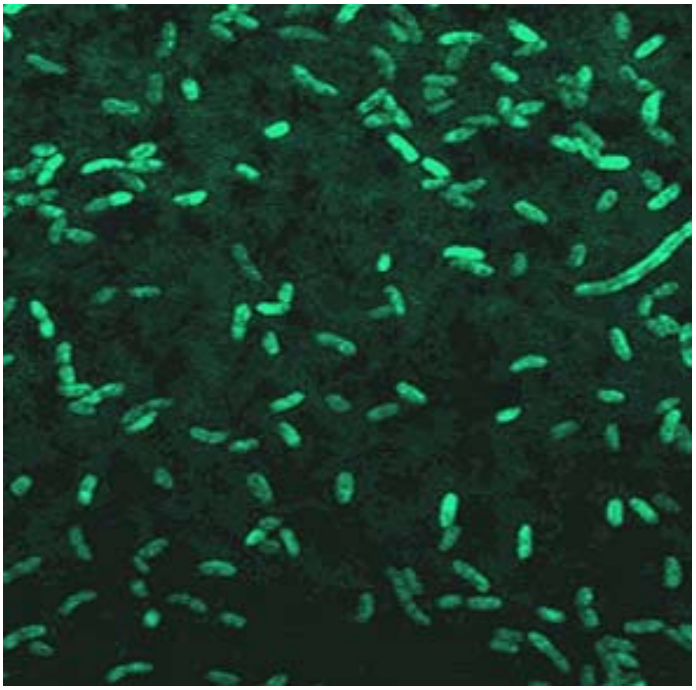
Ωστόσο, παρά τα πολλά πλεονεκτήματα, η μέθοδος μελέτης της βιοδιαθεσιμότητας με βιοανιχνευτές παρουσιάζει και πολλά μειονεκτήματα. Αυτά συνοψίζονται παρακάτω:

1. Ανταποκρίνεται συγκεκριμένα στη δομή της μεμβράνης και του συστήματος πρόσληψης από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς (συνήθως το βακτήριο *E. Coli*). Ωστόσο, στα εδάφη δρουν πολλοί μικροοργανισμοί που διαφέρουν από το *E. Coli,* κυρίως στα χαρακτηριστικά διαπερατότητας της μεμβράνης τους και ως εκ τούτου ο βιοανιχνευτής να μην αντιπροσωπεύει την πραγματικότητα.
2. Η βιοχημεία και η ιδιαιτερότητα των αντιδράσεων των ανιχνευτών πιθανά να μην γίνονται επαρκώς κατανοητές. Αυτό θα είχε ως αποτέλεσμα ανακριβή σήματα σε μια σύνθετη γεωχημική δομή.
3. Η πραγματική θέση των μικροοργανισμών που λειτουργούν ως ανιχνευτές δύσκολα προσομοιάζει αυτής των φυσικών μικροοργανισμών του εδάφους. Συνεπώς, είναι απαραίτητο να προηγηθεί μεγάλη πρόοδος προτού χρησιμοποιηθούν μετρήσεις βιοδιαθεσιμότητας που έχουν γίνει με χρήση βιοανιχνευτών.[(16) Magrisso Sagi *et al*., 2007]

Στον πίνακα 1 παρουσιάζονται συστήματα γονιδίων αναφοράς που έχουν χρησιμοποιηθεί για το σχεδιασμό βιοανιχνευτών μετάλλων.

Γονίδιο αναφοράς	**Πρωτεϊνη αναφοράς**	**Προέλευση**	**Υπόστρωμα**	**Μέθοδος ανίχνευσης**	**Αναφορά**
lux	bacterial luciferase	Luminiscent bacteria (*V.fisheri, V. harvey*)	Aldehydes (C9-C14)	βιοφωταυγεία	Billard and DuBow(19980, Gu et al.(1994)
luxGR	Insect luciferase	Click beetle (*Pyrophorus plagiophtalamus*)	luciferine	βιοφωταυγεία	Brostein et al. (1994)
luxFF		Firefly (*Photinus pyralis*)			Billard and DuBow(19980,Tauriainen et al.(1997)
gfp	Green fluorescent protein	*Aequorea victoria*		φθορισμός	Billard and DuBow(19980,Hakilla et al.(2002)
lacZ	β-Lactomase	*E-coli*	Galactopyranosides	χρωματομετρία, φθορισμός, ηλεκτροχημικά	Biran et al., (2000), Gu et al., (2004)
Γονίδιο αναφοράς	**Πρωτεϊνη αναφοράς**	**Προέλευση**	**Υπόστρωμα**	**Μέθοδος ανίχνευσης**	**Αναφορά**
bia	β-Galactosidase	*E-coli*	Lactamides	χρωματομετρία	Yoon et al. (1991), Moore et al. (1997)
crtA	Spheroidenone	*Rhodovulum sulfidophilum*	Demethylspheroidene	χρωματομετρία	Yagi (2007)

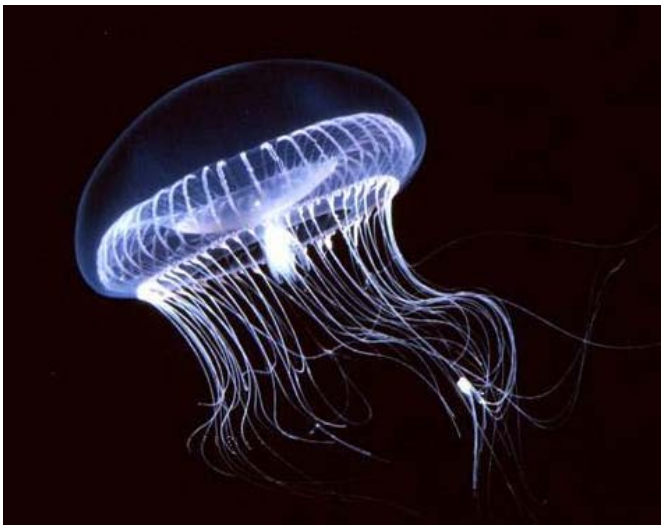
Πίνακας 1. (Microbial reporters of metal bioavailability, Magrisso)



Vibrio fischeri



Photinus pyralis



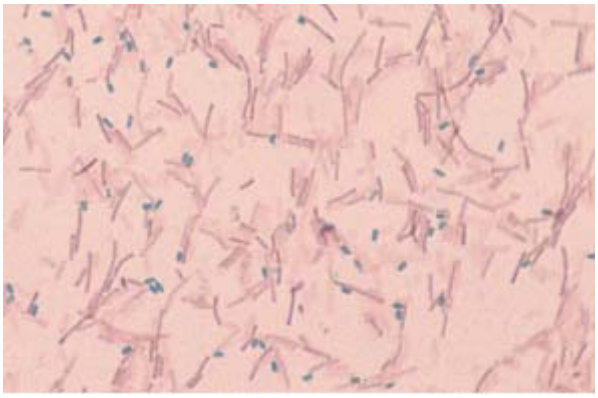
Aequora Victoria

Στον πίνακα 2 παρουσιάζονται κάποιες αναλύσεις που έχουν γίνει για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας μετάλλων με χρήση γενετικά τροποποιημένων βιοανιχνευτών.

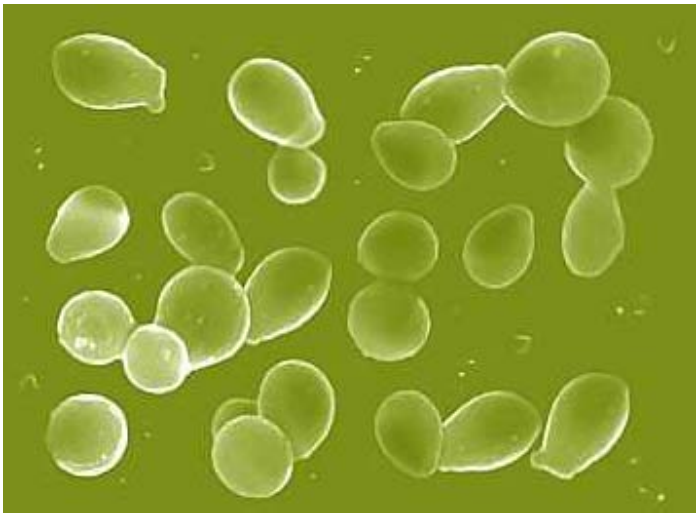
Υποκινητής (προέλευση)	**Στοιχείο**	**Γονίδιο αναφοράς**	**Ξενιστής**	**Αναφορά**
arsB	Sb	*blaZ*	*Staphylococcus aureus*	Ji and Silver (1992)
arsB	As^{5+}	*luxAB (V. fisheri)*	*E. coli*	Cai and Dubaw (1997)
arsR	As^{+3}	*luxFF (Firefly)*	*E. coli*	Cai and Dubaw (1997)
arsR	As	*luxCDABE (V. fisheri)*	*E. coli*	Hakkila et al. (2002)
arsR	Sb	*lacZ*	*E. coli*	Ramanathan et al. (1998)

arsR	Cd	*lucFF*	*E. coli*	Tauriainen et al (2002)
Υποκινητής (προέλευση)	**Στοιχείο**	**Γονίδιο αναφοράς**	**Ξενιστής**	**Αναφορά**
cadC (S.aureus)	Pb	*lucFF*	*Bacillus subtilis*	Tauriainen et al (1998)
chrB	Cr	*lacZ*	*C. metallidurans*	Peitzsch et al. (1998)
chrB	Cr	*luxCDABE (V. fisheri)*	*C. metallidurans*	Corbisier et al. (1999)
chrAB	Cr	*luxFF (Firefly)*	*C. metallidurans*	Ivask et al. (2002)
cnrXYH	Ni	*luxCDABE (V. fisheri)*	*C. metallidurans*	Tibazarwa et al. (2002)
copBC	Cu	*luxAB (V. fisheri)*	*P.fluorescens*	Tom-Peterson et al. (2001)
cup1	Cu	*gfp (A. Victoria)*	*Saccharomyces cerevisiaie*	Shetty et al. (2002)
merR (Shigella flexneri)	Hg	*luxFF (Firefly)*	*E. coli*	Virta et al. (1995)
merRB	Zn	*luxFF (Firefly)*	*E. coli*	Ivask et al. (2002)
pbrR	Pb	*luxCDABE (V. fisheri)*	*C. metallidurans*	Corbisier et al. (1999)

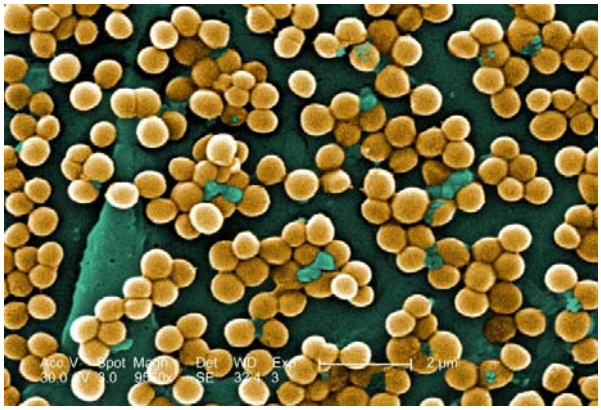
Πίνακας 2. (Microbial reporters of metal bioavailability, Magrisso)



Bacillus subtilis



Saccharomyces cerevisiaie

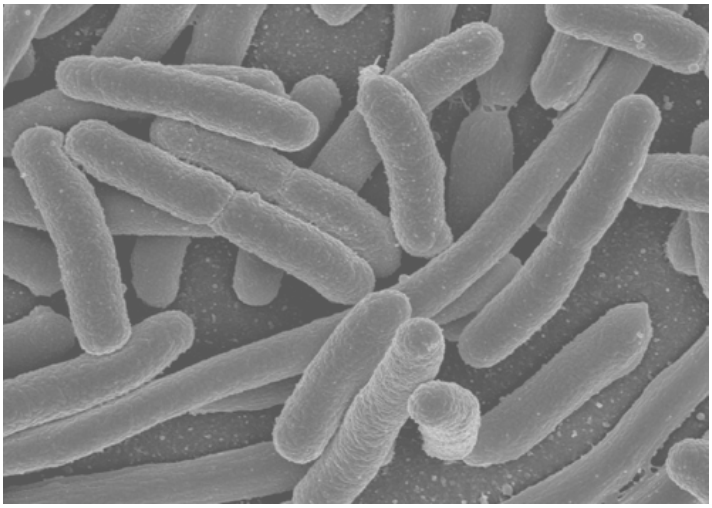


Staphylococcus aureus

Κάποια από τα γονίδια υποκινητές που παρουσιάζονται στον πίνακα 2 χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας συγκεκριμένων μετάλλων. Έτσι, τα γονίδια *copBC του P. fluorescens και τα pbrR* ανταποκρίνονται στο χαλκό και το μόλυβδο αντίστοιχα. Κάποια άλλα από τα γονίδια που εμφανίζονται στον ίδιο πίνακα παρουσιάζουν μεγαλύτερο εύρος χρήσης. Συγκεκριμένα τα arsR και τα cadC γονίδια του *E. Coli* ενεργοποιούνται από και χρησιμοποιούνται για τον καθορισμό της βιοδιαθεσιμότητας των As, Cd, Sb και Cd, Sb, Sb, Sn, και Zn αντίστοιχα. Στις περισσότερες περιπτώσεις οι αποκρίσεις των κατασκευασμάτων είχαν σχέση και με τη δόση του μετάλλου.



