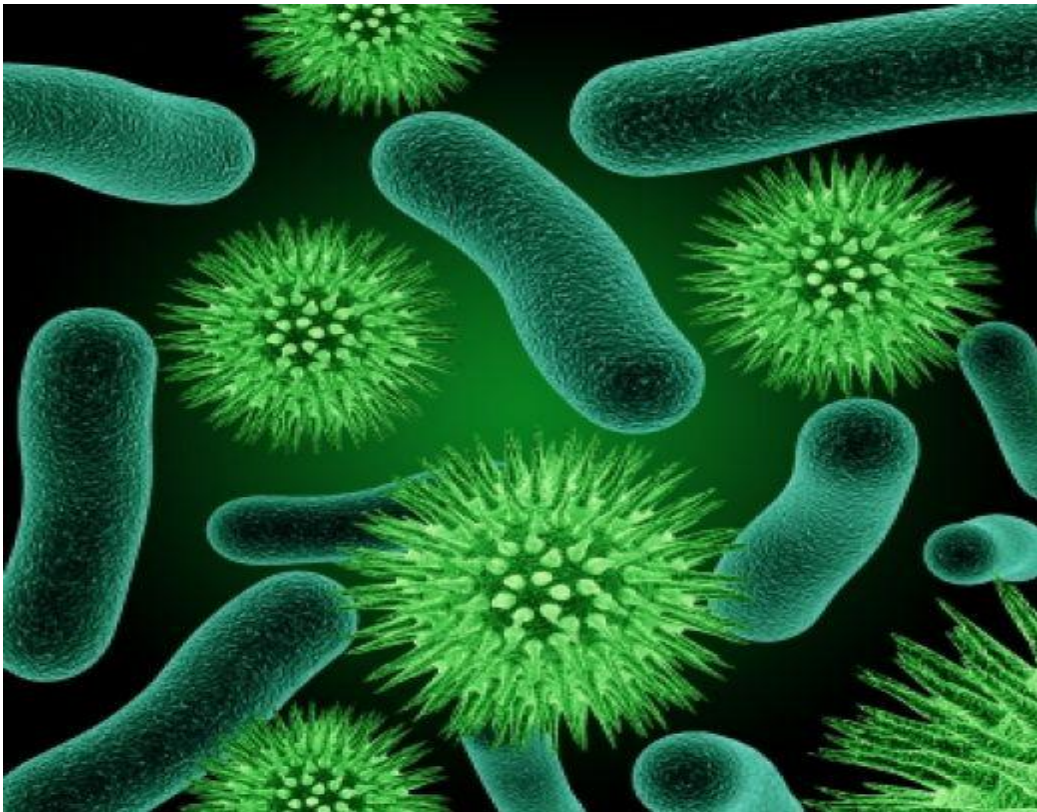




<<

>>



, 2011

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	1
---------------	---

ΕΙΣΑΓΩΓΗ-ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
------------------------	---

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1:Γενικά στοιχεία για τη ρύπανση στα εδάφη

1.1 Προέλευση και εξέλιξη του εδάφους.....	4
--	---

1.2 Χαρακτηριστικά εδάφους.....	4
---------------------------------	---

1.3 Ρύποι και ρύπανση των εδαφών.....	5
---------------------------------------	---

1.4 Τεχνολογίες αποκατάστασης ρυπασμένων εδαφών.....	6
--	---

1.4.1 Απομόνωση και συγκράτηση(φυσική,ενθυλάκωση,υαλοποίηση).....	6
---	---

1.4.2 Στερεοποίηση-Σταθεροποίηση.....	6
---------------------------------------	---

1.4.3 Μηχανικός διαχωρισμός.....	8
----------------------------------	---

1.4.4 Πυρομεταλλουργικός διαχωρισμός.....	8
---	---

1.4.5 Χημική επεξεργασία-οξειδοαναγωγή.....	9
---	---

1.4.6 Ενεργά διαπερατά φράγματα.....	9
--------------------------------------	---

1.4.7 Ηλεκτροκινητικές μέθοδοι.....	10
-------------------------------------	----

1.4.8 Βιοχημικές διεργασίες.....	10
----------------------------------	----

1.4.9 Φυτοαποκατάσταση.....	12
-----------------------------	----

1.4.10 Μέθοδοι της επί τόπου έκπλυσης του εδάφους και της χημικής εκχύλισης μετά από εκσκαφή της ρυπασμένης περιοχής.....	13
---	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Το Αρσενικό-Χημικά και περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά

2.1 Εισαγωγή - Γενικά χαρακτηριστικά.....	16
2.2 Βιολογικός ρόλος του αρσενικού.....	17
2.3 Πηγές προέλευσης του αρσενικού.....	18
2.3.1 Μητρικά υλικά του εδάφους.....	18
2.3.2 Γεωργικά υλικά.....	19
2.3.3 Ατμοσφαιρικές αποθέσεις.....	20
2.3.4 Λάσπη από μονάδες βιολογικού καθαρισμού.....	20
2.3.5 Άλλες πηγές αρσενικού.....	21
2.4 Από το έδαφος στο νερό.....	22
2.5 Χημική μορφή του αρσενικού.....	25
2.6 Αναγκαιότητα του προσδιορισμού της χημικής μορφής του αρσενικού σε ρυπασμένα εδάφη.....	26

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Μικροοργανισμοί στα εδάφη-Στελέχη με ικανότητα οξειδωσης ή αναγωγής του αρσενικού

3.1 Γενικά στοιχεία μοριακής βιολογίας και βιοτεχνολογίας.....	28
3.2 Βακτηριακή αναπνοή-ένζυμα.....	29
3.3 Κινητική ανάπτυξης βακτηρίων.....	31
3.4 Ενέργεια και προέλευση υποστρωμάτων.....	32
3.5 Μηχανικοί παράγοντες.....	33
3.6 Εισαγωγή στους μηχανισμούς βιολογικής αποδέσμευσης του αρσενικού από εδάφη και ιζημάτα.....	35
3.7 Επισκόπηση της μελέτης μικροοργανισμών για τη βιοαποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών και ιζημάτων με αρσενικό.....	37
3.8 Βιοποικιλότητα των προκαρυωτικών οργανισμών που καταλύουν την αντίδραση αναγωγής του As(v).....	38

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Χαρακτηρισμός εδαφών

1.1 Εισαγωγή.....	44
1.3 Χημικές αναλύσεις.....	45
1.4 Ορυκτολογικές αναλύσεις.....	48
1.5 Μέτρηση οργανικού φορτίου.....	54

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Δοκιμές αναγωγής As(v) από ενδογενείς μικροοργανισμούς των εδαφών

2.1 Τεχνητή ρύπανση υγειών και ρυπασμένων εδαφών.....	57
2.2 Προετοιμασία πολφών με θρεπτικό μέσο.....	57
2.3 Αποτελέσματα.....	59

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	73
-----------------------	-----------

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	85
-------------------------------------	-----------

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Μεταλλουργίας του τμήματος Μηχανικών-Μεταλλείων-Μεταλλουργών του ΕΜΠ την περίοδο Φεβρουάριος 2010-Σεπτέμβριος 2011 με θέμα:

« Διέγερση της δράσης αρσενοαναγωγικών μικροοργανισμών σε ρυπασμένα και μη ρυπασμένα εδάφη»

Το αντικείμενο της διπλωματικής εργασίας αυτής είναι η διερεύνηση της ενδεχόμενης ύπαρξης και δράσης αρσενο-αναγωγικών μικροοργανισμών όχι μόνο σε δείγματα ρυπασμένων εδαφών αλλά και σε υγιή εδάφη από τον ελλαδικό χώρο.

Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω την Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Παπασιώπη Ν. για την ανάθεση της εργασίας αυτής που είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον, την υποστήριξη και την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με την εργαστηριακή έρευνα.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ στη Μεταλλουργό Μηχανικό Υ.Δ. κα. Βαξεβανίδου Κ. για τον χρόνο που μου αφιέρωσε και την συνεργασία της, τις συμβουλές και την συμπαράσταση της καθ' όλη τη διάρκεια της διπλωματικής αυτής εργασίας.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ερευνητές στο εργαστήριο για την βοήθεια που μου έδειξαν κατά τη διάρκεια εξοικείωσης μου με το εργαστήριο, καθώς και όλους όσους συνέβαλαν στην πραγματοποίηση της εργασίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την εργασία αυτή στους γονείς μου ως ένδειξη της ευγνωμοσύνης μου για την αμέριστη υποστήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η αύξηση του ποσοστού του αρσενικού στα εδάφη, σε όρια που υπερβαίνουν κατά πολύ τα επιτρεπτά, αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου, τόσο για το εκάστοτε οικοσύστημα, όσο και για τον άνθρωπο καθώς η κινητοποίηση του αρσενικού από εδάφη και ιζήματα έχει ως πιθανό αποτέλεσμα τη ρύπανση των υπόγειων νερών αποτελώντας έτσι σημαντική πηγή κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία. Οι μεταλλευτικές και μεταλλουργικές δραστηριότητες, η κατεργασία του ξύλου και η παρασκευή εντομοκτόνων αποτελούν τις κυριότερες πηγές ρύπανσης σε αρσενικό των εδαφών, των ποταμών και των λιμνών και το ενδιαφέρον για αναζήτηση τεχνικών αποκατάστασης έχει ενισχυθεί σημαντικά τις τελευταίες δεκαετίες. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν την κινητικότητα του αρσενικού στο έδαφος είναι το pH, το οξειδοαναγωγικό δυναμικό του εδαφικού διαλύματος, η παρουσία άλλων στοιχείων, η περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ύλη, η παρουσία γηγενών μικροοργανισμών και οι συγκεντρώσεις των διαφόρων χημικών μορφών του αρσενικού στο εκάστοτε εδαφικό δείγμα. Έτσι, οι μεταβολές των παραπάνω παραμέτρων έχουν ως αποτέλεσμα αντίστοιχες μεταβολές στη χημική μορφή και την κινητικότητα του αρσενικού με περιβαλλοντικές συνέπειες όπως την έκλυση αέριων αρσίνων που προέρχονται από τη διαδικασία της μεθυλίωσης ή τη μετανάστευση του αρσενικού στα νερά.

Το αρσενικό στα επιφανειακά εδάφη βρίσκεται κατά το μεγαλύτερο μέρος του στην πεντασθενή οξειδωτική βαθμίδα σε συνύπαρξη με τα ένυδρα υδροξείδια του μαγγανίου, του αλουμινίου και κυρίως του τρισθενούς σιδήρου. Βρίσκεται είτε προσροφημένο στην επιφάνεια σιδηροοξειδίων όπως ο γκαιτίτης και ο λειμωνίτης, είτε σε μορφή κρυσταλλικών ενώσεων του σιδήρου με το αρσενικό όπως ο σκοροδίτης ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Το τρισθενές αρσενικό εμφανίζεται σε χαμηλότερους οριζόντες, όπου επικρατούν αναερόβιες συνθήκες. Είναι περισσότερο ευκίνητο σε σύγκριση με το πεντασθενές και η διαλυτότητα των αρσενικωδών ενώσεων είναι σύμφωνα με τη βιβλιογραφία τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη από αυτή των ενώσεων του πεντασθενούς αρσενικού.

Η αξιοποίηση του μεταβολισμού ενδογενών μικροοργανισμών από εδάφη και νερά για την εξυγίανσή τους από μέταλλα και μεταλλοειδή, αποτελεί μια εύκολη, περιβαλλοντικά φιλική και φθηνή μέθοδο επεξεργασίας που στηρίζεται στη μεταβολή της οξειδωτικής βαθμίδας των μετάλλων και τη μετατροπή τους σε μια πιο ευδιάλυτη μορφή που ευνοεί την απομάκρυνσή από τη στερεά φάση και την παραλαβή τους από ένα υδατικό διάλυμα.

Οι ενδογενείς μικροοργανισμοί των εδαφών επηρεάζουν συχνά την κινητικότητα μετάλλων και μεταλλοειδών μέσω της μεταβολής της οξειδωτικής τους βαθμίδας. Κάτω από αναερόβιες συνθήκες πραγματοποιείται συνήθως αναγωγή, η οποία σε ορισμένες περιπτώσεις όπως αυτή του αρσενικού, συμβάλλει στην αύξηση της κινητικότητας του ρύπου, μετατρέποντας το πεντασθενές As(V) στην περισσότερο ευδιάλυτη τρισθενή βαθμίδα, As(III) .

Διάφορες περιβαλλοντικές μελέτες έχουν καταδείξει ότι συγκεκριμένες βιοχημικές διεργασίες μπορούν να μεταβάλλουν την οξειδωτική βαθμίδα του αρσενικού και να οδηγήσουν στην αποδέσμευσή του με άμεσο ή έμμεσο τρόπο. Μέχρι σήμερα, έχουν απομονωθεί αρκετά στελέχη μικροοργανισμών που μπορούν να επιτυγχάνουν τόσο την

οξειδωση όσο και την αναγωγή του αρσενικού κατά τη διαδικασία του μεταβολισμού τους από εδάφη και ιζήματα με υψηλές συγκεντρώσεις σε αρσενικό. Σε ότι αφορά την αναγωγή του As(V) έχουν απομονωθεί πληθυσμοί που μπορούν να ανάγουν άμεσα το αρσενικό στην τρισθενή του μορφή όπως οι *Geospirillum arsenophilus* (είδος MIT-13), *Geospirillum Barnesi* (είδος SES-3), *Desulfotomaculum auripigmentum*, *Bacillus arsenicoselenatis*, *Desulfomicrobium* είδος Ben-rB και *Crysiogenes arsenatis* [5]. Έτσι, ένας άμεσος μηχανισμός απομάκρυνσης του αρσενικού από τα εδάφη, είναι η απευθείας αναγωγή του σε As(III) και απελευθέρωση στην υδατική φάση. Ένας δεύτερος μηχανισμός περιλαμβάνει την αποδέσμευση του αρσενικού από τα σιδηροξειδία του εδάφους με έμμεσο τρόπο που βασίζεται στην αναγωγή του σιδήρου από Fe(III) σε Fe(II). Μελέτες με ορισμένα είδη σιδηροαναγωγικών βακτηρίων έδειξαν ότι η ικανότητά τους να καταλύουν την αναγωγή του σιδήρου έχει ως αποτέλεσμα την αποδέσμευση του αρσενικού, κυρίως λόγω της διαλυτοποίησης των σιδηροξειδίων που συγκρατούν το As. Εντούτοις όταν ανάγεται μόνον ο Fe(III) και όχι το As(V), παρατηρείται επανακαταβύθιση του στοιχείου στη μορφή δυσδιάλυτων ενώσεων Fe(II)-As(V) όπως ο συμπλεσίτης (Fe₃(AsO₄)₂·8H₂O). Έτσι η κινητοποίηση του αρσενικού φαίνεται ότι είναι περισσότερο έντονη σε συνθήκες που ευνοούν την ταυτόχρονη σιδηροαναγωγική και αρσενοαναγωγική δράση των μικροοργανισμών.

Σε πρόσφατη μελέτη, διαπιστώθηκε ότι μικροοργανισμοί που επηρεάζουν την οξειδωτική βαθμίδα του αρσενικού εντοπίζονται όχι μόνο σε δείγματα ρυπασμένων εδαφών αλλά και σε υγιή εδάφη. Μάλιστα η ικανότητα αυτή παρατηρήθηκε τόσο σε αερόβια όσο και σε αναερόβια στελέχη διαφορετικών ειδών μικροοργανισμών. Παρόλα αυτά οι μελέτες αυτές είναι περιορισμένες σε αριθμό και δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής αναφορές για εδάφη που ανήκουν στον Ελληνικό χώρο.

Στην παρούσα εργασία στόχος ήταν η διερεύνηση της ενδεχόμενης ύπαρξης και δράσης αρσενο-αναγωγικών μικροοργανισμών σε εδάφη από τον Ελλαδικό χώρο. Μελετήθηκαν πέντε διαφορετικά δείγματα υγιών και ρυπασμένων εδαφών από περιοχές του Υμηττού, της Κέας και του Λαυρίου, με αρχική συγκέντρωση As που κυμαίνονταν από 14 μέχρι 259 mg/kg εδάφους. Στα δείγματα έγινε τεχνητή ρύπανση με προσθήκη 750 mg As(V)/kg, το οποίο αρχικά προσροφήθηκε σε ποσοστά που κυμάνθηκαν από 70 μέχρι 85%.

Στα τρία από τα πέντε δείγματα ανιχνεύτηκε δραστηριότητα αρσενικο-αναγωγικών μικροοργανισμών, χωρίς προφανή συσχέτιση με τα προϋπάρχοντα επίπεδα ρύπανσης. Η αναγωγή έφτασε σε υψηλά ποσοστά, μέχρι 99%, και συνοδεύονταν από την αντίστοιχη αποδέσμευση του αρσενικού στην υδατική φάση. Σημαντική σιδηροαναγωγική δράση παρατηρήθηκε επίσης σε τέσσερα από τα πέντε εδαφικά δείγματα.

ABSTRACT

Arsenic contamination in waters, groundwater and soils has been recognized as a major threat for human health and the environment. The increase of As concentrations in soils has posed a severe concern for the ecosystems due to the immigration of As to the underlying groundwater and different treatment options have been examined over the last decades. The toxicity of arsenic is a consequence of the similarity of As(V) to phosphorus and the ability of As(III) to form covalent bonds with sulphur, thereby uncoupling oxidative phosphorylation and interfering with protein synthesis. The presence of arsenic in natural waters is related to the process of leaching from arsenic containing source rocks and sediments. On the other hand, soil and sediment contamination with As is a result of anthropogenic activities such as mining and metallurgical activities, wood preservation and the use of As-containing pesticides. The mobility of As in soils is a function of various parameters such as pH, redox potential of soil solution, the presence of other elements, concentration of organic matter, the existence of indigenous microorganisms and the speciation of As in each soil sample. Thus, the variation of the above parameters results in alterations in the speciation and the mobility of arsenic with serious environmental consequences, such as the formation of gaseous arsines or the transportation of As in groundwater. In surface soils As mainly occurs in the form of As(V) compounds in coexistence with iron(III), aluminium and manganese oxides. The OH-OH distance in Fe, Mn and Al oxides matches well with the coordination polyhedra of many trace metals. Arsenate anions are strongly adsorbed on the surface of iron oxides such as goethite, limonite and ferrihydrite and in higher concentrations may form crystalline arsenate compounds such as scorodite ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Arsenites mainly exist in lower depths where anoxic conditions are evolved and are more mobile than arsenates, i.e. their solubility in water is orders of magnitude greater than that of As(V). The environmental fate, bioavailability and toxicity of arsenic vary with its chemical forms. Several environmental studies have shown that certain biochemical processes control the oxidation state of As leading to its direct or indirect release from soil phase. To date several types of microorganisms have been isolated from As-rich waters, soils and sediments that are able to oxidize or reduce arsenic during their metabolism. Arsenic desorption appears to be enhanced most appreciably by a transition from aerobic to anaerobic conditions. Bacterial species that couple the anaerobic oxidation of organic substrates to the reduction of arsenates have been reported by various researches and are known as dissimilatory arsenate reducing bacteria (DAsRB's). These are microorganisms that use As(V) as a terminal electron acceptor in their respiratory process, such as *Geospirillum arsenophilus* (species MIT-13), *Geospirillum Barnesi* (species SES-3), *Desulfotomaculum auripigmentum*, *Bacillus arsenicoselenatis*, *Desulfomicrobium* species Ben-rB και *Crysiogenes arsenatis*. Thus, a direct mechanism for the removal of arsenic from soils is the direct reduction of As(V) and the release of the mobile As(III) in the aqueous phase. A second mechanism suggests the indirect release of As in the solution via the reductive dissolution of soil Fe(III) oxides. There have been numerous studies using iron reducing bacteria concluded that the ability of certain microorganisms to catalyze the reduction of ferric oxides results in the displacement of As through the oxides dissolution. However, the sole reduction of Fe(III) to Fe(II) leads to the reprecipitation of arsenic in the form of insoluble ferrous arsenate

compounds such as symplectite $[\text{Fe}_3(\text{AsO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}]$. Therefore the mobilization of As is more intensive under simultaneous iron *and* arsenic reducing conditions.

In a recent study it was demonstrated that microorganisms that affect the arsenic oxidation state can be detected not only in contaminated but also in healthy soils. Moreover, this ability was observed in both aerobic and anaerobic species of different microorganisms.

This study aims at the investigation of the biological arsenic reduction in representative samples of Greek areas. Five soil samples were examined, two of which contained low concentrations of As, i.e. 14 and 19 mgAs/Kg soil (healthy soils) and three samples from Lavrion area that were contaminated with As with 108, 154 and 259 mgAs/Kg soil. All samples were subjected to artificial contamination with an As(V) solution containing 10 mmol (750mg As) per Kg of soil and required nutrients were added to support the growth of indigenous microorganisms. The adsorption of As on the soil sample, the existence of As reducing species and the increase in the mobility of As during the growth of the microbial consortium were examined.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗ ΡΥΠΑΝΣΗ ΣΤΑ ΕΔΑΦΗ

1.1 ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΚΑΙ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ^[2]

Το έδαφος είναι το ανώτατο στρώμα του φλοιού της γης, δηλαδή το επιφανειακό στρώμα σε πάχος 35 ως 50 πόντους. Το κάτω από το έδαφος στρώμα λέγεται υπέδαφος. Το υπέδαφος φτάνει στο 1,5 ως 2μ, ως εκεί δηλαδή που προχωρούν οι ρίζες των φυτών και μπορεί να γίνει γεωργική εκμετάλλευση του.

Το έδαφος προήλθε από την αποσάθρωση (διάβρωση) των πετρωμάτων της γήινης επιφάνειας. Η αποσάθρωση αυτή οφείλεται από τη θάλασσα, τη βροχή, τον ήλιο, το κρύο, τον αέρα, τα φυτά και τα ζώα. Τα αυτοφυή φυτά με τις ρίζες τους το αποσαθρώνουν κάθε μέρα και το πλουτίζουν με τροφές που παίρνουν απ' το αέρα (άζωτο) και με τα φύλλα τους και τους κορμούς τους, όταν σαπίζουν, μεταβάλλονται σε τροφές για τα νέα φυτά.

Ανάλογα το εμπλουτίζουν και τα ζώα. Όσα απ' αυτά ζούν στο υπέδαφος (σκουλήκια, μυρμήγκια και άλλα έντομα και μικρόσωμα έντομα) το τρυπούν και έτσι το νερό, ο ήλιος, ο αέρας μπαίνουν ευκολότερα στο έδαφος και μεταφέρουν οργανικές ουσίες. Τέλος με τα απορρίματα τους και τη σήψη των σωμάτων τους μετά το θάνατο τους ολοκληρώνουν τον εμπλουτισμό του. Όσα ζουν <<υπέργεια>> ζωή, τα αποσαθρώνουν με τις φωλιές τους και τα σκαλίσματα τους και το πλουτίζουν με τα υπολείμματα των τροφών τους, με τα κόπρανά τους και με το ίδιο το σώμα τους, μετά το θάνατο τους.

Όμως και το νερό και οι ακτίνες του ήλιου και ο αέρας, με τη οξείδωση που προκαλούν στα οργανικά συστατικά του εδάφους, το διασπούν και το διαλύουν μεταβάλλοντάς τα σε θρεπτικές για τα φυτά ουσίες.

1.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΕΔΑΦΟΥΣ ^[2]

Το έδαφος είναι βασικό συστατικό των χερσαίων οικοσυστημάτων, φυσικού και γεωργικού, και επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών και τη χημική αποδόμηση και ανακύκλωση της νεκρής βιομάζας. Είναι ένα σύνθετο ετερογενές περιβάλλον αποτελούμενο από ανόργανα και οργανικά συστατικά τα οποία είναι είτε σε στερεή, είτε σε υγρή είτε σε αέρια μορφή. Τα ανόργανα υλικά είναι κυριώς διαβρωμένα βραχώδη κομμάτια που αποτελούν το χώμα, κύρια συστατικά του οποίου είναι διάφορα αργιλοπυριτικά ορυκτά, καθώς και ένυδρα οξείδια του Fe, Al και Mn. Τα οργανικά υλικά είναι ζωντανοί μικροοργανισμοί καθώς και οργανική ύλη από την αποσάθρωση των φυτών και των άλλων έμβιων οργανισμών. Τα στερεά συστατικά είναι συγκεντρωμένα με τέτοιο τρόπο ώστε να σχηματίζουν ένα αλληλοσυνδεδεμένο σύστημα από κενούς πόρους οι οποίοι γεμίζουν είτε με νερό είτε με αέρα.

Η ικανότητα τους να προσροφούν ιόντα, διαφέρει ανάλογα με την τιμή του pH, τις οξειδοαναγωγικές συνθήκες που επικρατούν και τις συγκεντρώσεις των ιόντων, στο εδαφικό διάλυμα.

Αυτό το ετερογενές μείγμα από ανόργανα και οργανικά υλικά αποτελεί το φυσικό περιβάλλον για πολλούς οργανισμούς όπως επίσης και το μέσον στο οποίο οι ρίζες των φυτών μεγαλώνουν και απελευθερώνουν νερό, οξυγόνο και ιόντα. Οι ρίζες των φυτών επίσης ελευθερώνουν CO₂ και εκκρίνουν οργανικά συστατικά τα οποία είναι υπεύθυνα για την έντονη μικροβιακή δραστηριότητα που αναπτύσσεται στην διεπιφάνεια ανάμεσα στις ρίζες των φυτών και στο έδαφος. Οι ρίζες των φυτών ελέγχουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του εδάφους που τις περιβάλλει και έτσι επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα κάποιων χημικών ενώσεων.

Το έδαφος είναι ένα δυναμικό σύστημα το οποίο υφίσταται μικρής διάρκειας διακυμάνσεις όπως μεταβολές στην τιμή της υγρασίας, το pH και τις συνθήκες οξειδοαναγωγής. Αυτές οι αλλαγές στις ιδιότητες του εδάφους μπορούν να επηρεάσουν την μορφή και την βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων και πρέπει να λαμβάνονται υπόψη σε αποφάσεις που αφορούν την διαχείριση μολυσμένων εδαφών για την απόθεση αποβλήτων. Το έδαφος παρουσιάζει αξιοπρόσεκτη μεταβλητότητα στις φυσικές και χημικές ιδιότητες του, που κάνει αναγκαία την εκτενή δειγματοληψία για να συμπεριληφθεί όλο το φάσμα των μεταβολών των παραμέτρων σε οποιαδήποτε περιοχή.

1.3 ΡΥΠΟΙ ΚΑΙ ΡΥΠΑΝΣΗ ΤΩΝ ΕΔΑΦΩΝ ^[21, 77]

Σύμφωνα με τον ορισμό ρύποι, είναι όλοι οι φυσικοί, χημικοί ή βιολογικοί παράγοντες των οποίων η συγκέντρωση υπερβαίνει τη μέση τιμή της φυσικής τους συγκέντρωσης στο περιβάλλον, επιβαρύνοντάς το.

Η ρύπανση του εδάφους οφείλεται κυρίως σε ανθρωπογενείς δραστηριότητες, οι οποίες λειτουργούν πολλές φορές συνεργιστικά με γεωχημικές διεργασίες. Για παράδειγμα, εδαφική ρύπανση μπορεί να προέλθει από τη διάρρηξη δεξαμενών αποθήκευσης χημικών, τη χρήση φυτοφαρμάκων, από τα προϊόντα της διύλισης πετρελαίου και καυσίμων, τα υλικά οδόστρωσης, την επεξεργασία αποβλήτων, την άμεση διάθεση βιομηχανικών αποβλήτων ή αστικών απορριμμάτων στην επιφάνεια ή εντός του εδάφους και τέλος τη διείσδυση του ρυπασμένου επιφανειακού νερού στα υπόγεια υδροφόρα στρώματα. Μερικές από τις χημικές ουσίες, που περιλαμβάνονται στη λίστα των συνηθέστερων εδαφικών ρύπων, είναι οι υδρογονάνθρακες που ανήκουν στους οργανικούς ρύπους και τα βαρέα μέταλλα που ανήκουν στους ανόργανους ρύπους.

Η ρύπανση προερχόμενη από βαρέα μέταλλα ανήκει στα σοβαρότερα περιβαλλοντικά προβλήματα. Το κάδμιο, ο μόλυβδος, το νικέλιο, ο υδράργυρος, ο χαλκός και ο ψευδάργυρος θεωρούνται οι πιο επικίνδυνοι ρύποι. Στην κατηγορία αυτή συμπεριλαμβάνεται και το αρσενικό, λόγω της τοξικότητάς του, παρότι αποτελεί μεταλλοειδές στοιχείο. Τα μέταλλα μπορεί να προέρχονται από την διάβρωση των

συστατικών της λιθόσφαιρας, την ατμόσφαιρα αλλά κυρίως από τα αστικά ή βιομηχανικά απόβλητα. Το πρόβλημα με τα στοιχεία αυτά είναι ότι με το που θα περάσουν μέσα από τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων στο περιβάλλον, παραμένουν διότι δεν μπορούν να βιοδιασπαστούν. Ακολουθούν διάφορες πορείες, απορροφώνται επάνω στο χώμα, απορρέουν στους ποταμούς, τις λίμνες και τα υπόγεια νερά. Η έκθεση σε βαρέα μέταλλα μέσω της τροφής ή του νερού οδηγεί στη συσσώρευσή τους σε ζώα, φυτά και τον άνθρωπο. Το φαινόμενο αυτό είναι πιθανό να προκαλέσει το θάνατο ή γενετικές μεταλλάξεις των οργανισμών.

1.3 ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΡΥΠΑΣΜΕΝΩΝ ΕΔΑΦΩΝ^[4,6,12,13, 24,39]

Η μελέτη και η έρευνα καινοτόμων τεχνολογιών, στον τομέα αποκατάστασης ρυπασμένων εδαφών, παρουσιάζει βήματα προόδου συνεχώς. Το γεγονός αυτό, είναι εμφανές κάνοντας μια σύγκριση των μεθόδων που εφαρμόζονται τα τελευταία χρόνια και εκείνων που εφαρμόζονταν χρόνια πριν. Οι κυριότερες τεχνολογίες αποκατάστασης που έχουν εφαρμοστεί μέχρι σήμερα για την αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών, περιγράφονται αναλυτικά στην συνέχεια.

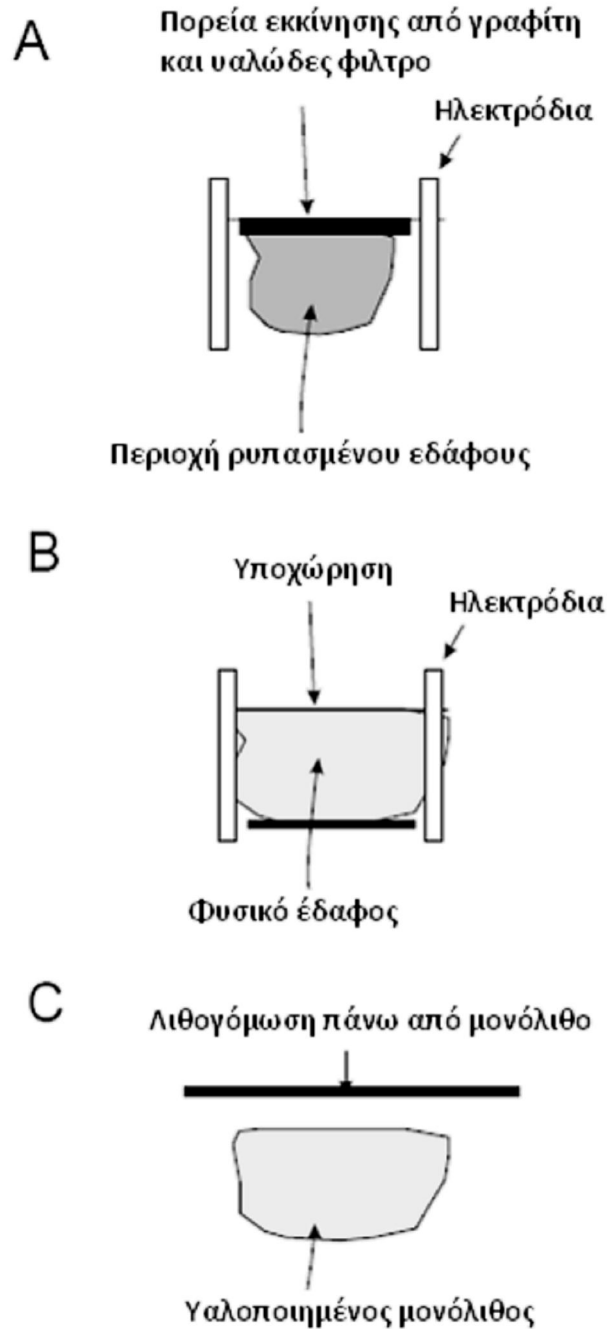
1.3.1 Απομόνωση και συγκράτηση(φυσική ενθυλάκωση, υαλοποίηση)

Οι ρύποι μπορούν να απομονωθούν και να περιοριστούν, για να αποτραπεί η περαιτέρω μετακίνησή τους, να μειωθεί η διεισδυτικότητα τους. Φυσικά εμπόδια από χάλυβα, τσιμέντο, μπετονίτη και ενέματα χρησιμοποιούνται ως κάλυψη από την οριζόντια και κάθετη εξάπλωση της ρύπανσης. Η κάλυψη εξαρτάται από το σημείο εφαρμογής της με κύριο στόχο την αποφυγή διήθησης νερού. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται και ειδικές συνθετικές μεμβράνες.

Για την αποφυγή της μετανάστευσης των ρύπων κάτω από τα κάθετα φράγματα απομόνωσης,σημαντική είναι η τοποθέτηση, χαμηλότερα από αυτά, στρώματος αργίλου ή χαλικιών μικρής διαπερατότητας. Εάν αυτό δεν είναι εφικτό, χρησιμοποιούνται συστήματα άντλησης των υπόγειων νερών, τοιχώματα από πολφό αργίλου (slurry) και κουρτίνες ενέματος ή γεωφάσματος. Τα οριζόντια φράγματα τυγχάνουν μικρότερης αποδοχής και χρήσης για τον περιορισμό της διαφυγής των ρύπων προς το περιβάλλον. Εμποδίζουν κυρίως την κάθετη κίνηση των ρύπων. Η τοποθέτησή τους μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στην συμπίεση του εδάφους, καθώς η ύπαρξη γεωτρήσεων αυξάνει την πιθανότητα μετανάστευσης των ρύπων.

1.3.2 Στερεοποίηση - σταθεροποίηση

Διαδεδομένες είναι οι μέθοδοι στερεοποίησης/σταθεροποίησης των ρύπων. Κύριο χαρακτηριστικό τους είναι ο φυσικός περιορισμός τους από τον ίδιο το ρύπο, με την έννοια ότι η μέθοδος εξαπλώνεται ως το σημείο που υπάρχει αυτός, όταν παύει η ύπαρξη του σταματά.Η στερεοποίηση αποτελεί την φυσική ενθυλάκωση των ρύπων σε στερεή μήτρα. Τέτοιες μήτρες αποτελούν υγρά μονομερή που πολυμερίζονται, ποζολάνες, ιπτάμενη τέφρα και το τσιμέντο.



Σχήμα 1.1 : Παράδειγμα των σταδίων της τεχνικής σταθεροποίησης ρύπων με υαλοποίηση^[39].

Η σταθεροποίηση περιλαμβάνει μια σειρά από χημικές αντιδράσεις που αποσκοπούν στη μείωση της κινητικότητας των ρύπων. Η μέθοδος εφαρμόζεται σε ρύπους που σχηματίζουν ευδιάλυτα υδροξείδια, ενώ μέταλλα όπως ο υδράργυρος και το αρσενικό δεν είναι κατάλληλα για την μέθοδο. Τα ρυπασμένα εδάφη μπορεί να κατεργαστούν επί τόπου ή κατόπιν εκσκαφής τους. Η τελευταία μέθοδος αποδίδει καλύτερα, λόγω της

δυνατότητας καλύτερης ανάμειξης του εδάφους, ενώ η πρώτη συναντά δυσκολίες από φυσικά εμπόδια και εφαρμόζεται κυρίως σε επιφανειακή ρύπανση. Το χαμηλότερο κόστος όμως της επί τόπου μεθόδου την καθιστά προτιμότερη.

Μια άλλη μέθοδος σταθεροποίησης είναι η υαλοποίηση (βλ.σχ.1.1). Απαιτεί θερμική ενέργεια και την χρήση ειδικών ηλεκτροδίων. Η μέθοδος είναι αρκετά πολύπλοκη και ακριβή και κατά την εφαρμογή της υπάρχει πιθανότητα παραγωγής επικίνδυνων τοξικών αερίων. Εφαρμόζεται επί τόπου σε ρύπανση χαμηλού βάθους και μικρού σχετικά όγκου, ενώ άργιλος και υγρασία παρεμβαίνουν αρνητικά στη μέθοδο. Πλήρης εφαρμογή της έχει πραγματοποιηθεί σε εδάφη με αρσενικό, μόλυβδο, χρώμιο και μεικτής ρύπανσης.

1.3.3 Μηχανικός διαχωρισμός

Στόχος της μεθόδου είναι ο διαχωρισμός των μεγαλύτερων και πιο καθαρών σωματιδίων από τα μικρότερα και πιο ρυπασμένα. Η σημαντικότερη παράμετρος για την καταλληλότητα της μεθόδου είναι ο χαρακτηρισμός του βαθμού ρύπανσης ως προς το μέγεθος των σωματιδίων.