P. fluoerescens



E. coli

Πρακτικά, σε όλες τις παραπάνω αναλύσεις, αλλά και σε αρκετές ακόμα, ο χαρακτηρισμός της απόκρισης των στελεχών αναφοράς ως προς τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας συγκεκριμένα διαλύματα των υπό μελέτη μετάλλων. Ωστόσο, ουσιαστική σημασία έχει η εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων σε εδάφη και ιζήματα. Μια τέτοια προσπάθεια είναι αρκετή επίπονη αφότου πρέπει να έρθει σε επαφή το βακτηριακό τοίχωμα με σωματίδια του εδάφους, αντίδραση που είναι αναγκαίο να συμβεί σε υδατικό διάλυμα. Κάτω από αυτές τις συνθήκες, όταν κάποιο στέλεχος του βακτηρίου αναφοράς ανταποκρίνεται στην αναλυόμενη ουσία-στόχο, δεν είναι ξεκάθαρο εάν το τοίχωμα του πραγματικά ανιχνεύει το μέταλλο ή αν η παρατηρούμενη απόκριση αντιστοιχεί μόνο στη διαλυμένη μορφή του μετάλλου.

Τα μέταλλα τα οποία βρίσκονται σε εδάφη ή ιζήματα καθίστανται βιοδιαθέσιμα μόνο αφότου διαλυθούν και πάρουν υγρή μορφή. Υπάρχουν όμως αρκετοί που θεωρούν ότι ακόμα και μέταλλα δεσμευμένα σε σωματίδια είναι βιοδιαθέσιμα, στηριζόμενοι σε συγκρίσεις των βακτηριακών αποκρίσεων σε υδάτινα διαλύματα. Η διαλεύκανση του παραπάνω διλήμματος είναι μεγάλης πρακτικής σημασίας για την εκτίμηση της τοξικότητας ενός μετάλλου. Αν όντως οι δεσμευμένες μορφές των μετάλλων είναι βιοδιαθέσιμες, τα όρια της βιοαποκατάστασης πρέπει να καταστούν μικρότερα και οι μετρήσεις που διενεργούνται για την εκτίμηση του ποσοστού καθαρισμού πρέπει να είναι πιο ενδελεχείς. (Magrisso S., Yigal E. and Belkin S., 2007)

Παραδείγματα Μελετών

Όπως αναφέρθηκε μια μέθοδος εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας βαρέων μετάλλων στα εδάφη είναι αυτή που πραγματοποιείται με τη χρήση βιολογικών ανιχνευτών. Οι Liao *et al*.,2005, χρησιμοποίησαν ένα μη παθογόνο βακτηριακό ανιχνευτή προερχόμενο από το *E coli* DH5α (pVLCD1) που αναπτύχθηκε βασιζόμενο στο γονίδιο αναφοράς gfp και υπό τον έλεγχο του υποκινητή cadC γονιδίου του *Staphylococcus aureus*. Η ανίχνευση πραγματοποιήθηκε με φθορισμό (Green fluorescent protein-GFP-based

bacterial biosensor). Στα πειράματα τους εκτιμήθηκε η επιλεκτικότητα του βιολογικού ανιχνευτή ως προς τα μεταλλικά ιόντα και παρατηρήθηκε θετική απόκριση για τα Cd(II), Pb(II), Sb(III) και Zn(II), ενώ δεν παρουσιάστηκε σημαντική στατιστική διαφορά στο φθορισμό για τα As(III), Co(II), Cu(II), Fe(II), Hg(II), Mn(II), Ni(II), Sn(II). Ερευνήθηκε επίσης η απόκριση του βιοανιχνευτή σε μίγματα μετάλλων και παρατηρήθηκε ότι αυτή είναι αθροιστική. Επίσης, συμπεραίνεται ότι τα εδαφικά δείγματα Pb και Cd είναι μερικώς διαθέσιμα στο βιοανιχνευτή *E. coli* DH5α (pVLCD1). Για την επίτευξη της επαγωγής το μέταλλο έπρεπε να διαπεράσει τη βακτηριακή μεμβράνη του βιοανιχνευτή και να εισέλθει στο κύτταρο, γεγονός το οποίο μπορει να θεωρηθεί ως ελάχιστη απαίτηση για τη βιοδιαθεσιμότητα.[(17) Liao Vivian Hsiu-Chuan *et al*., 2005]

Πολλές μελέτες εξετάζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων μετά την αποκατάσταση των εδαφών. Οι Udovic και Lestan, (2006) πέρα από την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας σε αποκαταστημένα εδάφη προχώρησαν και στην εξέταση της επιρροής παρουσίας γεωσκωλήκων σε αυτά. Υπάρχει πληθώρα αναφορών ότι η χρήση σκουληκιών αυξάνει τη διασπορά των μετάλλων στα εδάφη και επομένως αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα τους .

Η αποκατάσταση στη μελέτη των Udovic και Lestan έγινε με τη χρήση EDTA (ethylenediamine tetraacetate) ενώ χρησιμοποιήθηκαν τα είδη γεωσκολήκων *Lumbricus rubellus* και *Eisenia fetida* για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας του Pb.



E.fetida



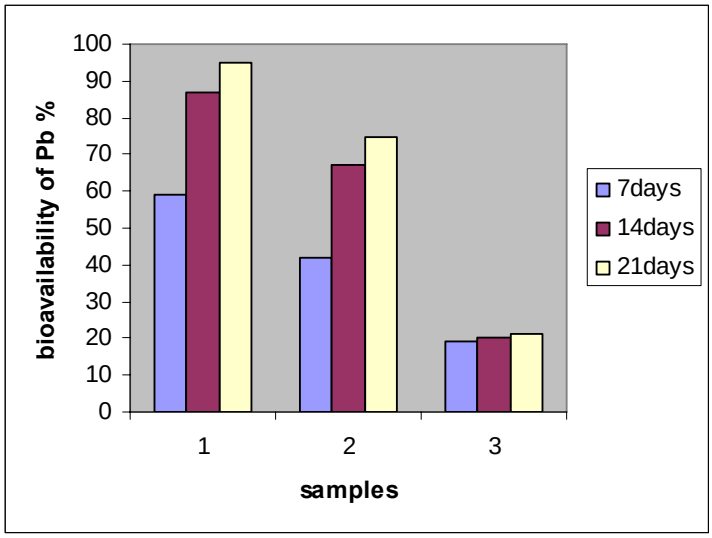
L.rubellus

Η χρήση του EDTA απομάκρυνε το 40% του Pb ενώ όσον αφορά τη βιοδιαθεσιμότητα του Pb, αυτή παρατηρήθηκε υψηλότερη στο *E. fetida* από ότι στο *L. rubellus* καθώς

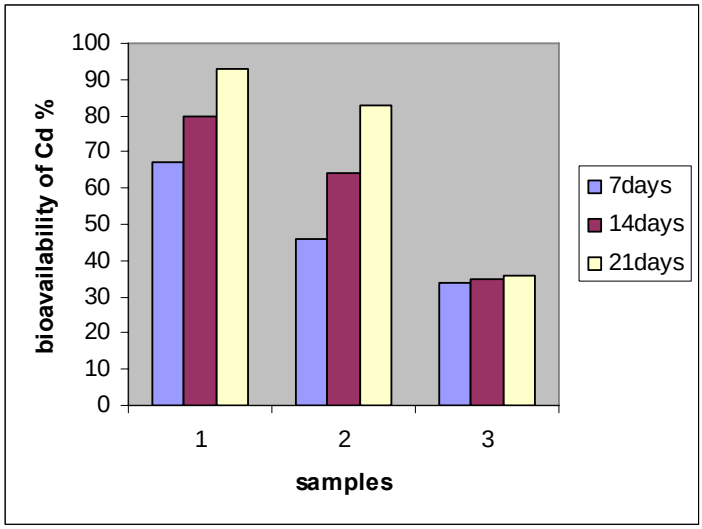
υψηλότερη και από ότι στη μάζα του εδάφους, είτε έχει αποκατασταθεί είτε όχι. Στους *E. fetida* γεωσκώληκες που παρήχθησαν σε μη αποκαταστημένο έδαφος, η βιοδιαθεσιμότητα του Pb στο στομάχι και στο έντερο παρατηρήθηκε 4,1 και 2,3 φορές μεγαλύτερη αντίστοιχα σε σχέση με τα υπόλοιπα εδάφη. Στους *E. fetida* γεωσκώληκες που παρήχθησαν σε αποκαταστημένο έδαφος, η βιοδιαθεσιμότητα στο στομάχι αυξήθηκε κατά 5,1 φορές, ενώ η βιοδιαθεσιμότητα στη μικρή εντερική φάση δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά. Η βιοδιαθεσιμότητα του Pb στους *L. rubellus* σε αποκατεστημένα και μη εδάφη δεν παρουσίασε στατιστική διαφορά. Η αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας στους *E. fetida* και η στασιμότητα της στους *L. rubellus* είναι ενδεικτική της διαφοροποίησης της ανάλογα με το είδος των γεωσκωλήκων που χρησιμοποιούνται και η διαφορά τους έγκειται πιθανά στην επιλεκτικότητα της τροφής. Το γενικό συμπέρασμα της μελέτης των Udovic και Lestan είναι ότι κάποιοι γεωσκώληκες έχουν την ικανότητα να αυξάνουν τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων ακόμη και σε αποκατεστημένα εδάφη με υπολειμματική ποσότητα βαρέων μετάλλων. [(18) Udovic Metka and Lestan Domen, 2006]

Μία ακόμη μελέτη που εξετάζει τη βιοδιαθεσιμότητα εδαφών πριν και μετά από αποκατάσταση διεξήχθη το 2006 από τους V.Misra και P.K.Chaturvedi. Και ενώ οι Udovic και Lestan χρησιμοποίησαν γεωσκώληκες για να μετρήσουν τη βιοδιαθεσιμότητα του Pb, οι V.Misra και P.K.Chaturvedi χρησιμοποίησαν το φυτό της ινδικής μουστάρδας (*Brassica juncea*) για τη εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των Cd, Cr, Ni και Pb. Οι V.Misra και P.K.Chaturvedi μέτρησαν τις συγκεντρώσεις των μετάλλων σε αποκαταστημένα και μη εδάφη σε 7, 14 και 21 μέρες από την εφαρμογή των φυτών στα ρυπασμένα εδάφη. Η αποκατάσταση των εδαφών έγινε με τη χρήση κοπριάς-χουμικού υλικού- και/ή με υδροξυαπατίτη. Σύμφωνα με τις πειραματικές μετρήσεις, η βιοδιαθεσιμότητα των Pb, Cd, Cr και Ni στο μη αποκατεστημένο έδαφος ήταν 59%, 67%, 65% και 63% αντίστοιχα σε 7 ημέρες, 87%, 80%, 81% και 80% σε 14 ημέρες και πάνω από 90% στις 21 ημέρες. Στην περίπτωση του αποκατεστημένου με χουμικό υλικό εδάφους η βιοδιαθεσιμότητα του Pb μειώθηκε από 59% σε 42%, του Cd από 67% σε 46%, του Cr από 65% σε 44% και του Ni από 63% σε 44% σε 7 ημέρες. Σε 14 ημέρες, η βιοδιαθεσιμότητα του Pb μειώθηκε από 87% σε 67%, του Cd από 80% σε 64%, του Cr

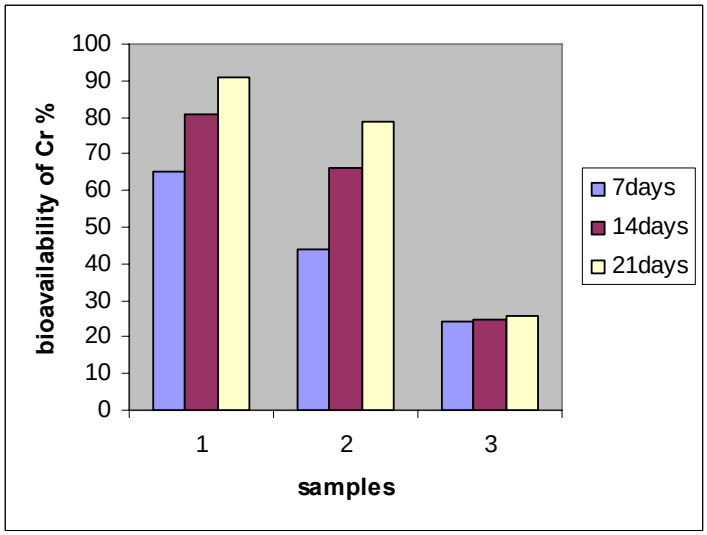
από 81% σε 66% και του Ni από 80% σε 68%. Παρόμοια τάση αποκαλύφθηκε και στα αποτελέσματα των 21 ημερών. Συγκεκριμένα, η βιοδιαθεσιμότητα του Pb μειώθηκε από 95% σε 75%, του Cd από 93% σε 83%, του Cr από 91% σε 79% και του Ni από 89% σε 81%. Κατά το συνδυασμό μη αποκατεστημένου και αποκατεστημένου εδάφους με χουμικά υλικά σε αναλογία 1:3 και με την προσθήκη 1% φωσφορικού ασβεστίου η βιοδιαθεσιμότητα του Pb μειώθηκε σε 21 με 22,5%, του Cd κοντά στο 36%, του Cr γύρω στο 26% και του Ni μεταξύ 34% και 39% σε 7,14 και 21 ημέρες. Τα αποτελέσματα της έρευνας των Ινδών ήταν ότι η βιοδιαθεσιμότητα ήταν ελάχιστη στην περίπτωση του μολύβδου και μέγιστη στην περίπτωση του νικελίου, ενώ η αποκατάσταση του εδάφους με υδροξυαπατίτη και χουμικά συστατικά όπως περιγράφεται παραπάνω έχει τη δυνατότητα να ακινητοποιεί τα μέταλλα και ως εκ τούτου να μειώνει τη βιοδιαθεσιμότητα τους στα φυτά.[(19) Misra Virenda and Chaturvedi Pranav Kumar , 2007]



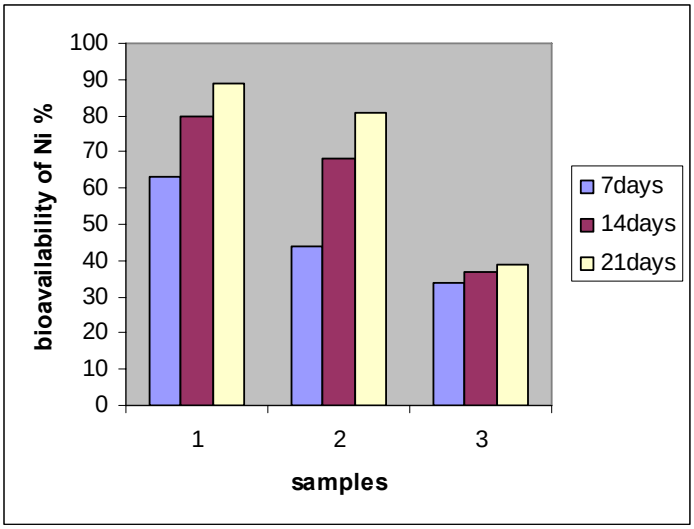
Βιοδιαθεσιμότητα Pb σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2):αποκατεστημένου με χουμικά υλικά εδάφους, (3):αποκατεστημένου με χουμικά συστατικά και φωσφορικού ασβεστίου, σε 7, 14 και 21 ημέρες.