Οι δοκιμές μικρής κλίμακας αποτελούν πολύτιμο εργαλείο για την αξιολόγηση της τεχνικής του διαχωρισμού. Για την επίτευξη των δοκιμών περιλαμβάνονται διάφορες τεχνικές όπως υδροκυκλώνες (διαχωρισμός σωματιδίων 10-20 μm από μικρότερα), διαχωριστές ρευστοστερεού (απομάκρυνση σωματιδίων <50 μm), βαρυτομετρικός διαχωρισμός και επίπλευση, βάση των διαφορετικών επιφανειών των σωματιδίων και των ιδιοτήτων τους. Οι τεχνικές αυτές είναι αντίστοιχες με αυτές που εφαρμόζονται στον εμπλουτισμό μεταλλευμάτων, με την προσθήκη όμως ειδικών χημικών που επιτρέπουν τον επιθυμητό διαχωρισμό. Επίσης, χρησιμοποιείται μαγνητικός διαχωρισμός για την απομάκρυνση σιδηρούχων υλικών ενώ μέθοδοι φυσικού διαχωρισμού εφαρμόζονται αποκλειστικά ή σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές, με στόχο την μείωση του όγκου που θα υποστεί περαιτέρω επεξεργασία. Γενικότερα οι διατάξεις και μέθοδοι του εμπλουτισμού μεταλλευμάτων και ορυκτών, βρίσκουν ευρεία εφαρμογή.

1.3.4 Πυρομεταλλουργικός διαχωρισμός

Στις πυρομεταλλουργικές κάμινους αναπτύσσονται υψηλές θερμοκρασίες ικανές να εξαερώσουν τα μέταλλα. Οι συνήθεις θερμοκρασίες εξάτμισης των ρύπων είναι μεταξύ 200-700 $^{\circ}\text{C}$. Κατόπιν της εξαέρωσης τους τα μέταλλα ανακτώνται ή αδρανοποιούνται. Η μέθοδος εφαρμόζεται πάντα εκτός πεδίου λόγω του εξοπλισμού και των εγκαταστάσεων που απαιτεί. Η καταλληλότητά της εντοπίζεται κυρίως σε εδάφη με μεγάλη συγκέντρωση ρύπων (5-20%) που η ανάκτηση των μετάλλων είναι κερδοφόρα. Συχνά απαιτείται εμπλουτισμός του εδάφους πριν την εφαρμογή της πυρομεταλλουργίας. Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου αποτελεί ο υδράργυρος για την εύκολη διαχείριση του σε υψηλές θερμοκρασίες αλλά και της δυνατότητας για ανάκτησή του ακόμα και από χαμηλές συγκεντρώσεις. Άλλες εφαρμογές αποτελούν η ανάκτηση χρυσού και πλατίνας, επίσης από χαμηλές συγκεντρώσεις.

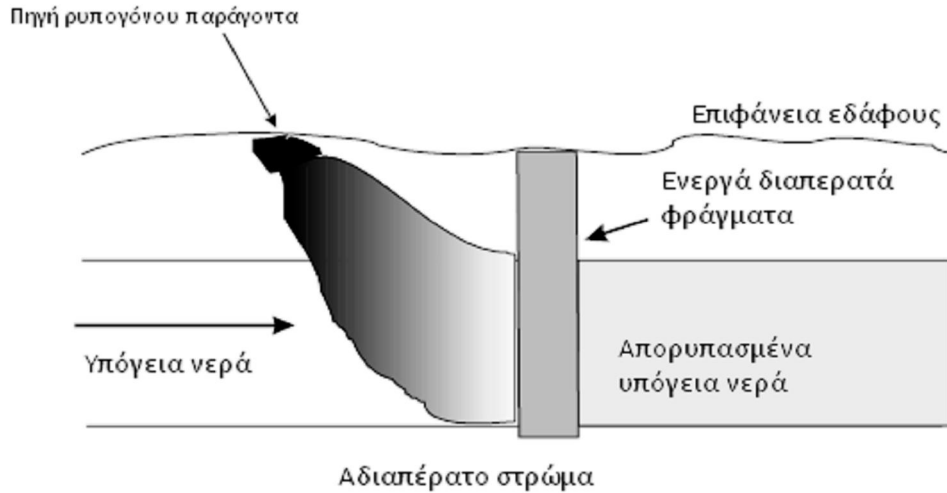
1.3.5 Χημική επεξεργασία-οξειδοαναγωγή

Οι χημικοί μηχανισμοί της οξειδοαναγωγής βρίσκουν εφαρμογή στις τεχνικές επεξεργασίας ρυπασμένων εδαφών διαμέσου της απομάκρυνσης ή της μείωσης της κινητικότητας των μεταλλικών ρύπων. Η συγκεκριμένη μέθοδος εφαρμόζεται και στην επεξεργασία υγρών αποβλήτων, κατά την οποία προστίθενται διάφορα αντιδραστήρια (υπερμαγγανικό κάλιο, υπεροξείδιο του υδρογόνου, υποχλωρικό οξύ ή αέριο χλώριο) και μέσω οξειδωτικών αντιδράσεων προκαλείται μετασχηματισμός του ρύπου σε αδρανή μορφή, καθίζηση ή διαλυτοποίηση του. Η μέθοδος αδρανοποίησης εφαρμόζεται με ρύθμιση του pH όξινων ή αλκαλικών εδαφών. Οι αναγωγικές συνθήκες προκαλούνται με την προσθήκη αλκαλίων όπως νάτριο, διοξειδίου του θείου, θειωδών αλάτων και θειικού σιδήρου. Συχνά οι χημικές μέθοδοι αποτελούν προ-επεξεργασία του εδάφους για άλλες τεχνικές. Χαρακτηριστικά παραδείγματα αποτελούν η χημική αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου για την στερεοποίηση/σταθεροποίηση του. Οι μηχανισμοί οξείδωσης εφαρμόζονται λιγότερο στην στερεοποίηση/σταθεροποίηση λόγω της απρόβλεπτης κινητικότητας των αντιδράσεων τους, με αποτέλεσμα τον κίνδυνο μετασχηματισμού άλλων μετάλλων σε τοξικότερες και κινητικότερες μορφές. Το αρσενικό ενδείκνυται για την μέθοδο της χημικής οξείδωσης διότι το πεντασθενές είναι λιγότερο ευδιάλυτο από το τρισθενές αρσενικό. Συγκαταβύθιση πεντασθενούς αρσενικού σε υψηλή συγκέντρωση με τρισθενή σίδηρο σχηματίζει σκοροδίτη ($\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), ενώ χαμηλές συγκεντρώσεις As(V) και υψηλές συγκεντρώσεις Fe(III) σχηματίζουν αρσενικό φερρουδρίτη, ένα προϊόν ανθεκτικό σε ουδέτερη ή όξινη εκχύλιση. Ο υδράργυρος, ο μόλυβδος, το σελήνιο και ο άργυρος είναι επιδεκτικά σε χημική αναγωγή. Οι χημικές επεξεργασίες μπορούν να εφαρμοστούν επί τόπου, μέσω έγχυσης σε ρυπασμένα εδάφη και στα υπόγεια νερά, αν και υπάρχει ο κίνδυνος εξάπλωσης της ρύπανσης.

1.3.6 Ενεργά διαπερατά φράγματα

Ως αποτελεσματική τεχνική απορρύπανσης των υπόγειων υδάτων αξιολογείται και η κατασκευή διαπερατών τοιχωμάτων που λειτουργούν ως φραγμός των ρύπων (βλ. σχ1.2). Αυτά περιέχουν φυσικά, χημικά, βιολογικά μέσα ή συνδυασμό αντιδραστηρίων, που μειώνουν την κινητικότητα των ρύπων. Ως κατασκευαστικά υλικά των τοιχωμάτων έχουν δοκιμαστεί πολλά υλικά όπως ζεόλιθοι, υδροξυαπατίτης, στοιχειακός σίδηρος και ασβεστόλιθος. Πειραματικές έρευνες έδειξαν ότι ο στοιχειακός σίδηρος μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην αναγωγή του χρωμίου, ενώ ο ασβεστόλιθος για την καθίζηση του μολύβδου. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι η επί τόπου εφαρμογή της, τα πολλά είδη ρύπων που μπορεί να αντιμετωπίσει και η δυνατότητα ελέγχου της ροής των υδάτων.

Απαραίτητη για την μέθοδο είναι η συλλογή πληροφοριών από την περιοχή εφαρμογής της, για την επιλογή του συνδυασμού ρύπου και μέσου επεξεργασίας στο τοίχωμα, την βελτιστοποίηση της ροής και του χρόνου παραμονής σε αυτό, καθώς και των μεθόδων ανάκτησης και αναγέννησης του μέσου.



Σχήμα 1.2 : Εφαρμογή της τεχνικής των ενεργών διαπερατών φραγμάτων^[39].

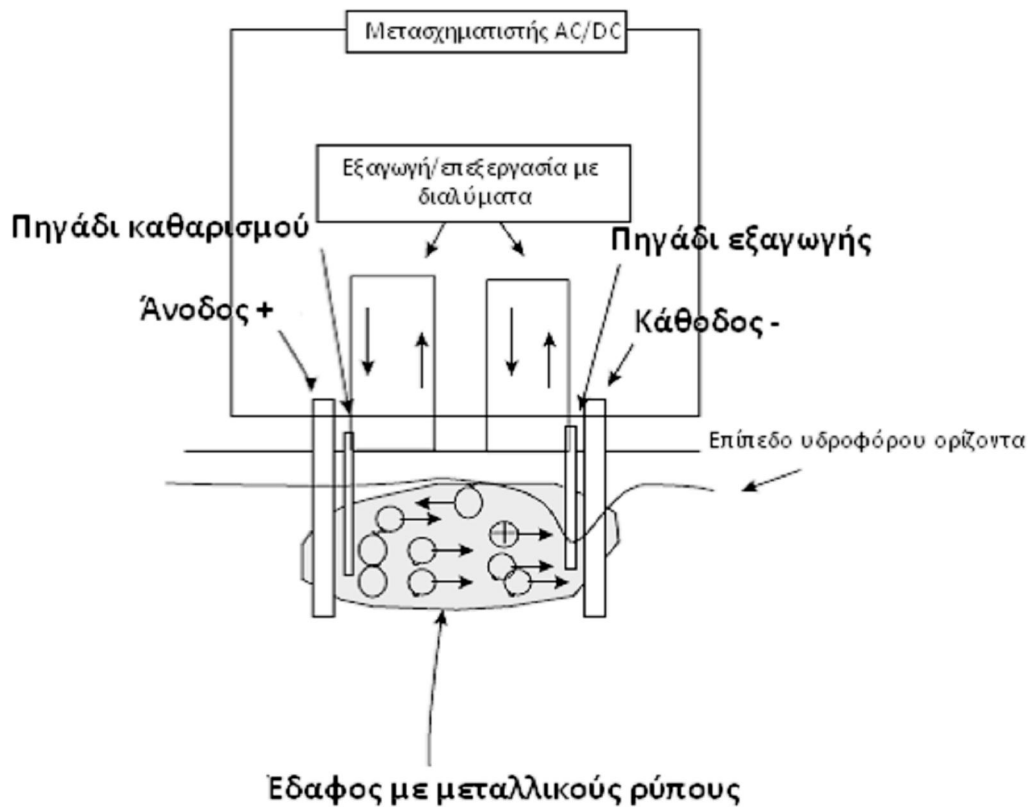
1.3.7 Ηλεκτροκινητικές μέθοδοι

Οι μέθοδοι αυτές περιλαμβάνουν την τοποθέτηση ενός συστήματος ανόδου-καθόδου στο ρυπασμένο έδαφος, με ρεύμα χαμηλής έντασης να το διαπερνά ανάμεσα τους (βλ.σχ.1.3). Ιόντα και μικρά φορτισμένα σωματίδια μεταφέρονται στα ηλεκτρόδια, ανάλογα το φορτίο τους. Το ηλεκτρικό πεδίο και η ηλεκτρική διαβάθμιση που δημιουργείται, προκαλεί κίνηση λόγω της μετανάστευσης ηλεκτρονίων, ηλεκτρική όσμωση, ηλεκτροφόρηση και ηλεκτρόλυση.

Σημαντική είναι η διατήρηση του pH στα ηλεκτρόδια με την χρήση ρυθμιστικών διαλυμάτων. Η μέθοδος εφαρμόζεται επί τόπου ή σε σωρούς ανασκαμμένου εδάφους.

Η απομάκρυνση των μετάλλων γίνεται μέσω γαλβανικής απόθεσης ή καταβύθισης στα ηλεκτρόδια, με την χρήση ρητινών ιοντοεναλλαγής ή ανακτώντας τα μέταλλα αντλώντας από το έδαφος.

Άλλα μη ιοντικά περιεχόμενα του εδάφους απομακρύνονται μέσω της φυσικής ροής. Παρεμβολές και εμπόδια στην μέθοδο μπορεί να αποτελέσουν βράχοι, θεμέλια κτιρίων και άλλα μεγάλα αντικείμενα. Σε αντίθεση με την μέθοδο έκπλυσης του εδάφους, η συγκεκριμένη μέθοδος είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική σε αργιλώδη εδάφη μικρής διαπερατότητας, ενώ είναι περισσότερο κατάλληλη για εδάφη κορεσμένα με χαμηλά ποσοστά ροής υπογείων υδάτων. Στην Ευρώπη η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται σε χαλκό, ψευδάργυρο, μόλυβδο, αρσενικό, κάδμιο, χρώμιο και νικέλιο. Η απόσταση μεταξύ των ηλεκτροδίων και η διάρκεια ζωής τους εξαρτάται από την εδαφική περιοχή και τα χρησιμοποιούμενα ρευστά της μεθόδου.



Σχήμα 1.3 : Παράδειγμα εφαρμογής της ηλεκτροκινητικής μεθόδου^[39].

1.3.8 Βιοχημικές διεργασίες

Οι μηχανισμοί απομάκρυνσης μεταλλικών ρύπων μέσω μικροβιολογικών διεργασιών είναι σχετικά περιορισμένες. Οι κυριότερες από αυτές είναι η βιοεκχύλιση μέσω θειικού οξέος που παράγεται από τη δράση θειο-οξειδωτικών βακτηρίων, η κινητοποίηση των ρύπων μέσω της μεταβολής της οξειδωτικής τους βαθμίδας που προκαλείται από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Η βιοεκχύλιση εφαρμόζεται επί τόπου, σε σωρούς και σε ειδικούς αντιδραστήρες. Η χρήση αντιδραστήρων διευκολύνει την ανάδευση και την ρύθμιση του pH, ενώ στην εκχύλιση σε σωρούς τα υγρά της έκπλυσης ανακυκλώνονται.

Η βιοπροσρόφηση είναι βιολογική μέθοδος επεξεργασίας κατά την οποία τα μέταλλα προσροφώνται σε όγκο βιομάζας, όπως φύκη και ζωντανά ή νεκρά βακτηριακά κύτταρα. Υπό την προϋπόθεση ανάπτυξης μεθόδων παραγωγής βιομάζας σε μεγάλη κλίμακα, η μέθοδος αυτή είναι πολλά υποσχόμενη. Προς το παρόν, εφαρμόζεται για την απομάκρυνση από το νερό μετάλλων σε χαμηλές συγκεντρώσεις, συνήθως σε συνδυασμό με τα διαπερατά τοιχώματα επεξεργασίας, ειδικά σε υπόγεια νερά.

Υπάρχουν μικροοργανισμοί που μπορούν να ανάγουν ρύπους όπως ο υδράργυρος, το αρσενικό, το σελήνιο και το ουράνιο, με ακόμα πιο χαρακτηριστική την αναγωγή του εξασθενούς χρωμίου Cr(VI) σε τρισθενές, μετατρέποντας το σε μια λιγότερο κινητική και τοξική μορφή. Για την πραγματοποίηση των παραπάνω αντιδράσεων συχνά απαιτούνται συγκεκριμένες τιμές pH, θρεπτικό υπόστρωμα, αναερόβιες συνθήκες, παρουσία χημικών ενώσεων και συνδυασμός ειδικών αντιδραστηρίων.

Για παράδειγμα, στην περίπτωση του εξασθενούς χρωμίου, η αναγωγική αντίδραση πραγματοποιείται παρουσία θείου από το θειο-αναγωγικό βακτήριο *Bacillus subtilis* και με δότη ηλεκτρονίων μεθανόλη.

Η βιομεθυλίωση αποτελεί την μεθυλίωση μετάλλων και μεταλλοειδών (πρόσδωση – CH₃), όπως αρσενικό, υδράργυρος, κάδμιο και μόλυβδος, μέσω βιολογικών διεργασιών. Η μεθυλίωση αυξάνει την πτητικότητα των ενώσεων. Υπάρχουν περιπτώσεις που έχει επιτευχθεί απομάκρυνση του ρύπου με εξάτμιση, όπως σε αυτή των ρυπασμένων αγροτικών εκτάσεων από σελήνιο (περιοχή *Salamanca*, Ισπανία), δημιουργώντας μεγάλες προσδοκίες. Όμως, η μεθυλίωση αυξάνοντας την κινητικότητα των μετάλλων καθιστά πολλά από αυτά περισσότερο ικανά να κινηθούν προς τα υπόγεια νερά αυξάνοντας και την τοξικότητα τους, όπως με το αρσενικό του οποίου τα παράγωγα μεθυλίωσης είναι ακόμη τοξικότερα. Επομένως υπάρχει μια αδυναμία σε αυτήν την μέθοδο ως προς το εύρος της εφαρμογής της, για το λόγο αυτό βρίσκεται ακόμα υπό έρευνα.

1.3.9 Φυτοαποκατάσταση

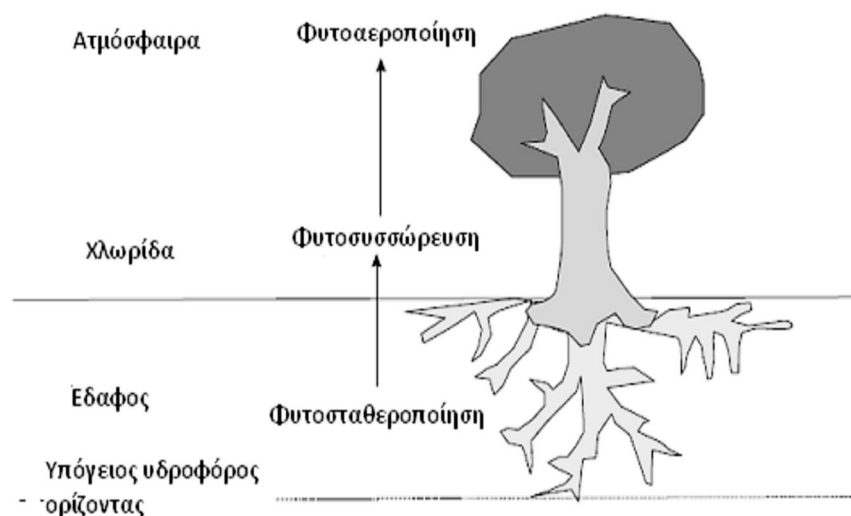
Υπάρχουν φυτά (*Thlaspi*, *Urtica*, *Chenopodium*, *Polygonum sachalase*, *Alyssim*) που έχουν την δυνατότητα να προσροφούν και να συσσωρεύουν βαρέα μέταλλα ή μεταλλοειδή (βλ.σχ.1.4). Η δράση τους αυτή θεωρείται έμμεσος τρόπος επεξεργασίας των εδαφών.

Η εφαρμογή της μεθόδου γίνεται αποκλειστικά σε επιφανειακή ή μικρού βάθους ρύπανση, με χαμηλές συγκεντρώσεις ρύπων, μεταξύ 2.5 – 100mg/kg. Βάση της μεθόδου έχουν αναπτυχθεί οι εξής τεχνικές:

- *Rhizofiltration* : χρήση φυτόμαζας ως φίλτρο για την απορρόφηση μετάλλων κυρίως στην επεξεργασία υδάτων,
- Φυτοεξαγωγή : απορρύπανση εδαφών μέσω δέσμησης μεταλλικών ρύπων από φυτά.
- Φυτοσταθεροποίηση : έκκριση ουσιών από τα φυτά που επιδρούν στο έδαφος μειώνοντας το pH και σχηματίζοντας μεταλλικά σύμπλοκα.

Σε κάθε περίπτωση λαμβάνεται μέριμνα να αποκλειστεί η επαφή των φυτών με το γύρω δασικό ή αγροτικό περιβάλλον, ενώ σημαντικό ρόλο παίζουν οι κλιματικές συνθήκες της περιοχής. Μετά το πέρας της διαδικασίας απορρύπανσης τα φυτά, που πλέον φέρουν τους ρύπους, αποτίθενται καταλλήλως. Εφαρμόζονται τεχνικές όπως ξήρανση, αεριοποίηση, αποτέφρωση, πυρόλυση, αναερόβια χώνευση κ.α., ενώ σε κάθε περίπτωση ακόμα και η απόρριψη των φυτών είναι κατά πολύ ευκολότερη και

ευνοϊκότερη από την απόρριψη ρυπασμένου εδάφους. Κυριότερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι το μεγάλο χρονικό διάστημα που απαιτείται, λόγω της βραδείας κινητικής της, συγκριτικά με άλλες μεθόδους. Εκτενέστερη έρευνα χρειάζεται για την εξέλιξη της μεθόδου, ακόμα και γενετικής τροποποίησης φυτών για την εξαγωγή συγκεκριμένων μετάλλων.



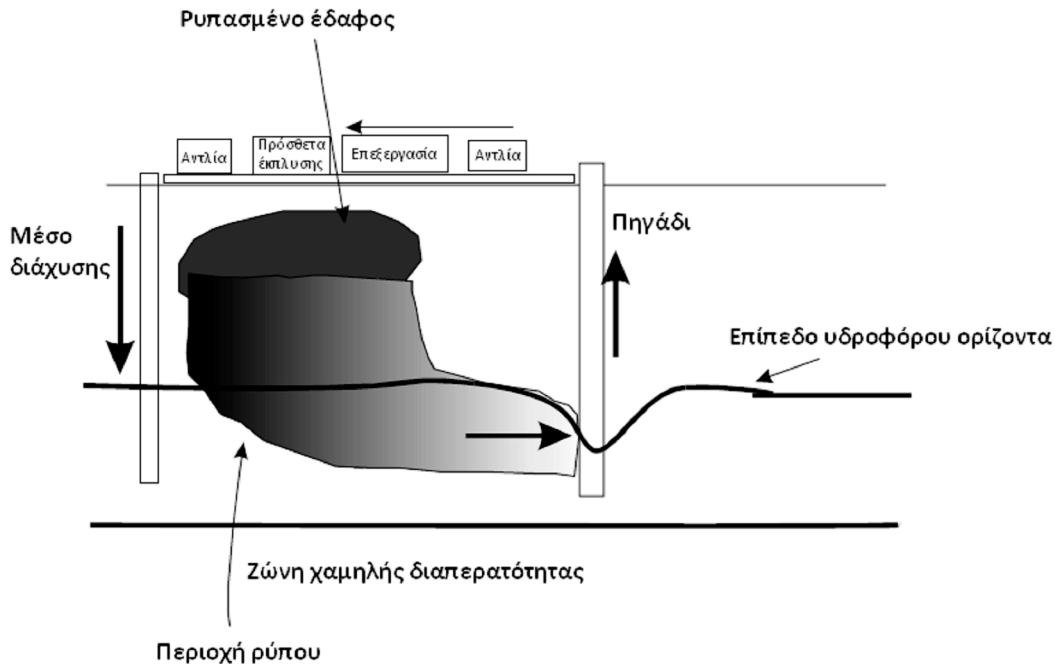
Σχήμα 1.4. : Μηχανισμοί φυτοαποκατάστασης βαρέων μετάλλων και μεταλλοειδών^[39]

1.3.10 Μέθοδοι της επί τόπου έκπλυσης του εδάφους και της χημικής εκχύλισης μετά από εκσκαφή της ρυπασμένης περιοχής

Αποτελούν κλασικές μεθόδους της υδρομεταλλουργίας χρησιμοποιώντας την αντίστοιχη τεχνολογία της εκχύλισης επί τόπου, σε σωρούς ή σε αντιδραστήρες (βλ. σχ.1.5). Η εξαγωγή των μεταλλικών ρύπων επιτυγχάνεται με τη χρήση ειδικών εκχυλιστικών μέσων τα οποία διεισδύουν, διαλύουν και εξάγουν τους ρύπους από την μήτρα του εδάφους. Στην πρώτη περίπτωση της έκπλυσης, έχουμε τη χρήση νερού ή υδατικού διαλύματος, ενώ στην δεύτερη ποικίλων αντιδραστηρίων, π.χ. ανόργανα οξέα, υδροχλωρικό οξύ, EDTA, ΝΤΑ και συνδυασμούς τους. Η τροφοδότηση των μέσων γίνεται με την χρήση καταιονιστήρων στάγδην, ψεκασμού και νηματικής πίεσης ή επιφανειακής τελεμάτωσης.

Πολλές φορές απαιτείται ανάδευση του εδάφους για καλύτερη διείσδυση του εκχυλιστικού μέσου, ρύθμιση του pH, της θερμοκρασία και της πίεσης. Σημαντικότερες παράμετροι σε αυτήν τη μέθοδο είναι η υδραυλική αγωγιμότητα του εδάφους και η διαλυτότητα των μετάλλων. Το παραγόμενο διάλυμα που φέρει τους ρύπους απομακρύνεται με ειδικούς αγωγούς και οδηγείται για περαιτέρω επεξεργασία,

απόθεση ή ανακύκλωση. Οι μέθοδοι εφαρμόζονται ευρέως και με αποτελεσματικότητα, δηλαδή υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης των μετάλλων.



Σχήμα 1.5 : Παράδειγμα εφαρμογής της μεθόδου της επί τόπου εκχύλισης.

Ειδικότερα, σε σχέση με το αρσενικό, η γενική προσέγγιση στις εφαρμογές των τεχνικών αποκατάστασης ρυπασμένων εδαφών είναι η εκσκαφή του ρυπασμένου χώματος, για την επεξεργασία του, και ακολούθως η επιχωμάτωση του κενού εκσκαφής με νέο καθαρό χώμα. Αυτή η τεχνική όμως είναι εξαιρετικά ακριβή. Οι εναλλακτικές τεχνικές περιλαμβάνουν την επί τόπου βιολογική αποκατάσταση (π.χ. φυτοεξαγωγή), φυσική ή χημική σταθεροποίηση (τεχνικές όπως η υαλοποίηση, ασφαλτόστρωση) και τέλος η χρήση ανόργανων τροποποιητικών μέσων για την επί τόπου αδρανοποίηση/σταθεροποίηση.

Στην επί τόπου ακινητοποίηση των μετάλλων το σταθεροποιητικό μέσο διοχετεύεται και αναμιγνύεται με το χώμα. Τα τοξικά μέταλλα δεσμεύονται από το σταθεροποιητικό και μειώνεται η κινητικότητά τους. Κύριος στόχος είναι ο μετασχηματισμός της χημικής μορφής και της βιολογικής τους διαθεσιμότητας. Εντούτοις, η επί τόπου σταθεροποίηση ρυπασμένων εδαφών με βαρέα μέταλλα, παρότι είναι δημοφιλής μέθοδος αποκατάστασης, απαιτεί την επαλήθευση της λειτουργικότητας της, από σταθερά δεδομένα παρακολούθησης μακράς διάρκειας.

Η αξιολόγηση των επιπέδων ρύπανσης καθώς και της αποτελεσματικότητας των μεθόδων αποκατάστασης βασίζεται στις ολικές συγκεντρώσεις των μετάλλων. Αυτό μπορεί να αποδειχτεί παραπλανητικό, επειδή οι τεχνικές χώνευσης (digestion techniques) είναι πολύ ισχυρές για να προσδιοριστεί η πραγματική φυτοδιαθέσιμη ποσότητα ή να αξιολογηθεί η κινητικότητα των μετάλλων στα στρώματα του εδάφους,

άρα και η πιθανότητα να διαρρεύσουν στα υπόγεια νερά. Τα τελευταία χρόνια αναπτύσσονται στο εργαστήριο και σε μικρή κλίμακα τυποποιημένες μέθοδοι εξαγωγής, με σκοπό την όσο το δυνατόν καλύτερη προσομοίωση τους, με τις πραγματοποιούμενες φυσικές διεργασίες. Αυτό δίνει μία πιο ρεαλιστική προσέγγιση στην αξιολόγηση των κριτηρίων για τον καθορισμό των μεθόδων αποκατάστασης ρυπασμένων εδαφών.

Δοκιμές εκχύλισης χρησιμοποιούνται για την πρόβλεψη της πιθανότητας μετανάστευσης των μετάλλων προς τον υπόγειο υδροφόρο ορίζοντα και της φυτοδιαθεσιμότητας τους υπό φυσικές συνθήκες. Τρεις δοκιμές χρησιμοποιούνται για τον λόγο αυτό. Η δοκιμή 'μίας-ώρας' της Βρετανικής περιβαλλοντικής υπηρεσίας (UK.E.A.), η 'δοκιμή εξαγωγής' της Αμερικανικής υπηρεσίας ελέγχου και υλικών (A.S.T.M.), και η 'τροποποιημένη δοκιμή εκχύλισης μακράς διαρκείας' της Ολλανδικής περιβαλλοντικής υπηρεσίας (N.S.I.).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΤΟ ΑΡΣΕΝΙΚΟ - ΧΗΜΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ^[2,20,21]

Η θανάσιμη τοξικότητα του αρσενικού είναι γνωστή από την αρχαιότητα. Οι ενώσεις του ήταν γνωστές στην αρχαία Ελλάδα και Ρώμη, όπου και χρησιμοποιείτο στην πρακτική ιατρική και ως δηλητήριο. Αναγνωρίστηκε αρχικά ως στοιχείο από τους αλχημιστές. Αν και δεν είναι σίγουρο το πού και πότε το αρσενικό ανακαλύφθηκε πραγματικά, η ανακάλυψη του κατοχυρώνεται στον αλχημιστή Αλβέρτο το Μέγα (1193-1280). Το 1250 μ.Χ. θέρμανε κίτρινη σανδαράχη (As_2S_3) με σαπούνη και παρήγαγε σχεδόν καθαρό αρσενικό. Έγινε γνωστό ως στοιχείο μετά το μέσο του δεκάτου εβδόμου αιώνα.

Το χημικό στοιχείο αρσενικό, με σύμβολο As, είναι ένα μεταλλοειδές με ατομικό αριθμό 33 και ατομικό βάρος 74,9216. Έχει θερμοκρασία τήξης 817 C και θερμοκρασία βρασμού 613 C. Είναι άοσμο, χωρίς ιδιαίτερη γεύση, γεγονός που καθιστά την ανίχνευση του πολύ δύσκολη.

Από πλευράς συγκέντρωσης αποτελεί το εικοστό στοιχείο στο φλοιό της γης, το δέκατο τέταρτο στους ωκεανούς και το δωδέκατο στο ανθρώπινο σώμα.

Το στοιχειακό αρσενικό παρουσιάζεται με δύο στερεές μορφές, ως κίτρινο και γκρίζο ή μεταλλικό πολύ εύθραυστο στερεό. Όταν θερμαίνεται δεν τήκεται αλλά εξαχνώνεται, μόνο υπό υψηλή πίεση μπορεί να λειώσει στους 814 C. Είναι αδρανές σε ξηρό περιβάλλον, αλλά σε υγρό αέρα η επιφάνεια του οξειδώνεται αργά δίνοντας αρχικά μια χάλκινη αμαύρωση και τελικά μια μαύρη επικάλυψη. Το αρσενικό δεν αντιδρά με το νερό απουσία αέρα υπό κανονικές συνθήκες. Όταν θερμαίνεται με αέρα αντιδρά με το οξυγόνο, σχηματίζοντας οξείδιο του αρσενικού (As_2O_3), παράγει μπλε φλόγα και εκλύει μια διακριτική μυρωδιά σκόρδου.

Εντοπίζεται σε τέσσερις οξειδωτικές βαθμίδες, πεντασθενές, τρισθενές, στοιχειακό αρσενικό και As(-III) στην αρσίνη. Τα δύο τελευταία εμφανίζονται σπάνια σε αντίθεση με το πεντασθενές και τρισθενές που συντελούν το κύριο όγκο του ανόργανου αρσενικού που συναντάται στο περιβάλλον. Το πεντασθενές αρσενικό δεσμεύεται και παραμένει σε επιφάνειες μεταλλικών ορυκτών όπως ο φερρουδρίτης, ενώ το τρισθενές παρουσιάζει πολύ μεγάλη κινητικότητα και τοξικότητα. Υπάρχει ομοιότητα στη χημεία μεταξύ του As και του P καθώς και τα δύο σχηματίζουν οξυανιόντα με βαθμό οξείδωσης +5. Ωστόσο τα φωσφορικά ανιόντα είναι σταθερά σε μεγαλύτερο εύρος τιμών του Eh και του pH σε σχέση με τα αρσενικά. Το As βρίσκεται και με βαθμό οξείδωσης +3 και σχηματίζει σύμπλοκες ενώσεις και με άλλους υποκαταστάτες, εκτός από το οξυγόνο, πράγμα που δεν συμβαίνει με το φωσφόρο, ο οποίος σχηματίζει μόνον με το οξυγόνο σταθερά χημικά είδη.

Στις μέρες μας η σπουδαιότητα του είναι εμφανής από την εφαρμογή του σε ποικίλες δραστηριότητες, όπως ιατρική, γεωργία, κτηνοτροφία, ηλεκτρονική και μεταλλουργία. Η πιο διάσημη χρήση του είναι ως δηλητήριο, διότι παλαιότερα δεν γινόταν εύκολα η ανίχνευση του. Σήμερα η σημαντικότερη χρήση του είναι στη συντήρηση του ξύλου. Η

χημική ένωση CCA (αρσενικό άλας χαλκού και χρωμίου) προστίθεται στο ξύλο που χρησιμοποιείται ως δομικό υλικό στα σπίτια και άλλες ξύλινες κατασκευές. Το CCA αποτρέπει την ανάπτυξη μικροοργανισμών που αναγκάζουν το ξύλο να σάπισει. Άλλες χρήσεις του αρσενικού είναι σε παρασιτοκτόνα, φυτοφάρμακα, χρωστικές ουσίες, στην κατασκευή ημιαγωγών, μπαταριών και σε πολλά οικιακά προϊόντα, αλλά με την τάση μείωσης της χρήσης του τα τελευταία χρόνια.

Το αρσενικό εμφανίζεται περιστασιακά στο περιβάλλον σε συγκεκριμένα εδάφη, πετρώματα και νερά. Περιέχεται σε αποσαθρωμένα ηφαιστειογενή και υποθαλάσσια ιζηματογενή πετρώματα και σε ορυκτά καύσιμα. Οι κύριες περιπτώσεις εμφάνισης του σε εδαφικά δείγματα, είναι σε αποθέσεις μεταλλεύματος που περιέχει σουλφίδια, τα οποία συχνά περιέχουν υψηλές ποσότητες αρσενικού. Άλλοι τύποι πετρωμάτων, όπως σχιστολιθικοί ψαμμίτες και πετρώματα φωσφορικού άλατος, περιέχουν αρσενικό, ξεπερνώντας κατά πολύ τον μέσο όρο του στο φλοιό. Επίσης, υπό ειδικές συνθήκες μπορεί να συσσωρεύεται στο έδαφος ή στα υπόγεια νερά σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις. Η συσσώρευση αυτή οφείλεται κυρίως σε ανθρωπογενείς παράγοντες, όπως οι παραπάνω χρήσεις του, από στραγγίσματα μεταλλείων ή μεταλλευτικών απορριμμάτων, καύση του άνθρακα και του πετρελαίου, καθώς και από φυσικούς παράγοντες όπως η υδροθερμική διάλυση και η διάβρωση των πετρωμάτων που περιέχουν ορυκτά του. Ένας επιπλέον παράγοντας που δεν είχε μέχρι πρότινος συνυπολογιστεί, είναι η μικροβιακή δραστηριότητα.

2.2 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΡΟΛΟΣ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ^[56]

Ως προς τον βιολογικό του ρόλο, το αρσενικό είναι χρήσιμο ιχνοστοιχείο για τους ανθρώπους, ενώ είναι απαραίτητο για αρκετά φυτά και ζώα. Ανεπάρκεια του αρσενικού προκαλεί μείωση στην ανάπτυξη. Από την άλλη πλευρά, το αρσενικό σε αυξημένες συγκεντρώσεις, είναι πολύ δηλητηριώδες για την πλειοψηφία των οργανισμών. Είναι ένα από τα πιο επικίνδυνα δηλητήρια και, σε μεγάλες ποσότητες, μπορεί να σκοτώσει ακαριαία τον ανθρώπινο οργανισμό. Αντίθετα, η συνεχής μακροχρόνια έκθεση στο αρσενικό προκαλεί αργό θάνατο και άλλες ασθένειες όπως καρκίνο, διαβήτη, ασθένειες του ήπατος, πεπτικά προβλήματα και δερματοπάθειες. Στο νευρολογικό σύστημα μπορεί να προκαλέσει απώλεια ακοής και απώλεια της αίσθησης στα μέλη. Στον άνθρωπο χαμηλές δόσεις αρσενικού προκαλούν ναυτία, εμετό και διάρροια. Σε μεγαλύτερες δόσεις, οδηγεί στον ανώμαλο κύκλο της καρδιάς, ζημία των αιμοφόρων αγγείων, και μούδιασμα των άκρων. Επίσης μικρά εξογκώματα ή όζοι μπορούν να αρχίσουν να αναπτύσσονται στις παλάμες και τα πόδια. Η απευθείας επαφή με το δέρμα μπορεί να προκαλέσει ερυθρότητα και πρήξιμο. Η μακροπρόθεσμη έκθεση, εισπνοή ή κατάποση, προκαλεί διάφορες μορφές καρκίνου, στον πνεύμονα, στην ουροδόχο κύστη, τα νεφρά, το συκώτι. Σε μεγάλες δόσεις, το αρσενικό είναι θανατηφόρο.

Όσον αφορά την μικροβιακή δραστηριότητα που προαναφέρθηκε, η ύπαρξη της επικεντρώνεται στα οξυανιόντα του αρσενικού που χρησιμοποιούνται ως τελικοί αποδέκτες ηλεκτρονίων στην μικροβιακή αναερόβια αναπνοή. Στο φυσικό περιβάλλον δρουν ευρύτατα πολλά είδη αρσενικό-αναγωγικών βακτηρίων, γεγονός που

επιβεβαιώνεται από τον εντοπισμό τους σε επιφανειακά ελώδη και ρυπασμένα περιβάλλοντα. Τα βακτήρια ενώ συναντώνται ευρέως, έχουν απομονωθεί και ταξινομηθεί σε περιορισμένο βαθμό. Αυτά περιλαμβάνουν πληθυσμούς από θετικά και αρνητικά κατά Γκράμ βακτήρια, βήτα, γάμμα και έψιλον πρωτεοβακτήρια και κάποια στελέχη βακίλων. Η αναγωγή του αρσενικού δύναται να συνδυαστεί με την οξείδωση διαφόρων οργανικών υποστρωμάτων. Αυτό που διαφέρει από είδος σε είδος είναι ο δότης ηλεκτρονίων. Έχει περιγραφεί μικροβιακή αναγωγή του αρσενικού συνδεδεμένη με την κυτταρική μεμβράνη αλλά και εντός του κυτταροπλάσματος.

2.3 ΟΙ ΠΗΓΕΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ^[2, 15]

Το αρσενικό υπάρχει σε μια μεγάλη ποικιλία φυσικών ορυκτών και η γεωχημική του διασπορά στο περιβάλλον εκδηλώνεται αυθόρμητα, μέσω των φυσικών διαδικασιών διάβρωσης, ενισχύεται εντούτοις σημαντικά από τις ανθρώπινες δραστηριότητες. Στις παραγράφους που ακολουθούν δίνεται μια λεπτομερής αναφορά στις κύριες φυσικές και ανθρωπογενείς πηγές προέλευσης του αρσενικού.

2.3.1 Μητρικά υλικά του εδάφους

Υπάρχει μικρή διαφορά ανάμεσα στους διαφορετικούς τύπους πυριγενών πετρωμάτων με συγκεντρώσεις <1-15 mg As/kg. Τα αργιλούχα ιζηματογενή πετρώματα έχουν υψηλότερες τιμές As (<1-900 mg/kg) σε σχέση με τις αμμόπετρες και τους ασβεστόλιθους (1-20 mg/kg). Τα φωσφορικά πετρώματα περιέχουν As σε ποσοστό <1-200 mg/kg.

Η ικανότητα του As να συνδέεται με υποκαταστάτες που περιέχουν S σημαίνει ότι μπορεί να βρεθεί σε θειούχες αποθέσεις, είτε σαν διακριτές ενώσεις As, είτε σαν ίχνος ή δευτερεύον δεσμευμένο συστατικό θειούχων μεταλλευμάτων. Αυτό οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα συγκεντρώσεων του As σε περιοχές με θειούχο μεταλλοφορία.

Έχει παρατηρηθεί ότι οι τιμές γενικά σε επιφανειακά μη ρυπασμένα εδάφη είναι υψηλότερες από αυτές που παρουσιάζονται στα αντίστοιχα πετρώματα. Μία πιθανή εξήγηση είναι ότι η εξαλλοίωση των πετρωμάτων οδηγεί σε μεγαλύτερη σχετικά κατακράτηση του As στα εδάφη, λόγω της μικρότερης εκχυλισιμότητας του As σε σύγκριση με άλλα στοιχεία. Εντούτοις, η αύξηση του ποσοστού του As στα εδάφη είναι πολύ μεγάλη και δεν μπορεί να εξηγηθεί μόνο λόγω της μικρής εκχυλισιμότητας. Η διαφορά αυτή αποδόθηκε από τους ερευνητές στην ατμοσφαιρική ρύπανση. Η ατμοσφαιρική ρύπανση, οι εκτεταμένες γεωχημικές ανωμαλίες καθώς και η μη τυχαία επιλογή δειγμάτων για ανάλυση, μπορεί να είναι ορισμένα από τα αίτια για την παρατηρούμενη ασυμφωνία στις συγκεντρώσεις του As ανάμεσα στα επιφανειακά εδάφη και στα υποκείμενα πετρώματα.

2.3.2 Γεωργικά υλικά

Οι ενώσεις του αρσενικού χρησιμοποιήθηκαν ευρέως στα εντομοκτόνα για πάνω από εκατό χρόνια, αλλά η χρήση τους τώρα είναι πολύ μικρή, έχοντας ελαττωθεί στο μισό στην δεκαετία του 70 και με διαρκή μείωση έως σήμερα. Οι φυτοτοξικές επιδράσεις των ενώσεων του As τις έκανε χρήσιμες σαν παρασιτοκτόνα και ξηραντικά υλικά ώστε να κάνουν πιο εύκολο το θέρισμα του βαμβακιού μετά την αποφύλλωση. Ωστόσο, προκλήθηκε ανησυχία από την αύξηση των καταλοίπων στα εδάφη και στα ιζήματα των λιμνών μετά την χρήση μεγάλων ποσοτήτων ανόργανων ενώσεων As. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα την σταδιακή αντικατάσταση των εντομοκτόνων που περιείχαν ενώσεις As, π.χ. Αρσενικό μόλυβδο και αρσενικό νάτριο, με άλλα υλικά.

Ο ρυθμός της χρήσης των εντομοκτόνων είναι 2-4 kg As/ha, αλλά όταν χρησιμοποιείται διμέθυλ-αρσενικό οξύ προστίθενται συνήθως μεγαλύτερες ποσότητες με τις οποίες μπορεί έως και να τριπλασιάζει την αναλογία του As στις συγκεκριμένες χρήσεις. Επιπλέον, μικροποσότητες οργανικού As έχουν χρησιμοποιηθεί στην εκτροφή ζώων (κοτόπουλα, γουρούνια, γαλοπούλες), με ρυθμό 10-50 mg As/kg, με στόχο την επιτάχυνση της ανάπτυξης τους. Οι ενώσεις αυτές απεκκρίνονται συνήθως γρήγορα έχοντας υποστεί ελάχιστη χημική μεταβολή.

Τα εδάφη γενικά έχουν επηρεαστεί λιγότερο από αυτή την χρήση του As σε σχέση με ιζήματα ποταμών και λιμνών εκτός και αν έγινε χρήση αρσενικού μολύβδου, όπου έχουν αναφερθεί συγκεντρώσεις 100-200 mg As/kg εδάφους με τις υψηλότερες περιεκτικότητες να ξεπερνούν τα 2500 mg As/kg. Η έλλειψη μακρόχρονης σταδιακής αύξησης του As στα εδάφη εξηγείται από την παραγωγή πτητικών ενώσεων του As από μικροοργανισμούς και από τη φυσική εκχύλιση του As από τις στερεές φάσεις που περιέχεται. Η κινητικότητα του As στα υδατικά ιζήματα έχει διαπιστωθεί ότι μειώνεται παρουσία ένυδρων οξειδίων του σιδήρου και/ή θειούχων ενώσεων.

Τα λιπάσματα που περιέχουν φωσφορικές ενώσεις αποτελούν μια άλλη πιθανή πηγή As. Η συγκέντρωση του As στα λιπάσματα μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την προέλευση των φωσφορικών πετρωμάτων που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή των λιπασμάτων, αλλά εκτιμήσεις για την Αγγλία δίνουν ένα μέσο όρο για τα φωσφορικά πετρώματα 7.7 mg As/kg. Άρα από τη χρήση λιπασμάτων με μέσο όρο 54.5 kg P₂O₅/ha, η ετήσια προσθήκη As στην καλλιεργήσιμη γη είναι 0.12 mg As/m². Αυτό αντιστοιχεί σε αύξηση της συγκέντρωσης του As μικρότερη από 0.005%.

Τα επίπεδα του As σε αζωτούχα και καλιούχα λιπάσματα είναι μη σημαντικά και οι ποσότητες του As που προστίθενται κατά τη διεργασία ρύθμισης του εδαφικού pH με ασβεστόλιθο είναι επίσης μικρές, και αντιστοιχούν στις μικρές συγκεντρώσεις του As που γενικά παρατηρούνται στους ασβεστόλιθους. Οι συγκεντρώσεις του As στις κοπριές αντιστοιχούν στο ποσοστό πρόσληψης από τις τροφές που χορηγούνται στα ζώα. Γενικά οι ποσότητες στις τροφές είναι χαμηλές εκτός και αν οι ενώσεις του As προστίθενται με σκοπό την αύξηση του βάρους. Σε αυτήν την περίπτωση η συγκέντρωση του As στις κοπριές κυμαίνεται σε 30-40 mg/kg, αλλά δεν διαπιστώθηκε σημαντική αύξηση στην

συγκέντρωση του As σε σοδειές που αναπτύχθηκαν σε εδάφη, όπου είχαν χρησιμοποιηθεί σαν λίπασμα αντίστοιχες κοπριές.

2.3.3 Ατμοσφαιρικές αποθέσεις

Η σχετικά μεγάλη πτητικότητα των ενώσεων του As σημαίνει ότι ο γεωχημικός κύκλος του περιέχει σημαντικές ροές από το έδαφος στην ατμόσφαιρα. Ωστόσο υπολογίζεται, ότι η εξατμιζόμενη φάση ευθύνεται μόνο για το 7% της ατμοσφαιρικής επιβάρυνσης και το υπόλοιπο As σχετίζεται με την σωματιδιακή ύλη.

Με βάση εκτιμήσεις η ποσότητα του As που περνάει στην ατμόσφαιρα είναι περίπου 73540 t As/έτος με αναλογία 60 40 ανάμεσα στις φυσικές και ανθρωπίνες πηγές προέλευσης.

Μετρήσεις της απόθεσης As σε διάφορες αγροτικές περιοχές στην Αγγλία δίνουν 0.8-5.5 mg As/m²/έτος. Αν ο μέσος όρος της απόθεσης είναι 1 mg As/m²/έτος τότε η μέση αύξηση της ποσότητας του As στα 5cm από την επιφάνεια του εδάφους θα είναι 0.15%. Ωστόσο λαμβάνοντας υπόψη και την πτητικότητα του As από το έδαφος προς την ατμόσφαιρα σε χαμηλή θερμοκρασία, εκτιμάται ότι η καθαρή αύξηση είναι 0.1% ανά έτος. Σε παγκόσμια κλίμακα, η μέση αύξηση θα είναι περίπου 0.05% για το βόρειο ημισφαίριο και 0.02% για το νότιο ημισφαίριο, αν οι μέσες αποθέσεις που κυμαίνονται από 0.44-0.50 mg As/m²/έτος στο βόρειο ημισφαίριο και 0.16-0.21 mg As/m²/έτος στο νότιο ημισφαίριο θεωρηθούν σωστές εκτιμήσεις.

Η ηφαιστειακή δραστηριότητα είναι η επόμενη πιο σημαντική φυσική πηγή του As που διαφεύγει στην ατμόσφαιρα μετά την πτητικότητα του As σε χαμηλές θερμοκρασίες, και σε τοπική κλίμακα είναι η επικρατέστερη ατμοσφαιρική πηγή ρύπανσης.

Η τήξη του Cu είναι η μεγαλύτερη ανθρωπογενής πηγή ρύπανσης, αντιστοιχώντας στο 40% του συνόλου, με τη καύση του κάρβουνου να είναι η αμέσως επόμενη με 20%. Υπάρχει μεγάλο εύρος στις ποσότητες των ανθρωπογενών ατμοσφαιρικών εκπομπών, που εξαρτάται από την βιομηχανοποίηση της κάθε χώρας και τον βαθμό ελέγχου της ρύπανσης από τις βιομηχανίες. Μια εκτίμηση των εκπομπών στην Ευρώπη δίνει 6500 t As από 28 χώρες, αλλά το 65% του συνόλου προέρχεται από τρεις μόνο χώρες (Ρωσία, Γερμανία, Πολωνία) με άλλες τρεις (Βέλγιο, Ισπανία, Γαλλία) να είναι υπεύθυνες για ένα άλλο 14%.

2.3.4 Λάσπη από μονάδες βιολογικού καθαρισμού

Τα επίπεδα του As στη λάσπη των μονάδων βιολογικού καθαρισμού αντιπροσωπεύουν τον βαθμό βιομηχανοποίησης της αντίστοιχης περιοχής. Το As των λυμάτων των αγροτικών περιοχών προέρχεται κυρίως από επιφανειακές απορροές, που ξεπλένουν το ατμοσφαιρικό αποτιθέμενο As καθώς και από τη χρήση εντομοκτόνων. Σε αστικές και βιομηχανικές περιοχές υπολείμματα φωσφορικών απορρυπαντικών προσθέτουν μικρές ποσότητες As ενώ τα βιομηχανικά υγρά απόβλητα ειδικά από την βιομηχανία παραγωγής μετάλλων προσθέτουν σημαντικές ποσότητες. Οι συγκεντρώσεις που έχουν μετρηθεί κυμαίνονται από 0-188 mg As/kg. Για την Αγγλία αναφέρεται ότι ο μέσος όρος

για όλες τις λάσπες είναι 10 mg As/kg, ενώ στις λάσπες από αγροτικές περιοχές η συγκέντρωση του As είναι λίγο χαμηλότερη, δηλαδή 8 mg As/kg (ξηρό βάρος). Στην Αγγλία οι περισσότερες ρυπασμένες στερεά λάσπες συνήθως αποτεφρώνονται και περιέχουν κατά μέσο όρο 29 mg As/kg.

Η απόθεση της λάσπης βιολογικού καθαρισμού στην γη δεν φαίνεται να προκαλεί σημαντική αύξηση του As στα σπαρτά. Με μια τυπική προσθήκη των 5 t λάσπης/ha (εκτάριο) η προσθήκη του As είναι 4 mg/m³. Αυτό το ποσοστό είναι 30 φορές μεγαλύτερο από το αντίστοιχο που προκύπτει από τις προσθήκες των λιπασμάτων φωσφορικών αλάτων, και προκαλεί αύξηση του ποσοστού του As ίση με 0.15% περίπου, σε ένα βάθος 20 cm από την επιφάνεια του εδάφους. Επειδή η περιοχή διάθεσης της λάσπης είναι πολύ μικρότερη από αυτήν των λιπασμάτων, εκτιμάται ότι οι αντίστοιχες ποσότητες στην Αγγλία είναι 2.5 t As/έτος και 6.1 t As/έτος.

2.3.5 Άλλες πηγές αρσενικού

Η εκμετάλλευση κοιτασμάτων με αυξημένα ποσοστά As μέσα σε ορυκτά που περιέχουν πολύτιμα μέταλλα και είναι εκμεταλλεύσιμα έχει το ρίσκο της διασποράς του As μέσω του αέρα και την εκχύλιση του από λεπτομερώς λειοτριβημένα απορρίματα της διεργασίας εξαγωγής. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις As κοντά σε παλιές εκμεταλλεύσεις όπως π.χ. πάνω από 40000 mg As/kg στην Βιρτζίνια των ΗΠΑ, και πάνω από 25000 mg As/kg στην ΒΔ Αγγλία, ενώ σε αποστάσεις γύρω από αυτές τις περιοχές τα επίπεδα πέφτουν κατακόρυφα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στις πιο πάνω περιοχές έχει αναπτυχθεί περιορισμένη βλάστηση παρά τα υψηλά επίπεδα As.

Η αυξημένη χρήση των ενώσεων του As για την συντήρηση των ξύλων, π.χ. ξύλινες κολόνες του δικτύου ηλεκτροδότησης, δεν φαίνεται να προκαλεί απ' ευθείας ρύπανση των εδαφών. Η διάθεση της επεξεργασμένης ξυλείας στο μέλλον μπορεί να προκαλέσει τοπικά προβλήματα, ιδιαίτερα εάν εφαρμοσθεί καύση και όχι ελεγχόμενη απόθεση σε χώρους υγειονομικής ταφής απορριμμάτων. Με βάση στοιχεία του 1990, η χρήση του As για την επεξεργασία του ξύλου ανέρχονταν σε 16000 t/έτος και υπήρχαν προβλέψεις για αύξηση στα επόμενα χρόνια. Συνεπώς η μελλοντική διάθεση της επεξεργασμένης ξυλείας μπορεί να αποτελέσει σημαντική πηγή ρύπανσης σε As.

Άλλη πηγή ρύπανσης αποτελούν οι μονάδες καύσης άνθρακα. Εκτός από την ελευθέρωση As στην ατμόσφαιρα η τέφρα που παράγεται από την καύση του άνθρακα περιέχει επίσης As. Τα επίπεδα του As στην τέφρα κυμαίνονται μεταξύ 7-60 mg/kg αλλά έχουν αναφερθεί και περιπτώσεις όπου οι συγκεντρώσεις ξεπερνούν τα 200 mg/kg.

Ορισμένα αποθέματα πετρελαίου που προβλέπεται να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή πετρελαίου περιέχουν 50 mg As/kg, το οποίο συνήθως παραμένει στο απόρριμμα της κατεργασίας και αποτίθεται μετά την εξαγωγή του πετρελαίου. Οι μεγάλες ποσότητες των αρσενικούχων απορριμμάτων μπορεί να προκαλέσουν σημαντικά προβλήματα ρύπανσης αν βέβαια διαπιστωθεί η οικονομικότητα της εκμετάλλευσης αυτών των πετρελαϊκών αποθεμάτων.

Η άρδευση σε καλλιεργήσιμες περιοχές με νερά που περιέχουν As αναμένεται να αυξήσει τις συγκεντρώσεις του As στο έδαφος ιδιαίτερα σε ξηρές περιοχές λόγω της εξάτμισης του νερού με την αύξηση της θερμοκρασίας. Η συγκέντρωση του As στα επιφανειακά και υπόγεια νερά είναι γενικά χαμηλή (2-3 mg/l), αλλά μπορεί να παρουσιαστούν τοπικά υψηλές συγκεντρώσεις (πάνω από 35 mg/l) αν υπάρχει υδροθερμική δραστηριότητα. Η παραγωγή γεωθερμικής ενέργειας, όπου τα διαλύματα που έχουν υψηλή περιεκτικότητα As χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ατμού, μπορεί να προκαλέσει ρύπανση του εδαφικού διαλύματος.

Το υλικό που μεταφέρεται στις όχθες και στις εκβολές ποταμών μπορεί να περιέχει υψηλές συγκεντρώσεις As λόγω ανθρωπογενών παραγόντων ρύπανσης όπως π.χ. στον Ρήνο, όπου οι λάσπες που μεταφέρονται από το λιμάνι του Ρότερνταμ περιέχουν 23 mg As/kg και αυξάνουν την συγκέντρωση του As στον Ρήνο από 8 mg/l σε 100-160 mg/l.

2.4 ΑΠΟ ΤΟ ΕΔΑΦΟΣ ΣΤΟ ΝΕΡΟ^[15,18,36, 41, 43, 61]

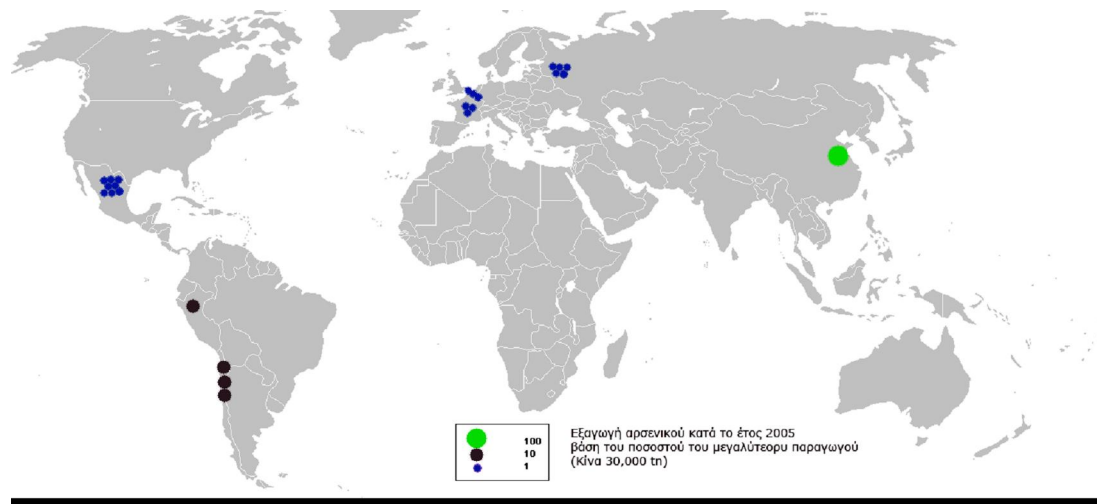
Η γεωχημική διασπορά του αρσενικού στο περιβάλλον εκδηλώνεται αυθόρμητα (βλ. σχ. 2.1), μέσω των διαδικασιών διάβρωσης, αλλά ενισχύεται από τις ανθρώπινες δραστηριότητες. Το αποτέλεσμα είναι η σημαντική τοπική και περιφερειακή ρύπανση νερού και εδάφους. Η ρύπανση αυτή, αποτελεί μέγιστη απειλή για την ανθρώπινη υγεία, λόγω της μεγάλης πιθανότητας εισχώρησης του στοιχείου στην τροφική αλυσίδα. Δεδομένου ότι το πόσιμο νερό προκύπτει από την περιφερειακή διάθεση επιφανειακών ή υπόγειων υδάτων, επόμενο είναι να διαφοροποιείται η περιεκτικότητα των διαλυμένων στοιχείων ανά περιοχή. Ομοίως διαφέρει και η τοπική συγκέντρωσή του σε αρσενικό. Μοναδικό επιβεβαιωμένο συμπέρασμα, σε παγκόσμια κλίμακα, είναι ότι τα υπόγεια σε αντίθεση με τα επιφανειακά νερά εμφανίζουν τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις.



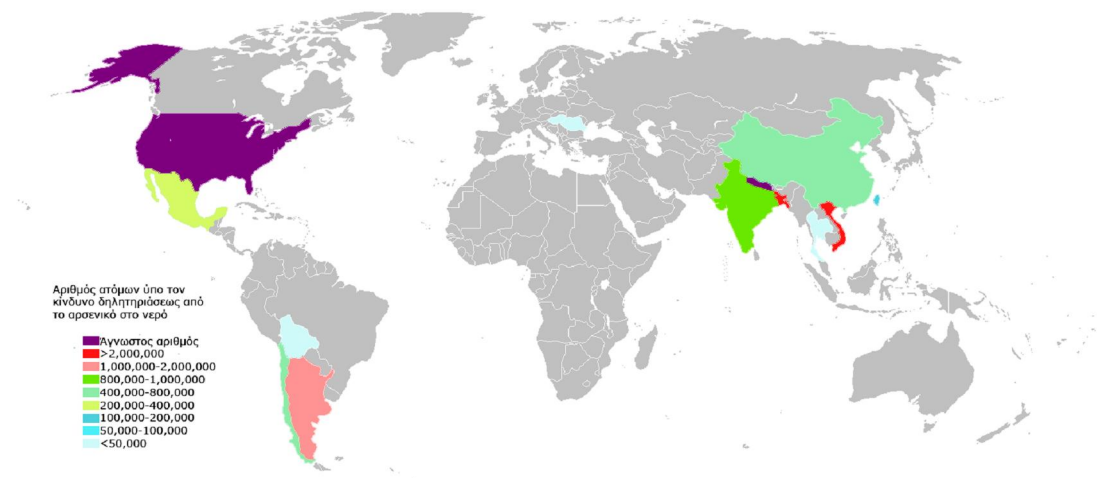
Σχήμα 2.1 : Πηγές διασποράς του αρσενικού σε εδάφη και υπόγεια νερά^[15].

Η παγκοσμίως αυξανόμενη τάση για άρδευση και ύδρευση από υπόγειες πηγές νερού, έχει οδηγήσει σε πανδημία δηλητηριάσεων από αρσενικό.

Στα σχήματα που ακολουθούν, παρουσιάζονται τρεις χάρτες με στοιχεία σχετικά για τη διασπορά και την προέλευση του αρσενικού.



Σχήμα 2.2 : Παραγωγή και εξαγωγή αρσενικού^[79]

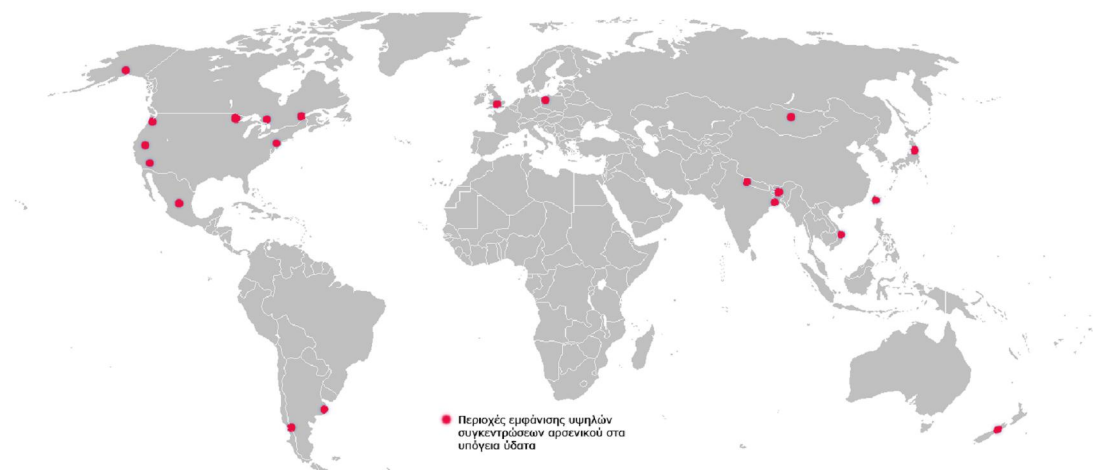


Σχήμα 2.3 : Συγκριτική κλίμακα περιοχών υψηλού κινδύνου δηλητηριάσεων από αρσενικό, βάση του αριθμού των ατόμων υπό τον κίνδυνο^[79]

Χαρακτηριστικό παράδειγμα της χρόνιας έκθεσης σε αρσενικό και των συνεπειών της, είναι η άντληση πόσιμου νερού από ρυπασμένα πηγάδια της κοιλάδας του ποταμού Γάγγη στην Ινδία.

Σε ένα από τα πιο πολυάνθρωπα και πυκνοκατοικημένα σημεία του πλανήτη πολλοί έχουν χάσει τη ζωή τους, δεκάδες χιλιάδες έχουν εμφανίσει δερματοπάθειες, καρκίνους και άλλα συμπτώματα και ακόμη περισσότεροι βρίσκονται εκτεθειμένοι απέναντι στον κίνδυνο. Τα υψηλά επίπεδα του αρσενικού στα υπόγεια νερά μελετήθηκαν με σκοπό να περιοριστούν σε μια περιοχή γύρω από το δέλτα του ποταμού, συγκεκριμένα στο Μπανγκλαντές. Νέα στοιχεία όμως, επέδειξαν ότι το αρσενικό έχει εισβάλει στην κοιλάδα του Γάγγη έως και τους πρόποδες της οροσειράς των Ιμαλαΐων, περιοχή που κατοικούν μισό δισεκατομμύριο άνθρωποι. Φαίνεται πως το αρσενικό είναι πολύ πιο διεσπαρμένο από ότι είχε προηγουμένως υποτεθεί. Αυτό έθεσε νέα πρότυπα για την ποιότητα του νερού.

Στο Μπανγκλαντές, όπως και σε περιοχές των δυτικών ΗΠΑ, περιέχονται επικίνδυνα υψηλά επίπεδα αρσενικού στα υπόγεια νερά, ενώ σε άλλες περιοχές, όπως οι ανατολικές ΗΠΑ, το επίπεδο είναι εξαιρετικά χαμηλό.



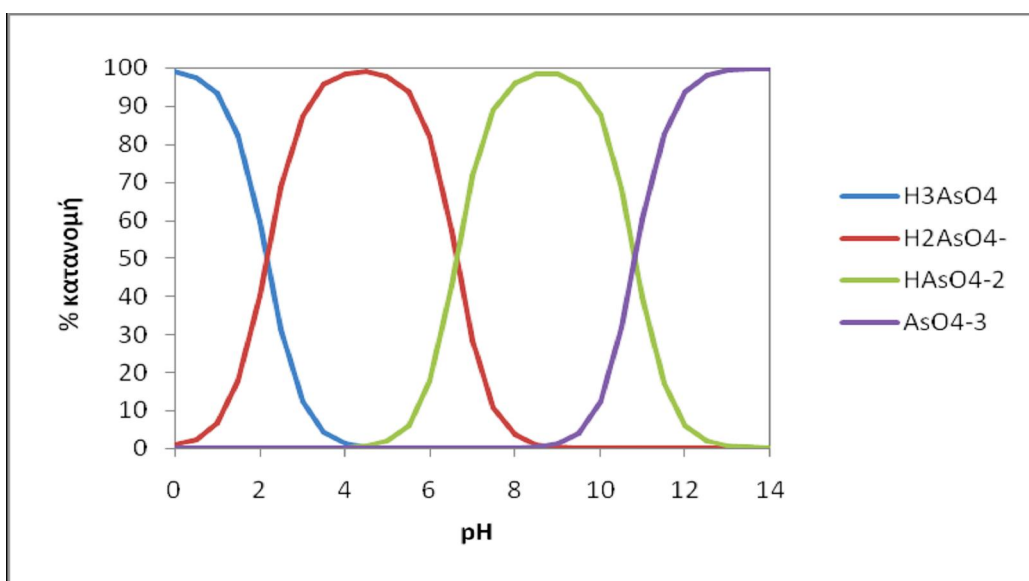
Σχήμα 2.4 : Περιοχές εμφάνισης αρσενικού λόγω της φυσικής γεωχημικής του διασποράς^[79]

Σε διάφορα μέρη του κόσμου έχει ανιχνευτεί στο νερό αρσενικό σε περιεκτικότητα κατά πολύ μεγαλύτερη της τιμής του ορίου που θέτει ο WHO(1993)^[37] για το πόσιμο νερό (10 $\mu\text{g/l}$). Γενικά οι συγκεντρώσεις του αρσενικού στο νερό μπορεί να κυμαίνονται από τιμές μικρότερες των 0.5 $\mu\text{g/l}$ έως και μεγαλύτερες από 5000 $\mu\text{g/l}$. Σε χώρες όπως η Αργεντινή, το Μεξικό, η Χιλή, η Ουγγαρία, η Κίνα και η Ταϊβάν έχουν εντοπιστεί περιοχές με τέτοιες συγκεντρώσεις, ανεξάρτητα από τις σημαντικές διαφορές στον τύπο των υδατικών στρωμάτων, το βάθος και τις επικρατούσες οξειδοαναγωγικές συνθήκες. Μια ακόμα χαρακτηριστική περίπτωση αποτελεί η ρύπανση στα υπόγεια νερά στη περιοχή

Σαλαμάνκα της Ισπανίας, που προκλήθηκε από το αρσενικό των πετρωμάτων του υπεδάφους συνδυαστικά με μεταλλευτικά αποπλύματα που διέρρευσαν.

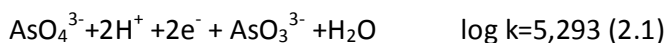
2.5 ΧΗΜΙΚΗ ΜΟΡΦΗ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ [18,41]

Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή του κεφαλαίου, το αρσενικό στα υπόγεια υδατικά περιβάλλοντα συναντάται στις δύο επικρατέστερες του μορφές, πεντασθενές και τρισθενές. Το πεντασθενές αρσενικό ή αρσενικό ιόν είναι παρών ως H_3AsO_4 και άλλες αποπρωτονιωμένες μορφές του, H_2AsO_4^- , HASO_4^{2-} , AsO_4^{3-} , ενώ το τρισθενές αρσενικό ή αρσενικό ιόν είναι παρών ως H_3AsO_3 και άλλες πρωτονιωμένες και αποπρωτονιωμένες μορφές, H_4AsO_3^+ , H_2AsO_3^+ , HASO_3^+ και AsO_3^+ (βλ.σχ.2.4 και 2.5).



Σχήμα 2.4 : Κατανομή χημικών μορφών πεντασθενούς αρσενικού στο διάλυμα συναρτήσει του pH. Υπολογισμοί με το λογισμικό Vminteq^[1] για $\text{As(V)} = 0.1 \text{ M}$ [48].

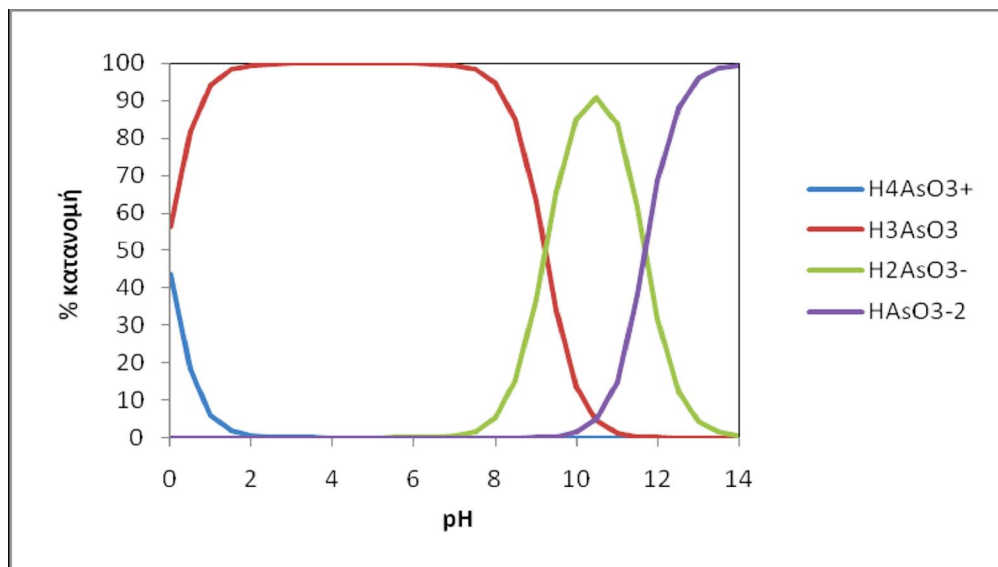
Κι ενώ το pH ευθύνεται για τον χαρακτηρισμό της χημικής μορφής του αρσενικού σε μια οξειδοαναγωγική φάση, το δυναμικό οξειδοαναγωγής (Eh) ευθύνεται για τον χαρακτηρισμό της χημικής μορφής του αρσενικού ανάμεσα στις δύο οξειδοαναγωγικές φάσεις



$$\log K = \log \left[\frac{[\text{AsO}_3^{3-}]}{[\text{AsO}_4^{3-}] + 2\text{pH} + 2\text{pE}} \right] \quad (2.2)$$

Από την εξίσωση (2.2) φαίνεται ότι σε χαμηλές τιμές pH και pE επικρατεί το As(III), ενώ σε υψηλές τιμές το As(V). Βέβαια σε κάθε περίπτωση, όλες οι μετατροπές των μορφών του στοιχείου υπόκεινται στην κινητική των αντιδράσεων.

Το πεντασθενές αρσενικό As(V) αποτελεί την επικρατούσα χημική μορφή του σε αερόβιες συνθήκες, ενώ το τρισθενές As(III) σε αναερόβιες συνθήκες. Έχει καταγραφεί σε υδάτινα στρώματα (Mono lake, CA, USA) μετάβαση του As(V) σε As(III) κατά την μεταβολή της συγκέντρωσης σε οξυγόνο. Η δράση των χημικών μορφών του αρσενικού περιπλέκεται από την δέσμευση του As(V) σε οξείδια του μαγγανίου Mn, αλουμινίου Al και κυρίως σιδήρου Fe.



Σχήμα 2.5 : Κατανομή χημικών μορφών τρισθενούς αρσενικού στο διάλυμα συναρτήσει του pH. Υπολογισμοί με το λογισμικό VMinteq^[1] για $\text{As(III)} = 0.1 \text{ M}$

Η αναγωγή του Fe(III) σε Fe(II) συντελεί στη διαλυτοποίηση των σιδηροξειδίων και αποδεσμεύει As(V) , δίνοντας την δυνατότητα για περαιτέρω χημική-βιολογική αναγωγή. Η απελευθέρωση και αναγωγή του As που περιέχεται σε οξείδια του σιδήρου ενισχύεται από διάφορων ειδών βακτήρια. Ένα παράδειγμα είναι το βακτήριο *Desulfotomaculum auripigmentum* το οποίο αναπτύσσεται χρησιμοποιώντας το αρσενικό του σκοροδίτη. Η χημική μετατροπή του αρσενικού πραγματοποιείται από τη δράση μικροβίων, η δημιουργία όμως των ανηγμένων ιόντων (As(III)) δυσχεραίνει την αξιολόγηση της συμμετοχής κάθε διαδικασίας (χημικής ή βιολογικής) στο φυσικό περιβάλλον. Βακτηριακή αναγωγή As(V) σε As(III) έχει παρατηρηθεί σε αναερόβια ιζήματα. Χημική αναγωγή έχει παρατηρηθεί υπό την δράση θειούχων ενώσεων, βιοτικά ή αβιοτικά παραγόμενων, που οδηγούν στο σχηματισμό μεταλλικών ενώσεων όπως η κίτρινη σανδαράχη (As_2S_3).