Βιοδιαθεσιμότητα Cd σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2):αποκατεστημένου με χουμικά υλικά εδάφους, (3):αποκατεστημένου με χουμικά συστατικά και φωσφορικού ασβεστίου, σε 7, 14 και 21 ημέρες.



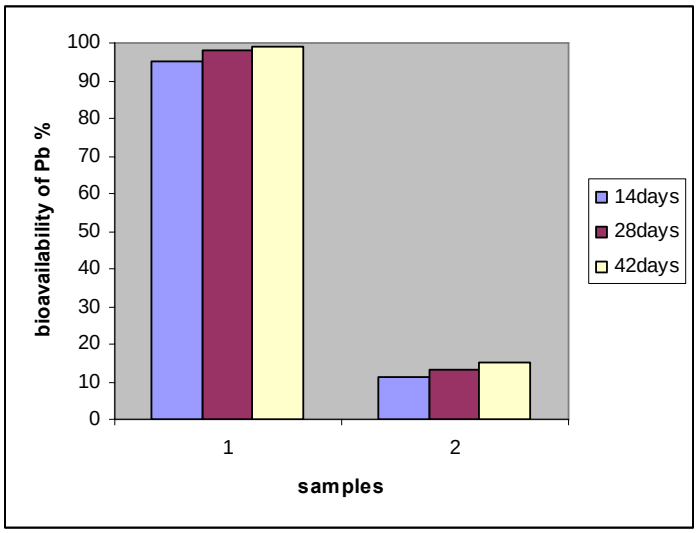
Βιοδιαθεσιμότητα Cr σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2):αποκατεστημένου με χουμικά υλικά εδάφους, (3):αποκατεστημένου με χουμικά συστατικά και φωσφορικού ασβεστίου, σε 7, 14 και 21 ημέρες.



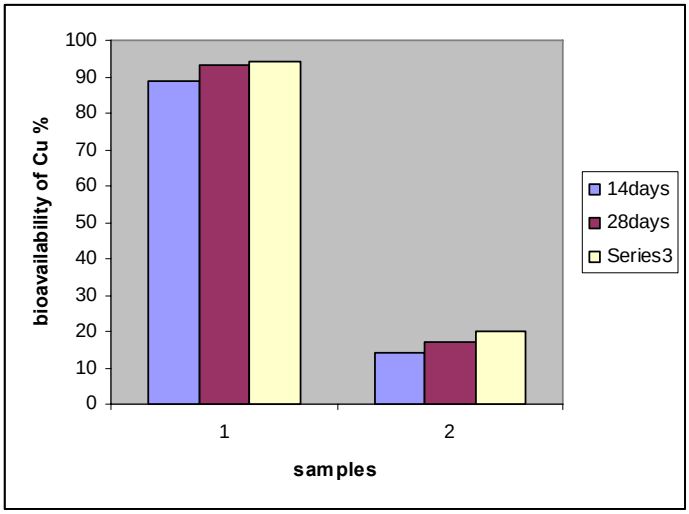
Βιοδιαθεσιμότητα Cr σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2):αποκατεστημένου με χουμικά υλικά εδάφους, (3):αποκατεστημένου με χουμικά συστατικά και φωσφορικού ασβεστίου, σε 7, 14 και 21 ημέρες.

Σε μια πιο πρόσφατη (2008) μελέτη του Misra σε συνεργασία με τους Tiwari, Shukla, Shekar Seth χρησιμοποιήθηκε ξανά το φυτό της ινδικής μουστάρδας (*Brassica juncea*) για τη εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των Pb, Cu, Zn και Mn εδάφους που προέρχεται από αδρανή υλικά ορυχείου στην περιοχή Udaipur της Ινδίας. Οι μετρήσεις της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων έγιναν πριν και μετά από αποκατάσταση των δειγμάτων. Τα βελτιωτικά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν έδαφος με χουμικά συστατικά καθώς και φωσφορούχος άργιλος. Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν 14, 28 και 42 ημέρες μετά την εφαρμογή των φυτών στα εδαφικά δείγματα. Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στο μη αποκατεστημένο έδαφος ήταν: για το Pb 95% την 14^{η} ημέρα, 98% την 27^{η} και 99% την 42^{η} ημέρα, για το Cu 89%, 93%, 94% αντίστοιχα, για το Zn 93%, 95%, 97% αντίστοιχα και τέλος για το Mn 95%, 98% και 99% αντίστοιχα. Σημαντική μείωση στη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων παρατηρήθηκε στα αποκατεστημένα εδάφη (έδαφος από ορυχείο, φωσφορούχος άργιλος, χουμικά συστατικά σε αναλογία 2:1:1). Συγκεκριμένα, στις 14 ημέρες η βιοδιαθεσιμότητα μειώθηκε από 95% σε 11%, από 89% σε 14%, από 93% σε 17% και από 95% σε 22% για τα Pb, Cu, Zn και Mn αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα των 28 ημερών παρουσιάζουν μείωση για το Pb από 98% σε 13%, για το Cu από 93% σε 17%, για το Zn από 95% σε 19% και τέλος για το Mn από 98% σε 23%.

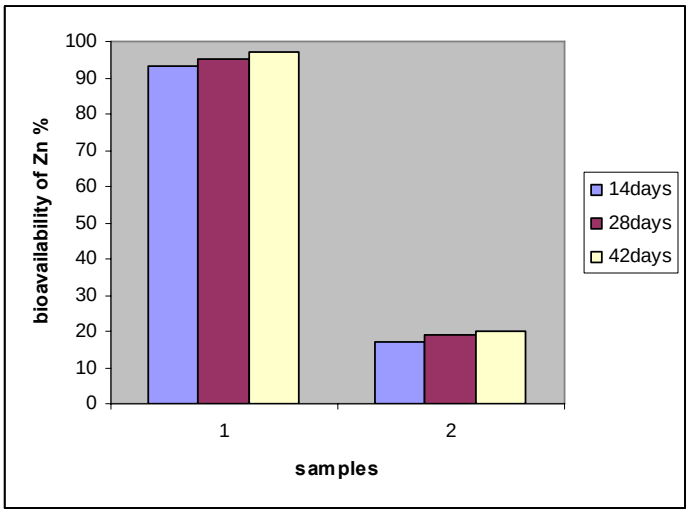
Τέλος, για τα Pb, Cu, Zn και Mn παρατηρήθηκε στις 42 ημέρες μείωση από 99% σε 15%, από 94% σε 20%, από 97% σε 20% και από 99% σε 25% αντίστοιχα. Τα δεδομένα έδειξαν ότι ο φωσφορούχος άργιλος παρουσία χουμικών συστατικών είχε υψηλή ανεκτικότητα κυρίως σε Pb, καθώς και στα Cu, Zn και Mn. Άλλοι παράγοντες που καθορίζουν τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων είναι τα χαρακτηριστικά του εδάφους και οι σταθεροποιητικοί παράγοντες. Επιπλέον, η μελέτη των Misra et al. εισηγείται ότι η μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων (μέσω ακινητοποίησης τους στο έδαφος) με την εφαρμογή βελτιωτικών όπως φωσφορούχα άργιλο και χουμικών συστατικών είναι φθηνότερη και ασφαλέστερη μέθοδος για τα οικοσυστήματα σε συγκρίση των συμβατικών μεθόδων. [(20) Misra Virenda *et al*., 2008]



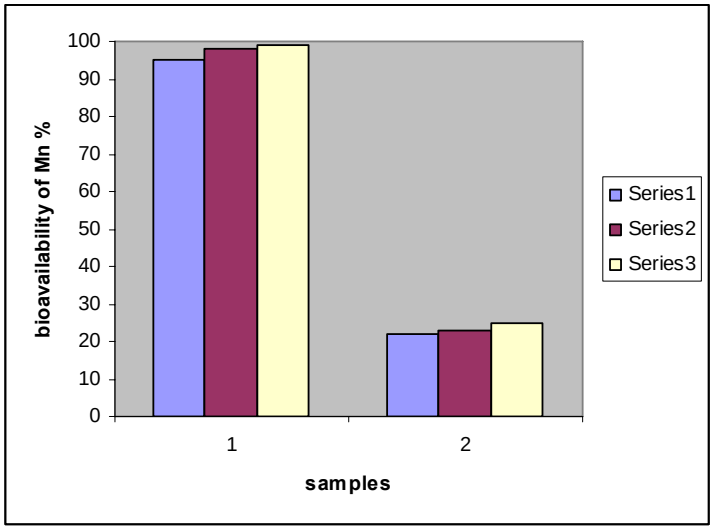
Βιοδιαθεσιμότητα Pb σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2): αποκατεστημένου εδάφους (έδαφος από ορυχείο, φωσφορούχα άργιλος, χουμικά συστατικά σε αναλογία 2:1:1, σε 14, 28 και 42 ημέρες.



Βιοδιαθεσιμότητα Cu σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2): αποκατεστημένου εδάφους (έδαφος από ορυχείο, φωσφορούχα άργιλος, χουμικά συστατικά σε αναλογία 2:1:1, σε 14, 28 και 42 ημέρες.



Βιοδιαθεσιμότητα Zn σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2): αποκατεστημένου εδάφους (έδαφος από ορυχείο, φωσφορούχα άργιλος, χουμικά συστατικά σε αναλογία 2:1:1, σε 14, 28 και 42 ημέρες.



Βιοδιαθεσιμότητα Mn σε εδαφικά δείγματα (1):μη αποκατεστημένου εδάφους, (2): αποκατεστημένου εδάφους (έδαφος από ορυχείο, φωσφορούχα άργιλος, χουμικά συστατικά σε αναλογία 2:1:1, σε 14, 28 και 42 ημέρες.

Το 2008 υλοποιήθηκε από τους Cao *et al*. μια μελέτη εκτίμησης της βιοδιαθεσιμότητας του μολύβδου και του ψευδαργύρου των εδαφών με τη βοήθεια του φυτού *Mirabilis jalapa*. Για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας έγιναν πολλαπλές μετρήσεις της συγκέντρωσης των μετάλλων στο έδαφος καθώς και στα φύλλα, το βλαστό και τη ρίζα των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν. Σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα, υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης του μολύβδου στο εδαφικό διάλυμα και στα φύλλα του *Mirabilis jalapa.* Το γεγονός αυτό αποδεικνύει ότι η συγκέντρωση του μολύβδου στο έδαφος είναι ενδεικτική της βιοδιαθεσιμότητας του. Αντιθέτως, η συγκέντρωση του ψευδαργύρου στα φύλλα του φυτού δε συσχετίζεται με τον περιεχόμενο στο έδαφος ψευδάργυρο. Το γεγονός αυτό πιθανά οφείλεται στο γεγονός ότι ο ψευδάργυρος είναι απαραίτητο συστατικό για την υγεία των φυτών και επομένως η απορρόφηση του δεν μπορεί να σχετίζεται με το βιοδιαθέσιμο κλάσμα του στο έδαφος αλλά στην απαραίτητη ποσότητα που απαιτείται για τη διατήρηση της υγείας του φυτού. [(21) Cao Alessia *et a*l., 2007]

Το 2003 οι During *et al*. εστίασαν το ενδιαφέρον τους στη μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας των Cd, Zn και Cu, χρησιμοποιώντας το φυτό *Spinacia oleracea*, σε δυο διαφορετικά είδη εδάφους (αμμώδη και ιλυώδη), τα οποία υπέστησαν επεξεργασία με κομπόστ και

ιλύ από επεξεργασία λυμάτων αντίστοιχα, και τα δύο υπό συμβατική καλλιέργεια και μη. Η μακροχρόνια μη συμβατική καλλιέργεια είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση των Cd και Zn που απομακρύνθηκαν. Στο αμμώδες έδαφος παρατηρήθηκε μια μικρή αύξηση του καδμίου η οποία οφείλεται στην εφαρμογή της ιλύος από επεξεργασία λυμάτων. Η βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων μειώθηκε στη μακροχρόνια μη συμβατική καλλιέργεια, η οποία είχε ως αποτέλεσμα τη λήψη μικρότερης ποσότητας Cd και Zn από τα φυτά και τη μικρότερη συσσώρευση τους στο έδαφος. Η επιρροή της καλλιέργειας στον εμπλουτισμό των βαρέων μετάλλων στα εδάφη ήταν σπουδαιότερη από ότι οι επιπτώσεις από τη χρήση λιπασμάτων. Τέλος, οι During *et al*. προτείνουν ότι ακαλλιέργητα εδάφη τα οποία περιέχουν βαρέα μέταλλα δεν ενδείκνυται να αποκαθίστανται με την προσθήκη οργανικών αποβλήτων . [(22) During Rolf-Alexander *et al*., 2003]



Mirabilis jalapa



Spinacia oleracea

Κεφάλαιο 5ο

Βιοαποκατάσταση

Βιοαποκατάσταση είναι η σκόπιμη χρήση της βιοαποικοδόμησης ή των διεργασιών συσσώρευσης ενός ρύπου με σκοπό την ελάττωση των περιβαλλοντικών ρύπων στις περιοχές όπου έχουν αποτεθεί. Οι τεχνολογίες που διέπουν τη βιοαποκατάσταση χρησιμοποιούν τη φυσιολογική δυναμική μικροοργανισμών και φυτών για την εξάλειψη ή μείωση της συγκέντρωσης των περιβαλλοντικών ρύπων σε επίπεδα συμβατά με τους κανονισμούς. Η βιοαποκατάσταση μπορεί να προσεγγιστεί χρησιμοποιώντας *in situ* τεχνολογία (εφαρμογή απευθείας στο μολυσμένο πεδίο) ή *ex situ* μεθοδολογίες (μετά την απομάκρυνση του μολυσμένου εδάφους από το πεδίο).

Φυτοαποκατάσταση είναι η τεχνολογία κατά την οποία επιχειρείται η χρήση διάφορων διεργασιών που βασίζονται στα φυτά για την απομάκρυνση, μεταφορά, σταθεροποίηση ή καταστροφή ρύπων. Οι μηχανισμοί της βιοαποκατάστασης περιλαμβάνουν βιοδιάσπαση στη ριζόσφαιρα-rhizosphere biodegradation-, φυτοεξαγωγή- phytoextraction-, φυτοδιάσπαση-phytodegradation- και φυτοσταθεροποίηση- phytostabilization-. Κατά την εφαρμογή μεθόδων φυτοαποκατάστασης χρησιμοποιούνται είτε πολυετή φυτά είτε είδη που ευδοκιμούν ανά έτος.

Επιρροή της βιοδιαθεσιμότητας στη φυτοαποκατάσταση εδαφών μολυσμένων με βαρέα μέταλλα

Ο χαρακτηριστικός παράγοντας που αφορά την τεχνολογία της φυτοαποκατάστασης είναι ότι τα φυτά μπορούν να έχουν μεγάλες φυσικές και υδρολογικές επιδράσεις στα μολυσμένα εδάφη. Οι ρίζες των φυτών διεισδύουν στον τρισδιάστατο όγκο του μολυσμένου εδάφους και το αγγειακό σύστημα απομακρύνει το νερό από το έδαφος και το μεταφέρει στην ατμόσφαιρα. Η ανάγκη των φύλλων για νερό είναι η κινητήριος

δύναμη για τη ροή του νερού από το έδαφος στο ριζικό σύστημα και από εκεί στη φυτική βιομάζα. Η σχετική συνεισφορά της ροής της μάζας στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών διαφέρει από φυτό σε φυτό. Παρόλα αυτά, όλα τα φυτά αναπτύσσονται και κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης τους προκαλούν τη μαζική μεταφορά νερού καθώς και διαλυμάτων μέσω του εδάφους στους ιστούς τους. Εάν κάποιο διάλυμα το οποίο περιέχει και μέταλλα βρίσκεται στο έδαφος τότε εγγυημένα αυτό θα μεταφερθεί και στο φυτό. Για το λόγο αυτό έχουν κατευθυνθεί οι έρευνες προς την προσπάθεια αύξησης της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στα φυτά.

Ιδιαίτερη έμφαση έχει δοθεί σε πειράματα που αφορούν την κινητοποίηση των μετάλλων από το έδαφος σε εδαφικά διαλύματα και σε φυτά καθώς οργανικοί χηλικοί παράγοντες-όπως το EDTA- έχουν χρησιμοποιηθεί για δεκαετίες για παρεμφερείς σκοπούς. Πολλά πειράματα έχουν δείξει ότι η προσθήκη χηλικών παραγόντων μπορεί να προάγει και βοηθήσει ενδεχόμενη φυτοαποκατάσταση. Παραδείγματος χάριν, η προσθήκη EDTA σε ηλιάνθεμα -*Helianthus annuus*- είχε ως αποτέλεσμα τη λήψη και μεταφορά καδμίου και νικελίου από μολυσμένα εδάφη, ενώ η προσθήκη EDTA σε ινδική μουστάρδα -*Brassica juncea*- είχε ως αποτέλεσμα τη συσσώρευση σε αυτήν αυξημένης ποσότητας ψευδαργύρου.

Αν και η είσοδος των μετάλλων στα εδαφικά διαλύματα είναι σπουδαίος παράγοντας κατά το σχεδιασμό των στρατηγικών φυτοαποκατάστασης, ο προσδιορισμός των εδαφικών και φυτικών παραγόντων που επηρεάζουν τη λήψη των μετάλλων είναι αντικείμενο έρευνας. Σε αυτό το πλαίσιο, έχει ξεκινήσει η ταυτοποίηση των μη βιοδιαθέσιμων μορφών μετάλλων. Παραδείγματος χάριν, οι *Stanhope et al*. (2000) χρησιμοποίησαν την ινδική μουστάρδα για να αποδείξουν ότι, παρότι παρουσιάστηκε κινητοποίηση των Cd, Zn, Pb, Ni και Cu σε έδαφος επιμολυσμένο με ιλύ που προερχόταν από επεξεργασία υγρών αποβλήτων, η προσθήκη EDTA δεν κατάφερε να διευκολύνει την πρόσβαση του φυτού σε μια αμετάβλητη/σταθερή δεξαμενή καδμίου στο έδαφος. Σε παρόμοιες μελέτες, οι ερευνητές έστρεψαν το ενδιαφέρον τους στην εξέταση της σχέσης της ικανότητας εξαγωγής του μετάλλου με το χρόνο. Τα αποτελέσματα πολλών τέτοιων μελετών παρουσιάζουν λίγο-πολύ κοινό συμπέρασμα: Οι σχέσεις μεταξύ μετάλλων, εδαφών και φυτών φαίνεται να διαφέρουν ιδιαίτερα ανάλογα με τον τύπο, τη σύνθεση και το σχεδιασμό του πειραματικού συστήματος.

Παραδείγματα φυτοαποκατάστασης περιοχών μολυσμένων με βαρέα μέταλλα

Στο κεφάλαιο 4 αναφέρονται παραδείγματα πειραμάτων όπου χρησιμοποιούνται φυτά για την εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στα εδάφη. Τα ίδια φυτά χρησιμοποιούνται για την αποκατάσταση εδαφών από βαρέα μέταλλα. Έτσι, μπορούν να αναφερθούν δυο συγκεκριμένες απόπειρες αποκατάστασης εδαφών. Η πρώτη αναφέρεται σε μόλυνση αποξηραμένου ιλυώδους εδάφους με Pb, το οποίο ελευθερώθηκε κατά τη διάρκεια δραστηριοτήτων καύσης από την εταιρεία Ensign-Bickford Company στο Simbury. Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ινδική μουστάρδα -*Brassica juncea*- και ηλιάνθεμα -*Helianthus annuus*-. Το αποτέλεσμα της βιοαποκατάστασης ήταν η μείωση του μολύβδου από 635 ppm σε 478 ppm σε διάστημα μιας εβδομάδας, της τάξεως δηλαδή του 25%. Παρατηρήθηκε ότι τα φυτά κατάφεραν να σταθεροποιήσουν το πεδίο, παρόλα αυτά απαιτείτο περαιτέρω μεταχείριση του.

Μια δεύτερη απόπειρα αποκατάστασης εδάφους με τη βοήθεια φυτών διεξήχθη στο Twin Cities Army Ammunition plant, στα Arden Hills. Το πεδίο ήταν ιδιαίτερα φορτισμένο με βαρέα μέταλλα και συγκεκριμένα με αντιμόνιο, αρσενικό, βηρύλλιο, μόλυβδο και θάλλιο. Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν καλαμπόκι -*zea mays*- και ινδική μουστάρδα -*Brassica juncea*-, ενώ χρησιμοποιήθηκαν και βελτιωτικά όπως EDTA καθώς και λιπάσματα. Τα αποτελέσματα του πρώτου έτους ήταν απογοητευτικά, μιας και καταγράφηκαν συγκεντρώσεις μετάλλων στους ιστούς των φυτών, ωστόσο δεν υπήρξαν αλλαγές στη συγκέντρωση των μετάλλων στα εδάφη. Και στις δυο περιπτώσεις οι προσδοκίες των μελετητών ήταν μεγαλύτερες των αποτελεσμάτων, και ενώ στη θεωρία η τεχνολογία της φυτοαποκατάστασης μοιάζει πολλά υποσχόμενη είναι ακόμα μεγάλη η πρόοδος που πρέπει να σημειωθεί ώστε να μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν μια σίγουρη και αποτελεσματική μέθοδος αποκατάστασης εδαφών.

Καινοτόμες μικροβιακές προσεγγίσεις για την αποκατάσταση εδαφών και ιζημάτων μολυσμένων με βαρέα μέταλλα

Οι στόχοι της μικροβιακής αποκατάστασης εδαφών και ιζημάτων μολυσμένων με βαρέα μέταλλα είναι είτε η *in situ* ακινητοποίηση των μετάλλων, ώστε να μειωθεί η βιοδιαθεσιμότητα και κινητικότητα τους, είτε η απομάκρυνση τους από το έδαφος. Ένα πρόβλημα που υπάρχει κατά την ακινητοποίηση των μετάλλων, ως τεχνολογία αποκατάστασης, είναι η δυσκολία του να προβλεφθεί εάν τα μέταλλα θα παραμείνουν αόριστα ακινητοποιημένα. Από την άλλη, η απομάκρυνση των μετάλλων είναι δύσκολα εφαρμόσιμη τεχνική λόγω της ετερογενούς φύσης του εδάφους και του μεγάλου κόστους της τεχνικής, και ως εκ τούτου πιθανά να μην δύναται να εφαρμοστεί σε κάποιες περιπτώσεις. Ωστόσο, η προσέγγιση της αποκατάστασης με τη χρήση μικροβίων αξίζει να μελετηθεί μιας και οι κλασικές φυσικοχημικές μέθοδοι- όπως η αποτέφρωση και η εκσκαφή- αποκατάστασης είναι πολύ ακριβότερες όταν πρόκειται για μεγάλους όγκους εδαφών που πρέπει να αποκατασταθούν. Έχουν προταθεί αρκετές διαφορετικές τεχνολογίες που αφορούν σε αποκατάσταση με χρήση μικροβίων, κάποιες από τις οποίες είναι η μικροβιακή διήθηση, η χρήση μικροβιακών επιφανειοδραστικών παραγόντων , η μικροβιακώς επαγόμενη εξάτμιση καθώς και η μικροβιακή ακινητοποίηση.

Συγκεκριμένοι μικροοργανισμοί, όπως ο *T. ferrooxidans* μπορούν να βοηθήσουν στην απομάκρυνση των μετάλλων από το έδαφος μέσω της διαλυτοποίησης τους ή της διήθησης τους. Η βιοδιήθηση έχει κατά κόρον χρησιμοποιηθεί για την αποκατάσταση μεταλλευμάτων καθώς και για την ανάκτηση χαλκού, μολύβδου, σιδήρου και ουρανίου από τα κατάλοιπα της βιομηχανίας εξόρυξης. Τα μέταλλα που ανακτώνται με τη μέθοδο αυτή μπορούν να συγκεντρωθούν είτε δημιουργώντας σύμπλοκα με χηλικούς παράγοντες είτε να ιζηματοποιηθούν με τη χρήση ασβέστη. Η μέθοδος βιοδιήθησης μπορεί να έχει αποτελέσματα και για την απομάκρυνση μετάλλων από μολυσμένα εδάφη και λασπώδης εναποθέσεις αλλά η πιθανότητα αυτή δεν έχει διερευνηθεί αρκετά.

Οι μικροοργανισμοί μπορούν επίσης να αυξήσουν τη διαλυτότητα των μετάλλων διαμέσου της παραγωγής επιφανειοδραστικών παραγόντων. Λόγω του μικρού τους μεγέθους, οι παράγοντες αυτοί πιθανά να αποτελέσουν ισχυρό εργαλείο για την αποκατάσταση εδαφών μολυσμένων με μέταλλα. Οι βακτηριακοί παράγοντες είναι

υδατοδιαλυτοί και έχουν μόρια με μικρά μοριακά βάρη τα οποία μπορούν πολύ εύκολα να διαπεράσουν τους εδαφικούς πόρους. Επιπροσθέτως παρουσιάζουν μεγάλη ανοχή έναντι των μετάλλων και μετά τη δημιουργία συμπλόκων παραγόντων-μετάλλων, τα μέταλλα μπορούν να απομακρυνθούν μέσω έκπλυσης. Κάποιοι παράγοντες, όπως τα rhamnolipid που παράγονται από την *Pseudomonas aeruginosa,* παρουσιάζουν εξειδίκευση για συγκεκριμένα μέταλλα, όπως το κάδμιο και ο μόλυβδος. Σχετικά με τους βακτηριακούς παράγοντες και οι βιογαλακτωματοποιητές, όπως οι emulsan, που παράγονται από το *Acinetobacter calcoaceticus*, μπορούν επίσης να βοηθήσουν στην απομάκρυνση των μετάλλων. Η αφαίρεση των μετάλλων από τα εδάφη με τη χρήση βιογαλακτωματοποιητών έχει περιγραφή σε διάφορες μελέτες και η ικανότητα απομάκρυνσης των μετάλλων έχει μετρηθεί μια βρεθεί μεταξύ 12 και 91%.