2.6 ΑΝΑΓΚΑΙΟΤΗΤΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΗΣ ΧΗΜΙΚΗΣ ΜΟΡΦΗΣ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ ΣΕ ΡΥΠΑΣΜΕΝΑ ΕΔΑΦΗ ^[43,61]

Όπως προαναφέρθηκε, ως συνέπεια της χρήσεως φυτοφαρμάκων, κυρίως παρασιτοκτόνα και ζιζανιοκτόνα, είναι σύνηθες το αρσενικό να εμφανίζεται στο έδαφος αγροτικών περιοχών. Επιπλέον, στην επιδείνωση της ρύπανσης συμβάλει η άρδευση υπόγειων υδάτων με υψηλές συγκεντρώσεις αρσενικού από φυσικά αίτια, διότι επηρεάζει περιοχές μεγάλης έκτασης. Ως άλλη πηγή αρσενικού συμβάλουν τα

βιομηχανικά και μεταλλουργικά απόβλητα. Στο έδαφος το αρσενικό βρίσκεται σχεδόν ολοκληρωτικά σε ανόργανες φάσεις. Από τις οργανικές ενώσεις του αρσενικού, οι μεθυλιωμένες ενώσεις MMA (monomethylarsonate) και DMA (dimethylarsinate), καθότι προϊόντα οξειδοαναγωγής μικροοργανισμών ανιχνεύονται συχνά, αλλά συνήθως από-μεθυλιώνονται σε ανόργανες ενώσεις. Ο χημικός τύπος του

αρσενικού ορίζει και την κινητικότητα του. Το τρισθενές αρσενικό As(III) αποτελεί την πιο κινητική μορφή του αρσενικού στο έδαφος. Κατά συνέπεια η γνώση των χημικών μορφών του αρσενικού αποτελεί εργαλείο για την αξιολόγηση της περαιτέρω κινητικότητας του στην υδατική φάση σε ισορροπία με το χώμα ή τα ιζήματα. Ο καθορισμός της χημικής μορφής του αρσενικού είναι μέγιστης σημασίας διότι η τοξική του δράση διαφοροποιείται δραματικά περνώντας από την οργανική στην ανόργανη φάση. Σήμερα πραγματοποιείται σημαντική έρευνα για την ακριβή περιγραφή της τοξικής του δράσης καθώς και για πιο αποτελεσματικές θεραπείες των συνεπειών της. Η ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων που θα επιτρέπουν τον χημικό χαρακτηρισμό του αρσενικού κρίνεται απαραίτητη διότι ο συνολικός προσδιορισμός της συγκέντρωσης του συχνά δεν αποτελεί κριτήριο αξιολόγησης της τοξικότητας, των περιβαλλοντικών επιπτώσεων και των επιδράσεων της έκθεσης σε αυτό. Η εκχύλιση των χημικών ενώσεων του As αποτελεί κρίσιμο κεφάλαιο στην μελέτη του χημικού του χαρακτήρα και ειδικά στην περίπτωση πολύπλοκης μήτρας όπου απαιτείται μεγάλη ανάκτηση και διατήρηση της φύσης της μήτρας. Στην περίπτωση της μέτρησης του αρσενικού στο έδαφος υπάρχουν πολλά εναλλακτικά μέσα εκχύλισης ανάλογα τις συνθήκες. Μια επιτυχημένη μέθοδος εξαγωγής του αρσενικού από βιολογικές μήτρες είναι η χρήση μικροκυμάτων χαμηλής ισχύος. Για τον υπολογισμό της περιεκτικότητας του αρσενικού των δειγμάτων ακόμα και σε ελάχιστες συγκεντρώσεις εφαρμόζονται οι μέθοδοι της υγρής χρωματογραφίας, της παραγωγής υβριδίων, της φασματομετρίας ατομικής απορρόφησης, της φασματομετρίας ατομικής εκπομπής, του ατομικού φθορισμού και της φασματομετρίας πλάσματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΙ ΣΤΑ ΕΔΑΦΗ-ΣΤΕΛΕΧΗ ΜΕ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑ ΟΞΕΙΔΩΣΗΣ Η ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ

3.1 ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ^[78,80]

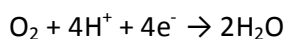
Το κύτταρο αποτελεί τη θεμελιώδη δομική και λειτουργική μονάδα όλων των οργανισμών. Με κριτήριο την πολυπλοκότητα της κατασκευής του και κυρίως την ύπαρξη ή όχι μεμβράνης που περιέχει το γενετικό του υλικό διακρίνεται σε προκαρυωτικό και ευκαρυωτικό. Η δομή των ευκαρυωτικών κυττάρων είναι πολυπλοκότερη, καθώς η μεμβράνη που περιβάλλει το γενετικό υλικό σχηματίζει μαζί με αυτό τον πυρήνα του κυττάρου. Αντίθετα, στα προκαρυωτικά κύτταρα που είναι απλούστερα, το γενετικό υλικό δεν περιβάλλεται από μεμβράνη και συνεπώς δεν υπάρχει πυρήνας. Επομένως ένα ευκαρυωτικό κύτταρο αποτελείται από: μια εξωτερική μεμβράνη, την κυτταρική ή πλασματική μεμβράνη, και το κυτταρόπλασμα, μια παχύρρευστη ύλη που μέσα της σχηματίζεται το ενδοπλασματικό δίκτυο. Μέσα στο κυτταρόπλασμα υπάρχουν και άλλα οργανίδια: τα μιτοχόνδρια, τα πλαστίδια στα φυτικά μόνο κύτταρα, τα στοιχεία του Golgi, τα λυσοσώματα, τα χυμοτόπια, το κεντρόσωμα στα ζωικά μόνο κύτταρα και τέλος ο πυρήνας που είναι το πιο σημαντικό οργανίδιο και αποτελείται από τον πυρηνίσκο και την πυρηνική μεμβράνη.

Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι προκαρυωτικοί οργανισμοί, οι οποίοι μπορούν να πάρουν σχήμα ράβδου (bacillus), σφαιρικό (coccus), ή σπειροειδές (vibrios, spirilla, spirochetes). Αυτά μπορούν να αναπτυχθούν σαν μεμονωμένα κύτταρα ή σε ομάδες περιλαμβάνοντας από δύο μέχρι μερικά εκατομμύρια κύτταρα. Τα περισσότερα βακτήρια έχουν μέγεθος από 0,5 – 3,0 μm και παρουσιάζουν χαρακτηριστικά όπως ένα μερικά άκαμπτο κυτταρικό τοίχωμα, κινητικότητα με την βοήθεια μαστιγοειδών απολήξεων, μονοκύτταρη φύση, και πολλαπλασιασμός με μίτωση στην οποία κάθε θυγατρικό κύτταρο είναι γενετικά πανομοιότυπο με το μητρικό.

Όπως προαναφέρθηκε τα βακτηριακά κύτταρα, σαν προκαρυωτικά, δεν περιλαμβάνουν πυρηνική κυτταρική μεμβράνη και οργανίδια. Δύο ακόμη χαρακτηριστικές διαφορές από τα ευκαρυωτικά είναι η παρουσία ενός ενιαίου τύπου πολυμερών ενώσεων στο κυτταρικό τους τοίχωμα και η απουσία πρωτεϊνικού ιστού συνδεδεμένο με το DNA. Τα βακτηριακά κύτταρα είναι περιβλημένα από το κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο διατηρεί το σχήμα και το περιεχόμενο του κυττάρου. Η κυτταρική μεμβράνη αποτελείται από πρωτεΐνες και φωσφολιπίδια τα οποία συναντώνται σε ένα λεπτό στρώμα περίπου 7 νανόμετρα πάχους στο εσωτερικό της επιφάνειας του κυτταρικού τοιχώματος. Αυτή παίζει καθοριστικό ρόλο στις λειτουργίες του βακτηρίου καθώς όχι μόνο το εξατομικεύει, αλλά ελέγχει την ποσότητα και την φύση των ουσιών που εισέρχονται και εξέρχονται από αυτό και τέλος συμμετέχει στην υποδοχή και ερμηνεία των μηνυμάτων από το περιβάλλον του.

Οι πτυχές της κυτταρικής μεμβράνης ονομάζονται μεσοσώματα και βοηθούν στο να αυξάνεται η επιφάνειά της έτσι ώστε να αυξάνεται η μεταφορά ουσιών διαμέσου της. Μια ακόμα λειτουργία είναι να δρα σαν θέση διαίρεσης του κυττάρου κατά τη διαδικασία της αναπαραγωγής. Τα βακτήρια μπορούν να διαχωριστούν σε δύο κύριες κατηγορίες, τα αυτότροφα και τα ετερότροφα. Τα αυτότροφα βακτήρια δεν εξαρτώνται από την παρουσία οργανικής ύλης για την ανάπτυξή τους, αναπτύσσονται σε ένα εντελώς ανόργανο μέσο και χρησιμοποιούν διοξείδιο του άνθρακα ή άλλα ανθρακικά ιόντα σαν πηγή άνθρακα. Ξεκινώντας από απλά ανόργανα υλικά, τα αυτότροφα βακτήρια συνθέτουν όλες τις περίπλοκες πρωτεΐνες, ένζυμα και άλλες ουσίες που είναι απαραίτητες για τη διαβίωσή τους. Τα ετερότροφα βακτήρια εξαρτώνται από την οργανική ύλη τόσο για πηγή ενέργειας, όσο και για κατασκευή βιομάζας και είναι περισσότερο συνηθισμένα από τα αυτότροφα

Ένας άλλος τρόπος ταξινόμησης των βακτηρίων βασίζεται στην απαίτησή τους σε μοριακό οξυγόνο. Τα αερόβια βακτήρια απαιτούν μοριακό οξυγόνο σαν δέκτη ηλεκτρονίων:



Τα αναερόβια βακτήρια δρουν μόνο κάτω από την πλήρη απουσία του μοριακού οξυγόνου και έτσι ο τελικός δέκτης ηλεκτρονίων είναι κάποιο άλλο οξειδωτικό μέσο όπως SO_4^{-2} , NO^{-3} , HCO^{-3} ή Fe^{+3} .

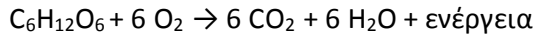
Μια ειδική κατηγορία βακτηρίων είναι τα προαιρετικά αναερόβια (facultative anaerobes), τα οποία έχουν την δυνατότητα να χρησιμοποιούν ελεύθερο οξυγόνο όταν είναι διαθέσιμο, ή να χρησιμοποιούν άλλες ουσίες σαν δέκτες ηλεκτρονίων, όταν το οξυγόνο απουσιάζει.

3.2 ΒΑΚΤΗΡΙΑΚΗ ΑΝΑΠΝΟΗ-ΕΝΖΥΜΑ^[3,56,78]

Τα βακτήρια αποκομίζουν την ενέργεια και τις πρώτες ύλες που χρειάζονται για τις διαδικασίες μεταβολισμού και αναπαραγωγής με την πραγματοποίηση χημικών αντιδράσεων. Ο μεταβολισμός των βακτηρίων πραγματοποιείται με βιοχημικές διαδικασίες κατά τις οποίες διάφορες χημικές ουσίες ενσωματώνονται στα βακτηριακά κύτταρα. Ο μεταβολισμός χωρίζεται στον καταβολισμό κατά τον οποίο σπάνε τα μακρομόρια σε απλούστερες μονομερείς ενώσεις, παρέχοντας ενέργεια, και στον αναβολισμό, κατά τον οποίο συντίθενται από μικρά μόρια, μακρομοριακές ενώσεις.

Μια διάκριση μεταξύ των βακτηρίων έχει να κάνει με τον τελικό δέκτη ηλεκτρονίων στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων, η οποία περιλαμβάνεται στη διαδικασία με την οποία το κύτταρο αποκτά ενέργεια οξειδώνοντας την τροφή του. Αν ο τελικός δέκτης ηλεκτρονίων είναι το μοριακό οξυγόνο η διαδικασία αυτή ονομάζεται αερόβια ανάπτυξη, ενώ αν είναι κάποιο άλλο οξειδωτικό μέσο ονομάζεται αναερόβια ανάπτυξη.

Σε κάθε βακτήριο οι απλές ουσίες, που προέρχονται από τη διάσπαση των μεγαλομοριακών ενώσεων μπορούν να οξειδωθούν, αποδίδοντας σταδιακά χημική ενέργεια μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται κυτταρική αναπνοή. Το κύτταρο επομένως παράγει ενέργεια διασπώντας υδατάνθρακες σε γλυκόζη. Σε αερόβιες συνθήκες η γλυκόζη σπάει και καίγεται δίνοντας διοξείδιο του άνθρακα και νερό, ελευθερώνοντας παράλληλα ενέργεια, σύμφωνα με την εξίσωση :



Η οξείδωση αυτή της γλυκόζης ή και άλλων ουσιών ονομάζεται αναπνοή και χωρίζεται σε τρία στάδια :

- Στο στάδιο της γλυκόλυσης όπου το μόριο της γλυκόζης χωρίζεται σε δύο μόρια πυροσταφυλικού οξέως. Σ' αυτό το στάδιο δεν χρησιμοποιείται οξυγόνο δηλαδή πρόκειται για την αναερόβια φάση της αναπνοής.
- Εάν το βακτήριο έχει στη διάθεσή του οξυγόνο, προχωρεί στην αερόβια φάση της αναπνοής, διασπώντας το πυροσταφυλικό οξύ σε διοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο. Εάν όμως δεν έχει στη διάθεσή του οξυγόνο, ολοκληρώνει την αναερόβια αναπνοή και μετατρέπει το πυροσταφυλικό οξύ σε αιθυλική αλκοόλη (φυτικοί οργανισμοί) ή σε γαλακτικό οξύ (ζωικοί οργανισμοί).
- Η αερόβια αναπνοή χωρίζεται σε δύο τμήματα: στον κύκλο του Krebs και στην οξειδωτική φωσφολυρίωση. Στον κύκλο του Krebs το πυροσταφυλικό οξύ μετασχηματίζεται σε μια σειρά πολύπλοκων χημικών αντιδράσεων, παράγοντας διοξείδιο του άνθρακα και ελευθερώνοντας ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρόνια αυτά καταλήγουν στο οξυγόνο που χρειάζεται για την αναπνοή. Έτσι κάθε άτομο οξυγόνου δέχεται δύο ηλεκτρόνια και ενώνεται με δύο ιόντα υδρογόνου για να σχηματίσει νερό. Οι αντιδράσεις της οξειδωτικής φωσφολυρίωσης γίνονται στα μιτοχόνδρια και κατά την πραγματοποίησή τους γίνεται με την απελευθέρωση ενέργειας.

Οι χημικές αντιδράσεις του μεταβολισμού δεν θα μπορούσαν να πραγματοποιηθούν χωρίς τα ένζυμα. Τα ένζυμα δρουν ως καταλύτες, επιταχύνοντας τις διάφορες χημικές αντιδράσεις, ενώ μικρές ποσότητές τους αρκούν να δράσουν. Αυτά παράγονται από τα κύτταρα και είναι μεγάλες οργανικές ενώσεις. Κάθε ένζυμο είτε είναι μια πρωτεΐνη είτε αποτελείται από δύο κομμάτια όπου το μεγαλύτερο (αποένζυμο) είναι πρωτεΐνη και το μικρότερο (συνένζυμο) μια άλλη χημική ένωση.

Ενεργό κέντρο του ενζύμου είναι το μέρος που μπορεί να το υπόστρωμα ή τα υποστρώματά του για να γίνει η χημική αντίδραση. Ακριβώς επειδή το ενεργό κέντρο δεν είναι το ίδιο για κάθε υπόστρωμα έχουμε τη μεγάλη εξειδίκευση των ενζύμων και έτσι κάθε είδος ενζύμου καταλύει ορισμένο είδος χημικής αντιδράσεως. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το κυτόχρωμα τύπου c (c-type cytochrome) το οποίο θεωρείται ότι ευθύνεται για την κατάλυση της αναγωγής του Fe(III) και του Mn(IV).

Όπως προαναφέρθηκε οι πρωτεΐνες αποτελούν πολύ σημαντικές χημικές ενώσεις αφού είναι από τη μια μεριά δομικά υλικά του κυττάρου και από την άλλη σαν ένζυμα ελέγχουν τη διεξαγωγή των χημικών αντιδράσεων. Κάθε πρωτεΐνη χαρακτηρίζεται από τον αριθμό των αμινοξέων που την αποτελούν, από το είδος τους και από τη σειρά διαδοχής με την οποία έχουν ενωθεί.

3.3 ΚΙΝΗΤΙΚΗ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ^[56,78, 80]

Το μέγεθος του πληθυσμού των βακτηρίων σε συνάρτηση με τον χρόνο παρουσιάζεται στην εικόνα 3.2, η οποία αναπαριστά την καμπύλη ανάπτυξης του πληθυσμού μιας καλλιέργειας βακτηρίων. Η καμπύλη ανάπτυξης αποτελείται από τέσσερις περιοχές. Η πρώτη περιοχή χαρακτηρίζεται από μικρό ποσοστό παραγωγής βακτηρίων και ονομάζεται φάση επώασης (lag phase). Η φάση επώασης παρατηρείται γιατί αρχικά τα βακτήρια εγκλιματίζονται στο νέο μέσο και προετοιμάζονται να αναπαραχθούν. Την φάση επώασης ακολουθεί μια περίοδος πολύ γρήγορης ανάπτυξης των βακτηρίων που ονομάζεται λογαριθμική φάση (log phase) ή εκθετική φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων διπλασιάζεται κάτω από συγκεκριμένο χρόνο που ονομάζεται περίοδος αναγέννησης των κυττάρων (generation time). Η συμπεριφορά αυτή του πληθυσμού μπορεί να περιγραφεί από ένα μαθηματικό μοντέλο, κατά το οποίο το ποσοστό ανάπτυξης είναι ανάλογο με τον αριθμό των εμφανιζόμενων βακτηρίων και δεν υπάρχουν περιοριστικοί παράγοντες όπως θάνατος ή έλλειψη τροφής:

$$dN/dt = kN \text{ ή } N = N_0 e^{kt}$$

όπου N είναι ο πληθυσμός την χρονική στιγμή t ενώ N_0 είναι ο πληθυσμός την χρονική στιγμή $t = 0$. Έτσι, ένας ακόμα τρόπος να περιγράψουμε την ανάπτυξη του πληθυσμού κατά τη λογαριθμική φάση, είναι να λέμε ότι κατά τη φάση αυτή, ο λογάριθμος του πληθυσμού των βακτηρίων αποτελεί γραμμική σχέση με τον χρόνο. Μετά το πέρας της λογαριθμικής φάσης ακολουθεί η σταθερή φάση (stationary phase) η οποία αρχίζει όταν ένας περιοριστικός παράγοντας εμφανιστεί. Οι συνήθεις περιοριστικοί παράγοντες είναι η έλλειψη ενός απαραίτητου θρεπτικού, ο σχηματισμός ενός τοξικού υλικού και η έλλειψη οξυγόνου. Κατά τη διάρκεια της φάσης αυτής ο αριθμός των βακτηρίων παραμένει σχεδόν σταθερός. Μετά τη σταθερή φάση, τα βακτήρια αρχίζουν και πεθαίνουν γρηγορότερα από ότι παρήχθησαν και ο πληθυσμός μπαίνει στη φάση θανάτου (death phase).

Ο σωστός σχεδιασμός των βιολογικών διεργασιών απαιτεί την γνώση της ισορροπίας και της κινητικής των ενεργών βιοχημικών δράσεων. Η μελέτη της κινητικής των είναι πλέον περίπλοκη, ιδιαίτερα όταν περισσότερες από μια οργανικές ενώσεις συνλειτουργούν ως θρεπτικά και όταν περισσότεροι του ενός τύποι μικροοργανισμών συνεργούν στην βιοαποικοδόμησή τους. Είναι αναγκαία λοιπόν η παραδοχή σημαντικών απλουστεύσεων για να γίνει η διαμόρφωση ενός ποσοτικού μαθηματικού ομοιώματος που θα περιγράψει την ταχύτητα ανάπτυξης της μικροβιακής βιομάζας.

Ο ρυθμός με τον οποίο διαιρούνται τα βακτήρια ονομάζεται ειδική ταχύτητα ανάπτυξης (μ) και μετράται σαν την παραγωγή βακτηρίων ανά μονάδα χρόνου ή το αντίστροφο του

χρόνου διπλασιασμού. Ο όρος αυτός αποτελεί πρωταρχικό σημείο για την μαθηματική διατύπωση της κινητικής της ανάπτυξης των βακτηρίων. Χωρίς να συνυπολογίσουμε τον θάνατό τους, τα βακτηριακά κύτταρα αυξάνονται με εκθετικό ρυθμό που ορίζεται ως εξής:

$$dX/dt = \mu X \text{ όπου}$$

X = η συγκέντρωση της βιομάζας, σε μονάδες όπως μάζα /μονάδα όγκου

μ = η ειδική ταχύτητα ανάπτυξης (χρόνος⁻¹)

t = ο χρόνος

Έτσι, σύμφωνα με το ομοίωμα του Monod, έχει διατυπωθεί η σχέση μεταξύ της ειδικής ταχύτητας ανάπτυξης της βιομάζας και της συγκέντρωσης του θρεπτικού και έχει την παρακάτω μορφή:

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S) \text{ όπου}$$

μ = η ειδική ταχύτητα ανάπτυξης

μ_{\max} = η μέγιστη ειδική ταχύτητα ανάπτυξης

S = η συγκέντρωση του θρεπτικού στο διάλυμα K_s = σταθερά

Το ομοίωμα του Monod υποδηλώνει ότι συντελείται κάποια ανάπτυξη της βιομάζας ακόμα και σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις θρεπτικών συστατικών, πράγμα όχι μόνο μη αποδεκτό αλλά και αναληθές. Παρ' όλα αυτά η σχέση του Monod αντιπροσωπεύει μια αποδεκτή παραδοχή για την περιγραφή της κινητικής ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Μια άλλη έκφραση της σχέσης είναι η παρακάτω:

$$dX / dt = \mu_{\max} S X / (K_s + S)$$

3.3 ΕΝΕΡΓΕΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΩΝ ^[21, 78, 80]

Κάθε ζωντανός οργανισμός χρειάζεται ενέργεια και άνθρακα για την ανάπτυξη και την συντήρηση του. Οι πηγές από τις οποίες οι μικροοργανισμοί παίρνουν ενέργεια και άνθρακα για την ανάπτυξη των κυττάρων αποτελούν την βάση για την κατάταξη τους όπως αυτή φαίνεται στον πίνακα 2.1.

Πίνακας 2.1 : Κατηγορίες μικροοργανισμών

Κατηγορίες μικροοργανισμών	Πηγή ενέργειας	Πηγή άνθρακα (υπόστρωμα)
Αυτότροφοι		
Φωτοαυτοτροφικός	Φως	Διοξείδιο του άνθρακα
Χημοαυτοτροφικός	Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις ανόργανων μειγμάτων	Διοξείδιο του άνθρακα
Ετερότροφοι	Οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις οργανικών μειγμάτων	Οργανικός άνθρακας

3.4 ΜΗΧΑΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ^[3]

Η βιολογική διαχείριση συνίσταται στην ανάπτυξη και συντήρηση ενός πληθυσμού μικροβίων (βιομάζα) που έχει στόχο τον μεταβολισμό του αποβλήτου. Ένας αριθμός

παραγόντων επηρεάζει την συχνότητα με την οποία γίνεται ο μεταβολισμός και η βιοαποικοδόμηση. Μετά από έρευνες για τους παράγοντες καθορίζονται οι κατάλληλες συνθήκες οι οποίες εφαρμόζονται και ελέγχονται για να εξασφαλιστεί η αποτελεσματική ανάπτυξη της βιομάζας. Εάν συμβεί αυτό, τότε η συχνότητα βιοαποικοδόμησης μπορεί να είναι τέτοια ώστε το κόστος της βιολογικής επεξεργασίας να είναι συγκρίσιμο με αυτό των αντίστοιχων φυσικών και χημικών μεθόδων επεξεργασίας. Αυτοί οι παράγοντες είναι:

- Οι δέκτες ηλεκτρονίων
- Η θερμοκρασία
- Το pH
- Εναλλακτικές πηγές άνθρακα
- Ο σχεδιασμός του αντιδραστήρα
- Η ικανότητα των θρεπτικών
- Τα ολικά διαλυμένα στερεά
- Η υγρασία

Η υγρασία είναι κρίσιμη παράμετρος σε σχέση με τους μικροοργανισμούς καθώς επηρεάζει την κινητικότητα τους στο μέσο ανάπτυξης για την προσέγγιση του υποστρώματος, ή στα μη κινητικά είδη την σταθερότητα της θέσης τους σε σχέση με το

υπόστρωμα. Τα περισσότερα είδη αυξάνουν θεαματικά το ρυθμό ανάπτυξης τους με την αύξηση της θερμοκρασίας μέχρι κάποιο βέλτιστο σημείο. Η υπέρβαση αυτού του σημείου δρα ανασταλτικά στην ανάπτυξη και σημαντική αύξηση της θερμοκρασίας έχει ως αποτέλεσμα το θάνατο της βιομάζας. Οι χαμηλές θερμοκρασίες αντίθετα, δεν φαίνεται να είναι θανατηφόρες για τους μικροοργανισμούς, οι οποίοι περνούν σε φάση νάρκης (dormant phase) και η ενζυματική δράση μειώνεται. Η ικανοποίηση ανάπτυξη και η αποτελεσματική ενζυματική δράση των μικροοργανισμών συμβαίνει σε μια συγκεκριμένη περιοχή pH για κάθε είδος. Τα περισσότερα βακτήρια δρουν και αναπτύσσονται κοντά στην ουδέτερη περιοχή (pH 6-8). Επιπλέον, όταν τα ολικά διαλυμένα στερεά στο μέσο ανάπτυξης ξεπερνούν τα 40 g/L, μπορεί να λάβει χώρα ωσμωτική ρήξη της κυτταρικής μεμβράνης.

Η μάζα του κυττάρου περιέχει άνθρακα και έναν αριθμό άλλων στοιχείων. Για την διαδικασία του μεταβολισμού χρειάζονται αυτά τα στοιχεία σαν θρεπτικά και ο οργανικός άνθρακας σαν ενεργειακό υπόστρωμα. Ο φώσφορος και το άζωτο χαρακτηρίζονται ως μακρο-θρεπτικά διότι για την σύνθεση του κυτταρικού ιστού αυτά είναι απαραίτητα σε μεγάλες ποσότητες. Συνήθως δεν υπάρχουν στις απαραίτητες ποσότητες στα επικίνδυνα απόβλητα γ' αυτό και προστίθενται με την μορφή αμμωνίας και ορθοφωσφορικών αλάτων.

Ο εμπειρικός τύπος για το οργανικό μέρος του πρωτοπλάσματος του βακτηρίου είναι $C_{60}H_{87}O_{23}N_{12}P$, αποτελεί την βάση από την οποία προκύπτουν θεωρητικά οι ποσότητες αζώτου και φωσφόρου που απαιτούνται για την σύνθεση της κυτταρικής μάζας από ένα απόβλητο όπως φαίνεται στον πίνακα 2.2.

Πίνακας 2.2 : Σύνθεση κυτταρικής μάζας από απόβλητο. Αναλογία συστατικών με βάση τον εμπειρικό τύπο $C_{60}H_{87}O_{23}N_{12}P$

	Αριθμός ατόμων	Ατομικό βάρος	Βάρος συστατικού εμπειρικού τύπου	Αναλογία
Ολικός οργανικός άνθρακας	60	12	720	100
Άζωτο	12	14	168	23
Φώσφορος	1	31	31	4,3

Η αναλογία των συστατικών της πρώτης στήλης για τις αναβολικές αντιδράσεις είναι 100:23:4.3. Οι μηχανικοί περιβάλλοντος, βασιζόμενοι στην εμπειρία, χρησιμοποιούν μια αναλογία 20:5:1. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι αυτή η αναλογία δεν ανταποκρίνεται στην ολική ποσότητα του οργανικού άνθρακα που μετράται στο απόβλητο καθώς δεν χρησιμοποιείται όλη η ποσότητα του άνθρακα από τα βακτήρια για να δημιουργηθούν καινούρια κύτταρα. Το μισό, αν όχι περισσότερο, του άνθρακα που έχει χρησιμοποιηθεί

κατά τη διαδικασία του μεταβολισμού μπορεί να οξειδωθεί λόγω των μεταβολισμών σε CO₂ χωρίς να χρειάζονται τα θρεπτικά.

Αντί των θεωρητικών υπολογισμών που απαιτούνται ή την χρήση του απλού μνημονικού κανόνα, η ανάγκη των θρεπτικών προσδιορίζεται από εργαστηριακά τεστ. Οι ειδικές απαιτήσεις εξαρτώνται κατά πολύ από το είδος του αποβλήτου, την επάρκεια των θρεπτικών στο συγκεκριμένο απόβλητο, την απόδοση της βιομάζας και τον σχεδιασμό του συστήματος αποκατάστασης. Ο μνημονικός κανόνας αποτελεί την βάση για τον υπολογισμό των περιοχών που πρέπει να εξεταστούν ή για την διεξαγωγή οικονομικών αποτιμήσεων.

Τα μικρο-θρεπτικά που χρειάζονται για την υποστήριξη του μεταβολισμού είναι το θείο (S), το κάλιο (K), το ασβέστιο (Ca), το μαγνήσιο (Mg), ο σίδηρος (Fe) και άλλα. Για να εξασφαλίσουμε την φυσική μετακίνηση των ιόντων από την μεμβράνη του κυτταρικού τοιχώματος στο κυτταρόπλασμα τα μικρο-θρεπτικά θα πρέπει να έχουν ελάχιστη συγκέντρωση στο νερό από 1-100 mg/L. Ο μεταβολισμός απαιτεί επίσης την παρουσία ιχνοστοιχείων όπως το νικέλιο (Ni), ο χαλκός (Cu), ο ψευδάργυρος (Zn), διάφορες βιταμίνες και άλλα σε πολύ μικρές ποσότητες. Η συγκέντρωση αυτών των θρεπτικών που απαιτούνται σε ίχνη μπορεί να είναι μικρότερη από 1 mg/L. Στις περισσότερες περιπτώσεις όλα τα μικρο-θρεπτικά που αναφέρονται πιο πάνω προσλαμβάνονται από τα βακτήρια από το φυσικό περιβάλλον τους και δεν χρειάζεται να προστεθούν, ειδικά στην περίπτωση όπου το απόβλητο είναι το ρυπασμένο έδαφος ή υπόγεια νερά που έχουν έρθει σε επαφή με τα εδάφη. Ωστόσο, η διαδικασία καθαρισμού των νερών των υπονόμων σε βιομηχανική κλίμακα μπορεί να απαιτεί την προσθήκη θρεπτικών.

3.5 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ ΑΠΟ ΕΔΑΦΗ ΚΑΙ ΙΖΗΜΑΤΑ ^[29,30,31,32,33,34,35, 38, 60,67]

Η κινητικότητα του αρσενικού σε εδάφη και ιζήματα και η μεταφορά αυτού στους υδροφόρους ορίζοντες αποτελεί ένα περιβαλλοντικό πρόβλημα υψίστης σημασίας για την υγεία εκατομμυρίων ανθρώπων παγκοσμίως. Αρκετές θεωρίες έχουν προταθεί που να εξηγούν την κινητοποίηση του αρσενικού και αφορούν στην οξείδωση των θειούχων ορυκτών που περιέχουν αρσενικό, την απελευθέρωση As(V) από την αναγωγή οξειδίων του σιδήρου από καθαρή οργανική ύλη, την αναγωγή οξειδίων του σιδήρου από ανόργανη και οργανική ύλη του εδάφους και την ανταλλαγή του προσροφημένου As(V) με φωσφορικά λιπάσματα.

Όλες οι παραπάνω διαδικασίες οξείδωσης και αναγωγής δεν πραγματοποιούνται μόνο με χημικό τρόπο, αλλά με την καταλυτική συμβολή διαφόρων ειδών βακτηρίων. Η συμβολή αυτή των μικροοργανισμών στην βιοχημεία του αρσενικού στο περιβάλλον είναι εκτενής και λεπτομερειακή, καθώς περιλαμβάνει ποικίλες επιδράσεις στα κυρίαρχα χημικά είδη όπως οξείδωση, αναγωγή, μεθυλίωση και από-μεθυλίωση. Από οικολογικής απόψεως σημαντικοί θεωρούνται οι μικροβιακοί μετασχηματισμοί της οξειδωτικής κατάστασης του αρσενικού από τρισθενές σε πεντασθενές και το αντίθετο, λαμβάνοντας υπ' όψιν τους μικροοργανισμούς που εξοικονομούν ενέργεια για την

ανάπτυξή τους από αυτές τις οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις. Η τοξικότητα του As έναντι των μικροοργανισμών οφείλεται στη χημική συνάφεια που παρουσιάζει με το φώσφορο και την ικανότητα του τρισθενούς αρσενικού να σχηματίζει ομοιοπολικούς δεσμούς με το θείο και με τον τρόπο αυτό να εμποδίζει την οξειδωτική φωσφορυλίωση και να παρεμβάλλεται στη σύνθεση των πρωτεϊνών.

Οι μηχανισμοί που αφορούν στην βιολογική απομάκρυνση του αρσενικού από στερεές φάσεις όπως είναι τα εδάφη και τα ιζήματα είναι δύο:

- Άμεση αναγωγή του πεντασθενούς αρσενικού από τη στερεά φάση και απελευθέρωση του ως τρισθενές αρσενικό στην υδατική φάση.
- Έμμεση αποδέσμευση του αρσενικού από τις ορυκτολογικές φάσεις στις οποίες μπορεί να περιέχεται, που είναι κυρίως τα κρυσταλλικά και άμορφα οξείδια του σιδήρου. Αυτό επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας μικροοργανισμούς οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιούν ως δέκτη ηλεκτρονίων τον τρισθενή σίδηρο κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους και, καθώς οξειδώνουν κάποιο οργανικό υπόστρωμα, ταυτόχρονα ανάγουν τον σίδηρο από Fe(III) σε Fe(II). Ο δισθενής σίδηρος διαλυτοποιείται και μεταβαίνει στην υδατική φάση και ταυτόχρονα αποδεσμεύεται το αρσενικό που βρίσκεται εγκλωβισμένο στους κόκκους του οξειδίου.

Η άμεση αναγωγή του As(V) σε κάθε περίπτωση, εξαρτάται σημαντικά από τον τρόπο με τον οποίο το αρσενικό έχει δεσμευτεί στα διάφορα ορυκτά του εδάφους. Για παράδειγμα, στα άμορφα οξείδια του σιδήρου όπου το αρσενικό δεσμεύεται με μηχανισμούς ρόφησης και συγκαταβύθισης, έχει διαπιστωθεί ότι το αρσενικό μπορεί να ανάγεται σε ένα ποσοστό από μικροοργανισμούς και να απελευθερώνεται στην υδατική φάση, χωρίς να πρέπει απαραίτητα να προηγηθεί διαλυτοποίηση του οξειδίου. Στα κρυσταλλικά οξείδια αντίθετα, το αρσενικό δεν φαίνεται να είναι βιο-διαθέσιμο, εκτός εάν προηγηθεί αναγωγική διάλυση του Fe(III) του οξειδίου.

Μελέτες σε ορισμένα είδη σιδηρο-αναγωγικών βακτηρίων έδειξαν ότι η ικανότητά τους να καταλύουν την αναγωγή του σιδήρου έχει ως αποτέλεσμα την αποδέσμευση του αρσενικού, αλλά όχι και την αναγωγή του. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό καθώς τα οξείδια του σιδήρου προσροφούν As(III) με την ίδια ή και μεγαλύτερη ισχύ ανάλογα με τις συνθήκες οξύτητας και την αναλογία As:Fe και επομένως η αναγωγή του As δεν εξασφαλίζει και την παραμονή του στην υδατική φάση. Το γεγονός αυτό καθιστά το ρόλο των μικροοργανισμών που μπορούν να ανάγουν το αρσενικό ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να απαιτείται ταυτόχρονη δράση σιδηρο-αναγωγικών και αρσενικο-αναγωγικών μικροοργανισμών, κάτι όχι εύκολο αν λάβει κανείς υπόψη τις διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης και δράσης των μικροοργανισμών μεταξύ τους. Η ιδανική περίπτωση θα ήταν η ύπαρξη ενός μικροοργανισμού που να μπορεί να ανάγει διαδοχικά τον Fe(III) και το As(V), κάτι που μπορεί να είναι περίπλοκο σύμφωνα με τη βιβλιογραφία. Για παράδειγμα, εντοπίστηκαν δύο είδη θειο-αναγωγικών βακτηρίων του γένους *Desulfonivibrio* και *Desulfomicrobium* τα οποία μπορούσαν ανάγουν υπό αναερόβιες συνθήκες το αρσενικό και τα θειικά ιόντα. Στο

είδος των *Desulfonibrio* απουσία θεικών ιόντων δεν ξεκινούσε η ανάπτυξη των βακτηρίων, πράγμα που σημαίνει ότι η αναγωγή των αρσενικικών ιόντων από τους μικροοργανισμούς αυτούς δεν σχετίζεται με την πρόσληψη ενέργειας για ανάπτυξη. Παρ' όλα αυτά, η παρουσία του αρσενικού στο μέσο ανάπτυξης ταυτόχρονα με τα θειικά ιόντα, οδήγησε σε αύξηση του ρυθμού ανάπτυξης σε σχέση με τις δοκιμές ανάπτυξης όπου δεν προστέθηκε αρσενικό.

Η ταυτόχρονη ανάπτυξη δύο διαφορετικών μικροοργανισμών είναι ευκολότερο να επιτευχθεί στην περίπτωση όπου οι ενδογενείς μικροοργανισμοί του εδάφους ή της στερεάς φάσης έχει βρεθεί ότι συνυπάρχουν, άρα είναι πιθανότερο να μπορούν να επιβιώσουν και να δράσουν ταυτόχρονα με προσθήκη κατάλληλων θρεπτικών. Στην περίπτωση όμως που πρέπει να γίνει προσθήκη αμιγών πληθυσμών (σε ιζήματα και εδάφη που δεν περιέχουν γηγενή βακτήρια κατάλληλα για την επιθυμητή διεργασία) ο συνδυασμός δύο μικροοργανισμών με διαφορετικά χαρακτηριστικά είναι δύσκολος και συχνά αδύνατος, εξαιτίας τόσο της ανταγωνιστικότητας για ανάπτυξη, όσο και της ανάγκης για διαφορετικές συνθήκες ανάπτυξης (αλατότητα του μέσου, θρεπτικά, θερμοκρασία κλπ.). Μέχρι σήμερα, έχουν αναφερθεί δύο είδη βακτηρίων που μπορούν να ανάγουν τον Fe(III) και το As(V), τα *Wolinella succinogenes* και *Sulfurospirillum barnesii* με τη διαφορά ότι, το αρσενικό ανάγεται, αφού προηγουμένως έχει απελευθερωθεί στην υδατική φάση ως αρσενικό ιόν, πράγμα που προϋποθέτει να έχει προηγηθεί η αναγωγή του σιδήρου.

3.6 ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΓΙΑ ΤΗ ΒΙΟΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ ΡΥΠΑΣΜΕΝΩΝ ΕΔΑΦΩΝ ΚΑΙ ΙΖΗΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΡΣΕΝΙΚΟ ^[29,30,31,32,33,34,35, 38, 60,67]

Πολλά μικρόβια δεσμεύουν μέταλλα στα κυτταρικά τους τοιχώματα. Οι ενδογενείς, όμως, πληθυσμοί των μικροβίων στα εδάφη δεν έχουν πάντα την ικανότητα να δεσμεύσουν σε τέτοιο βαθμό τους ρύπους, ώστε να μετριάσουν την ρύπανση. Στην αναζήτηση κάποιου μικροβίου με τις επιθυμητές ικανότητες, η έρευνα αξιοποιεί δεδομένα από τη μελέτη πολυκύτταρων πολύπλοκων οργανισμών, όπως τα ποντίκια. Τα ποντίκια παράγουν οργανικές ενώσεις των μετάλλων με υψηλή περιεκτικότητα σε θείο, τις μεταλλοθειονίνες, δηλαδή μικρές πρωτεΐνες πλούσιες σε κυστεΐνη με την ικανότητα να δεσμεύουν βαρέα μέταλλα. Μικροοργανισμοί που παράγουν τέτοιου είδους ενώσεις είναι πολύ σπάνιοι. Παρόλα αυτά το γονίδιο του ποντικιού που κωδικοποιεί τις μεταλλοθειονίνες, μπορεί να εντοπιστεί και στον αρνητικό κατά Γκραμ βακτήριο *Ralstonia eutropha*. Το μικρόβιο αυτό

επιλέχτηκε εν μέρει λόγω της φυσικής του παρουσίας στο έδαφος. Παρόμοια περίπτωση παραγωγής μεταλλοθειονίνης στον ανθρώπινο οργανισμό, εμφανίζει το βακτήριο *Escherichia coli*. Το πρόβλημα είναι ότι ένας μικροοργανισμός που κατοικεί εντός του εντέρου φαντάζει απίθανο να επιβιώσει ελεύθερος στο έδαφος. Όσον αφορά το *R.eutropha*, αυτό εκδηλώνει μία φυσική ανθεκτικότητα στα βαρέα μέταλλα λόγω ενός συστήματος που διαθέτει, μέσω του οποίου αντλεί και αποβάλλει τα τοξικά μέταλλα από το κύτταρο του. Αυτή η ροή εξαγωγής των μετάλλων εξισορροπείται με την

πρόσληψη πρωτονίων, που οδηγεί σε αύξηση του pH γύρω από το κύτταρο που προκαλεί καταβύθιση των μεταλλικών ανθρακικών ενώσεων. Επομένως ο μικροοργανισμός εκδηλώνοντας την ανθεκτικότητά του στο ρύπο αποκτά και την ικανότητα να σταθεροποιεί τοπικά επιφανειακά μέταλλα μετατρέποντάς τα σε ένα αδιάλυτο επικάλυμμα. Καθοριστικό ρόλο παίζει η μεταφορά της διαδικασίας σύνθεσης μεταλλοθειονίνης στην εξωτερική επιφάνεια των κυττάρων επειδή βελτιώνεται η δεσμευτική τους ικανότητα. Προκαλώντας αυτήν την μετατροπή στα *E.coli*, με την εμφύτευση τμήματος πρωτεΐνης από τον μικροοργανισμό *Niesseria gonorrhoeae*, παρατηρήθηκε ότι οι παραγόμενες μεταλλοθειονίνες με αυτόν τον τρόπο κατάφεραν να εκτεθούν στο εξωτερικό περιβάλλον, κάτι που δεν γινόταν προηγουμένως. Παρόμοια μετατροπή αναπτύχθηκε στα *R.eutropha* και είχε το εξής αποτέλεσμα : κατά την εφαρμογή της μεθόδου σε ρυπασμένα εδάφη από κάδμιο παρατηρήθηκε ότι η δέσμευση του μετάλλου με την χρήση των τροποποιημένων μικροοργανισμών ήταν τριπλάσια σε σχέση με την αντίστοιχη δέσμευση των μη τροποποιημένων.

Οι μικροοργανισμοί θεωρούνται σημαντικοί παράγοντες στις τεχνολογίες βιολογικής αποκατάστασης εδαφών και ιζημάτων αφού κινητοποιούν το αρσενικό από την στερεά στην υγρή φάση, και με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται μόνιμη απομάκρυνσή του από το ρυπασμένο στερεό. Το τοξικότερο τρισθενές αρσενικό που παραλαμβάνεται στο διάλυμα, μπορεί να απομακρυνθεί στη συνέχεια με καταβύθιση ως κάποια δυσδιάλυτη θειούχος ένωση .

Από τις παραπάνω εφαρμογές και από άλλες παρόμοιες προκύπτει η μεγάλη σημασία της ανάπτυξης ειδικά τροποποιημένων μικροοργανισμών με σκοπό την βελτίωση των ικανοτήτων, που εκ φύσεως εμφανίζουν, αλλά και στην πρόσδωση νέων με στόχο την δημιουργία εξειδικευμένων μικροοργανισμών που αποτελεσματικά θα χρησιμοποιούνται στις βιολογικές μεθόδους αποκατάστασης εδαφών ή νερών.

3.7 ΒΙΟΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΠΟΥ ΚΑΤΑΛΥΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΑΝΑΓΩΓΗΣ ΤΟΥ $As(V)^{[8,16,23,27,28,29,38,40,42,45,46,47,49]}$

Τα μικρόβια που χρησιμοποιούν το αρσενικό για την αναπνοή τους εντοπίζονται στο σύνολο των βακτηρίων. Οι ανόργανες ενώσεις του αρσενικού οξειδώνονται και ανάγονται από διάφορα βακτήρια. Τα φυλογενετικά χαρακτηριστικά διαφέρουν στο κάθε είδος. Υπάρχουν είδη με μεγαλύτερη ή μικρότερη προσαρμοστικότητα στις ουσίες που μεταβολίζουν. Συγκεκριμένα, η ικανότητα αναγωγής του αρσενικού αποτελεί διακριτικό χαρακτηριστικό ακόμα και σε είδη με στενή φυλογενετική συγγένεια.

Ο ρόλος των συγκεκριμένων μικροοργανισμών, στις βιοχημικές αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα σε συστήματα των εδαφών και των νερών, είναι ιδιαίτερα σημαντικός, καθώς οι αντιδράσεις αυτές καθορίζουν τη χημική μορφή με την οποία βρίσκεται το αρσενικό στις διάφορες φάσεις του εκάστοτε συστήματος. Ανάλογα με τους μηχανισμούς προσρόφησης του αρσενικού στις στερεές φάσεις (σχηματισμός επιφανειακών συμπλόκων εσωτερικής ή εξωτερικής σφαίρας, μονοσχιδών ή δισχιδών

και μονοπυρηνικών ή διπυρηνικών συμπλόκων), μπορεί να εκτιμηθεί κατά πόσο το αρσενικό που περιέχεται σε κάποια στερεή φάση, έδαφος ή ίζημα, είναι βιοδιαθέσιμο. Εξαιτίας της μεγάλης διαφοράς μεταξύ των διαφόρων βακτηρίων και μυκήτων στην ικανότητά τους να μεταβολίζουν το αρσενικό, έχει μεγάλη σημασία, όχι μόνο η επάρκεια ενδογενών μικροοργανισμών στο έδαφος αλλά και η σύσταση των μικροβιακών πληθυσμών που καταλύουν τους μετασχηματισμούς των ενώσεων του αρσενικού. Σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις η αποτελεσματική κινητοποίηση των βακτηρίων αυτών γίνεται μόνο μετά την προσθήκη υποστρώματος. Δεν πρέπει επίσης να αγνοείται, η ταυτόχρονη επίδραση καθαρών φυσικοχημικών μηχανισμών στην εκχύλιση του αρσενικού, όπως η ανταλλαγή με φωσφορικά, ανθρακικά ιόντα και ιόντα χλωρίου σε συνδυασμό με τη βιολογική εκχύλιση.

Τα τελευταία 20 χρόνια, πολλά είδη μικροοργανισμών από τα είδη των *Methanobacterium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Aspergillus*, *Penicillium* και *Scorulariopsis* έχουν ταυτοποιηθεί ως υπεύθυνα παραγωγής τριμεθυλαρσίνης. Κάποια από τα παραπάνω είδη καταλύουν τη μεθυλίωση του αρσενικού ως αποτέλεσμα της αντίστασής τους στην τοξικότητα (*detoxification mechanism*) ενώ άλλο χρησιμοποιούν το ανόργανο πεντασθενές αρσενικό ως αποκλειστικό δέκτη ηλεκτρονίων κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους. Θα πρέπει να αναφερθεί, ότι οι αντιδράσεις μεθυλίωσης στις εργαστηριακές δοκιμές παρατηρήθηκαν μόνο σε αερόβιες συνθήκες, ενώ απουσία οξυγόνου η μόνη βιολογική δράση που παρατηρήθηκε ήταν η αναγωγή του As(V) σε As(III) κατά τη διαδικασία της αναπνοής.

Εκτός από τα βακτήρια, έχει διαπιστωθεί ότι το αρσενικό ανάγεται και από κάποια είδη μυκήτων (π.χ. τα *Saccaromyces cerevisiae*) και Archaea βακτηρίων τα οποία χρησιμοποιούν μια διαλυτή ουσία που ανάγει το αρσενικό που ανήκει σε ένα σύστημα ανθεκτικό στο αρσενικό. Έχουν απομονωθεί σε απορρίμματα μεταλλείων, αερόβιοι μικροοργανισμοί, που δρουν αναγωγικά έναντι του αρσενικού, μετά από αλκαλίωση του απορρίμματος, και παρουσιάζουν φυλογενετική συνάφεια με τα είδη *Caulobacter leidyi*, *Sphingomonas yanoikuyae*, *Sphingomonas echinoides* και *Rhizobium loti* από τα άλφα-Πρωτεοβακτήρια και τα *Pseudomonas aeruginosa* και *Pseudomonas fluorescens* από τα γάμμα-Πρωτεοβακτήρια. Οι μικροοργανισμοί αυτοί διαπιστώθηκε ότι ανάγουν το πεντασθενές αρσενικό παρουσία οξυγόνου, ως αποτέλεσμα της αντίστασής τους στην τοξικότητα και όχι για ανάπτυξη. Αυτό πρακτικά σημαίνει, ότι η αναγωγή του πεντασθενούς αρσενικού διεξάγεται εντός του κυττάρου και το παραγόμενο τρισθενές αρσενικό εκκρίνεται μέσω της κυτταρικής μεμβράνης στο περιβάλλον. Ένα άλλο είδος μικροοργανισμών που ανάγει το As(V) με την ίδια διαδικασία αλλά σε αναερόβιες συνθήκες, το CN-8 του είδους *Clostridium* απομονώθηκε από δείγμα εδάφους ρυπασμένο σε αρσενικό και μελετήθηκε η απομάκρυνσή του προσροφημένου αρσενικού από την επιφάνεια οξειδίων του σιδήρου (φερρουδρίτη και γκαιτίτη) με άμεση αναγωγή του As(V) από το CN-8. Οι μελέτες έδειξαν ταχεία αναγωγή του υδατοδιαλυτού As(V) προς As(III) σε αντίθεση με το As(V) που προσροφήθηκε στα οξείδια του σιδήρου, το οποίο δεν απελευθερώθηκε στο διάλυμα. Τα βακτήρια του είδους *Clostridium* χρησιμοποιούν ως θρεπτικό υπόστρωμα τη γλυκόζη, την οποία οξειδώνουν προς τα αντίστοιχα προϊόντα ζύμωσης (γαλακτικό, οξικό, βουτυρικό οξύ και υδρογόνο) πράγμα που αποτελεί ένδειξη διαδικασίας αποτοξίνωσης, και όχι αναγωγής κατά τη διαδικασία της αναπνοής (*dissimilation*). Επιπλέον, το CN-8 δεν παρατηρήθηκε να ανάγει τον

τρισθενή σίδηρο. Τα γονίδια που χαρακτηρίζουν αυτά τα συστήματα μικροοργανισμών (*ars genes*) και που υπάρχουν σε πολλά θετικά και αρνητικά κατά Γκραμ βακτήρια, έχει διαπιστωθεί ότι βρίσκονται στο εσωτερικό του κυττάρου, στα πλασμίδια, σε τμήματα του DNA και στα χρωμοσώματα, όπως π.χ. στα *E.coli* και *Pseudomonas aeruginosa*. Έχουν ταυτοποιηθεί πέντε τύποι τέτοιων γονιδίων (*arsRDABC*) εκ των οποίων αυτό που δρα ως αναγωγική ουσία στο εσωτερικό του κυττάρου έναντι του αρσενικού είναι το *arsC*, ενώ τα *arsA* και *arsB* συμβάλλουν στην αποβολή του αρσενικού από το εσωτερικό του κυττάρου μέσω της αναγωγικής τους δράσης και βρίσκονται επάνω στην κυτταρική μεμβράνη (μηχανισμός αντίστασης στην τοξικότητα).

Επομένως, οι μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούν τα γονίδια αυτά για να ανάγουν το αρσενικό, δεν είναι δυνατό να προσβάλλουν μη υδατοδιαλυτές φάσεις, όπως το αρσενικό που έχει προσροφηθεί στα οξείδια. Η άμεση αναγωγή του αρσενικού από στερεές φάσεις γίνεται μέσω ενός άλλου τύπου ενζύμου που περιγράφεται παρακάτω:

Σε συγκεκριμένους αναερόβιους μικροοργανισμούς όπως π.χ. στο *D.norvegicum* και στο *G.Barnesii*, το ένζυμο που θεωρείται ότι ευθύνεται για τη μεταφορά ηλεκτρονίων κατά τη διαδικασία της αναπνοής, [με τελικό αποδέκτη το As(V)] και το οποίο παρουσιάζει παρόμοια χαρακτηριστικά με τα κυτοχρώματα τύπου c τα οποία απομονώθηκαν σε σιδηρο-αναγωγικά και θειο-αναγωγικά βακτήρια, βρίσκεται επάνω στην κυτταρική μεμβράνη σε αντίθεση με την πλειονότητα των μεταλλο-αναγωγικών βακτηρίων όπου τα ένζυμα αυτά είναι αντίστοιχα του *ArsC* και βρίσκονται στον περιπλασματικό χώρο.

Τα *ArsC* και *Arr2p* είναι αυτά που καταλύουν την αναγωγή του πεντασθενούς αρσενικού. Τα *ArsA*, *ArsB* και *Arr3p* είναι τα ένζυμα τα οποία ευθύνονται για την αποβολή του As ως As(III) από το εσωτερικό του κυττάρου. Σε βακτήρια που χρησιμοποιούν μέταλλα και μεταλλοειδή ως τελικούς αποδέκτες ηλεκτρονίων κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους (*Dissimilatory metal reducers*) ένζυμα όπως το *ArsC* έχει διαπιστωθεί ότι βρίσκονται επάνω στην κυτταρική μεμβράνη. Τα *GlpF* και *Fps1p* είναι πρωτεΐνες που σχετίζονται με τη μεταφορά της γλυκερόλης και μπορούν να μεταφέρουν και As(III). Τα *Pho* και *Pst* ένζυμα είναι αυτά που ευθύνονται για την πρόσληψη φωσφορικών (και αρσενικών) ιόντων στο ATP.

Οι μικροοργανισμοί που έχουν στο γενετικό υλικό τους το ένζυμο *ArsC*, ανάγουν το αρσενικό κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους και δεν το ενσωματώνουν για την ανάπτυξή τους (*Dissimilatory Arsenate Reducers, DAsRB*), όπως ακριβώς και τα βακτήρια που καταλύουν την αναγωγή του τρισθενούς σιδήρου (*Dissimilatory Iron(III) Reducers, DIRB*) μέσω των διαφόρων κυτοχρωμάτων τύπου c. Επιπλέον, η αναγωγή δεν πραγματοποιείται στο εσωτερικό του κυττάρου όπως με το μηχανισμό αποτοξίνωσης, αλλά εξωτερικά, είτε επάνω στην κυτταρική μεμβράνη, είτε έμμεσα με ενώσεις που δρουν ως μεταφορείς ηλεκτρονίων (*electron carriers*).

Αρκετά είδη μικροοργανισμών που χρησιμοποιούν τα αρσενικά ιόντα ως τελικό δέκτη ηλεκτρονίων κατά την αναπνοή τους έχουν απομονωθεί μέχρι σήμερα σε ιζήματα γλυκών νερών, κοιτών ποταμών, αλκαλικών λιμνών, θερμών πηγών και μεταλλείων χρυσού. Σε αντίθεση με τα σιδηρο-αναγωγικά και τα θειο-αναγωγικά βακτήρια, η πλειονότητα των οποίων ανήκει στην υποομάδα των δέλτα-πρωτεοβακτηρίων, τα

βακτήρια που καταλύουν την αναγωγή του αρσενικού ανήκουν σε διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών όπως τα γάμμα, βήτα, δέλτα και έψιλον Πρωτεοβακτήρια και κάποια είδη που είναι θετικά κατά Γκραμ όπως οι βάκιλοι. Η φυσιολογία μεταξύ των ειδών αυτών διαφέρει ως προς τις μεταβολικές τους ικανότητες που μπορεί να είναι περιορισμένες αλλά και να μεταβάλλονται σημαντικά. Πολλοί από αυτούς τους μικροοργανισμούς αναπτύσσονται οξειδώνοντας το γαλακτικό οξύ, όπως οι *Geospirillum arsenophilus*, *Desulfotomaculum auripigmentum* που απομονώθηκαν σε επιφανειακά ιζήματα λιμνών στην ανατολική Μασαχουσέτη, το *Geospirillum* ή *Sulfurospirillum barnesii* και τα *Bacillus arsenicoselenatis* και *Bacillus selenitireducens* που απομονώθηκαν σε ιζήματα λεκάνης απορροής της λίμνης *Mono* στην Καλιφόρνια .

Το μόνο είδος που έχει βρεθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιήσει ως δότη ηλεκτρονίων το οξικό οξύ είναι το *Chrysiogenes arsenatis* το οποίο απομονώθηκε από υγρά απόβλητα μονάδας παραγωγής χρυσού. Το βακτήριο αυτό περιέχει στον περιπλασμικό του χώρο ένα ένζυμο (*Arr*) που καταλύει την αντίδραση αναγωγής του As(V) και είναι ένα ετεροδιμερές μολυβδο-ένζυμο.

Το είδος *D.auripigmentum* μπορεί και ανάγει ταυτόχρονα αρσενικά και θειικά ιόντα με τη διαφορά ότι η αναγωγή των θειικών ιόντων ξεκινά αφού έχει εξαντληθεί όλο το βιοδιαθέσιμο As(V). Δύο είδη θειο-αναγωγικών βακτηρίων που έχουν απομονωθεί, είναι τα *Desulfomicrobium Ben-RB* και *Desulfovibrio Ben-RA* τα οποία, αντίθετα με τα *D.auripigmentum*, διαπιστώθηκε ότι μπορούν να ανάγουν ταυτόχρονα αρσενικά και θειικά ιόντα, παρόλο που η παρουσία του αρσενικού στο διάλυμα φάνηκε να καθυστερεί την ανάπτυξη του πληθυσμού. Το είδος *Sulfurospirillum barnesii* SES-3 μπορεί επίσης να ανάγει ταυτόχρονα τον Fe(III) και το As(V), οξειδώνοντας το γαλακτικό οξύ. Ένα άλλο είδος αρσενικο-αναγωγικού αναερόβιου βακτηρίου που απομονώθηκε, το οποίο παρουσιάζει παρόμοια φυλογενετικά χαρακτηριστικά με τα είδη *Desulfitobacterium hafniense* και *Desulfitobacterium frappieri* και μπορεί να αναπτύσσεται με μόνο δότη ηλεκτρονίων το μυρμηγκικό οξύ και δέκτη ηλεκτρονίων το As(V) σε αναλογία 1:1. Το βακτήριο απομονώθηκε σε ιζήματα της λίμνης *Coeur d'Alene* (*Kootenai County, Idaho, USA*), όπου το 70% του αρσενικού βρίσκεται δεσμευμένο στις θειούχες ενώσεις (κυρίως σουλφίδια του σιδήρου) και 15-20% στα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου.

Έχει επίσης αναφερθεί ότι σιδηρο-αναγωγικά βακτήρια όπως το *Wolinella succinogenes* εκτός από τον τρισθενή σίδηρο μπορούν να ανάγουν και αρσενικά ιόντα σε αναερόβιες συνθήκες οξειδώνοντας το ηλεκτρικό οξύ (*succinate*).

Πρόσφατα απομονώθηκε ένα είδος βακίλου, το *Bacillus SF-1* το οποίο, αν και ανήκει στις ελάχιστες περιπτώσεις αερόβιων μικροοργανισμών που ανάγουν αρσενικό, μπορεί να αναπτυχθεί και υπό αναερόβιες συνθήκες με μόνο δέκτη ηλεκτρονίων το As(V) και δότη ηλεκτρονίων το γαλακτικό οξύ, ενώ υπό τις ίδιες συνθήκες δεν ανάγει σεληνιακά και νιτρικά ιόντα. Μια άλλη περίπτωση αερόβιου μικροοργανισμού, που ανάγει το αρσενικό σε αναερόβιο περιβάλλον με δότη ηλεκτρονίων το γαλακτικό οξύ, έχει αναφερθεί από τους Gihring και Banfield και είναι το είδος *Thermus HR13*, το οποίο είναι θερμοφίλο, πράγμα που σημαίνει ότι η δράση του δεν μπορεί να αξιοποιηθεί σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Επιπλέον, το βακτήριο αυτό, όταν βρεθεί σε αερόβιο

περιβάλλον καταλύει την οξείδωση του τρισθενούς αρσενικού με το μηχανισμό αποτοξίνωσης. Επίσης, απομονώθηκαν υπερθερμόφιλα είδη *Pyrobaculum arsenaticum* και *Pyrobaculum aerophilum* που διαπιστώθηκε ότι ανάγουν το αρσενικό σε αερόβιες συνθήκες κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους.

Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι εκτός από τους μικροοργανισμούς που ανάγουν το πεντασθενές αρσενικό, την κινητικότητα του αρσενικού επηρεάζουν επίσης και εκείνοι οι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί που χρησιμοποιούν το As(III) ως δότη ηλεκτρονίων, όπως το είδος *Thermus HR13* που αναφέρθηκε παραπάνω. Αυτοί χωρίζονται σε ετερότροφους και χημο-λιθο-αυτότροφους μικροοργανισμούς. Οι ετερότροφοι οξειδώνουν το αρσενικό μέσα από τη διαδικασία της αποτοξίνωσης, ενώ οι χημο-λιθο-αυτότροφοι συνδυάζουν την οξείδωση του As(III) με την αναγωγή του οξυγόνου ή των νιτρικών ιόντων και χρησιμοποιούν την ενέργεια που παράγεται για να συνθέσουν το διοξείδιο του άνθρακα σε οργανικό υλικό που συμβάλλει στην κυτταρική ανάπτυξη.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΔΑΦΩΝ

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Για τις ανάγκες της εργασίας, συλλέχθηκαν αντιπροσωπευτικά δείγματα με διαφορετικά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά από διαφορετικές περιοχές της Αττικής αλλά και από την νήσο Κέα με σκοπό να μελετηθούν ως προς τη μικροβιακή τους δράση. Λήφθηκαν δείγματα από εδάφη της περιοχής του Λαυρίου, τα οποία από παλαιότερες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Μεταλλουργίας είχε διαπιστωθεί ότι έχουν υποστεί ρύπανση με βαρέα μέταλλα και μεταλλοειδή. Στα εδάφη αυτά θεωρήθηκε πιθανή η ύπαρξη μικροοργανισμών που να μπορούν να μεταβολίσουν το αρσενικό οι οποίοι να αναπτύχθηκαν στην προσπάθεια αντίστασής τους στην τοξικότητα των μετάλλων (detoxification mechanism). Τα υπόλοιπα εδάφη συλλέχθηκαν από περιοχές με ελάχιστη πιθανότητα ρύπανσης για να διαπιστωθεί εάν σε υγιή εδάφη μπορούν να αναπτυχθούν μικροοργανισμοί μεταβολίζοντας το αρσενικό.

Μελετήθηκαν πέντε δείγματα εδαφών. Τα δύο προέρχονται από περιοχές της Κέας και του Υμηττού (πολυτεχνειούπολη Ζωγράφου) δηλαδή περιοχές για τις οποίες δεν υπάρχουν ενδείξεις από προγενέστερες ή τρέχουσες ρυπαίνουσες δραστηριότητες. Τα άλλα τρία προέρχονται από τη βεβαρυμένη περιβαλλοντικά περιοχή του Λαυρίου και συλλέχθηκαν από τρεις θέσεις, οι οποίες βρίσκονται βορείως της αστικής περιοχής (Θορικό), σε πάρκο μέσα στην αστική περιοχή (φοινικόδασος) και στη δυτική πλευρά, διπλά σε παλιό χώρο απόθεσης απορριμμάτων εμπλουτισμού (Σαβούρα).

Απο όλα τα δείγματα λήφθηκε αντιπροσωπευτικό αντίδειγμα με τη μέθοδο του "σταυρού". Τα αντιδείγματα λειοτριβήθηκαν σε κοκκομετρία <63μm. Αυτό πραγματοποιήθηκε με χωρισμό του αρχικού δείγματος σε τεταρτημόρια και απομάκρυνση των διαγώνιων ποσοτήτων σε κάθε επανάληψη, έως ότου λήφθηκε ποσότητα περίπου 1000g για κάθε δείγμα. Στη συνέχεια, η μισή ποσότητα χρησιμοποιήθηκε για τις κοκκομετρικές αναλύσεις, ενώ η υπόλοιπη λειοτριβήθηκε σε κρουστικό μύλο για την πραγματοποίηση των αναλύσεων που περιγράφονται παρακάτω (βλ. παράγραφο 1.2).

Τα κύρια χαρακτηριστικά των εδαφών που προέκυψαν από τις αναλύσεις έχουν τα εξής. Πρόκειται για ουδέτερα έως ελαφρά αλκαλικά εδάφη, συνθήκες που ευνοούν τη δράση κυρίως ουδετερόφιλων μικροβιακών στελεχών. Το χαμηλότερο σε σίδηρο δείγμα είναι αυτό από την περιοχή του Φοινικόδασους του Λαυρίου, ενώ και τα τρία δείγματα από την περιοχή του Λαυρίου περιέχουν χαμηλότερα ποσοστά άνθρακα σε σχέση με αυτά της Κέας και του Υμηττού. Όλα τα εδάφη περιέχουν υψηλό ποσοστό αδιάλυτων πυριτικών. Οι ορυκτολογικές αναλύσεις έδειξαν σημαντική παρουσία χαλαζία, ενώ ακολουθούν ως κύρια ορυκτά ο ασβεστίτης και ο μοσχοβίτης.



Αεροφωτογραφία της περιοχής του Λαυρίου: Οι θέσεις δειγματοληψίας εδαφών στην περιοχή του Λαυρίου: (1) Θορικό, (2) Φοινικόδασος, (3) νοτίως Σαβούρας

1.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Τα δείγματα εξετάστηκαν με φασματοσκοπία φθορισμού ακτίνων-Χ (φασματοσκόπιο SPECTRO ΧΕΡΟΣ, με πρόγραμμα ανάλυσης X-labpro) για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των ιχνοστοιχείων και υδροχημική ανάλυση για τον προσδιορισμό των κύριων συστατικών. Η υδροχημική ανάλυση πραγματοποιήθηκε έπειτα από χώνευση των δειγμάτων με βασιλικό νερό (30% HCl 12N-10% HNO₃ 15N) και μέτρηση του αδιάλυτου υπολλείματος με πύρωση στους 1000 βαθμούς κελσίου. Τα διαλύματα που προέκυψαν από τη χώνευση μετρήθηκαν με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης φλόγας (AAS flame analysis, Perkin Elmer 2100) ως προς τα κύρια στοιχεία (Al, Ca, Mg, Mn, Fe, K, Na) και τα ιχνοστοιχεία. Όλες οι αναλυτικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν περιγράφονται στο παράρτημα της εργασίας.

Το χημικό ισοζύγιο των δειγμάτων δίνεται στον Πίνακα 1.2.1. Η μέτρηση του άνθρακα και του θείου πραγματοποιήθηκε σε συσκευή LECO CS-200.

Πίνακας 1.2.1: Χημική ανάλυση των δειγμάτων έπειτα από διαλυτοποίηση με βασιλικό νερό

	(XRF)				
Fe ₂ O ₃	3,09	4,56	5,88	8,27	8,08
CaO	15,98	0,16	5,14	5,22	11,79
SiO ₂	1,07	0,84	0,96	1,07	36,61
Al ₂ O ₃	5,06	3,64	2,24	9,03	12,91
MgO	0,63	1,53	6,80	1,64	6,03
NiO	0,02	0,01	0,01	0,03	0,04
PbO	0,04	0,02	0,02	1,51	0,11
ZnO	0,08	0,02	0,01	2,08	0,1
As ₂ O ₃	0,02	0,00	0,00	0,06	0,02
K ₂ O	0,31	0,40	0,19	0,86	3,01
Na ₂ O	0,00	0,00	0,00	0,00	0,5
MnO	0,13	0,13	0,03	0,42	0,28
C	2,63	8,50	4,00	3,14	2,56
S	0,16	0,11	0,18	0,15	0,16
. . (1000C)	58,83	71,38	55,40	51,57	
	13,79	9,36	19,87	11,48	16,9
	101,83	100,65	100,73	96,53	99,1

Συγκεντρωτικά οι κύριες φυσικοχημικές ιδιότητες των εδαφών και οι συγκεντρώσεις των μετάλλων δίνονται στους παρακάτω πίνακες 1.2.2, 1.2.3 και 1.2.4.

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 1.2.4, και τα τρία εδάφη που προέρχονται από την περιοχή του Λαυρίου έχουν σημαντική ρύπανση σε βαρέα μέταλλα και αρσενικό ιδιαίτερα αυτά τα οποία λήφθηκαν από την περιοχή του Θορικού και της Σαβούρας που παρουσιάζουν ιδιαίτερα υψηλές συγκεντρώσεις σε μόλυβδο και ψευδάργυρο. Αποτελούν επομένως ενδεικτικές περιπτώσεις για την παρατήρηση της δράσης των μικροοργανισμών σε εδάφη με πολυμεταλλική ρύπανση.

Αντίθετα, τα εδάφη της Κέας και του Υμηττού περιέχουν μικρές συγκεντρώσεις σε βαρέα μέταλλα και αρσενικό. Σε σύγκριση βέβαια με τα Καναδικά όρια για τα εδάφη σε περιοχές κατοικίας παρατηρείται υπέρβαση των ορίων για As, Cr και Ni, ακόμη και στα υγιή εδάφη από τον Υμηττό και την Κέα, το οποίο οφείλεται στο υψηλό γεωχημικό υπόβαθρο των εδαφών στα συγκεκριμένα στοιχεία.

Πίνακας 1.2.2: Οι σημαντικότερες φυσικές ιδιότητες των πέντε εδαφών που προσδιορίστηκαν.

	Κέα	Υμηττός	Φοινικόδασος	Θορικός	Σαβούρα
pH πολφού	7,98	8,83	8,62	8,22	7,57
Αδιάλυτα %	51,38	55,4	58,83	36,61	51,57
Α.Π,%	9,36	19,87	13,79	16,9	11,48
Ολικός C%	8,5	4	2,63	2,56	3,17

Πίνακας 1.2.3: Συγκεντρώσεις των κύριων συστατικών στα πέντε εδάφη (%)

Οξειδία	Κέα	Υμηττός	Φοινικόδασος	Θορικός	Σαβούρα
CaO	2,65	5,14	15,98	11,79	5,22
MgO	3,75	6,8	0,63	6,03	1,64
Al ₂ O ₃	12,91	2,24	5,06	12,91	9,03
Fe ₂ O ₃	6,23	5,88	3,09	8,08	8,27
MnO	0,19	0,03	0,13	0,28	0,42

Πίνακας 1.2.4: Συγκεντρώσεις των ρύπων στα πέντε εδάφη (mg/kg)

Στοιχεία	Κέα	Υμηττός	Φοινικόδασος	Θορικός	Σαβούρα	Όρια*
As	14	19,1	108,5	154,3	259,3	12
Pb	80,3	21,4	416,7	1049	1957	140
Zn	120,3	55,8	956,4	793,9	912,3	200
Ni	85,1	156	202	339	172	50
Cr	163	245	368	632	377	64
Cu	59,5	26,2	44,6	73,4	36,1	63

*Καναδικά όρια για περιοχές κατοικίας

Σε όλα τα δείγματα το pH του πολφού είναι κοντά στο 8, πράγμα που σημαίνει ότι πρόκειται για ουδέτερα εδάφη στα οποία μπορούν να αναπτυχθούν ουδετερόφιλοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι επικρατούν σε περιοχές pH 6-8. Έχει αναφερθεί από διάφορους ερευνητές^[74,75] ότι αρκετά βακτηριακά στελέχη αυτής της κατηγορίας επιδεικνύουν μεταλλοαναγωγική δράση, τόσο σε ρυπασμένα όσο και σε υγιή εδάφη.

Πάνω από 50% όλων των δειγμάτων αντιστοιχεί στα αδιάλυτα, τα οποία είναι δυσδιάλυτα πυριτικά ορυκτά, επομένως το ποσοστό του πυριτίου είναι το μεγαλύτερο από όλων των άλλων στοιχείων στα εδάφη που εξετάζονται. Το μεγαλύτερο ποσοστό άνθρακα μετρήθηκε στο δείγμα της Κέας και αυτό αποτελεί ένδειξη ύπαρξης ανθρακικών ορυκτών αλλά και οργανικής ύλης. Όπως θα ειπωθεί σε επόμενη παράγραφο η συγκέντρωση του οργανικού άνθρακα στο δείγμα αυτό ήταν 8,6%, άρα ο περισσότερος άνθρακας θα πρέπει να υπάρχει στο δείγμα με τη μορφή οργανικών ενώσεων. Στα υπόλοιπα δείγματα ο ολικός άνθρακας κυμαίνεται γύρω στο 3%. Το δείγμα του Φοινικόδασους έχει το μεγαλύτερο ποσοστό σε ασβέστιο (περίπου 16%) το οποίο όμως δεν είναι τόσο υψηλό ώστε το έδαφος να χαρακτηριστεί ασβεστολιθικό, δηλαδή με μεγάλη συγκέντρωση σε CaCO₃, ενώ το χαμηλότερο ποσοστό Ca το εμφανίζει το δείγμα της Κέας.