Όπως η διήθηση, η εξάτμιση των μετάλλων και ιδιαίτερα η μεθυλίωση τους, αυξάνει τη βιοδιαθεσιμότητα τους και την τοξικότητα τους. Τα μεθυλιωμένα μέταλλα είναι πιο λιπόφιλα από τα μη μεθυλιωμένα ισοδύναμα. Παρά την αυξημένη τοξικότητα, πολλοί μικροοργανισμοί εξαερώνουν μέταλλα για να διευκολύνουν την απομάκρυνση τους στο άμεσο περιβάλλον. Η μεθυλίωση συγκεκριμένων μετάλλων έχει χρησιμοποιηθεί ως τεχνολογία αποκατάστασης. Το πιο γνωστό παράδειγμα είναι αυτό του San Joaquin της Καλιφόρνια όπου η αποκατάσταση του εδάφους που ήταν μολυσμένο με σελήνιο έγινε με τη βοήθεια μικροοργανισμών που κατάφεραν να εξαερώσουν το μέταλλο. Ο υδράργυρος είναι ένα ακόμη μέταλλο που εύκολα μεθυλιώνεται από μικροοργανισμούς. Ωστόσο, ο υδράργυρος μπορεί και βιοσυσσωρεύεται στην τροφική αλυσίδα, προκαλώντας έτσι σοβαρούς κινδύνους για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον. [(10) Maier Raina, Pepper Ian and Gerba Charles,])

Διαφορές μεταξύ των μηχανισμών πρόσληψης υποστρώματος από φυτά και μικροοργανισμούς

Το έδαφος περιέχει πληθώρα μικροοργανισμών όπως βακτήρια, μύκητες, πρώτιστα και ιούς, παρόλα αυτά θα περιοριστούμε παρακάτω στη λειτουργία των βακτηρίων λόγω της χρήσης τους σε τεχνολογίες αποκατάστασης. Υπάρχουν πάρα πολλές διαφορές

μεταξύ φυτών και ζώων, που αφορούν τη δομή, οργάνωση και τη φυσιολογία των κυττάρων τους, ωστόσο είναι πολύ λίγες αυτές που ευθύνονται για την πρόσληψη συστατικών από τα εδάφη. Αναμφίβολο είναι το γεγονός ότι οι ουσίες που μεταφέρονται στους ιστούς των φυτών παίρνουν μέρος σε μηχανισμούς αφομοιωτικού μεταβολισμού, π.χ ενσωμάτωση δομικών στοιχείων (τοιχώματα κυττάρων, ένζυμα). Οι μικροοργανισμοί έχουν αφομοιωτικές θρεπτικές ανάγκες παρόμοιες των φυτών. Ωστόσο, αντίθετα από τα φυτά, η πλειοψηφία των μικροοργανισμών του εδάφους δεν έχει την ικανότητα φωτοσύνθεσης, η φυσιολογία τους εξαρτάται από τη λήψη και το μεταβολισμό οργανικού άνθρακα και όχι διοξειδίου του άνθρακα. Αυτό σημαίνει ότι για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών πρέπει να διαπεράσουν τα κυτταρικά τοιχώματα τους τόσο οργανικές όσο και ανόργανες ουσίες.

Οι μικροοργανισμοί ζουν σε άμεση επαφή με τα στερεά συστατικά του εδάφους. Αυτή η άμεση επαφή αποτελεί σημαντικό μέσο με το οποίο τα βακτήρια και οι μύκητες αποκτούν αδιάλυτα οργανικά και ανόργανα συστατικά από το εξωκυτταρικό περιβάλλον. Επίσης, οι μικροοργανισμοί και ιδιαίτερα τα βακτήρια έχουν ανόμοιες θρεπτικές ανάγκες. Το βασικό παράδειγμα που επιβεβαιώνει το παραπάνω αφορά την παραγωγή ATP χρησιμοποιώντας πολλούς διαφορετικούς τελικούς αποδέκτες-ηλεκτρόνια. Παρόμοια με τα φυτά, οι αερόβιοι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν το οξυγόνο -που βρίσκεται σε μικρές ποσότητες διαλυμένο στο νερό και το οποίο μπορεί άμεσα να διαχυθεί στην κυτταρική μεμβράνη- στις αναπνευστικές διεργασίες για την παραγωγή ATP. Το οξυγόνο που βρίσκεται διαλυμένο μπορεί άμεσα να διαπερνά την μεμβράνη και να εισέρχεται στα κύτταρα. Παρόλα αυτά, στους μικροοργανισμούς παρουσιάζονται και συστήματα υποβοηθούμενης μεταφοράς οξυγόνου. Επίσης, μη αναμενόμενα, υπάρχουν και συγκεκριμένες προσαρμογές-ρυθμίσεις που έχουν σκοπό να ξεπεραστούν περιορισμοί που αφορούν τη βιοδιαθεσιμότητα των υψηλά διαλυτών εναλλακτικών αποδεκτών ηλεκτρονίων, όπως τα νιτρικά και τα θειώδη που χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς. Ωστόσο, σε αναερόβιες διεργασίες, οι εναλλακτικά βακτηριακοί τελικοί αποδέκτες ηλεκτρονίων μπορεί να εμπεριέχουν και οξείδια σιδήρου και μαγγανίου, τα οποία είναι ιδιαιτέρως αδιάλυτα. Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα βακτήρια μεταβολίζουν αυτά τα αδιάλυτα μίγματα είναι σχετικοί με θέματα βιοδιαθεσιμότητας.

Τα τελευταία χρόνια γίνονται πολλές μελέτες που αφορούν τους μηχανισμούς μεταφοράς ηλεκτρονίων με τη βοήθεια μικροοργανισμών σε αδιάλυτα ορυκτά σε μια προσπάθεια κατανόησης των βιογεωχημικών διεργασιών που διενεργούνται στα εδάφη. Οι πιο πρόσφατες μελέτες τείνουν στην αποδοχή μηχανισμών παλινδρομικών εξωκυτταρικών διαδρομών ηλεκτρονίων που περικλείουν είτε φυσικά χουμικά υποκατάστατα, ή κινόνη που έχει προέλθει από βακτηριακή απέκκριση και άμεση ενζυματική μείωση των στερεών οξειδίων στην επιφάνεια του κυττάρου μέσω ενζυματικών συστημάτων που δεσμεύουν τη μεμβράνη και που χαλαρώνουν την εσωτερική και εξωτερική επιφάνεια του κυττάρου.

Ωστόσο, είναι σημαντικό να αναγνωριστεί ότι στα βακτήρια (προκαρυωτικοί οργανισμοί), η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του ATP τοποθετείται στην πλασματική μεμβράνη στην περιφέρεια του κυττάρου. Αντίθετα, στα ευκαρυωτικά κύτταρα, όπως στα φυτά, η μεταφορά ηλεκτρονίων συμβαίνει εξολοκλήρου στα μιτοχόνδρια. Λόγω της ειδικευμένης δομής τους, τα βακτήρια προικίζονται με τα απαραίτητα ένζυμα που μεταφέρουν υδρογενή άτομα ή ηλεκτρόνια στον κυτταρικό τους φάκελο και είναι ικανά να οξειδώνουν ή να μειώνουν αδιάλυτα υποκατάστατα που δεν μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα. Τέτοια υποκατάστατα περιέχουν στοιχειώδη θείο, σιδηρούχο θείο, οξείδια θείου και οξείδια μαγγανίου. Τα ειδικά ένζυμα που αναγνωρίζουν δρουν στα αδιάλυτα υποκατάστατα βρίσκονται σε εξωτερικές περιοχές (περιπλασματική περιοχή, πλασματική μεμβράνη ή εξωτερική μεμβράνη), τα βακτήρια είναι ικανά για μεταβολικές διεργασίες που καθιστούν τα εξωκυτταρικά συστατικά ‘βιοδιαθέσιμα’. Χρήση ενδογενών (κινόνη) ή εξωγενών (χουμικά) υποκατάστατων μπορούν επίσης να διευκολύνουν φυσιολογικές διεργασίες μεταξύ των βακτηρίων και μη βιοδιαθέσιμων υποκαταστάτων. [(7) Madsen Eugene]

Κεφάλαιο 6ο

Επιλογές βελτίωσης βιοδιαθεσιμότητας βαρέων μετάλλων

Αρκετοί μελετητές έχουν ασχοληθεί με τις δυνατότητες βελτίωσης της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων. Παρόλα αυτά και λόγω του ότι είναι σχετικά νέο πεδίο έρευνας τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα που ήδη υπάρχουν καλό βρίσκονται σε πρώιμο στάδιο. Ο Misra από το ερευνητικό κέντρο βιομηχανικής τοξικολογίας της Ινδίας έχει ασχοληθεί ιδιαιτέρως με το θέμα. Παρακάτω παρατίθενται κάποια στοιχεία καθώς και συμπεράσματα της έρευνας του.

Η αποκατάσταση των επιμολυσμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών γίνεται με τη χρήση δολομίτη, φωσφορικού άλατος, ανθρακικού ασβεστίου ή οργανικών που βοηθούν στην ακινητοποίηση των βαρέων μετάλλων ώστε αυτά να μην μπορούν να προσληφθούν από μικρόβια ή φυτά. Αυτές οι ουσίες ουσιαστικά μειώνουν τη συγκέντρωση των μετάλλων μέσω καθίζησης, απορρόφησης ή σχηματισμού συμπλόκων. Διαδοχικά, η τοξικότητα και η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων εξαρτάται από την αντιδραστικότητα και τη διαλυτότητα τους, τα οποία καθορίζονται από τη φύση, τη συγκέντρωση και τη φυσικοχημική κατάσταση τους, το σθένος, τη διαλυτότητα τους, τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του εδάφους καθώς και από τη φύση των βελτιωτικών που χρησιμοποιούνται.

Σε κάποια από τα πειράματα του Misra παρουσιάστηκε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων σε *Brassica juncea* που καλλιεργήθηκε σε μολυσμένα εδάφη στα οποία είχαν εφαρμοστεί φωσφορούχου άργιλος και χουμικά συστατικά. Η μείωση αποδόθηκε στη μη βιοδιαθεσιμότητα των ελεύθερων/διαλυτών μετάλλων. Η διαφοροποίηση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στα φυτά μπορεί να αποδοθεί στη δημιουργία συμπλόκων μεταξύ των μετάλλων και των λειτουργικών γκρουπ που βρίσκονται στα χουμικά συστατικά, καθώς και στην αντικατάσταση του ασβεστίου της φωσφορούχου αργίλου από μέταλλα.

Η προσθήκη χουμικών συστατικών και φωσφορούχου αργίλου αυξάνει τις περιοχές δέσμευσης για τα βαρέα μέταλλα στις επιφάνειες των εδαφών προκαλώντας αυξημένη

ακινητοποίηση. Τόσο τα χουμικά συστατικά όσο και η φωσφορούχος άργιλος χάνουν τα πρωτόνια τους σε μεγάλες τιμές pH, φορτίζονται αρνητικά και προκαλούν ηλεκτροστατικούς δεσμούς με τα μέταλλα. Η συγκράτηση του μολύβδου από υδροξυαπατίτη ελέγχεται από τη διάλυση του μετάλλου, καθώς και από την καθίζηση του υδροξυπυρομορφίτη. Η ακινητοποίηση του μολύβδου από φωσφορούχο ορυκτό οφείλεται στην μορφοποίηση φθοροπυρομορφίτη, ενώ η συγκράτηση του χαλκού και του ψευδαργύρου κυρίως αποδίδεται σε επιφανειακή απορρόφηση ή δημιουργία συμπλόκου. Έχει παρατηρηθεί ότι η απόθεση ασβεστίου και η απορρόφηση μολύβδου σε αναλογία 1:1 (αντικατάσταση ασβεστίου από μόλυβδο) κατά τη διάρκεια διάλυσης φωσφορούχου ορυκτού και έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία φθοροπυρομορφίτη. Η συγκαθίζηση του ψευδαργύρου και του χαλκού με το ασβέστιο παρουσία φωσφορούχου ορυκτού θα ήταν λιγότερο πιθανό να συμβεί σε σχέση με το μόλυβδο. Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι ο φωσφορούχος ψευδάργυρος θα καθίζανε προς σχετικά κρυσταλλική μορφή. Η απορρόφηση οργανικής ουσίας στα εδάφη έχει αποδειχτεί ότι επηρεάζει άμεσα τη βιοδιαθεσιμότητα του μολύβδου, αρσενικού, καδμίου και ψευδαργύρου σε φύλλα μαρουλιού.

Έχει παρατηρηθεί ότι η προσθήκη υδροξυαπατίτη στα εδάφη προκαλεί τη μείωση της διαλυτότητας του ψευδαργύρου και του καδμίου, που έχει ως αποτέλεσμα τη μορφοποίηση αδιάλυτων συμπλόκων φωσφορικού άλατος και μειώνει τη λήψη τους από τα φυτά, αν και όχι στον ίδιο βαθμό που συμβαίνει με το μόλυβδο. Σε μια πρόσφατη έρευνα που αφορά εδαφικά βελτιωτικά με βιολογικά συστατικά, αλκαλική αποξηραμένη σκόνη τσιμέντου και ορυκτό φωσφορικό άλας, βρέθηκε ότι πολλά από αυτά τα βελτιωτικά περιέχουν μεγάλα ποσοστά οξειδίων, οργανικών ουσιών και φωσφορούχων αλάτων που μειώνουν τη φυτοδιαθεσιμότητα και εκχυλισιμότητα πολλών βαρέων μετάλλων. Αρκετοί επιστήμονες θεωρούν ότι τα βαρέα μέταλλα απομονώνονται στα βιολογικά βελτιωτικά κυρίως λόγω χήλωσης με οργανικά συστατικά, ενώ άλλοι επισημαίνουν τη σπουδαιότητα των ανόργανων επιφανειών που βρίσκονται στα βελτιωτικά όσον αφορά την απομόνωση των μετάλλων. Σύμφωνα με πιο πρόσφατες έρευνες, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι τα μέταλλα που απομονώνονται σε οξειδωμένες επιφάνειες θα παραμείνουν απομονωμένα μεγαλύτερο διάστημα σε σχέση με τα μέταλλα που έχουν δημιουργήσει σύμπλοκα με χουμικοποιημένα φυσικά οργανικά συστατικά,

ενώ σύμφωνα με άλλες έρευνες η αποκατάσταση εδαφών με φωσφορικό άλας διαμμονίου οδήγησε σε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας του καδμίου, του ψευδαργύρου και του μολύβδου. Το pH είναι ένας άλλος καθοριστικός παράγοντας όσον αφορά την εκχυλισιμότητα/εξαγωγιμότητα των βαρέων μετάλλων σε μολυσμένα εδάφη . Η αύξηση του pH μέσω προσθήκης ασβέστου έχει ως αποτέλεσμα την ακινητοποίηση πολλών μετάλλων (Cd, Cu, Ni και Zn) και μείωσε τη βιοδιαθεσιμότητα τους σε πειράματα που έγιναν χρησιμοποιώντας καλλιέργειες σιταριού, καρότου και σπανακιού.

Τα χουμικά οξέα που βρίσκονται στα εδάφη ενισχύουν την ικανότητα απορρόφησης των μετάλλων σε επιφάνειες ορυκτών οξειδίων μέσω της μορφοποίησης τριμερών συμπλόκων επιφάνειας οξειδίων-μετάλλου-οργανικών ουσιών, όπως συμβαίνει στην περίπτωση του συμπλόκου Cu-χουμικών συστατικών σε οξείδιο σιδήρου. Παρουσία φωσφορικού άλατος ή θειϊκών έχει παρατηρηθεί ότι συμβαίνει ενισχυμένη απορρόφηση σιδήρου ή/και μολύβδου σε ορυκτά οξειδίων σιδήρου και αργιλίου, υποδηλώνοντας την πιθανότητα δημιουργίας τριμερών συμπλόκων. Έχει επίσης αναφερθεί ότι ο μόλυβδος και ο χαλκός έχουν την τάση να σχηματίζουν σταθερά σύμπλοκα με το οργανικό κλάσμα του εδάφους ακόμα και σε χαμηλότερες τιμές pH. Το παραπάνω έχει επιβεβαιωθεί από αρκετούς επιστήμονες κάποιοι από τους οποίους έχουν αναφέρει ότι το καλύτερο απορροφητικό υλικό για το χαλκό είναι τα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου. Σύμφωνα με άλλες έρευνες ο χαλκός τείνει να συνδυάζεται με την οργανική ύλη του εδάφους ενώ ο σίδηρος είναι πιο ευαίσθητος στην οξύτητα του εδάφους. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι τα οξείδια του σιδήρου διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στη διατήρηση του μολύβδου ενώ κάποιες άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι τα οξείδια του μαγγανίου παρουσιάζουν μεγαλύτερη ανοχή στην απορρόφηση του μολύβδου από άλλα εδαφικά οξείδια. Επιπλέον, ο ισχυρός δεσμός του μολύβδου, χαλκού, χρωμίου, μαγγανίου, νικελίου και ψευδαργύρου στις επιφάνειες οξειδίων σιδήρου και μαγγανίου οφείλεται στην καθίζηση/ιζηματοποίηση υδροξειδίου του μετάλλου. Ο Misra *et al*. συγκλίνει στην άποψη ότι ο μηχανισμός που διέπει τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας λόγω της προσθήκης βελτιωτικών για την περίπτωση του μολύβδου είναι η καθίζηση ενώ για τα υπόλοιπα μέταλλα είναι η δημιουργία συμπλόκων στις επιφάνειες.

Η συμπεριφορά του μαγγανίου στα εδάφη γενικά καθορίζεται από τις αντιδράσεις οξειδοαναγωγής. Τα οξείδια μαγγανίου απαντώνται σε διάφορες κρυσταλλικές ή

ψευδοκρυσταλλικές μορφές και μπορούν να ιζηματοποιηθούν-συγκατακρημνηστούν- με οξείδια σιδήρου. Η απορρόφηση του είναι γενικά σύνθετη λόγω του ότι δημιουργεί αδιάλυτα οξείδια. Η μειωμένη ικανότητα σχηματισμού δεσμών του μαγγανίου πιθανά οφείλεται στην μετατροπή του από επίπεδα υψηλής οξείδωσης σε επίπεδα χαμηλότερης οξείδωσης λόγω του ανταγωνισμού με άλλα μέταλλα στις επιφάνειες του εδάφους.

Υπάρχει σύγχυση όσον αφορά τα χαρακτηριστικά που διέπουν τη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στα εδάφη και ως εκ τούτου και των μεθόδων βελτίωσης αυτής. Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η φωσφορούχα άργιλος παρουσία χουμικών συστατικών παρουσιάζει ιδιαίτερη έλξη για το μόλυβδο, το χαλκό, τον ψευδάργυρο και το μαγγάνιο. Γενικά, η χρήση βελτιωτικών και δη φωσφορούχας αργίλου και χουμικών συστατικών, συνεισφέρει στη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στα εδάφη, ακινητοποιώντας τα σε αυτό. Σίγουρα η χρήση βελτιωτικών για την αποκατάσταση εδαφών επιμολυσμένων με βαρέα μέταλλα είναι πιο εύχρηστη και περιβαλλοντικά φιλική συγκρινόμενοι με τις συμβατικές μεθόδους εκσκαφής. Αναγκαία καθίσταται περαιτέρω έρευνα που θα καθορίζει επακριβώς το είδος του βελτιωτικού και τις συνθήκες κάτω από τις οποίες τα βελτιωτικά αυτά θα επιφέρουν την ελαχιστοποίηση της βιοδιαθεσιμότητας στα εδάφη και τη μέγιστη αποκατάσταση αυτών.
[(20) Misra Virenda, Tiwary Anjana, Shukla Bhaskar and Seth Chandra Shekhar,, 2008]

Οι ερευνητές της EPA στο ‘Report on Bioavailability of Chemical Wastes With Respect to the Potential for Soil Bioremediation’ βασιζόμενοι σε συντηρητικές και προσεκτικές εκτιμήσεις επιστημονικών ερευνών, εκφράζουν την άποψη ότι χωρίς αμφιβολία τα χημικά απόβλητα βρίσκονται σε καθεστώς μειωμένης βιοδιαθεσιμότητας. Μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα σημαίνει ότι η μειωμένη «ενεργώς συγκέντρωση» μιας χημικής ουσίας, και ως εκ τούτου ενός βαρέως μετάλλου, εξισορροπείται αναλογικά από ρεζερβουάρ που υπάρχουν στα εδάφη και τα ιζήματα. Αυτή η αποθήκη-ρεζερβουάρ παραμένει στο εδαφικό περιβάλλον άσχετα από το συνδυασμό των μηχανισμών απομάκρυνσης που εφαρμόζονται. Το έδαφος εξ’ορισμού είναι ένα ασταθές θερμοδυναμικά και κινητικά περιορισμένο μέσο του οποίου η χημική σύνθεση συνεχώς μεταβάλλεται. Ως εκ τούτου, τα μη βιοδιαθέσιμα μέταλλα που βρίσκονται στο εδαφικό

ρεζερβουάρ μπορούν ανά πάσα στιγμή να ελευθερωθούν στο εδαφικό διάλυμα εκείνο όπου θα μπορούν να υποστούν πληθώρα διαδικασιών μεταφοράς ή/και μετασχηματισμών.

Όσον αφορά την άποψη ότι τα βαρέα μέταλλα παρουσιάζουν μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα στα εδάφη και στα ιζήματα, τα αποτελέσματα εκτεταμένων ερευνών είναι αμφιλεγόμενα λόγω της τεράστιας ποικιλίας των τύπων και ιδιοτήτων των μετάλλων, των γεωλογικών απορροφητικών υλικών, των πειραματικών μεθόδων καθώς και των ιδιοσυγκρασιών στους μηχανισμούς με τους οποίους αλληλεπιδρά το περιβάλλον με τα μέταλλα. Από μια πιο πρακτική οπτική γωνία, είναι σημαντικό να μπουν τα θεμέλια που θα οδηγήσουν σε μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα. Αν η μειωμένη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στα εδάφη γίνει ευρέως δεκτή, τότε θα μπορούσαν να αναπτυχθούν σωστές ποσοτικές μετρήσεις της βιοδιαθεσιμότητας. Σε ένα τέτοιο ενδεχόμενο, η εκτίμηση των κινδύνων στους οποίους υπόκειται ο άνθρωπος και το περιβάλλον θα μπορούσαν να προβλεφθούν με μεγαλύτερη ακρίβεια και το γεγονός αυτό θα είχε ως συνέπεια την επίτευξη των παρακάτω: προσδιορισμό οικονομικά εφικτών στόχων καθαρισμού εδαφών, ανάπτυξη της τεχνολογίας και των μεθόδων αποκατάστασης, ρεαλιστικό χαρακτηρισμό μολυσμένων περιοχών και εφαρμογή διάφορων σχεδίων ‘χρήσης-γης’ και ανάπτυξη κλίματος συγκατάβασης για τις μεθόδους από το ευρύ κοινό.

Πιθανές περιοχές μελλοντικής έρευνας-μελλοντικές προοπτικές-ερωτήματα

1. Η αποκατάσταση των εδαφών με χρήση μικροβίων ή φυτών δεν είναι 100% αποτελεσματική και δεν μπορεί να απομακρύνει εντελώς τα μέταλλα από τα εδάφη. Για το λόγο αυτό, για να μπορέσουμε μελλοντικά να διαχειριστούμε τα μέταλλα αλλά και τα υπολείμματα αυτών στο περιβάλλον, αναγκαία είναι η πρόοδος της επιστήμης στα πεδία της συμπεριφοράς των μετάλλων, στην εκτίμηση κινδύνου καθώς και στην τακτική διαχείρισης ολόκληρων περιοχών.

2. Υπάρχει ακόμα και σήμερα πληθώρα αναπάντητων ερωτήσεων που αφορούν το μη βιοδιαθέσιμο κλάσμα των μετάλλων στα εδάφη. Κάποιες από αυτές είναι οι παρακάτω:

- Είναι δυνατόν να καθοριστούν οι ρυθμοί των εδαφικών διεργασιών που μετατρέπουν το μη βιοδιαθέσιμο κλάσμα των μετάλλων σε διαθέσιμες μορφές;
- Ποιες είναι οι κατάλληλες μέθοδοι;
- Μπορούν οι μέθοδοι αυτές να εφαρμοστούν σε αντιπροσωπευτικές περιοχές οι οποίες περιέχουν χαρακτηριστικές αναλογίες οργανικών ρύπων και μετάλλων;
- Μπορούν τα αποτελέσματα από την εφαρμογή των παραπάνω μεθόδων να χρησιμοποιηθούν για τη διατύπωση οδηγιών διαχείρισης εδαφών;
- Όταν αποβάλλονται σε εδαφικά διαλύματα, ποιες είναι οι πιθανότητες και οι ρυθμοί με τους οποίους τα μέταλλα μπορούν να επανακρατηθούν/απομονωθούν ή να μεταφερθούν σε υποδοχείς;
- Εάν κάποιο μέταλλο μετά την αποβολή του σε έδαφος ακινητοποιηθεί άμεσα, μπορεί η 'φυσική εξασθένιση'-natural attenuation- αυτών των μη βιοδιαθέσιμων ρύπων να προσφέρει επαρκή προστασία για το περιβάλλον;

3. Υπάρχουν πολλές ερωτήσεις που αφορούν την πραγματική σύνθεση του εδάφους και των ιζημάτων: 1. Ποια είναι η χημική μορφή και η θέση των συστατικών του εδάφους; 2. Ποιοι οι τύποι χημικών ή και άλλων διεργασιών επικρατούν; 3. Ποιες οι επιπτώσεις των διεργασιών αυτών στην απομόνωση-sequestration- και/ή αποδέσμευση των μετάλλων; 4. Με τι ρυθμούς λαμβάνουν χώρα οι αντιδράσεις αυτές; (λεπτά, ημέρες, δεκαετίες, αιώνες)

4. Ο τύπος των βασικών ερωτήσεων που αναπτύχθηκαν παραπάνω στο υποκεφάλαιο 2 αφορούν επίσης και τη χλωρίδα και την πανίδα-ιδιαίτερα τη μικροβιακή κοινότητα των εδαφών-λόγω της πολυπλοκότητας και της ποικιλίας των δραστηριοτήτων που τις διέπουν.