Τέλος σε ότι αφορά τη συγκέντρωση του σιδήρου, το μικρότερο ποσοστό σε Fe_2O_3 μετρήθηκε στο δείγμα από το Φοινικόδασος, πράγμα που σημαίνει ότι στο δείγμα αυτό ευνοείται η μεταλλοαναγωγική δράση έναντι των βαρέων μετάλλων και του αρσενικού καθώς είναι γνωστό ότι οι σιδηροαναγωγικοί μικροοργανισμοί, όταν αυτοί υπάρχουν στο έδαφος, είναι σημαντικά ανταγωνιστικοί έναντι άλλων μεταλλοαναγωγικών μικροοργανισμών και ο σίδηρος είναι ένα μέταλλο με μεγάλη επιλεκτικότητα από βακτήρια που μπορούν να χρησιμοποιούν περισσότερα από ένα μέταλλα ως δέκτες ηλεκτρονίων κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους. Το μεγαλύτερο ποσοστό του σιδήρου υπάρχει στο δείγμα από την περιοχή του Λόφου Σαβούρα και είναι 8.27%, άρα αυτό το δείγμα έχει λιγότερες πιθανότητες να παρατηρηθεί αρσενικοαναγωγική δράση.

1.3 ΟΡΥΚΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

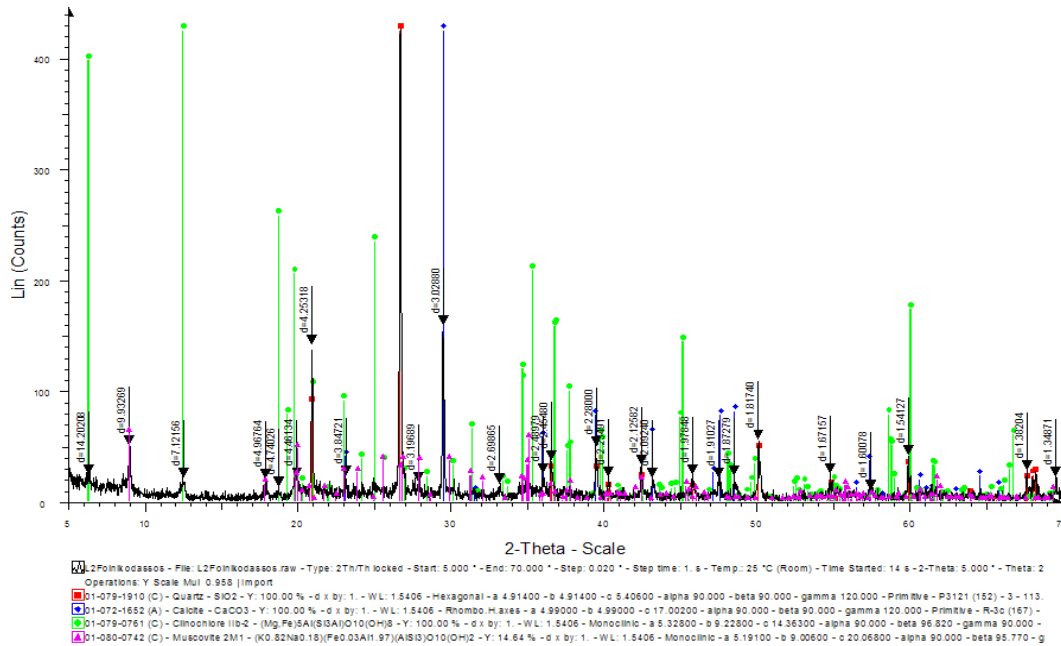
Η ορυκτολογική ανάλυση των εδαφικών δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με περιθλασιμετρία ακτίνων-Χ σε περιθλασίμετρο Bruker D8 με πρόγραμμα επεξεργασίας το EVA 100.

Πίνακας 1.3.1: Τα ορυκτά που ανιχνεύτηκαν στα πέντε εδαφικά δείγματα με την τεχνική του XRD.

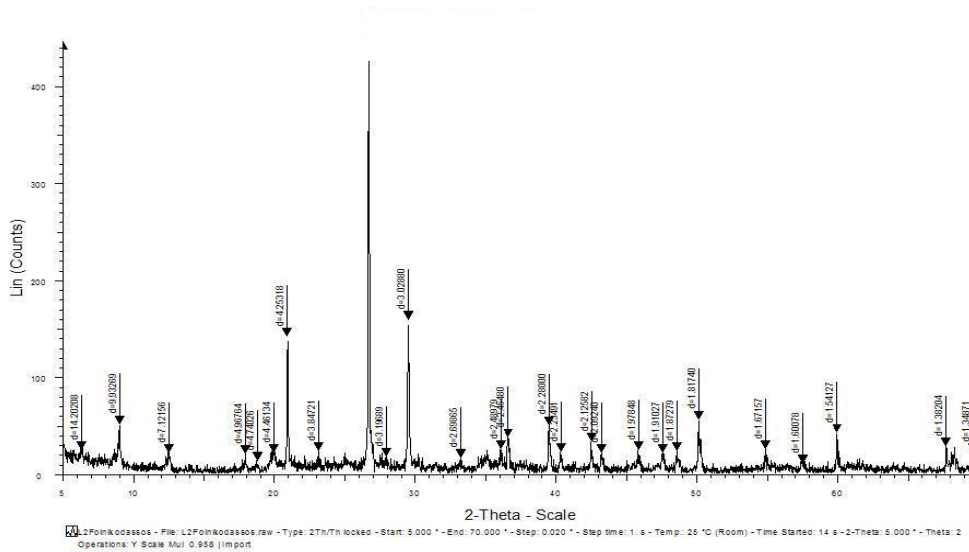
Δείγμα	Κύρια ορυκτά
Φοινικόδασος	Χαλαζίας, Ασβεστίτης, Μοσχοβίτης, Κλινοχλωρίτης
Κέα	Χαλαζίας, Μοσχοβίτης, Κλινοχλωρίτης, Ασβεστίτης, Φθορίτης?, Λεπιδοκροκίτης?
Υμηττός	Χαλαζίας, Ασβεστίτης, Μοσχοβίτης, κλινοχλωρίτης
Ν.Σαβούρα	Χαλαζίας, Ασβεστίτης, Μοσχοβίτης, γκαιτίτης
Θορικός	Χαλαζίας, Ασβεστίτης, Μοσχοβίτης, κλινοχλωρίτης, Μεσελίτης

Τα αποτελέσματα των ορυκτολογικών αναλύσεων των εδαφικών δειγμάτων δίνονται στα διαγράμματα περιθλασιμετρίας ακτίνων-Χ. Τα σχήματα με κωδικό «α» αντιστοιχούν στο φάσμα που λήφθηκε από το φασματόμετρο, ενώ τα σχήματα με κωδικό «β» στα ταυτοποιημένα φάσματα όπου φαίνονται οι κορυφές των ορυκτών και η αντιστοιχία τους.

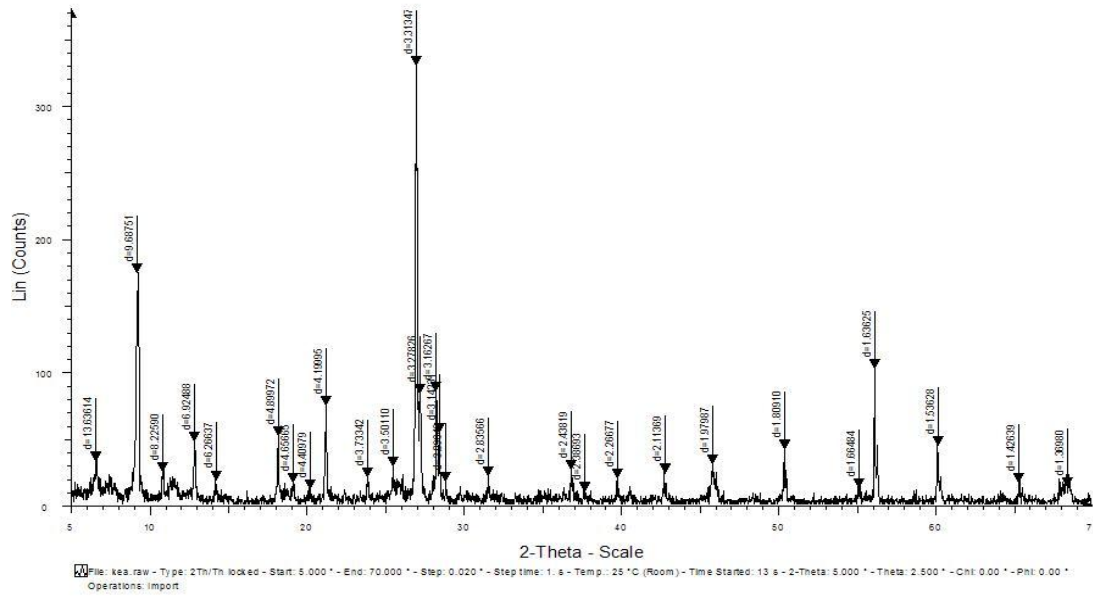
Για το δείγμα του Φοινικόδασους (σχήμα 1.3.1.α,β) παρατηρούμε ότι το κύριο ορυκτό είναι ο χαλαζίας (SiO_2) ενώ περιέχει σε σημαντικό ποσοστό ασβεστίτη ($CaCO_3$) και ένα ένυδρο αργιλοπυριτικό ορυκτό που περιέχει αλκάλια, τον μοσχοβίτη ($K_{0.82}Na_{0.18}(Fe_{0.03}Al_{1.97})(AlSi_3)O_{10}(OH)_2$). Στο διάγραμμα εντοπίζονται επίσης οι κύριες κορυφές του κλινοχλωρίτη, ο οποίος είναι ένα ένυδρο αργιλοπυριτικό ορυκτό που περιέχει μικρά ποσοστά σιδήρου και μαγνησίου με χημικό τύπο $(Mg, Fe)_5Al(Si_3Al)O_{10}(OH)_8$.



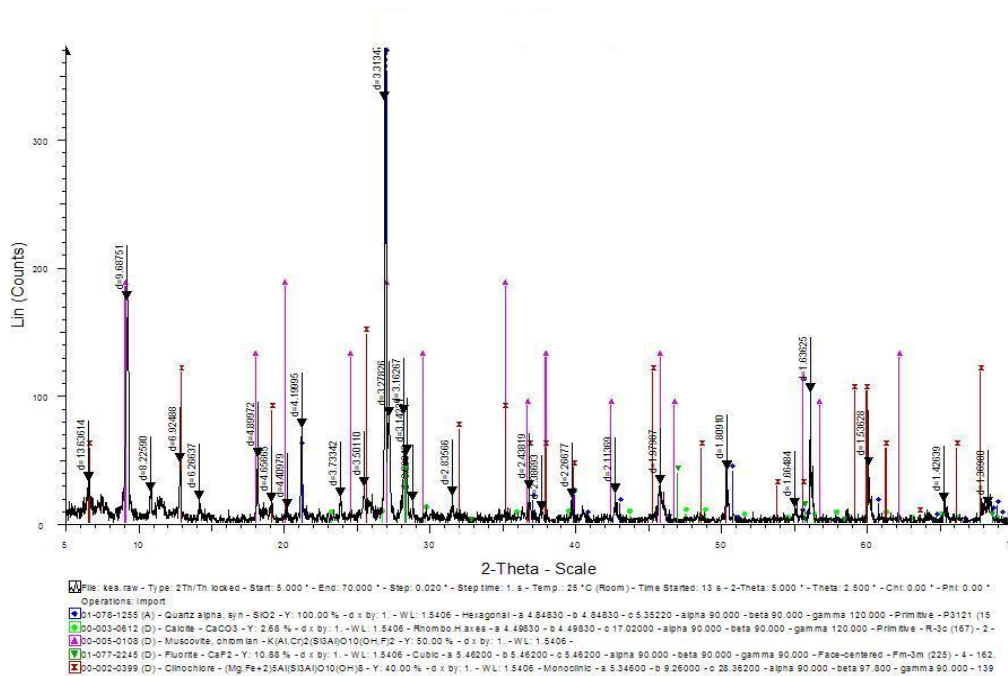
Σχήμα 1.3.1.β: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-Χ για το δείγμα του Φοινικοδάσους με ταυτοποιημένες τις αιχμές που αντιστοιχούν στα d των ορυκτών



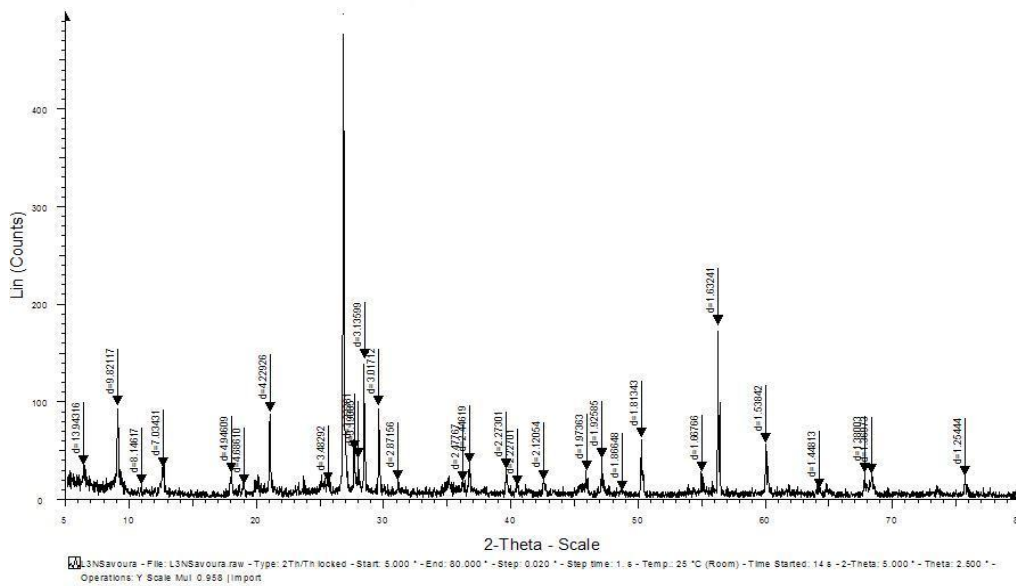
Σχήμα 1.3.1.α: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-Χ για το δείγμα του Φοινικοδάσους



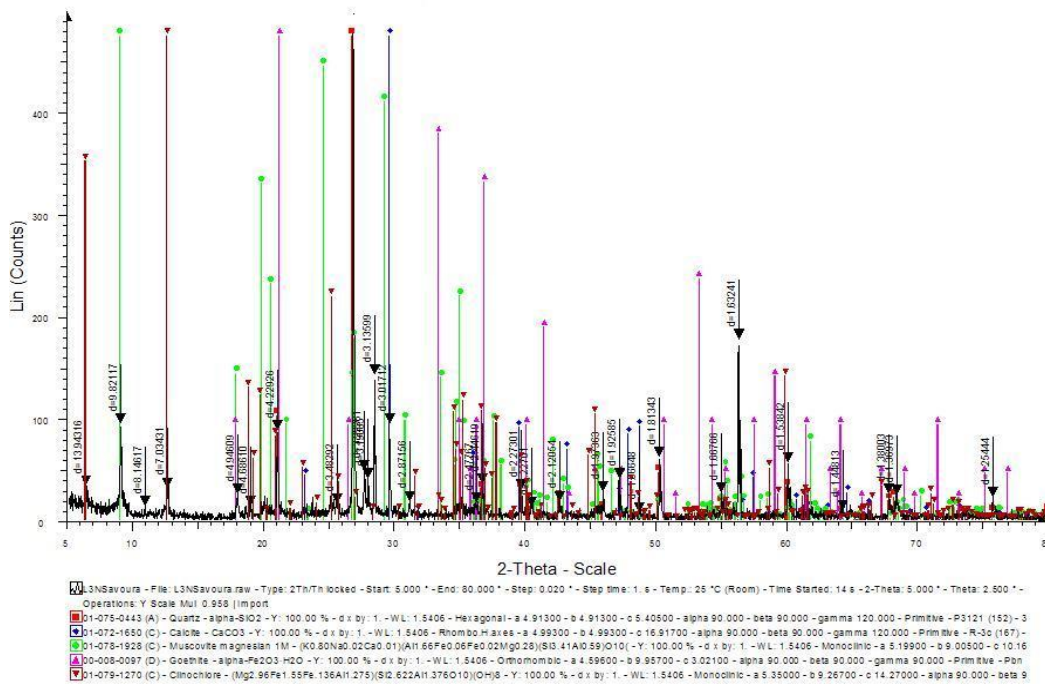
Σχήμα 1.3.2.α: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-Χ για το δείγμα της Κέας



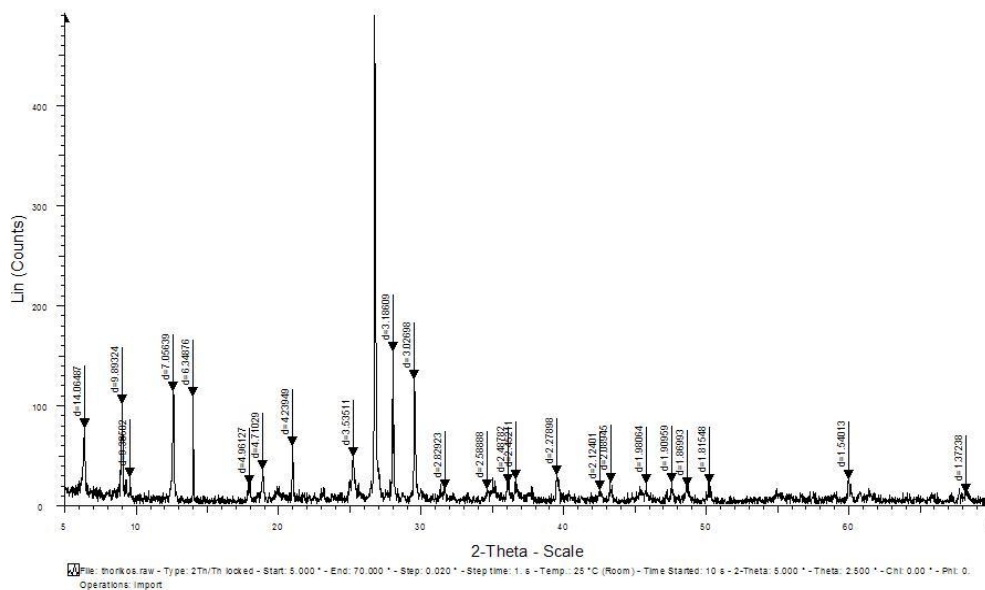
Σχήμα 1.3.2.β: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-Χ για το δείγμα της Κέας με ταυτοποιημένες τις αιχμές που αντιστοιχούν στα d των ορυκτών



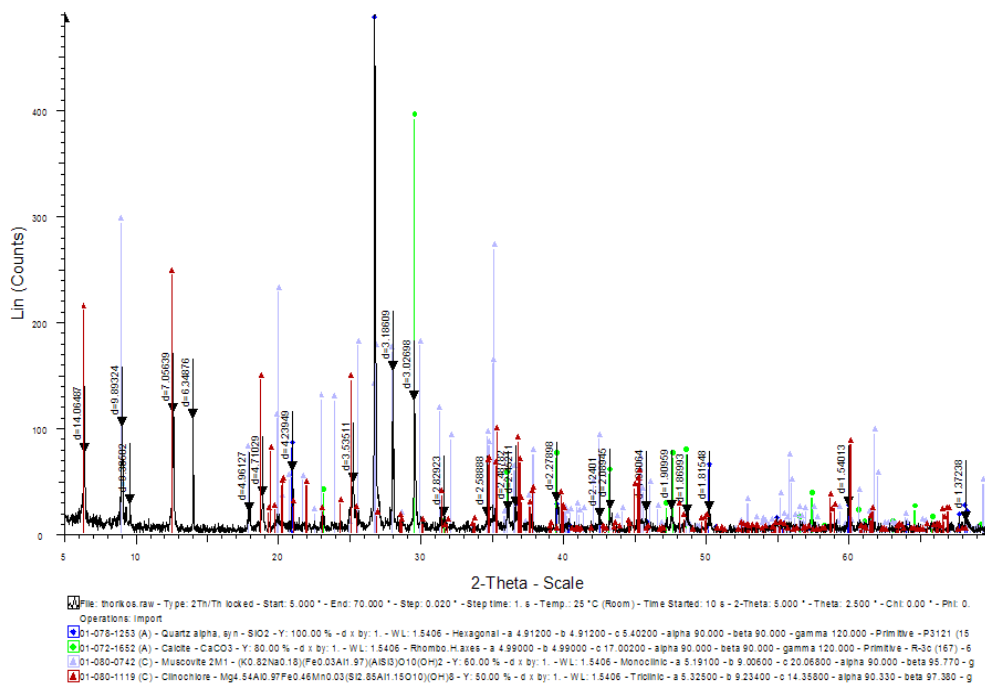
Σχήμα 1.3.3.α: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-Χ για το δείγμα της περιοχής Λόφος Σαβούρα



Σχήμα 1.3.3.β: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-Χ για το δείγμα της περιοχής Λόφος Σαβούρα με ταυτοποιημένες τις αιχμές που αντιστοιχούν στα d των ορυκτών



Σχήμα 1.3.4.α: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-X για το δείγμα της περιοχής του Θορικού



Σχήμα 1.3.4.β: Το διάγραμμα περίθλασης ακτίνων-X για το δείγμα της περιοχής του Θορικού με ταυτοποιημένες τις αιχμές που αντιστοιχούν στα d των ορυκτών

Το δείγμα περιέχει χαμηλό ποσοστό σιδήρου και δεν είναι ανιχνεύσιμο κάποιο σιδηρούχο ορυκτό (γκαιτίτης ή αιματίτης) στο συγκεκριμένο δείγμα.

Για το δείγμα της Σαβούρας (σχήμα 1.3.3.α,β) παρατηρούμε ότι υπάρχει σαν κύριο ορυκτό ο χαλαζίας (SiO_2) ενώ περιέχει σε σημαντικό ποσοστό ασβεστίτη, κλινοχλωρίτη και μοσχοβίτη. Ένα άλλο στοιχείο που περιέχει το δείγμα είναι το σιδηρούχο ορυκτό γκαιτίτης (FeOOH) του οποίου είναι ανιχνεύσιμη μια μικρή κορυφή στο $d=4.2$ και η οποία είναι ανιχνεύσιμη επειδή το ποσοστό σιδήρου σε αυτό το δείγμα είναι το υψηλότερο από όλα τα άλλα και πλησιάζει το 10% που είναι το όριο της μεθόδου για να εντοπιστούν οι κορυφές κάποιου ορυκτού.

Για το δείγμα του Ζωγράφου(Υμηττού) (σχήμα 1.3.5.α,β) παρατηρούμε ότι και πάλι το κύριο ορυκτό είναι ο χαλαζίας ενώ σε σημαντικό ποσοστό υπάρχει ασβεστίτης, κλινοχλωρίτης και μοσχοβίτης. Δεν είναι ανιχνεύσιμο κάποιο σιδηρούχο ορυκτό.

Στο δείγμα από την περιοχή του Θορικού (σχήμα 1.4.4.α,β) εντοπίζουμε πάλι ως κύριο ορυκτό το χαλαζία και συνυπάρχουν με αυτόν ασβεστίτης σε πολύ μικρότερο ποσοστό από τα προηγούμενα δείγματα καθώς και κλινοχλωρίτης και μοσχοβίτης, ενώ η κορυφή στο $d=6.35$ αντιστοιχεί στο ένυδρο φωσφορικό ορυκτό Μεσελίτης με χημικό τύπο $\text{Ca}_2(\text{Fe}^{(III)}, \text{Mn})(\text{PO}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, το οποίο έχει τις κύριες κορυφές του σε $d=(6.34, 3.17, 3.02)$ που και οι τρεις υπάρχουν στο φάσμα.

Τέλος στο δείγμα της Κέας (σχήμα 1.4.2.α,β) το οποίο είναι επίσης πυριτικό με κύριο ορυκτό τον χαλαζία, εμφανίζονται και πάλι τα ορυκτά κλινοχλωρίτης και μοσχοβίτης, μικρό ποσοστό ασβεστίτη επειδή με δυσκολία εντοπίζονται οι κύριες κορυφές του στο δείγμα και είναι πιθανή η ύπαρξη φθορίτη και λεπιδοκροκίτη αλλά το συμπέρασμα αυτό διατυπώνεται με επιφύλαξη επειδή υπάρχει αλληλοεπικάλυψη των κορυφών και δεν είναι διακριτές οι δευτερεύουσες κορυφές αυτών των δύο ορυκτών.

Όλα τα εδάφια δείγματα όπως φαίνεται από την παραπάνω μελέτη είναι κυρίως πυριτικά με κύριο ορυκτό το χαλαζία και περιέχουν αργιλοπυριτικά και ανθρακικά ορυκτά. Τα δευτερεύοντα ορυκτά δεν είναι όλα ανιχνεύσιμα με τη συγκεκριμένη μέθοδο, καθώς θα πρέπει να κατέχουν τουλάχιστον το 10% του δείγματος για να είναι ευδιάκριτες οι τρεις κύριες κορυφές τους στο φάσμα. Για τον εντοπισμό τους απαιτείται η εφαρμογή τεχνικών με μεγαλύτερη ευαισθησία, όπως μικροσκοπία διερχόμενου φωτός (TEM) ή εξειδικευμένες αναλυτικές μέθοδοι φασματοσκοπίας.

1.4 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΡΓΑΝΙΚΟΥ ΦΟΡΤΙΟΥ

Ο υπολογισμός του οργανικού άνθρακα έγινε εφαρμόζοντας τη μέθοδο Walkley-Black^[9] η οποία περιγράφεται παρακάτω:

Το δείγμα υπόκειται σε ξήρανση και λειοτρίβηση ώστε να περνά το κόσκινο των 60mesh. Ακολούθως χρειάζεται προσδιορισμός σε κλίβανο της υγρασίας του εδάφους και υπολογισμός του ποσοστού του ξηρού εδάφους f.

Διαλύματα/Αντιδραστήρια:

- $K_2Cr_2O_7$ 1N: 49,04g/lit
- H_2SO_4 conc. με $AgSO_4$ 15g/lit
- Δείκτης ferroin 0,025M: (14,85g 0-phenanthroline + 6,95g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$)/lit
- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5N: (140g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ + 15ml H_2SO_4)/lit

2g δείγμα τοποθετούνται σε κωνική φιάλη των 500ml και προστίθενται 10ml $K_2Cr_2O_7$ 1N και 20ml πυκνό H_2SO_4 . Ο πολφός τίθεται σε ανάδευση για 1min. Στη συνέχεια αφήνεται σε ηρεμία επί 30min και προστίθενται 200ml απιονισμένο νερό.

Προστίθενται 4 σταγόνες ferroin και το δείγμα τιτλοδοτείται με $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5N (Χρώμα πράσινο→σκούρο πράσινο→με την πρώτη σταγόνα μπλέ→τελικά κόκκινο). Εάν το χρώμα δεν φαίνεται το δείγμα διηθείται. Σε περίπτωση που περισσότερο από το 75% του $K_2Cr_2O_7$ έχει αναχθεί τότε επαναλαμβάνουμε τη μέτρηση.

Υπολογισμός:

Οργανικός C(%)=[(meq $K_2Cr_2O_7$ -meq $FeSO_4 \cdot 7H_2O$)x0,003x100xf]/g ξηρού υλικού

ΠΡΟΣΟΧΗ!!! Η μέθοδος μπορεί να είναι ανακριβής όταν περιέχονται σε μεγάλη ποσότητα ανθρακικά άλατα. Σε αυτή την περίπτωση μετράμε total carbon στη LECO, κάνουμε χώνευση με 20% HCl για να απομακρύνουμε τα ανθρακικά, και το στερεό το ξαναμετράμε στη LECO, και αυτό που βρίσκουμε αντιστοιχεί στον οργανικό άνθρακα.

ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΥΛΗ

% οργανική ύλη = 0,35 + 0,18 x %οργανικός άνθρακας

Πίνακας 1.4.1: Προσδιορισμός του οργανικού άνθρακα στα εδάφη που εξετάζονται

Δείγμα	Βάρος	Οργανικός C %
Σαβούρα	2,0031	1,02%
Θορικός	2,0055	1,22%
Φοινικόδασος	2,0016	1,81%
Κέα	2,0021	8,6%
Υμηττός	2,0054	1,01%

Το δείγμα με το μεγαλύτερο ποσοστό οργανικού άνθρακα είναι του φοινικόδασους πράγμα που σημαίνει ότι περιέχει το μεγαλύτερο οργανικό φορτίο, το οποίο είναι

απαραίτητο για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, άρα είναι πιθανό το έδαφος αυτό να είναι κατάλληλο για την ανάπτυξη ενδογενών βακτηρίων τα οποία θα δράσουν ενδεχομένως σαν δέκτες ηλεκτρονίων έναντι του αρσενικού κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους.

Το έδαφος με το μεγαλύτερο ποσοστό οργανικού C (Κέα) έχει τις περισσότερες πιθανότητες να παρέχει ενδογενή βακτήρια για την αναγωγή του As(V) προς As(III), αφού φαίνεται ότι όλος ο C του συγκεκριμένου εδάφους βρίσκεται σε οργανική μορφή επειδή δεν διαφέρει καθόλου με τον ολικό άνθρακα που μετρήθηκε (ολικός άνθρακας 8,5%).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΔΟΚΙΜΕΣ ΑΝΑΓΩΓΗΣ As(V) ΑΠΟ ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥΣ ΤΩΝ ΕΔΑΦΩΝ.

2.1 ΤΕΧΝΗΤΗ ΡΥΠΑΝΣΗ ΥΠΩΝ ΚΑΙ ΕΛΑΦΡΑ ΡΥΠΑΣΜΕΝΩΝ ΕΔΑΦΩΝ ΜΕ AS(V)

Επειδή τα ποσοστά του αρσενικού στα εδάφη ήταν σχετικά χαμηλά (τα εδάφη από τις περιοχές του Λαυρίου είχαν σχετικά χαμηλή ρύπανση) ή και κάτω από το όριο που σημαίνει ότι πρόκειται για υγιή εδάφη (έδαφος Κέας και Υμηττού) αποφασίστηκε να εφαρμοστεί τεχνητή ρύπανση και στα 5 εδαφικά δείγματα προσθέτοντας As(v) σε υδατοδιαλυτή μορφή ($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) σε συγκέντρωση 1mM στο διάλυμα αντίδρασης.

2.2 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΠΟΛΦΩΝ ΜΕ ΘΡΕΠΤΙΚΟ ΜΕΣΟ

A. Παρασκευή βασικού μέσου

Για την ανάπτυξη και κινητοποίηση των γηγενών μικροοργανισμών των εδαφών χρησιμοποιήθηκε ένα βασικό μέσο ανάπτυξης με κατάλληλη σύσταση η οποία υποστηρίζει την ανάπτυξη αρσενικό-αναγωγικών στελεχών (75). Το μέσο αυτό περιείχε ανά 1000 ml ρυθμιστικού διαλύματος Tris-HCl με pH 7.2 τα εξής συστατικά (βλ. Πίνακα 4.2.1): 0,24g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,12g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1g NaCl, 0,05g KH_2PO_4 , 0,05 g K_2HPO_4 , 0,6mg H_3BO_3 , 0,17mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 0,1mg $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,1mg $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,22 mg ZnCl_2 και 0,5g εκχύλισμα μαγιάς (yeast). Ως δότης ηλεκτρονίων προστέθηκε γαλακτικό οξύ σε συγκέντρωση 20mM, ενώ ως δέκτης ηλεκτρονίων διάλυμα $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ με συγκέντρωση 1mM στο τελικό διάλυμα.

B. Πειραματική διαδικασία

Σε φιαλίδια ορού των 125ml προστέθηκαν 10g εδάφους και 100ml διαλύματος το οποίο περιείχε τα παραπάνω συστατικά. Στη συνέχεια έγινε απομάκρυνση του αέρα με εμφύσηση αέριου μίγματος $\text{N}_2\text{-CO}_2$ με σύσταση 80:20 για 20 min. Το τελικό pH του πολφού ήταν περίπου 7.0. Για κάθε έδαφος προετοιμάστηκαν τέσσερα φιαλίδια τα δύο εκ των οποίων αποστειρώθηκαν στους 121 βαθμούς κελσίου για 20 min προκειμένου να προσδιοριστεί η καθαρά χημική επίδραση του διαλύματος στο έδαφος. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε δονούμενο επωαστήρα στους 30 βαθμούς κελσίου απουσία φωτός και παρακολούθηθηκε η μικροβιακή δράση για διάστημα 60 ημερών.

Σε όλα τα διαλύματα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις As(V), As(T) και Fe(II) με τη μέθοδο του μολυβδενίου^[22] και της φαινανθρολίνης^[65] αντίστοιχα (βλέπε Παράτημα). Για τις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν, ποσότητα 1ml πολφού απομακρυνόταν από τα φιαλίδια και γινόταν διήθηση με μικρόφιλτρα σύριγγας με διάμετρο οπών μεμβράνης 0,2μm. Το διήθημα ζυγίζοταν και αναλυόταν ως προς τα $\text{Fe}_{\text{ολ}}$, Fe(II), $\text{As}_{\text{ολ}}$ και As(V). Η ανάλυση του δισθενούς σιδήρου πραγματοποιείτο με τη μέθοδο της

φαινανθρολίνης, ενώ η ανάλυση του πεντασθενούς και ολικού αρσενικού με τη μέθοδο του μολυβδενίου, ενώ το As(III) προέκυπτε ως η διαφορά τους.

Πραγματοποιήθηκαν επίσης αναλύσεις πολφού σε επιλεγμένα δείγματα για τον προσδιορισμό Fe(II) και As(III). Για τον προσδιορισμό του Fe(II) στο στερεό 1ml πολφού από το κάθε φιαλίδιο απομακρυνόταν με σύριγγα και εισαγόταν σε δοκιμαστικό σωλήνα που περιείχε 9ml HCl συγκέντρωσης 0,5N.

Πίνακας 2.2.1: Τα συστατικά του μέσου ανάπτυξης που χρησιμοποιήθηκε για τη διέγερση των μικροοργανισμών στα πέντε εδαφικά δείγματα.

Συστατικά	Ποσότητες σε 1L
Buffer: Tris-HCl	pH=7.2
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.24 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.12 g
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.10 mg
NaCl	0.10 g
K ₂ HPO ₄	0.05 g
KH ₂ PO ₄	0.05 g
CoCl ₂ · 6 H ₂ O	0.17 mg
CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.20 g
ZnCl ₂	0.22 mg
CuCl ₂ · 2H ₂ O	0.10 mg
H ₃ BO ₃	0.60 mg
Yeast	0.50 g

Το δείγμα αναδεύονταν ζωηρά σε αναδευτήρα vortex και αφηνόταν να διαυγάσει για 24 ώρες. Στη συνέχεια λαμβάνονταν 2 ml από το υπερκείμενο διάλυμα και προσδιοριζόταν ο Fe(II) με τη μέθοδο της φαινανθρολίνης (βλέπε Παράρτημα). Το έγχρωμο διάλυμα τοποθετούνταν σε κυψελίδες σε φασματοφωτόμετρο UV HITACHI και η μέτρηση γινόταν στα 540nm.

Για τον προσδιορισμό του As(III) σε στερεό λαμβάνονταν 1ml πολφού και εισαγόταν σε δοκιμαστικό σωλήνα με διάλυμα HCl συγκέντρωσης 6N. Ο δοκιμαστικός σωλήνας τοποθετούταν σε αναδευτήρα vortex και έπειτα από 10 min αφηνόταν σε ηρεμία να διαυγάσει. Στη συνέχεια 1ml από το υπερκείμενο διάλυμα αραιωνόταν σε 10 ml απιονισμένου νερού και στο αραιωμένο διάλυμα μετρούταν το As(V) και το ολικό As με τη μέθοδο του μολυβδενίου (βλέπε Παράρτημα).