5. Υπάρχει δυνατότητα μοντελοποίησης των διεργασιών που αναπτύχθηκαν παραπάνω;

6. Είναι δυνατόν να εκτιμηθούν οι κίνδυνοι από την απελευθέρωση μη βιοδιαθέσιμων ρύπων με τρόπο τέτοιον ώστε:

- Να αναγνωριστούν όλες οι πιθανές οδοί που οδηγούν σε έκθεση.
- Να ενσωματωθούν όλοι οι γνωστοί μηχανισμοί που συνεισφέρουν τόσο στην επανελευθέρωση και την επανακράτηση τους.

7. Είναι δυνατόν να κατανοήσουμε τους μηχανισμούς που καθιστούν τα μέταλλα ‘επίμονα’ (ανθεκτικότητα έναντι ακινητοποίησης) έτσι ώστε να μπορούμε να τους διαχειριστούμε με τρόπο που θα ενισχύουμε τις αντιδράσεις απομόνωσης-συγκράτησης;
8. Οι επιστήμονες παγκοσμίως καλό θα ήταν να χρησιμοποιούν μεθοδολογίες και πειράματα που έχουν κοινή βάση ώστε τα αποτελέσματα τους να είναι άμεσα συγκρίσιμα.
9. Προκύπτει το ερώτημα της ανάγκης μέτρησης και παρακολούθησης πιθανών δυσμενών, δευτερευόντων επιπτώσεων από τις τεχνικές βιοαποκατάστασης. Αυτές θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε έλλειψη θρεπτικών και/ή σε ακούσια ελευθέρωση μετάλλων από το έδαφος στο περιβάλλον.
10. Οι μελέτες που αφορούν τη βιοδιαθεσιμότητα και τη βιοαποκατάσταση έχουν παράγει ένα ευρύ φάσμα πληροφοριών σχετικά με τις πιθανές αντιδράσεις που πιθανά να συμβαίνουν μεταξύ εδάφους, μετάλλων και μικροοργανισμών ή φυτών. Αυτό το ευρύ πεδίο πιθανών αντιδράσεων καλό θα ήταν να περιοριστεί ώστε να αναγνωρίσουμε τι πραγματικά συμβαίνει στο πεδίο. Είναι δυνατόν να ερμηνεύσουμε την πραγματική συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων έτσι ώστε να φτάσουμε στο σημείο να έχουμε τη δυνατότητα να προβλέπουμε τη συμπεριφορά τους ανάλογα με το κλίμα, την περιφέρεια, την κλάση του ρύπου και το είδος του εδάφους;

Κεφάλαιο 7ο

Σύνοψη-Συμπεράσματα

Τα μέταλλα έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν τοξικό κίνδυνο και να βλάψουν τον άνθρωπο και το περιβάλλον. Τα μέταλλα, όπως και τα μίγματα που περιέχουν μέταλλα έχουν μοναδικά χαρακτηριστικά που τα διαφοροποιούν από τις οργανικές ουσίες, όπως το ότι τα μέταλλα δε δημιουργούνται ούτε καταστρέφονται από βιολογικές διεργασίες αλλά μπορούν να μετασχηματίζονται από μια χημική μορφή σε κάποια άλλη. Κάποια μέταλλα, όπως ο χαλκός Cu, είναι απαραίτητα θρεπτικά στοιχεία σε χαμηλές συγκεντρώσεις ενώ τοξικά σε μεγαλύτερες, και άλλα, όπως ο υδράργυρος Hg και ο μόλυβδος Pb, δεν έχουν κάποια γνωστή βιολογική λειτουργία. Επειδή τα μέταλλα υπάρχουν εκ φύσεως, οι οργανισμοί έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που ρυθμίζουν τη συσσώρευση τους σε αυτούς, ιδιαίτερα όσον αφορά τη συσσώρευση των απαραίτητων στοιχείων. Οι βασικές αρχές που ισχύουν για τα μέταλλα είναι οι ακόλουθες:

1. Τα μέταλλα είναι φυσικά συστατικά του περιβάλλοντος που διαφέρουν σε συγκεντρώσεις ανάλογα με την περιοχή στην οποία συναντώνται.
2. Σε όλα τα μέσα (νερό, έδαφος, αέρας), απαντώνται μίγματα μετάλλων, ενώ συχνά τα μέταλλα εισάγονται στο περιβάλλον ως μίγματα.
3. Κάποια μέταλλα είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της καλής υγείας των ανθρώπων, των ζώων, των φυτών και των μικροοργανισμών.
4. Η περιβαλλοντική χημεία επηρεάζει σημαντικά την κατάληξη των μετάλλων και τις επιπτώσεις τους στον άνθρωπο και στους υπόλοιπους πιθανούς υποδοχείς.
5. Η τοξικοκινητικότητα και η τοξικοδυναμική των μετάλλων εξαρτάται από τη φύση του μετάλλου, τη μορφή αυτού ή του μίγματος το οποίο το περιέχει, καθώς και από τη δυνατότητα του οργανισμού να το ρυθμίζει και/ή αποθηκεύει.

Η αποδέσμευση ενός βαρέως μετάλλου στο περιβάλλον δεν συνεπάγεται απαραίτητα έκθεση των ανθρώπων. Έκθεση νοείται μόνο από μετά από επαφή με την ουσία αυτή, δηλαδή μόνο μετά από εισπνοή, πόση, βρώση ή επαφή. Οι επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου από την έκθεση σε βαρέα μέταλλα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, οι

κυριότεροι των οποίων είναι η δόση, η διάρκεια και ο τρόπος της έκθεσης, τα κληρονομικά χαρακτηριστικά και τα φυσικά γνωρίσματα του εκτιθέμενου οργανισμού, όπως επίσης και η ταυτόχρονη έκθεση του σε άλλες χημικές ουσίες. Σημαντικό ρόλο έχουν επίσης η ηλικία του ατόμου, το φύλο, η διατροφή, ο τρόπος ζωής καθώς και το επίπεδο της υγείας του.

Τα πλέον επικίνδυνα μέταλλα για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον είναι το χρώμιο, ο μόλυβδος, ο υδράργυρος και το μαγγάνιο.

- Το χρώμιο χρησιμοποιείται στις επιμεταλλώσεις, στην κατασκευή μπαταριών και στις βαφές ρούχων. Η τρισθενής και εξασθενής μορφή του σχετίζονται με προβλήματα άσθματος, σκελετικές δυσλειτουργίες και δερματικές παθήσεις.
- Ο μόλυβδος χρησιμοποιείται σε βαφές, σε στιλβωτικά και σε στεγανοποιητικά, σε μπαταρίες αυτοκινήτων ενώ έχει χρησιμοποιηθεί κατά κόρον σαν βελτιωτικό βενζίνης. Προσβάλει κυρίως το νευρικό σύστημα, το συκώτι και τον εγκέφαλο.
- Ο υδράργυρος χρησιμοποιείται στα θερμόμετρα, βαρόμετρα, μπαταρίες και ηλεκτρικούς διακόπτες ενώ παλαιότερα στην οδοντιατρική ενώ κάποιο ανόργανα μίγματα υδραργύρου χρησιμοποιούνται για παρασκευή μυκητοκτόνων και αντιβακτηριδιακών καθώς και στις βαφές. Προσβάλλει το νευρικό σύστημα, τα νεφρά ενώ προκαλεί ‘ακρωδυνία’.
- Το μαγγάνιο χρησιμοποιείται για τη παραγωγή ατσαλιού, μπαταριών, συμπληρωμάτων διατροφής καθώς και σα συστατικά κεραμικών, λιπασμάτων και ζιζανιοκτόνων. Προσβάλει το νευρικό σύστημα, το αναπνευστικό, το συκώτι και προκαλεί “manganise”.

Υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι τα βαρέα μέταλλα είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία διάφορων μορφών καρκίνου, παρόλα αυτά δεν υπάρχουν σαφής αποδείξεις που να στοιχειοθετούν κάτι ανάλογο.

Το πόσο επικίνδυνη για την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον είναι μια συγκεκριμένη ποσότητα ενός βαρέως μετάλλου που υπάρχει σε μια περιοχή εξαρτάται από το πόσο βιοδιαθέσιμη είναι αυτή. Δεν υπάρχει σαφής ορισμός της έννοιας ‘βιοδιαθεσιμότητα’ αν και έχουν δοθεί πολλές ερμηνείες. Μια αρκετά πλήρης ερμηνεία έδωσε ο Alexander, σύμφωνα με την οποία: *Κάποιες φορές ο όρος βιοδιαθεσιμότητα θεωρείται συνώνυμος της τοξικότητας για ένα ή παραπάνω είδη, κάποιες φορές*

ισοδύναμος με τη βιοαποικοδόμηση από μικροοργανισμούς και κάποιες άλλες συνώνυμος της λήψης ή της αφομοίωσης. Ένα μίγμα μπορεί να αφομοιωθεί και, αν και τοξικό, να μην προκαλέσει ζημιά διότι δεν μεταφέρθηκε σε ιστό, κύτταρο ή ενδοκυτταρική περιοχή όπου η τοξικότητα μπορεί να εκδηλωθεί. Κάποια χημική ουσία μπορεί να προσληφθεί από μικροβιακά κύτταρα αλλά και σε αυτήν την περίπτωση να μην βιοαποικοδομείται λόγω έλλειψης των απαραίτητων καταβολικών ενζύμων. Ωστόσο, οι όροι 'λήψη' και 'αφομοίωση' προσεγγίζουν καλύτερα τη βιοδιαθεσιμότητα. Λόγω της μικρής έρευνας πάνω στο θέμα ο όρος βιοδιαθεσιμότητα μπορεί να χρησιμοποιείται εμπεριέχοντας και τις έννοιες της τοξικότητας και της βιοαποικοδόμησης.

Όσον αφορά τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων, τα οποία και δε βιοαποικοδομούται, σύμφωνα με την EPA νοείται η έκταση στην οποία βιοπροσιτά μέταλλα μπορούν να απορροφηθούν μέσα ή πάνω και διαμέσου των μεμβρανών των οργανισμών, εκφρασμένο σαν κλάσμα της συνολικής ποσότητας του μετάλλου στο οποίο ο οργανισμός εκτίθεται άμεσα-επιφάνεια ρόφησης- σε κάποιο συγκεκριμένο διάστημα και υπό συγκεκριμένες συνθήκες.

Η βιοδιαθεσιμότητα ενός μετάλλου, συνεπώς και ο επακόλουθος κίνδυνος διαφέρει ανάλογα με τις φυσικές, χημικές και βιολογικές συνθήκες κάτω από τις οποίες εκτίθεται ένας οργανισμός.

Η διαθεσιμότητα αναφέρεται στην ικανότητα του μετάλλου να αντιδρά με άλλα στοιχεία και να υπόκειται σε διάφορες διεργασίες μεταφοράς και αλλαγής φύσης. Ένα διαθέσιμο μέταλλο δεν απομονώνεται σε σημείο του περιβάλλοντος και αποτελεί το συνολικό ποσό ενός μετάλλου που δυνητικά μπορεί να θεωρηθεί ως βιοδιαθέσιμο, σε δεδομένη στιγμή και υπό ορισμένες συνθήκες (πχ δυνατότητα επαφής και εισόδου σε οργανισμό). Η διαθεσιμότητα ενός μετάλλου, σύμφωνα με τα παραπάνω θεωρείται δυναμική ιδιότητα, η οποία αλλάζει σύμφωνα με τις περιβαλλοντικές αλλαγές. Το βιοδιαθέσιμο κλάσμα (BF, Bioaccessible Fraction) ενός μετάλλου είναι το κλάσμα του περιβαλλοντικά διαθέσιμου μετάλλου που αλληλεπιδρά με την επιφάνεια επαφής του οργανισμού και είναι δυνητικά διαθέσιμο για να απορροφηθεί από τον οργανισμό ή το ποσοστό της συνολικής ποσότητας του μετάλλου που είναι διαθέσιμο προς ενσωμάτωση σε κάποιον ζωντανό οργανισμό. Η συνολική συγκέντρωση κάποιου μετάλλου δεν αντιστοιχεί απαραίτητα με τη βιοδιαθεσιμότητα αυτού.

Η βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων στα εδάφη είναι μια σύνθετη λειτουργία που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η συνολική συγκέντρωση και η μορφή του μετάλλου, η ορυκτολογία του εδάφους, το pH, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό, η θερμοκρασία, το συνολικό οργανικό περιεχόμενο-σωματιδιακό και διαλυμένο-, καθώς και η ποσότητα της περιεχόμενης υγρασίας.

Η βιοδιαθεσιμότητα ενός μίγματος στο έδαφος μπορεί να μετρηθεί με τη χρήση μικροοργανισμών. Οι δείκτες βιοδιαθεσιμότητας απεικονίζουν/εκφράζουν μετρήσεις που αφορούν τα επίπεδα πληθυσμού των μικροοργανισμών. Τα βακτήρια βιοανιχνευτές είναι σχεδιασμένα ώστε να ανταποκρίνονται σε συγκεκριμένες καταστάσεις τοξικότητας μέσω της χρήσης γονιδίων αναφοράς. Κατάλληλα βακτήρια μπορούν να επιλεγούν από το περιβάλλον, να τροποποιηθούν γενετικά, συγχωνεύοντας γονίδια αναφοράς στα γονίδια που μας ενδιαφέρουν και με τον τρόπο αυτό να δίνουν προκαθορισμένο σήμα σε συγκεκριμένη ανταπόκριση.