Πίνακας 2.2.2: Παρασκευή πολφών εδάφους – θρεπτικού μέσου - αρσενικού

Συστατικό	Ποσότητα στα 100ml ή σύσταση	Συγκέντρωση στο διάλυμα αντίδρασης
Βασικό μέσο	50ml	50% κ.ο
Na ₂ HAsO ₄ *7H ₂ O	0,312gr	1mM
Έδαφος	10 gr	10% κ.ο
N ₂ :CO ₂	80:20	-
Γαλακτικό οξύ	10 ml	20mM
Απιονισμένο νερό (για ρύθμιση του όγκου)	30 ml	-

2.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

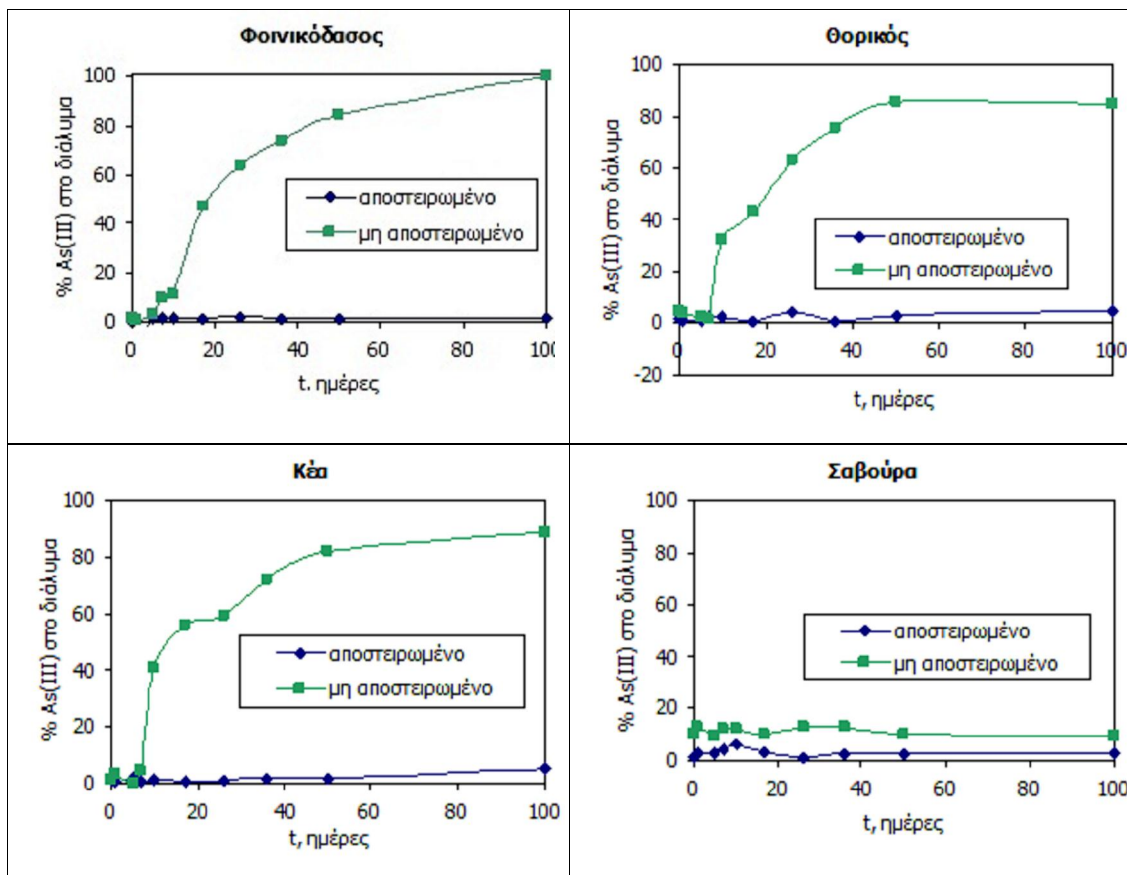
Δοκιμές διέγερσης των αρσено-αναγωγικών μικροοργανισμών

Η προσρόφηση του αρσενικού στο έδαφος ολοκληρώθηκε το πρώτο 24ωρο της δοκιμής σε όλα τα δείγματα και κυμάνθηκε μεταξύ 80-85% του αρχικά προσφερόμενου (10 μmol ανά g δειγματος), εκτός από το δείγμα της Κέας όπου περίπου το 30% του αρσενικού παρέμεινε στην υδατική φάση. Στα δείγματα στα οποία δεν εφαρμόστηκε αποστείρωση άρχισε να παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του αρσενικού στο διάλυμα από την έβδομη μέρα της δοκιμής. Ο προσδιορισμός της οξειδωτικής βαθμίδας έδειξε ότι σχεδόν όλο το αρσενικό που περνάει στο διάλυμα βρίσκεται στην ανηγμένη μορφή ως As(III). Από την ανάλυση των αντίστοιχων δειγμάτων πολφού, προέκυψε ότι στα στερεά δεν εντοπίζεται μετρήσιμη ποσότητα τρισθενούς αρσενικού. Συνεπώς οι συγκεντρώσεις του As(III) στην υδατική φάση αντανακλούν τη συνολική πορεία της αναγωγής, όπως φαίνεται στα διαγράμματα του σχήματος 1.

Σε όλα τα δείγματα στα οποία εφαρμόστηκε αποστείρωση δεν παρατηρήθηκε αναγωγή, είναι δηλαδή φανερό ότι η παρατηρούμενη αναγωγή είναι προϊόν βιολογικής δραστηριότητας. Από όλα τα μη αποστειρωμένα εδαφικά δείγματα, μόνον αυτό του Υμηττού δεν παρουσίασε ανιχνεύσιμη αρσеноαναγωγική δράση. Μικρή σχετικά αναγωγή, της τάξης του 10%, παρατηρήθηκε στο ρυπασμένο δείγμα «Σαβούρα». Στα άλλα τρία δείγματα το τελικό ποσοστό βιοαναγωγής κυμαίνεται από 85 μέχρι 100%. Το δείγμα με την μεγαλύτερη απόδοση στην αναγωγή του As(V) είναι αυτό από το Φοινικόδασος του Λαυρίου.

Η αναγωγή έγινε αντιληπτή και οπτικά από τη μεταβολή στο χρώμα των πολφών των φιαλιδίων όπως φαίνεται στην εικόνα 2.1.

Οι Yamamura et al. [74,75] είχαν παρατηρήσει ότι η αναγωγή του αρσενικού παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την περιεκτικότητα του σιδήρου στα εδάφη, δηλαδή ότι τα υψηλά ποσοστά σιδήρου παρεμποδίζουν την αναγωγή του As.



Σχήμα 2.2.1: Αναγωγή του αρσενικού από τους ενδογενείς μικροοργανισμούς των εδαφών συναρτήσει του χρόνου. Δεν παρουσιάζονται αποτελέσματα για το δείγμα του Υμηττού, στο οποίο δεν παρατηρήθηκε αναγωγή. Το % ποσοστό As(III) εκφράζεται ως προς την προστιθέμενη ποσότητα του αρσενικού (10 mmol As(V)/kg).

Αυτό μπορεί να οφείλεται στην αποτελεσματικότερη προσρόφηση του As(V) στα σιδηροξειδία ή στην εντονότερη ανάπτυξη σιδηροαναγωγικών στελεχών με αποτέλεσμα αυτά να ανταγωνίζονται τη δράση των πιθανά υπάρχοντων αρσενικο-αναγωγικών και να επικρατούν. Επιπλέον, πολλά αρσενικο-αναγωγικά στελέχη μπορούν να χρησιμοποιούν τον τρισθενή σίδηρο ως δέκτη ηλεκτρονίων κατά τη διαδικασία της αναπνοής τους με αποτέλεσμα να μειώνεται το ποσοστό του αρσενικού που παίζει τον ρόλο του δέκτη ηλεκτρονίων. Εντούτοις τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης εργασίας δεν δείχνουν κάποια σαφή συσχέτιση μεταξύ ποσοστών σιδήρου στο έδαφος και αναγωγής του As.

Στη διάρκεια των δοκιμών έγιναν συστηματικές μετρήσεις της συγκέντρωσης του σιδήρου στο διάλυμα με στόχο την παρακολούθηση ενδεχόμενης ταυτόχρονης σιδηροαναγωγικής δράσης. Οι μετρήσεις του ολικού σιδήρου στην υδατική φάση έδειξαν πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις. Πρέπει όμως να αναφερθεί ότι λόγω του ουδέτερου pH του διαλύματος, είναι πιθανό ο βιολογικά παραγόμενος δισθενής

σίδηρος να επανακαταβυθίζεται με διάφορα ανιόντα που συνυπάρχουν στο υδατικό διάλυμα, όπως τα ανθρακικά, τα φωσφορικά, αλλά και τα αρσενικικά ιόντα, δημιουργώντας τις αντίστοιχες δυσδιάλυτες ενώσεις Fe(II), π.χ. σιδηρίτη, βιβιανίτη ή συμπλεσίτη [8, 70].



Εικόνα 2.1: Οπτική μεταβολή της μικροβιακής δράσης κατά την 10^η ημέρα της δοκιμής

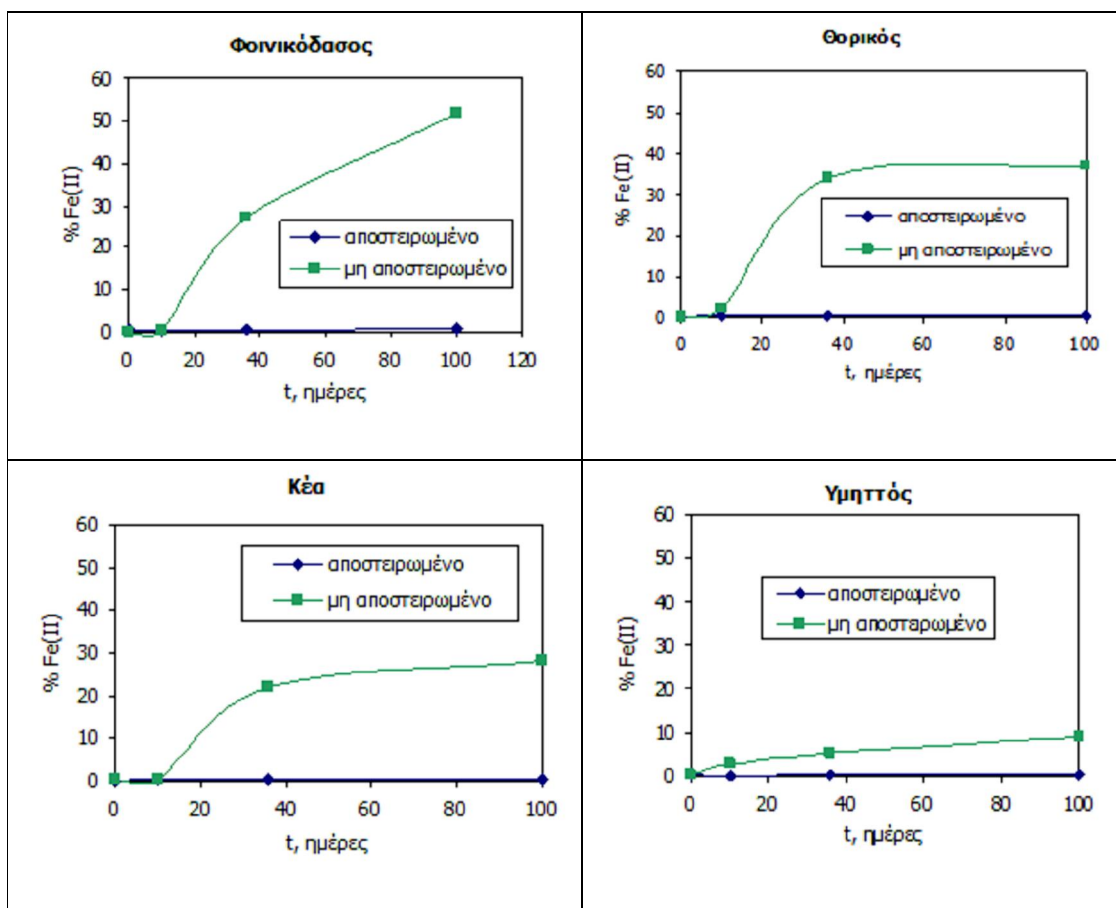
Για το σκοπό αυτό πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις του Fe(II) στους πολφούς των εδαφών, τα αποτελέσματα των οποίων δίνονται στο σχήμα 2.2.2. Οι αναλύσεις Fe(II) στα δείγματα πολφού έδειξαν ότι υπήρξε μικροβιακή σιδηροαναγωγική δραστηριότητα στα τέσσερα από τα πέντε δείγματα.

Αξιοσημείωτο είναι, ότι στο δείγμα του Υμηττού, όπου δεν υπήρξε καθόλου αναγωγή του αρσενικού, το ποσοστό του ανηγμένου σιδήρου έφτασε μόλις το 9.2% του αρχικού δηλαδή την ποσότητα των 3795 mg/kg Fe, πράγμα που σημαίνει ότι η μικροβιακή δραστηριότητα είναι γενικά περιορισμένη στο συγκεκριμένο έδαφος.

Στα υπόλοιπα εδάφη μετρήθηκαν σημαντικές τιμές συγκεντρώσεων Fe(II), με εξαίρεση το δείγμα με κωδικό «Σαβούρα» στο οποίο δεν ανιχνεύτηκε καθόλου δισθενής σίδηρος.

Στο δείγμα του Φοινικοδάσους, το οποίο παρουσίασε και το μεγαλύτερο ποσοστό αναγωγής σε αρσενικό παρατηρήθηκε επίσης και έντονη σιδηροαναγωγική δραστηριότητα και το ποσοστό του δισθενούς σιδήρου στον πολφό του εδάφους έφτασε το 52%. Κινητικά οι δύο δράσεις εξελίσσονται σχεδόν παράλληλα,

υποδεικνύοντας ταυτόχρονη ανάπτυξη και συνέργεια σιδηροαναγωγικών και αρσενικοαναγωγικών μικροοργανισμών.



Σχήμα 2.2.2: Αναγωγή Fe με βάση τις μετρήσεις δισθενούς σιδήρου στους πολφούς των εδαφών. Δεν παρουσιάζεται το δείγμα Σαβούρα, στο οποίο ο Fe(II) ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης. Στα άλλα δείγματα η αρχική συγκέντρωση Fe ήταν: Φοινικόδασος 21641 mg/kg, Θορικός 56553 mg/kg, Κέα 31887 mg/kg και Υμηττός 41185 mg/kg.

Στους Πίνακες που ακολουθούν φαίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των μετρήσεων που έγιναν σε διάρκεια 60 ημερών που διήρκεσαν οι βιολογικές δοκιμές. Δίνονται οι συγκεντρώσεις στο διάλυμα και στους πολφούς για ολικό και πεντασθενές αρσενικό και οι αντίστοιχες τιμές δισθενούς σιδήρου σε μονάδες μοριακότητας (M) και σε % ποσοστά επί του αρχικού. Οι υπολογισμοί δίνονται στο Παράρτημα της εργασίας.

Πίνακας 2.2.3.α,β,γ,δ: Αποτελέσματα μετρήσεων σιδήρου και αρσενικού στο διάλυμα και στον πολφό για το δείγμα του Υμηττού (Τα α,β αντιστοιχούν στα αποστειρωμένα δείγματα και τα δείγματα γ,δ στα μη αποστειρωμένα δείγματα)

t, ()	-	mM		%		As, Fe		Fe(II)			
		(g)	As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,6652	0,09	0,09	0,00	9,22	8,82	0,00	11,83	118,33	0,29	
1	0,6743	0,09	0,08	0,00	9,10	8,11	0,00				
5	0,8385	0,08	0,07	0,00	7,59	7,11	0,00				
7	0,8747	0,12	0,11	0,00	11,97	11,03	0,00				
10	0,8247	0,11	0,11	0,00	11,48	10,83	0,00	10,20	101,97	0,25	
17	0,8526	0,14	0,13	0,00	13,68	13,05	0,00				
26	0,7055	0,17	0,15	0,00	16,69	15,36	0,00				
36	0,7737	0,14	0,16	0,00	14,27	16,01	0,00	10,68	106,78	0,26	
50	0,8222	0,10	0,15	0,00	9,87	15,30	0,00				
100	0,8111	0,16	0,16	0,00	16,33	15,83	0,00	11,64	116,40	0,28	

t, ()	-	mM		%		As, Fe		Fe(II)			
		(g)	As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,8121	0,07	0,06	0,00	6,66	5,99	0,00	8,85	88,50	0,21	
1	0,8078	0,13	0,08	0,00	12,54	7,69	0,00				
5	0,90436	0,10	0,10	0,00	9,95	9,65	0,00				
7	0,8249	0,12	0,11	0,00	11,65	10,99	0,00				
10	0,8122	0,14	0,11	0,00	13,65	11,48	0,00	6,06	60,61	0,15	
17	0,9414	0,10	0,09	0,00	9,59	8,86	0,00				
26	0,7906	0,13	0,13	0,00	13,31	12,80	0,00				
36	0,7881	0,11	0,14	0,00	10,95	13,69	0,00	9,52	95,24	0,23	
50	0,8011	0,13	0,12	0,00	13,15	11,63	0,00				
100	0,7014	0,13	0,12	0,00	13,35	12,02	0,00	7,31	73,11	0,18	

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,8231	0,10	0,11	0,00	10,03	11,01	0,00	9,72	97,16	0,24	
1	0,8507	0,11	0,11	0,00	10,84	10,52	0,00				
5	0,8202	0,15	0,16	0,00	15,01	15,50	0,00				
7	0,7776	0,14	0,14	0,00	14,21	14,03	0,00				
10	0,7792	0,16	0,15	0,00	16,08	14,53	0,00	107,17	1071,67	2,60	
17	0,7791	0,12	0,15	0,00	12,11	15,39	0,00				
26	0,8234	0,13	0,14	0,00	12,65	13,97	0,00				
36	0,8144	0,13	0,06	0,00	13,28	6,14	0,00	226,17	2261,66	5,49	
50	0,7771	0,16	0,13	0,00	16,47	13,00	0,00				
100	0,7906	0,16	0,15	0,00	15,70	15,01	0,00	388,65	3886,48	9,44	

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,8065	0,12	0,13	0,00	11,56	13,23	0,00	12,41	124,10	0,30	
1	0,8204	0,12	0,12	0,00	11,71	12,20	0,00				
5	0,9498	0,10	0,10	0,00	9,66	9,94	0,00				
7	0,8037	0,12	0,13	0,00	12,10	12,77	0,00				
10	0,8032	0,14	0,13	0,00	14,46	13,28	0,00	118,71	1187,11	2,88	
17	0,8154	0,16	0,17	0,00	15,75	17,08	0,00				
26	0,8838	0,14	0,11	0,00	13,55	11,08	0,00				
36	0,8232	0,12	0,12	0,00	11,67	12,00	0,00	208,66	2086,58	5,07	
50	0,8145	0,12	0,12	0,00	12,45	12,45	0,00				
100	0,7263	0,14	0,14	0,00	13,85	13,66	0,00	370,37	3703,70	8,99	

Πίνακας 2.2.4.α,β,γ,δ: Αποτελέσματα μετρήσεων σιδήρου και αρσενικού στο διάλυμα και στον πολφό για το δείγμα του Φοινικοδάσους (Τα α,β αντιστοιχούν στα αποστειρωμένα δείγματα και τα δείγματα γ,δ στα μη αποστειρωμένα δείγματα)

t, ()	(g)	mM			%		As, Fe		Fe(II)		
		As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)	
0	0,6689	0,09	0,07	0,00	8,97	6,98	0,00	6,06	60,61	0,28	
1	0,6736	0,15	0,07	0,00	14,66	7,13	0,00				
5	0,6747	1,74	1,62	0,00	174,04	162,17	0,00				
7	0,5298	2,01	0,24	0,00	201,23	23,60	0,00				
10	0,6491	0,20	0,21	0,00	19,69	20,71	0,00	6,35	63,49	0,29	
17	0,808	0,16	0,15	0,00	16,05	15,38	0,00				
26	0,7504	0,18	0,20	0,00	18,27	20,24	0,00				
36	0,6686	0,19	0,18	0,00	19,35	17,75	0,00	10,68	106,78	0,49	
50	0,7555	0,15	0,19	0,00	15,13	18,86	0,00				
100	0,484	0,28	0,43	0,00	28,16	43,32	0,00	21,26	212,60	0,98	

t, ()	(g)	mM			%		As, Fe		Fe(II)		
		As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)	
0	0,7717	0,13	0,13	0,00	12,56	12,56	0,00	9,52	95,24	0,44	
1	0,7851	0,13	0,05	0,00	13,05	5,32	0,00				
5	0,7258	0,14	0,16	0,00	14,22	15,70	0,00				
7	0,7264	0,10	0,17	0,00	10,34	16,98	0,00				
10	0,6925	0,08	0,07	0,00	8,49	6,95	0,00	11,16	111,59	0,52	
17	0,7021	0,14	0,16	0,00	14,10	15,62	0,00				
26	0,6613	0,16	0,19	0,00	15,52	19,35	0,00				
36	0,6451	0,15	0,17	0,00	14,65	16,91	0,00	10,00	100,05	0,46	
50	0,7123	0,16	0,16	0,00	15,79	15,98	0,00				
100	0,4367	0,12	0,15	0,00	12,25	14,64	0,00	22,99	229,92	1,06	

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0		0,7015	0,09	0,11	0,00	8,96	10,68	0,00	6,35	63,49	0,29
1		0,7734	0,14	0,15	0,00	14,10	15,15	0,00			
5		0,982	0,13	0,11	0,00	12,72	11,46	0,00			
7		0,5432	0,23	0,31	0,00	22,56	30,81	0,00			
10		0,5017	0,23	0,33	0,00	23,03	32,97	0,00	6,83	68,30	0,32
17		0,7637	0,00	0,38	0,00	0,00	37,70	0,00			
26		0,7466	0,00	0,56	0,00	0,00	56,32	0,00			
36		0,7414	0,00	0,73	0,00	0,00	73,16	0,00	639,73	6397,31	29,56
50		0,7659	0,00	0,80	0,00	0,00	80,30	0,00			
100		0,6944	0,00	1,01	0,00	0,00	100,88	0,00	1143,82	11438,19	52,85

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0		0,8011	0,27	0,28	0,00	27,30	27,98	0,00	2,60	25,97	0,12
1		0,8154	0,28	0,27	0,00	28,02	26,53	0,00			
5		0,744	0,31	0,34	0,00	31,23	33,94	0,00			
7		0,623	0,36	0,47	0,00	35,59	47,32	0,00			
10		0,4433	0,55	0,68	0,00	54,77	68,32	0,00	9,52	95,24	0,44
17		0,8395	0,00	0,57	0,00	0,00	56,65	0,00			
26		0,7111	0,00	0,71	0,00	0,00	71,17	0,00			
36		0,7225	0,00	0,75	0,00	0,00	74,76	0,00	527,18	5271,77	24,36
50		0,701	0,00	0,88	0,00	0,00	88,35	0,00			
100		0,6181	0,00	1,00	0,00	0,00	100,28	0,00	1118,81	11188,07	51,70

Πίνακας 2.2.5.α,β,γ,δ: Αποτελέσματα μετρήσεων σιδήρου και αρσενικού στο διάλυμα και στον πολφό για το δείγμα του Θορικού (Τα α,β αντιστοιχούν στα αποστειρωμένα δείγματα και τα δείγματα γ,δ στα μη αποστειρωμένα δείγματα)

t, ()	-	mM			%		As, Fe		Fe(II)		
		(g)	As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,7141	0,19	0,17	0,00	19,33	17,33	0,00	10,68	106,78	0,19	
1	0,6935	0,18	0,17	0,00	17,50	17,33	0,00				
5	0,8596	0,19	0,17	0,00	19,33	17,00	0,00				
7	0,7368	0,17	0,19	0,00	17,33	18,83	0,00				
10	0,8576	0,18	0,18	0,00	18,17	17,50	0,00	13,56	135,64	0,24	
17	0,8349	0,19	0,17	0,00	18,50	17,17	0,00				
26	0,7706	0,18	0,18	0,00	18,17	18,00	0,00				
36	0,7658	0,18	0,17	0,00	17,67	16,83	0,00	21,26	212,60	0,38	
50	0,7141	0,18	0,18	0,00	18,00	17,83	0,00				
100	0,6752	0,24	0,31	0,00	23,67	30,83	0,00	26,46	264,55	0,47	

t, ()	-	mM			%		As, Fe		Fe(II)		
		(g)	As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,7152	0,12	0,17	0,00	12,17	17,23	0,00	10,29	102,93	0,18	
1	0,6009	0,20	0,22	0,00	20,07	22,27	0,00				
5	0,7758	0,15	0,16	0,00	15,28	16,15	0,00				
7	0,8172	0,18	0,21	0,00	17,54	20,52	0,00				
10	0,7793	0,17	0,18	0,00	16,94	17,81	0,00	10,87	108,71	0,19	
17	0,824	0,18	0,19	0,00	18,23	19,38	0,00				
26	0,7403	0,18	0,22	0,00	18,50	21,94	0,00				
36	0,7515	0,19	0,21	0,00	19,31	20,57	0,00	22,70	227,03	0,40	
50	0,7021	0,19	0,21	0,00	19,24	21,15	0,00				
100	0,6234	0,31	0,33	0,00	30,67	33,02	0,00	29,34	293,41	0,52	

t, ()	-	mM			%		As, Fe		Fe(II)		
		(g)	As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,6141	0,20	0,25	0,00	20,31	25,06	0,00	10,39	103,90	0,18	
1	0,5635	0,20	0,26	0,00	19,92	26,24	0,00				
5	0,8081	0,16	0,16	0,00	16,05	16,22	0,00				
7	0,5624	0,26	0,27	0,00	26,29	27,23	0,00				
10	0,7755	0,20	0,51	0,00	20,15	50,72	0,00	139,01	1390,09	2,46	
17	0,8175	0,00	0,48	0,00	0,00	48,46	0,00				
26	0,7566	0,00	0,71	0,00	0,00	70,91	0,00				
36	0,7161	0,00	0,79	0,00	0,00	79,50	0,00	1912,46	19124,58	33,82	
50	0,6656	0,00	0,96	0,00	0,00	96,34	0,00				
100	0,8736	0,00	0,84	0,00	0,00	83,55	0,00	1944,20	19442,04	34,38	

t, ()	-	mM			%		As, Fe		Fe(II)		
		(g)	As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,7159	0,19	0,24	0,00	19,46	23,76	0,00	9,43	94,28	0,17	
1	0,64	0,20	0,21	0,00	19,95	20,78	0,00				
5	0,8181	0,16	0,20	0,00	15,70	20,00	0,00				
7	0,7917	0,18	0,21	0,00	17,72	20,62	0,00				
10	0,7973	0,00	0,34	0,00	0,00	33,69	0,00	117,85	1178,45	2,08	
17	0,7924	0,00	0,37	0,00	0,00	36,94	0,00				
26	0,7862	0,00	0,55	0,00	0,00	55,39	0,00				
36	0,7715	0,00	0,71	0,00	0,00	70,86	0,00	1943,24	19432,42	34,36	
50	0,7848	0,00	0,75	0,00	0,00	74,55	0,00				
100	0,7736	0,00	0,87	0,00	0,00	86,52	0,00	2235,69	22356,90	39,53	

Πίνακας 2.2.6.α,β,γ,δ: Αποτελέσματα μετρήσεων σιδήρου και αρσενικού στο διάλυμα και στον πολφό για το δείγμα της Κέας (Τα α,β αντιστοιχούν στα αποστειρωμένα δείγματα και τα δείγματα γ,δ στα μη αποστειρωμένα δείγματα)

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,8818	0,33	0,41	0,00	33,16	40,72	0,00	5,39	53,87	0,17	
1	0,9054	0,34	0,35	0,00	33,73	34,93	0,00				
5	0,8087	0,40	0,38	0,00	39,60	38,09	0,00				
7	0,7726	0,39	0,38	0,00	38,52	38,34	0,00				
10	0,6713	0,46	0,47	0,00	46,30	46,70	0,00	7,31	73,11	0,23	
17	0,8141	0,39	0,37	0,00	39,02	36,70	0,00				
26	0,8922	0,35	0,38	0,00	35,25	37,54	0,00				
36	0,8015	0,39	0,40	0,00	38,58	39,92	0,00	6,35	63,49	0,20	
50	0,8134	0,39	0,41	0,00	38,72	40,55	0,00				
100	0,7608	0,59	0,63	0,00	59,41	63,12	0,00	10,00	100,05	0,31	

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0	0,7545	0,24	0,24	0,00	23,52	24,23	0,00	8,37	83,69	0,26	
1	0,7928	0,25	0,25	0,00	25,01	25,36	0,00				
5	0,8061	0,24	0,30	0,00	23,79	29,83	0,00				
7	0,8732	0,24	0,26	0,00	24,28	25,84	0,00				
10	0,7897	0,25	0,28	0,00	25,11	28,01	0,00	6,93	69,26	0,22	
17	0,7065	0,28	0,29	0,00	27,85	28,79	0,00				
26	0,8546	0,22	0,23	0,00	22,07	22,86	0,00				
36	0,8151	0,25	0,28	0,00	25,21	28,36	0,00	9,91	99,09	0,31	
50	0,7979	0,24	0,26	0,00	24,36	26,39	0,00				
100	0,6605	0,46	0,52	0,00	46,00	52,46	0,00	12,60	126,02	0,40	

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0		0,7885	0,20	0,23	0,00	20,18	22,75	0,00	5,39	53,87	0,17
1		0,7981	0,21	0,25	0,00	21,31	25,03	0,00			
5		0,8385	0,21	0,22	0,00	20,84	21,97	0,00			
7		0,6987	0,24	0,28	0,00	24,12	27,75	0,00			
10		0,6749	0,00	0,36	0,00	0,00	35,79	0,00	16,07	160,65	0,50
17		0,7102	0,00	0,54	0,00	0,00	54,10	0,00			
26		0,7935	0,00	0,56	0,00	0,00	56,45	0,00			
36		0,7222	0,00	0,76	0,00	0,00	75,72	0,00	638,77	6387,69	20,03
50		0,7559	0,00	0,79	0,00	0,00	78,97	0,00			
100		0,7523	0,00	0,81	0,00	0,00	81,11	0,00	850,41	8504,09	26,67

t, ()	-	(g)	mM		%		As, Fe		Fe(II)		
			As(V)	As(T)	Fe(II)	As(V)	As(T)	Fe(II)	mg/L	mg/kg	% Fe(II)
0		0,7414	0,23	0,24	0,00	23,36	24,09	0,00	9,72	97,16	0,30
1		0,7751	0,23	0,25	0,00	22,76	25,20	0,00			
5		0,7146	0,26	0,26	0,00	26,43	25,68	0,00			
7		0,7804	0,25	0,31	0,00	25,21	31,25	0,00			
10		0,6635	0,00	0,45	0,00	0,00	45,00	0,00	19,14	191,44	0,60
17		0,7657	0,00	0,58	0,00	0,00	57,65	0,00			
26		0,741	0,00	0,63	0,00	0,00	62,69	0,00			
36		0,7676	0,00	0,69	0,00	0,00	68,91	0,00	757,09	7570,95	23,74
50		0,7141	0,00	0,85	0,00	0,00	84,58	0,00			
100		0,6633	0,00	0,96	0,00	0,00	95,65	0,00	963,92	9639,25	30,23

Πίνακας 2.2.7.α,β,γ,δ: Αποτελέσματα μετρήσεων σιδήρου και αρσενικού στο διάλυμα και στον πολφό για το δείγμα της Σαβούρας (Τα α,β αντιστοιχούν στα αποστειρωμένα δείγματα και τα δείγματα γ,δ στα μη αποστειρωμένα δείγματα)

t, ()	-	mM			%	As, Fe			Fe(II)
		As(V)	As(T)	Fe(II)		As(V)	As(T)	Fe(II)	% Fe(II)
0	0,7739	0,13	0,06	0,00	13,40	6,26	0,00	0,00	
1	0,7921	0,16	0,11	0,00	16,01	10,73	0,00	0,00	
5	0,7075	0,19	0,19	0,00	19,11	19,49	0,00	0,00	
7	0,7665	0,17	0,18	0,00	16,68	18,26	0,00	0,00	
10	0,7835	0,10	0,14	0,00	10,32	13,59	0,00	0,00	
17	0,8438	0,18	0,16	0,00	17,99	16,22	0,00	0,00	
26	0,6567	0,21	0,20	0,00	20,69	20,49	0,00	0,00	
36	0,66954	0,25	0,27	0,00	25,10	26,69	0,00	0,00	
50	0,8045	0,17	0,19	0,00	16,62	19,31	0,00	0,00	
100	0,4527	0,53	0,55	0,00	53,39	54,84	0,00	0,00	

t, ()	-	mM			%	As, Fe			Fe(II)
		As(V)	As(T)	Fe(II)		As(V)	As(T)	Fe(II)	% Fe(II)
0	0,7616	0,05	0,07	0,00	4,77	6,54	0,00	0,00	
1	0,8195	0,15	0,18	0,00	14,85	17,82	0,00	0,00	
5	0,8463	0,14	0,17	0,00	14,10	16,66	0,00	0,00	
7	0,6857	0,15	0,22	0,00	14,61	21,82	0,00	0,00	
10	0,7277	0,13	0,22	0,00	12,53	22,30	0,00	0,00	
17	0,7173	0,13	0,22	0,00	13,26	22,22	0,00	0,00	
26	0,832	0,16	0,18	0,00	15,62	18,06	0,00	0,00	
36	0,8232	0,16	0,20	0,00	15,61	19,56	0,00	0,00	
50	0,7676	0,16	0,20	0,00	16,48	19,99	0,00	0,00	
100	0,6481	0,20	0,24	0,00	19,92	24,44	0,00	0,00	

t, ()	-	(g)	mM			%	As, Fe			Fe(II)
			As(V)	As(T)	Fe(II)		As(V)	As(T)	Fe(II)	% Fe(II)
0		0,8181	0,07	0,22	0,00	6,94	21,98	0,00	0,00	
1		0,8205	0,03	0,23	0,00	3,46	22,75	0,00	0,00	
5		0,8463	0,09	0,22	0,00	8,81	21,63	0,00	0,00	
7		0,6445	0,09	0,27	0,00	9,50	27,46	0,00	0,00	
10		0,7496	0,07	0,24	0,00	7,35	23,84	0,00	0,00	
17		0,7788	0,11	0,24	0,00	10,73	24,39	0,00	0,00	
26		0,7654	0,06	0,26	0,00	6,15	26,02	0,00	0,00	
36		0,7172	0,09	0,27	0,00	8,97	27,27	0,00	0,00	
50		0,7654	0,10	0,25	0,00	9,85	25,32	0,00	0,00	
100		0,5729	0,31	0,34	0,00	30,91	34,14	0,00	0,00	

t, ()	-	(g)	mM			%	As, Fe			Fe(II)
			As(V)	As(T)	Fe(II)		As(V)	As(T)	Fe(II)	% Fe(II)
0		0,8082	0,18	0,23	0,00	18,22	23,07	0,00	0,00	
1		0,8443	0,18	0,24	0,00	17,50	24,24	0,00	0,00	
5		0,7552	0,19	0,25	0,00	19,05	25,10	0,00	0,00	
7		0,5288	0,33	0,40	0,00	32,85	39,57	0,00	0,00	
10		0,7893	0,19	0,26	0,00	18,62	26,48	0,00	0,00	
17		0,7131	0,21	0,28	0,00	20,84	27,98	0,00	0,00	
26		0,7792	0,19	0,25	0,00	18,68	24,55	0,00	0,00	
36		0,7732	0,20	0,28	0,00	20,03	27,69	0,00	0,00	
50		0,7821	0,19	0,25	0,00	19,47	24,64	0,00	0,00	
100		0,6989	0,24	0,33	0,00	24,11	33,10	0,00	0,00	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τη μελέτη που παρουσιάστηκε προέκυψαν τα εξής συμπεράσματα:

- Τόσο τα ρυπασμένα όσο και τα υγιή εδάφη που εξετάστηκαν περιλαμβάνουν μικροοργανισμούς που μπορούν να μεταβάλλουν την οξειδωτική βαθμίδα του αρσενικού και συγκεκριμένα να ανάγουν το πεντασθενές αρσενικό σε τρισθενές. Δεν φαίνεται δηλαδή να είναι απαραίτητος ο μακροχρόνιος εγκλιματισμός των μικροοργανισμών σε συνθήκες υψηλών συγκεντρώσεων του τοξικού ρύπου, για να εμφανιστούν οι αντίστοιχες μεταβολικές αντιδράσεις.
- Σχεδόν όλο το αρσενικό που περνάει στο διάλυμα βρίσκεται στην ανηγμένη μορφή ως $As(III)$. Στη στερεά φάση δεν καταβυθίζονται ενώσεις του $As(III)$.
- Στα τρία από τα πέντε δείγματα το τελικό ποσοστό βιοαναγωγής είναι αρκετά υψηλό και κυμαίνεται από 85 μέχρι 100%. Το δείγμα με την μεγαλύτερη απόδοση στην αναγωγή του $As(V)$ είναι αυτό από το Φοινικόδασος του Λαυρίου.
- Ανιχνεύτηκαν επίσης σημαντικά ποσοστά $Fe(II)$ στους πολφούς των εδαφών σε ποσοστά από 9 έως 52%, δηλαδή υπήρξε μικροβιακή σιδηροαναγωγική δραστηριότητα στα τέσσερα από τα πέντε δείγματα.
- Κινητικά οι δύο δράσεις (αναγωγή του σιδήρου και του αρσενικού) εξελίσσονται σχεδόν παράλληλα, υποδεικνύοντας ταυτόχρονη ανάπτυξη και συνέργεια σιδηροαναγωγικών και αρσενικοαναγωγικών μικροοργανισμών.

Τα αποτελέσματα της μελέτης δείχνουν ότι σε περίπτωση ρύπανσης των εδαφών με αρσενικούχα υδατικά απόβλητα, μπορούν να δράσουν ταυτόχρονα δύο μηχανισμοί με αντίθετες επιπτώσεις ως προς τους κινδύνους επιρρύπανσης των νερών. Η προσρόφηση των αρσενικών ιόντων στα οξείδια του εδάφους συμβάλλει στη μείωση του κινδύνου, συγκρατώντας μεγάλο ποσοστό του As στα στερεά σωματίδια. Εντούτοις, η δημιουργία αναερόβιων συνθηκών και η ύπαρξη οργανικών συστατικών, που μπορούν να λειτουργήσουν ως θρεπτικό υπόστρωμα, αυξάνουν τον κίνδυνο, καθώς ενδέχεται να προκαλέσουν την αναγωγή και την εκ νέου κινητοποίηση του αρσενικού. Σε μη ελεγχόμενες συνθήκες η βιολογική αυτή δράση μπορεί να αποτελέσει περιβαλλοντική απειλή και είναι σημαντική η συστηματική παρακολούθηση της ποιότητας των νερών και η ανάπτυξη κατάλληλων τεχνικών πρόληψης και αντιμετώπισης. Αντίστροφα η ελεγχόμενη αξιοποίηση της συγκεκριμένης βιολογικής δραστηριότητας, με συστηματική συλλογή και καθαρισμό των στραγγισμάτων, μπορεί να αποτελέσει τη βάση για ανάπτυξη τεχνολογιών καθαρισμού των εδαφών, με στόχο την οριστική απομάκρυνση του ρύπου από τα εδάφη.