Η συχνότητα των βακτηρίων που περιέχουν πλασμίδια έχει αποδειχτεί ότι είναι υψηλότερη σε μολυσμένα εδάφη από ότι σε καλλιεργήσιμα εδάφη και αυξάνεται ακόμη περισσότερο με την προσθήκη βαρέων μετάλλων. Συνεπώς, η μέτρηση του αριθμού των βακτηρίων που περιέχουν πλασμίδια ή του αριθμού των πλασμιδίων στα εδάφη μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως γενικός δείκτης των ρύπων. Η αύξηση του αριθμού των πλασμιδίων καθιστά αναγκαία τον έλεγχο και ταυτοποίηση του παράγοντα που την προκαλεί.

Η εκτίμηση της βιοδιαθεσιμότητας γίνεται είτε με βιομιμητικές προσεγγίσεις-SPME και δίσκος C18- είτε με τη χρήση μικροβιακών δεικτών. Οι περισσότερο χρησιμοποιούμενοι οργανισμοί που παίρνουν μέρος στις βιοεκτιμήσεις είναι φυτά ή καρκινοειδή (*Daphnia*), ενώ μεγάλος αριθμός ελεγκτικών συστημάτων που έχουν τυποποιηθεί χρησιμοποιούν το βακτήριο *Vibrio fisheri*.

Την τελευταία δεκαετία, πολλοί ερευνητές έχουν χρησιμοποιήσει τεχνικές γενετικής μηχανικής με σκοπό να συνδυάσουν γονίδια που σχετίζονται με την αναγνώριση μετάλλων στο περιβάλλον με γονίδια αναφοράς τα οποία προκαλούν δεδομένη βακτηριακή αντίδραση (φθορισμό, χρωματομετρία, φωταυγεία).

Έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες που ερευνούν τη βιοδιαθεσιμότητα διάφορων μετάλλων σε εδάφη υπό διάφορες συνθήκες. Το γενικό συμπέρασμα είναι ότι η

βιοδιαθεσιμότητα ελαττώνεται με την προσθήκη ουσιών όπως φωσφορούχας αργίλου ή χουμικών καθώς και με την πάροδο του χρόνου. Παρόλα αυτά είναι πολύ δύσκολο να εξαχθούν συμπεράσματα λόγω της πολυπλοκότητας του φαινομένου καθώς και της πληθώρας παραγόντων που σχετίζονται με αυτό και το επηρεάζουν.

Ένα άλλο θέμα που μελετάται είναι αυτό της βιοαποκατάστασης, όπου ως βιοαποκατάσταση νοείται η σκόπιμη χρήση της βιοαποικοδόμησης ή των διεργασιών συσσώρευσης ενός ρύπου με σκοπό την ελάττωση των περιβαλλοντικών ρύπων στις περιοχές όπου έχουν αποτεθεί, και αυτό της φυτοαποκατάστασης της τεχνολογίας δηλαδή κατά την οποία επιχειρείται η χρήση διάφορων διεργασιών που βασίζονται στα φυτά για την απομάκρυνση, μεταφορά, σταθεροποίηση ή καταστροφή ρύπων. Τα περισσότερο χρησιμοποιημένα φυτά για τη μελέτη της βιοδιαθεσιμότητας καθώς και της φυτοαποκατάστασης είναι τα ηλιάνθεμα -*Helianthus annuus*- και η ινδική μουστάρδα -*Brassica juncea*-.

Έχουν προταθεί αρκετές διαφορετικές τεχνολογίες που αφορούν σε αποκατάσταση με χρήση μικροβίων, κάποιες από τις οποίες είναι η μικροβιακή διήθηση, η χρήση μικροβιακών επιφανειοδραστικών παραγόντων, η μικροβιακώς επαγόμενη εξάτμιση καθώς και η μικροβιακή ακινητοποίηση. Οργανισμοί που έχουν χρησιμοποιηθεί είναι οι *T. Ferrooxidans, Pseudomonas aeruginosa* και *Acinetobacter calcoaceticus.* Η αφαίρεση των μετάλλων από τα εδάφη με τη χρήση βακτηρίων έχει περιγραφή σε διάφορες μελέτες και η ικανότητα απομάκρυνσης των μετάλλων έχει μετρηθεί και βρεθεί μεταξύ 12 και 91%.

Η αποκατάσταση των επιμολυσμένων με βαρέα μέταλλα εδαφών γίνεται με τη χρήση δολομίτη, φωσφορικού άλατος, ανθρακικού ασβεστίου ή οργανικών που βοηθούν στην ακινητοποίηση των βαρέων μετάλλων ώστε αυτά να μην μπορούν να προσληφθούν από μικρόβια ή φυτά. Αυτές οι ουσίες ουσιαστικά μειώνουν τη συγκέντρωση των μετάλλων μέσω καθίζησης, απορρόφησης ή σχηματισμού συμπλόκων. Γενικά, η χρήση βελτιωτικών και δη φωσφορούχας αργίλου και χουμικών συστατικών, συνεισφέρει στη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων στα εδάφη, ακινητοποιώντας τα σε αυτό.

Τα θέματα τα οποία δεν είναι απόλυτα ορισμένα και αφορούν τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων είναι αρκετά. Το φαινόμενο είναι ιδιαίτερα πολύπλοκο και εξαρτάται από πολλούς και ανεξάρτητους μεταξύ τους παράγοντες. Η συμπεριφορά των μετάλλων

στα εδάφη δεν είναι πλήρως γνωστή, ενώ εξαρτάται από τα εδάφη και τις ιδιότητες αυτών. Πολλές φορές κάποιο μη βιοδιαθέσιμο κλάσμα ενός μετάλλου μπορεί να καταστεί βιοδιαθέσιμο λόγω κάποιας αλλαγής που λαμβάνει χώρα στο έδαφος και μπορεί να αφορά πχ στην αλλαγή της περιεχόμενης υγρασίας ή της τιμής του pH, συχνά χωρίς να μπορεί να γίνει άμεσα κατανοητός ο λόγος της μετάπτωσης ενός μη βιοδιαθέσιμου κλάσματος σε βιοδιαθέσιμο. Επίσης, είναι πολύ δύσκολος ο ακριβής προσδιορισμός της σύστασης των εδαφών, των διεργασιών που λαμβάνουν χώρα σε αυτό, οι επιπτώσεις των διεργασιών στη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων καθώς και τον ρυθμό με τον οποίο αυτές λαμβάνουν χώρα. Ένα ακόμη σημαντικό θέμα που καθιστά ακόμη πιο περίπλοκη τη βιοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων αφορά το μικροβιακό πληθυσμό που ζει στα εδάφη και την παρουσία χλωρίδας. Παρόλο που οι τεχνικές βιοαποκατάστασης που χρησιμοποιούν φυτά και βακτήρια ώστε τα βαρέα μέταλλα να απομονώνονται στους οργανισμούς αυτούς έχουν αποδειχτεί αρκετά αποτελεσματικές, είναι σημαντικό να διερευνηθούν πιθανές δευτερεύοντες δυσάρεστες επιπτώσεις από την εφαρμογή τους.

Οι μελέτες που αφορούν τη βιοδιαθεσιμότητα και τη βιοαποκατάσταση έχουν παράγει ένα ευρύ φάσμα πληροφοριών σχετικά με τις πιθανές αντιδράσεις που πιθανά να συμβαίνουν μεταξύ εδάφους, μετάλλων και μικροοργανισμών ή φυτών. Αυτό το ευρύ πεδίο πιθανών αντιδράσεων καλό θα ήταν να περιοριστεί ώστε να αναγνωρίσουμε τι πραγματικά συμβαίνει στο πεδίο. Είναι δυνατόν να ερμηνεύσουμε την πραγματική συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων έτσι ώστε να φτάσουμε στο σημείο να έχουμε τη δυνατότητα να προβλέπουμε τη συμπεριφορά τους ανάλογα με το κλίμα, την περιφέρεια, την κλάση του ρύπου και το είδος του εδάφους.

Γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι το θέμα της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων είναι ιδιαίτερης σπουδαιότητας εφόσον είναι αυτή που ουσιαστικά καθορίζει την τοξικότητα τους, σε αντίθεση με την κοινή πεποίθηση ότι η τελευταία είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του μετάλλου. Μελλοντικά είναι απαραίτητο να γίνουν προσπάθειες ώστε να μειωθούν οι επιπτώσεις από τη χρήση των βαρέων μετάλλων, μιας και επηρεάζουν αρνητικά το περιβάλλον και κάθε ζώντα οργανισμό. Πρώτο μέλημα της επιστημονικής κοινότητας είναι η προσπάθεια αντικατάστασης των μετάλλων με άλλα υλικά πιο φιλικά προς το περιβάλλον, ενώ σε ένα δεύτερο στάδιο πρέπει να βελτιωθούν οι τεχνικές που

χρησιμοποιούνται για τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων στα εδάφη. Είναι σημαντικό να υπενθυμίσουμε ότι τα βαρέα μέταλλα δεν βιοαποικοδομούνται, οπότε όλες οι προσπάθειες των επιστημόνων αφορούν είτε την απομόνωση είτε την αδρανοποίηση τους. Η χρήση χουμικών συστατικών και ασβέστου που συνεισφέρουν στην αδρανοποίηση των μετάλλων είναι μια καλή αρχική προσέγγιση που μπορεί να βελτιωθεί ακόμα περισσότερο, ενώ οι έρευνες μπορούν να επεκταθούν και σε άλλα υλικά που πιθανά θα έχουν την ικανότητα να αδρανοποιούν τα μέταλλα στα εδάφη. Η απομόνωση των μετάλλων σε φυτά και μικροοργανισμούς μας δίνει τη δυνατότητα να απομακρύνουμε τα βαρέα μέταλλα από μολυσμένα εδάφη, ιδιαίτερα τα τελευταία χρόνια που η χρήση καινοτόμων τεχνικών.

Το θέμα της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων στα εδάφη είναι ιδιαιτέρως πολύπλοκο μιας και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, αλληλοεξαρτώμενους ή μη, γεγονός που καθιστά πολύ δύσκολη και την παρακολούθηση του φαινομένου αλλά και τη δημιουργία ασφαλών συμπερασμάτων που αφορούν τη συμπεριφορά αλλά και τις ιδιότητες των μετάλλων στα εδάφη. Σίγουρο είναι ότι στο μέλλον θα υπάρξουν πιο σαφή και συγκεκριμένα πειραματικά αποτελέσματα που θα μας βοηθήσουν στην καλύτερη κατανόηση του φαινομένου της βιοδιαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων στα εδάφη καθώς και σε λύσεις που θα συντελούν στην καλύτερη διαχείριση τους, με άμεσο αποτέλεσμα τη μείωση της τοξικότητας και των δυσμενών επιπτώσεων τους.

Βιβλιογραφία

1) Fairbrother Anne, Wenstel Randal, Sappington Keith, Wood William, 2007, 'Framework for metals Risk Assesment',pp 145-155
2) Agency for Toxic Substances and Disease Registry, http://www.atsdr.cdc.gov/
3) Agency for Toxic Substances and Disease Registry, http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs7.html
4) Agency for Toxic Substances and Disease Registry, http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs13.html)
5) Agency for Toxic Substances and Disease Registry, http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs46.html)
6) Agency for Toxic Substances and Disease Registry, http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs151.html)
7) Madsen Eugene, 2003 'Report on bioavailability of chemical wastes with respect to the potential for soil bioremediation', pp12-18,
8) Fairbrother Anne, 2007 Wenstel Randal, Sappington Keith, Wood William, 'Framework for metals Risk Assesment',pp 161-162
9) David A. John and Leventhal J., Joel, ;Bioavailability of metals'
10) Maier Raina, Pepper Ian and Gerba Charles, 2006, 'Environmental Microbiology', pp 403, 419
11) David A. John and Leventhal J., Joel, ;Bioavailability of metals'
12) Maier Raina, Pepper Ian and Gerba Charles, 2006, 'Environmental Microbiology', pp 406-408,
13) Mette Neiendam Nielsen and Anne Winding, 2002, Microorganisms as indicators of soil health)
14) Magrisso Sagi, Erel Yigal and Belkin Shimshon, 2008,'Microbial reporters of metal bioavailability'
15) Sijm D., Kraaij R. and Belfroid A., 1999,'Bioavailability in soil or sediment: exposure of different organisms and approaches to study it',
16) Magrisso Sagi, Erel Yigal and Belkin Shimshon, 2008, 'Microbial reporters of metal bioavailability.'

17) Liao Vivian Hsiu-Chuan, Chien Ming-Te, Tseng Yuen-Yi and Ou Kun-Lin, 2005, 'Assesment of heavy metal bioavailability in contaminated sediments and soils using green fluorescent protein-based bacterial biosensors.'
18) Udovic Metka and Lestan Domen, 2006, 'The effect of earthworms on the fractionation and bioavailability of heavy metals before and after soil remediation.'
19) Misra Virenda and Chaturvedi Pranav Kumar, 2007, 'Plant Uptake/Bioavailability of Heavy Metals from the Contaminated Soil after Treatment with Humus Soil and Hydroxyapatite.',
20) Misra Virenda, Tiwary Anjana, Shukla Bhaskar and Seth Chandra Shekhar, 2008, 'Effects of soil amendments on the bioavailability of heavy metals from zinc mine tailings'
21) Cao Alessia, Cappai Giovanna, Garucci Alessandra, Lai Tiziana, 2008, 'Heavy metal bioavailability and chelate mobilization efficiency in an assisted phytoextraction process'
22) During Rolf-Alexander, Hoi Thorsten and Gath Stefan, 2003, 'Sorption and bioavailability of heavy metals in long term differently tilled soils amended with organic wastes'