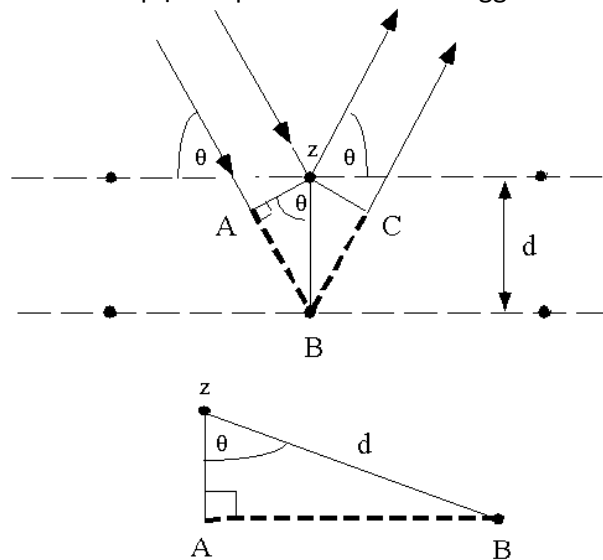
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

A. Περιγραφή Αναλυτικών Μεθόδων

I. Φασματοσκοπία ακτίνων-Χ περίθλασης (XRD)

Η μέθοδος της φασματοσκοπίας ακτίνων-Χ περίθλασης (XRD) αποτελεί μία από τις βασικότερες μεθόδους προσδιορισμού κρυσταλλικών φάσεων. Η ανάλυση με ακτίνες-Χ περίθλασης μπορεί να εφαρμοστεί σε δείγματα που έχουν έστω και κάποιο βαθμό κρυσταλλικότητας, ώστε να είναι δυνατή η λήψη του αντίστοιχου φάσματος. Το XRD αποτελεί τη μοναδική μέθοδο προσδιορισμού ορυκτών με ίδιο χημικό τύπο, που ανήκουν όμως σε διαφορετικό κρυσταλλογραφικό σύστημα και μπορεί να εφαρμοστεί είτε σε μονοκρυστάλλους είτε σε σκόνες μονοορυκτολογικής ή πολυορυκτολογικής σύστασης.

Σε κάθε ορυκτό αντιστοιχεί μία συγκεκριμένη ενδοατομική απόσταση d (η απόσταση με την οποία είναι διατεταγμένα τα άτομα στα διάφορα επίπεδα της κρυσταλλικής δομής) εφόσον διαφέρει το μέγεθος και η διάταξη των ατόμων. Με τη μέθοδο του XRD προσπίπτει στην επιφάνεια του δείγματος μονοχρωματική ακτινοβολία γνωστού μήκους κύματος λ υπό γωνία 2θ , η οποία περιθλάται από τα κρυσταλλικά επίπεδα σύμφωνα με τον τύπο του Bragg: $n\lambda = 2d \sin\theta$.



Σχήμα 1: Γραφική απεικόνιση του τύπου Bragg. d : ενδοατομική απόσταση, θ : γωνία Bragg, λ : μήκος κύματος ακτίνων Χ, n : ακέραιος αριθμός

Η ένταση της περιθλώμενης δέσμης διαφοροποιείται σε κάθε υλικό. Έτσι προσδιορίζοντας την γωνία 2θ υπολογίζεται το d και κατ' επέκταση το υλικό στο οποίο αντιστοιχεί. Στο σχήμα 1 παρουσιάζεται η αρχή της περίθλασης για ένα κρυσταλλικό υλικό.

Σε ένα κρύσταλλο προσπίπτουν δύο παράλληλες ακτίνες υπό γωνία 2θ . Η ακτίνα που καταλήγει στο σημείο A διανύει μικρότερη απόσταση από αυτήν που

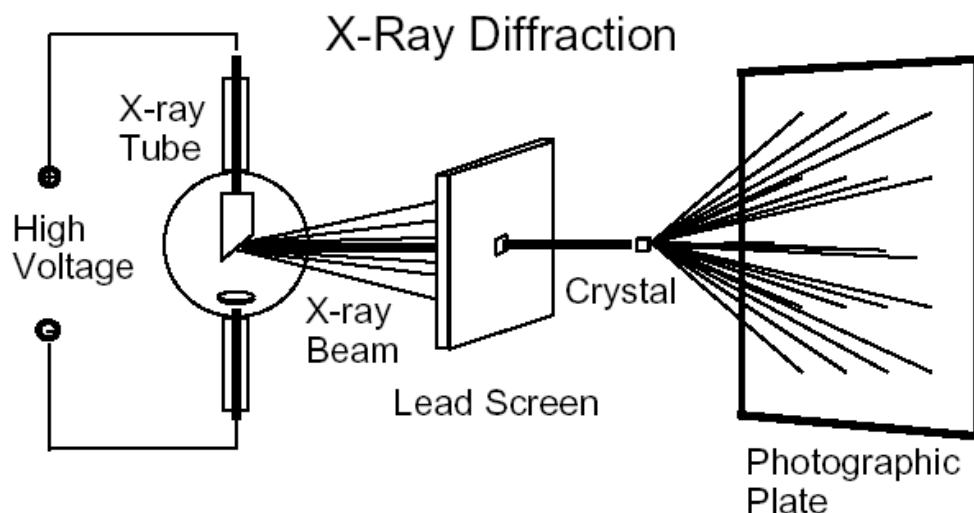
καταλήγει στο σημείο Β. Όταν η απόσταση ABC είναι ακέραιο πολλαπλάσιο του μήκους κύματος λ τότε οι ακτίνες ενισχύονται. Σε αυτήν την περίπτωση ισχύει:

$AB = BC = d \sin\theta$ και $AB + BC = n\lambda$ και προκύπτει ο τύπος του Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin\theta.$$

Οι δύο βασικές μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τη μέθοδο σκόνης πολυκρυσταλλικού υλικού είναι αυτή της φωτογραφικής κάμερας και αυτή του γωνιόμετρου περιθλασιμετρίας. Στη μέθοδο της φωτογραφικής κάμερας χρησιμοποιείται φιλμ για την καταγραφή των ανακλάσεων, ενώ στη μέθοδο του γωνιόμετρου περιθλασιμετρίας η καταγραφή των παλμών γίνεται με τη βοήθεια αναλογικού μετρητή ή σπινθηρόμετρου. Στο σχήμα 2 φαίνεται η αρχή λειτουργίας περιθλασίμετρου. Η μέθοδος με το γωνιόμετρο περιθλασιμετρίας επικρατεί έναντι της κάμερας και με αυτή τη μέθοδο ασχολείται και η παρούσα διπλωματική εργασία.

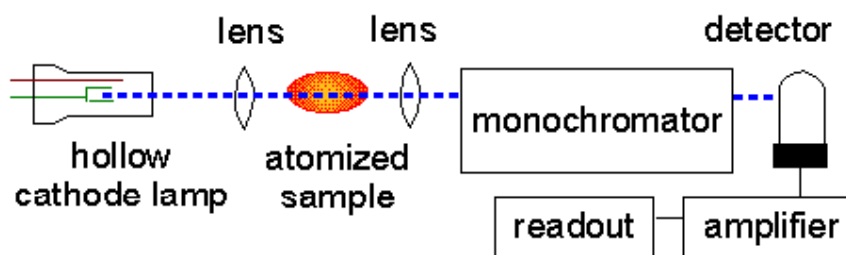
Το προς ανάλυση δείγμα τοποθετείται στο κέντρο του εσωτερικού κύκλου του γωνιόμετρου και το σπινθηρόμετρο ακτίνων Χ στην περιφέρεια του εξωτερικού. Οι παλμοί του σπινθηρόμετρου αποτυπώνονται σε χαρτί που ξετυλίγεται με ταχύτητα αντίστοιχη του γωνιόμετρου. Συνήθως η ακτινοβολία δεν ξεκινάει από γωνία μηδέν καθώς σε αυτή τη θέση ο μετρητής είναι ευθυγραμμισμένος με την πρωτογενή ακτινοβολία, αλλά από τις 5° και άνω. Η ένταση της ακτινοβολίας ελαττώνεται όσο μεγαλώνει η γωνία Bragg αλλά μπορεί να ενισχυθεί με μεγαλύτερες σχισμές ευθυγράμμισης.



Σχήμα 2: Αρχή λειτουργίας περιθλασίμετρου

II. Φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης φλόγας

Η μέθοδος της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης φλόγας (ΦΑΑΦ) στηρίζεται στην αρχή πως κάθε άτομο που βρίσκεται στην θεμελιώδη κατάσταση δηλαδή έχει την ελάχιστη δυνατή ενέργεια, μπορεί απορροφώντας ενέργεια να μεταβεί σε μια λιγότερο σταθερή κατάσταση δηλαδή στην διεγερμένη.



Σχήμα 3: οργανολογία φασματοφωτόμετρου ατομικής απορρόφησης.

Στο σχήμα 3 φαίνεται η οργανολογία του φασματοφωτόμετρου ατομικής απορρόφησης. Σε αυτό η απορροφόμενη από τα στοιχεία ακτινοβολία, το μήκος κύματος της οποίας εξαρτάται από την εσωτερική διάταξη του ατόμου, παράγεται από μια λυχνία κοίλης καθόδου (hollow cathode lamp, HCL). Οι λυχνίες HCL αποτελούνται από έναν κυλινδρικό, γυάλινο σωλήνα, εντός του οποίου υπάρχει ένα φέρον αέριο συνήθως νέον ή αργό. Έχουν το νέο με εφαρμογή τάσης μεταξύ των ηλεκτροδίων της λυχνίας το φέρον αέριο ιονίζεται και πάνω στην κάθοδο προσπίπτουν θετικά ιόντα που προκαλούν εξαέρωση και ατμοποίησης μέρους της καθόδου η οποία αποτελείται από το στοιχείο που προσδιορίζεται. Τα παραγόμενα άτομα διεγείρονται από την εκκένωση και εκπέμπουν την χαρακτηριστική ακτινοβολία του προσδιοριζόμενου στοιχείου. Σε περίπτωση που επιθυμείται προσδιορισμός περισσότερων του ενός στοιχείων, η κάθοδος που χρησιμοποιείται αποτελείται από κράμα διαφόρων στοιχείων και ονομάζεται πολυστοιχειακή.

Πέραν των λυχνιών HCL υπάρχουν και οι λυχνίες εκκένωσης (electrode less discharge lamps, EDL) χωρίς ηλεκτρόδια που έχουν καθαρότερο φάσμα εκπομπής και μεγαλύτερο χρόνο ζωής. Σε αυτές τις λυχνίες η εκκένωση γίνεται με μικροκύματα.

Στα φασματοφωτόμετρα διπλής φλόγας η ακτίνα διέρχεται από την φλόγα και οι δύο ακτινοβολίες ακολουθούν την ίδια διαδρομή μέχρι τον ανιχνευτή. Το ποσοστό της ακτινοβολίας που απορροφήθηκε από το προσδιοριζόμενο στοιχείο βρίσκεται από τη διαφορά έντασης των δύο ακτίνων.

Στην αρχή συμβαίνουν κατά σειρά η εξάτμιση του διαλύτη, η τήξη και εξαέρωση του άλατος και έπειτα συμβαίνουν ταυτόχρονα η διάσπαση των μορίων σε άτομα, η διεγερση και ο ιονισμός. Όλες αυτές οι διεργασίες πραγματοποιούνται με τη βοήθεια της φλόγας. Το μέρος όμως της φλόγας που χρησιμοποιείται για τις

μετρήσεις αντιστοιχεί στην ενδιάμεση περιοχή τα φλόγας στην οποία δεν πραγματοποιείται καμία αντίδραση.

Η φλόγα παράγεται σε καυστήρα προανάμιξης με συνδυασμό καυσίμου – οξειδωτικού. Στις περιπτώσεις δύστηκτων οξειδίων και αλάτων χρησιμοποιείται φλόγα υψηλής θερμοκρασίας, η οποία παράγεται με συνδυασμό αέρα, πρωτοξειδίου του αζώτου και ασετυλίνης, επειδή έχει αναγωγικές ιδιότητες και εμποδίζει το σχηματισμό οξειδίων. Σε τέτοιες περιπτώσεις προσαρμόζεται στον καυστήρα κεφαλή με μικρότερες διαστάσεις από αυτή που χρησιμοποιείται για την οξειδωτική φλόγα.

Το δείγμα εισέρχεται στον προθάλαμο ότι καυστήρα μέσω εκνεφωτή που μετατρέπει το δείγμα σε μικρά σταγονίδια, τα οποία υφίστανται επιπλέον κατάτμηση από τα πτερύγια του flow spoiler που βρίσκονται στο θάλαμο. Τα μικρά σταγονίδια συμπαρασύρονται με τα αέρια προς τη φλόγα, ενώ τα μεγαλύτερα συγκεντρώνονται στον πυθμένα του θαλάμου.

Οι μετρήσεις με τη μέθοδο της φασματοσκοπίας ατομικής απορρόφησης φλόγας βασίζονται στον νόμο του Lambert-Beer. Μία δέσμη ακτινοβολίας κατευθύνεται σε ένα δείγμα και μετριέται η ένταση της εξερχόμενης ακτινοβολίας. Ο νόμος του Lambert-Beer εκφράζει τη σχέση μεταξύ της ελάττωσης της έντασης της προσπίπτουσας ακτινοβολίας με τη συγκέντρωση του δείγματος μέσα από το οποίο διέρχεται η ακτινοβολία. Στις περιπτώσεις όμως όπου η συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου στοιχείου βρίσκεται εκτός της γραμμικής περιοχής, παρουσιάζονται αποκλίσεις από το νόμο του Lambert Beer και έτσι χρησιμοποιείται η πλήρης εξίσωση: $C = k_3A^2 + k_1A / k_2A - 1$, καθώς και δύο ή τρία πρότυπα διαλύματα. Για συγκεντρώσεις εντός της γραμμικής περιοχής ισχύει ο νόμος και χρησιμοποιείται μόνο ένα πρότυπο διάλυμα.

III. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΔΙΣΘΕΝΟΥΣ ΣΙΔΗΡΟΥ Fe(II) ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΚΑΙ ΠΟΛΦΟ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΦΑΙΝΑΝΘΡΟΛΙΝΗΣ^[44]

A. Προετοιμασία διαλυμάτων

- i. Παρασκευάζουμε διάλυμα φαιναθρολίνης με συγκέντρωση 12,6mM : Σε ποτήρι ζέσεως των 1000 ml προσθέτουμε 2,5g O-phenathroline (P26) και 20,4g C₈H₅KO₄ (Potassium phthalate P18) και το αφήνουμε στη μαγνητική ανάδευση μέχρι να διαλυθούν τα στερεά. Το φέρουμε σε ογκομετρική φιάλη 1000ml.

- ii. Παρασκευάζουμε διάλυμα δισθενούς σιδήρου 100ppm: Στο ποτήρι ζέσεως των 100ml διαλύουμε 0,0702g $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (A19). Από αυτό με αραιώση 1:10 παίρνουμε 100ml διαλύματος 10ppm σε Fe(II). Τα διαλύματα αυτά είναι σταθερά για περίπου 4 h. Μετά ο σίδηρος οξειδώνεται και τα διαλύματα από άχρωμα γίνονται φαιά.

B. Κατασκευή της καμπύλης αναφοράς

- i. Παρασκευάζουμε τα πρότυπα διαλύματα ως εξής:

Σε ογκομετρικές των 50ml προσθέτουμε :

- 25ml φαιναθρολίνη + 0ml διάλυμα Fe(II) + 25ml απιονισμένο νερό → 0 ppmFe(II). Αυτό αντιστοιχεί στο τυφλό δείγμα (blank).
 - 25ml φαιναθρολίνη + 5ml διάλυμα Fe(II) από το διάλυμα των 10ppm + απιονισμένο νερό → 1 ppmFe(II)
 - 25ml φαιναθρολίνη + 10ml διάλυμα Fe(II) από το διάλυμα των 10ppm + απιονισμένο νερό → 2 ppmFe(II)
 - 25ml φαιναθρολίνη + 20ml διάλυμα Fe(II) από το διάλυμα των 10ppm + απιονισμένο νερό → 4 ppmFe(II)
 - 25ml φαιναθρολίνη + 3ml διάλυμα Fe(II) από το διάλυμα των 100ppm + απιονισμένο νερό → 6 ppmFe(II)
 - 25ml φαιναθρολίνη + 4ml διάλυμα Fe(II) από το διάλυμα των 100ppm + απιονισμένο νερό → 8 ppmFe(II)
 - 25ml φαιναθρολίνη + 5ml διάλυμα Fe(II) από το διάλυμα των 100ppm + απιονισμένο νερό → 10 ppmFe(II)
- ii. Τα διαλύματα αυτά έχουν κόκκινο χρώμα που σκουραίνει όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του δισθενούς σιδήρου και τα μετράμε στο φασματοφωτόμετρο υπέρυθρης ακτινοβολίας (UV) στα 510nm στις κυψελίδες γυαλιού ή χαλαζία με διαστάσεις $1 \times 1 \text{cm}^2$. Από τις τιμές της απορρόφησης που θα πάρουμε κατασκευάζουμε την καμπύλη αναφοράς $A=f(C)$. Η καμπύλη αυτή θα πρέπει να αντιστοιχεί σε ευθεία η κλίση της οποίας θα μας δώσει τον συντελεστή απορρόφησης ή «μοριακή απορροφητικότητα» σύμφωνα με το νόμο του Lambert-Beer:

$$A = \varepsilon \cdot b \cdot C$$

Όπου :

A: η απορρόφηση σε κλίμακα από 0,100 έως 3,000

b : η διάσταση της κυψελίδας την οποία διασχίζει η ακτίνα (1cm)

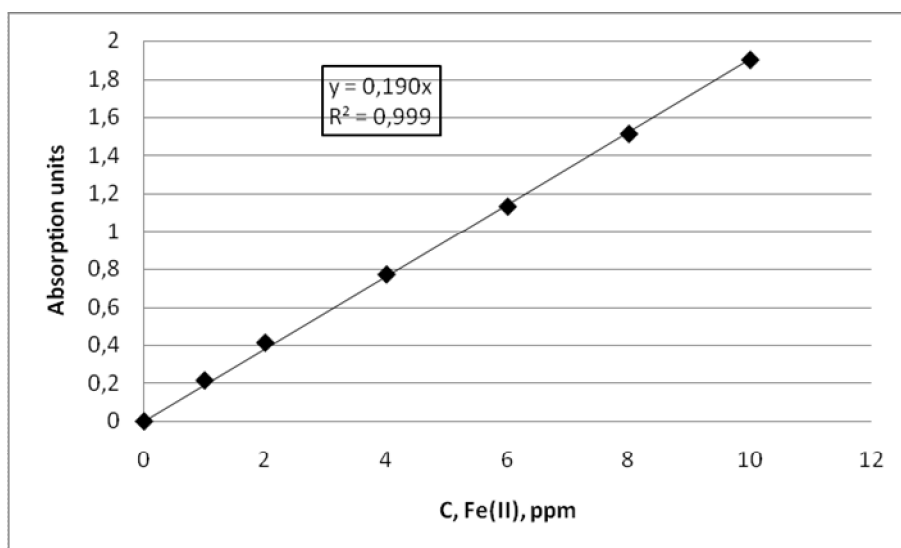
ε : η μοριακή απορροφητικότητα ή συντελεστής απορρόφησης

Από τον παραπάνω τύπο υπολογίζουμε το ε που αντιστοιχεί στον τύπο των δειγμάτων που εξετάζουμε και προσδιορίζουμε τα άγνωστα δείγματα διαιρώντας την τιμή της απορρόφησης που δίνουν με τον συντελεστή απορρόφησης ε .

Για να μετρήσουμε δείγματα, κάνουμε τις απαραίτητες αραιώσεις για να βρισκόμαστε στην περιοχή 1-10 ppm και σε δοκιμαστικούς σωλήνες τοποθετούμε 2ml φαιναθρολίνη και 2ml δείγμα το οποίο θα χρωματιστεί ανάλογα με τον περιεχόμενο σ' αυτό Fe(II).

Τα έγχρωμα δείγματα είναι σταθερά σε σκοτεινό μέρος για πολλούς μήνες. Εάν εκτεθούν στον ήλιο, αλλοιώνονται.

Η μέθοδος δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε διαλύματα που περιέχουν χηλικά σύμπλοκα όπως το EDTA και το NTA γιατί οι παρεμβολές που δημιουργούνται δεν επιτρέπουν επαρκή (ή και καθόλου) χρωματισμό των δειγμάτων.



Σχήμα 4 : Καμπύλη αναφοράς του Fe(II).

IV. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΤΟΥ ΤΡΙΣΘΕΝΟΥΣ ΑΡΣΕΝΙΚΟΥ, As(III), ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΚΑΙ ΠΟΛΦΟ ΜΕ ΤΗ ΜΕΘΟΔΟ ΤΟΥ ΜΟΛΥΒΔΕΝΙΟΥ^[45]

Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται έμμεσα η συγκέντρωση του τρισθενούς αρσενικού σε υδατικά διαλύματα με φασματοφωτομετρία υπέρυθρης ακτινοβολίας. Η μεταβολή στο χρώμα που προκαλείται από το σχηματισμό του έγχρωμου συμπλόκου του As(V) (αρσενικό μολυβδένιο) μετράται σε μονάδες απορρόφησης και με τη βοήθεια του νόμου του Lambert-Beer υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων.

A. Προετοιμασία διαλυμάτων

- i. Παρασκευάζουμε τα εξής αντιδραστήρια :

- **Θειικό οξύ**, H_2SO_4 , 5N: Σε ογκομετρική των 500ml βάζουμε περίπου 400ml απιονισμένο νερό και προσθέτουμε 70ml πυκνό θειικό οξύ. Συμπληρώνουμε με απιονισμένο νερό.
- **Potassium antimonyl tartrate** ($\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$): Σε 400ml απιονισμένο νερό διαλύουμε 1,3715g $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$ και το μεταφέρουμε σε ογκομετρική φιάλη των 500ml μέχρις όγκου.
- **Ammonium Molybdate** [$(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]: Σε 400ml απιονισμένο νερό διαλύουμε 20g $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ και το μεταφέρουμε σε ογκομετρική φιάλη των 500ml μέχρις όγκου.
- **Ασκορβικό οξύ 0,01M**: Σε 80ml απιονισμένο νερό διαλύουμε 3,86g ασκορβικό οξύ και το μεταφέρουμε σε ογκομετρική φιάλη των 100ml μέχρις όγκου.

Τα παραπάνω αντιδραστήρια είναι σταθερά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με εξαίρεση το ασκορβικό οξύ το οποίο φυλάσσεται στο ψυγείο σε θερμοκρασία $<4^\circ\text{C}$. Χρησιμοποιώντας τα αντιδραστήρια αυτά παρασκευάζουμε αυθημερόν το αντιδραστήριο που θα χρησιμοποιηθεί για το σχηματισμό του έγχρωμου συμπλόκου. Για την παρασκευή 100ml του αντιδραστηρίου αυτού αναμιγνύουμε :

- 50ml H_2SO_4 , 5N
- 5ml $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 0.5 \text{H}_2\text{O}$
- 15ml $(\text{NH}_4)\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 30ml ασκορβικό οξύ 0,01M

Το αντιδραστήριο αυτό είναι σταθερό σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για περίπου 4h.

- ii. Παρασκευάζουμε το διάλυμα – στοκ του As(V) ως εξής :

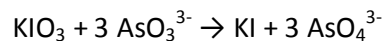
Σε 800ml απιονισμένο νερό διαλύουμε 1,845g και 1,5g NaOH. Συμπληρώνουμε σε ογκομετρική μέχρι τα 1000ml.

- iii. Παρασκευάζουμε διάλυμα HCl 24mM αραιώνοντας 6ml από HCl 1M σε 250ml.
- iv. Παρασκευάζουμε διάλυμα 48mM HCl και 5mM KIO_3 : Σε 800ml απιονισμένο νερό προσθέτουμε 48ml διάλυμα HCl 1M και 1,085g KIO_3 . Αραιώνουμε μέχρι τα 1000ml.

B. Κατασκευή της καμπύλης αναφοράς

- i. Παρασκευάζουμε τα πρότυπα διαλύματα του As(V) ως εξής:
- Από το διάλυμα – στοκ του As(V) (διάλυμα B) προσθέτουμε σε ογκομετρική των 50ml :

- 1ml και συμπληρώνουμε στα 50ml με απιονισμένο νερό και αραιώνουμε 1:10 → 25μM As(V)
 - 2ml και συμπληρώνουμε στα 50ml με απιονισμένο νερό και αραιώνουμε 1:10 → 50μM As(V)
 - 4ml και συμπληρώνουμε στα 50ml με απιονισμένο νερό και αραιώνουμε 1:10 → 100μM As(V)
 - 6ml και συμπληρώνουμε στα 50ml με απιονισμένο νερό και αραιώνουμε 1:10 → 150μM As(V)
 - 8ml και συμπληρώνουμε στα 50ml με απιονισμένο νερό και αραιώνουμε 1:10 → 200μM As(V)
 - 10ml και συμπληρώνουμε στα 50ml με απιονισμένο νερό και αραιώνουμε 1:10 → 250μM As(V)
- ii. Σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες με πώμα προσθέτουμε 2ml HCl 24mM (διάλυμα Γ), 2ml διάλυμα και 1ml από το διάλυμα Α. Για το «τυφλό» δείγμα προσθέτουμε 2ml απιονισμένο νερό. Τοποθετούμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε κλίβανο ή υδατόλουτρο στους 78°C για 10 λεπτά. Ψύχουμε τους σωλήνες με νερό για 10 min. Τα διαλύματα αποκτούν μπλε χρώμα λόγω του σχηματισμού του έγχρωμου συμπλόκου του αρσενικού μολυβδενίου.
- iii. Τα πρότυπα διαλύματα του As(III) παρασκευάζονται με τον ίδιο τρόπο, όπως αυτά του As(V). Για να κατασκευάσουμε την καμπύλη αναφοράς ετοιμάζουμε δύο σειρές με δοκιμαστικούς σωλήνες. Στην πρώτη σειρά τοποθετούμε ότι και στο βήμα 2. Τα τελικά διαλύματα μετά την ψύξη θα πρέπει να παραμείνουν άχρωμα. Στη δεύτερη σειρά προσθέτουμε 2ml από 48mM HCl και 5mM KIO₃ (διάλυμα Δ), 2ml από το κάθε πρότυπο διάλυμα και 1ml από το διάλυμα Α. Με τον τρόπο αυτό το αρσενικό οξειδώνεται από As(III) σε As(V) σύμφωνα με την αντίδραση:



Έτσι μετράμε τη συνολική ποσότητα του αρσενικού στο διάλυμα.

Τα διαλύματα αυτά έχουν μπλε χρώμα που σκουραίνει όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του πεντασθενούς αρσενικού και τα μετράμε στο φασματοφωτόμετρο υπέρυθρης ακτινοβολίας (UV) στα 865nm στις κυψελίδες γυαλιού ή χαλαζία με διαστάσεις 1x1cm².

- iv. Από τις τιμές της απορρόφησης που θα πάρουμε κατασκευάζουμε την καμπύλη αναφοράς A=f(C). Η καμπύλη αυτή θα πρέπει να αντιστοιχεί σε ευθεία η κλίση της οποίας θα μας δώσει τον συντελεστή απορρόφησης ή «μοριακή απορροφητικότητα» σύμφωνα με το νόμο του Lambert-Beer:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot C$$

Όπου

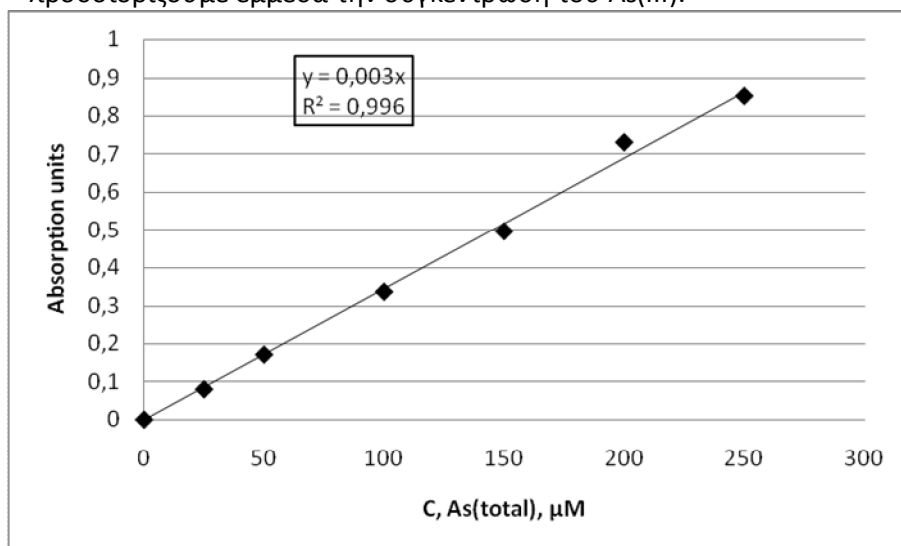
A: η απορρόφηση σε κλίμακα από 0,100 έως 3,000

b : η διάσταση της κυψελίδας την οποία διασχίζει η ακτίνα (1cm)

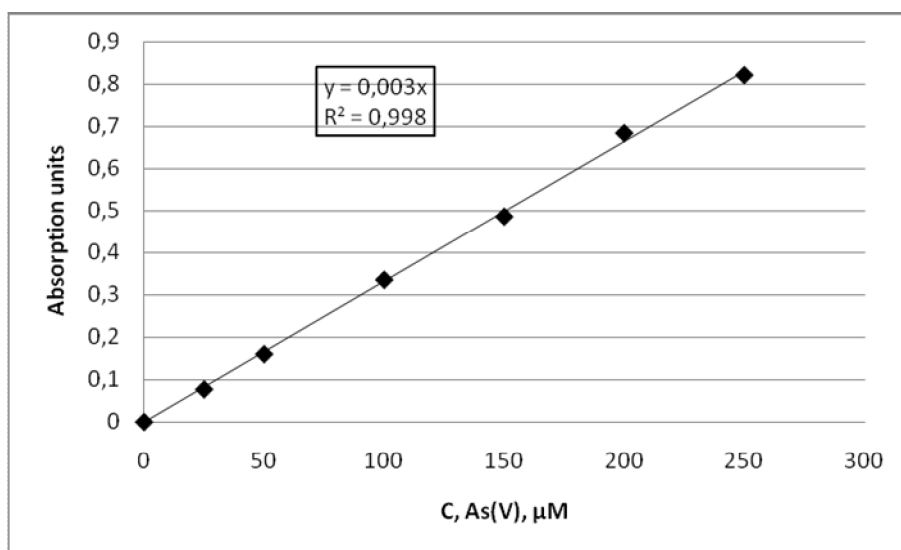
ε : η μοριακή απορροφητικότητα ή συντελεστής απορρόφησης

Από τον παραπάνω τύπο υπολογίζουμε το ϵ που αντιστοιχεί στον τύπο των δειγμάτων που εξετάζουμε και προσδιορίζουμε τα άγνωστα δείγματα διαιρώντας την τιμή της απορρόφησης που δίνουν με τον συντελεστή απορρόφησης ϵ .

Τα έγχρωμα διαλύματα είναι σταθερά σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για περίπου 4 ώρες. Για να μετρήσουμε άγνωστα δείγματα, πρώτα μετράμε το ολικό αρσενικό με ατομική απορρόφηση. Ανάλογα με την περιοχή συγκεντρώσεων, κάνουμε τις απαραίτητες αραιώσεις, έτσι ώστε να βρισκόμαστε στην περιοχή 25-250 μM As. Τα δείγματα προετοιμάζονται με τον ίδιο τρόπο που φτιάχνουμε τα πρότυπα διαλύματα, χρησιμοποιώντας το διάλυμα 24mM HCl για μέτρηση του As(V) και το 48mM HCl και 5mM KIO_3 για μέτρηση του συνολικού αρσενικού. Από τη διαφορά των δύο μετρήσεων προσδιορίζουμε έμμεσα την συγκέντρωση του As(III).



Σχήμα 5 : Καμπύλη αναφοράς του $\text{As}_{\text{ολικού}}$.



Σχήμα 6 : Καμπύλη αναφοράς του As(V).

C. Μέτρηση δειγμάτων

- i. Μέτρηση As(III) μέσω As(V) και As(T) στα διαλύματα
- As(V) : Σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 12ml τοποθετούνται 2mL HCl 24mM, 2mL δείγμα και 1mL διάλυμα mixed reagent (είναι το διάλυμα A της μεθόδου). Τοποθετούμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε κλίβανο ή υδατόλουτρο στους 78°C για 10 min. Ψύχουμε τους σωλήνες με νερό για 10 min. Τα διαλύματα αποκτούν μπλε χρώμα και μετράμε την απορρόφηση που δίνουν στα 895nm στο φασματοφωτόμετρο UV.
 - As(T) : Σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 12ml προσθέτουμε 2ml από το διάλυμα [48mM HCl και 5mM KJO₃] (διάλυμα Δ της μεθόδου), 2ml από το κάθε δείγμα και 1ml από το διάλυμα A. Τοποθετούμε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε κλίβανο ή υδατόλουτρο στους 78°C για 10 λεπτά. Ψύχουμε τους σωλήνες με νερό για 10 min. Τα διαλύματα αποκτούν μπλε χρώμα και μετράμε την απορρόφηση που δίνουν στα 895nm στο φασματοφωτόμετρο UV.
 - Αφού μετατρέψουμε την απορρόφηση σε συγκέντρωση, υπολογίζουμε το
$$As(III) = As(T) - As(V)$$
- ii. Μέτρηση As(III) στον πολφό
- Σε δοκιμαστικούς σωλήνες των 12ml τοποθετούμε 10ml διαλύματος HCl 0.5 N. Από τα φιαλίδια ορού παίρνουμε με σύριγγα 1ml πολφό (αναδεύουμε πριν καλά για ομοιογένεια) και το προσθέτουμε στους δοκιμαστικούς σωλήνες. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες τοποθετούνται στην ανάδευση (μέσα σε πλαστικό ποτήρι ζέσεως) για 24 ώρες. Αφού διαπιστωθεί η πλήρης διάλυση του στερεού και ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται παραπάνω για τη μέτρηση As(III) σε διαλύματα.

V. ΧΩΝΕΥΣΗ ΜΕ ΒΑΣΙΛΙΚΟ ΝΕΡΟ (ISO 11466)

Η μέθοδος χώνευσης που ακολουθεί περιγράφεται σύμφωνα με το ISO Standard 11466. Το διεθνές αυτό πρότυπο προτείνεται για τον προσδιορισμό των περιεχομένων μετάλλων σε εδάφη και παρεμφερή υλικά που περιέχουν λιγότερο από 20% m/m οργανικό άνθρακα σύμφωνα με το πρότυπο ISO 10694. Εδάφη με συγκεντρώσεις οργανικού άνθρακα μεγαλύτερες του 20% m/m χρήζουν κατεργασίας με επιπλέον νιτρικό οξύ.

ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια θα πρέπει να ανταποκρίνονται στην καθαρότητα των προηγούμενων αναλύσεων. Η καθαρότητά τους θα πρέπει να επαληθεύεται με δοκιμές αναφοράς-ελέγχου.

ΝΕΡΟ. Είναι απαραίτητη η χρήση νερού που αντιστοιχεί στο βαθμό καθαρότητας 2 του ISO 3696. μπορεί να χρησιμοποιηθεί απιονισμένο νερό από γυάλινο αποστακτήρα. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται νερό διπλά απιονισμένο ή φιλτραρισμένο (τύπου MilliQ). Απλό απιονισμένο νερό θα πρέπει να αποφεύγεται λόγω του ότι μπορεί να περιέχει οργανικά σύμπλοκα μεταλλικών ιόντων. Συστήνεται η χρήση νερού από την ίδια παρτίδα για όλες τις αναλύσεις συμπεριλαμβανομένων και αυτών των δοκιμών αναφοράς ελέγχου.

ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΠΟΥ ΧΡΕΙΑΖΟΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗ ΔΟΚΙΜΗ

Υδροχλωρικό οξύ $c(\text{HCl})=12.0 \text{ mol L}^{-1}$, $\rho=1.19 \text{ g mL}^{-1}$.

Νιτρικό οξύ $c(\text{HNO}_3)=15.8 \text{ mol L}^{-1}$, $\rho=1.42 \text{ g mL}^{-1}$

Νιτρικό οξύ $c(\text{HNO}_3)=0.5 \text{ mol L}^{-1}$, διαλύονται 32 mL διαλύματος νιτρικού οξέος συγκέντρωσης 15.8 mol L^{-1} σε τελικό όγκο 1 L.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Όλα τα γυάλινα δοχεία και φιάλες που θα χρησιμοποιηθούν στη δοκιμή θα πρέπει να έχουν εκ των προτέρων τοποθετηθεί σε ζεστό νιτρικό οξύ 0.5 mol L^{-1} για 6 h και να ξεπλυθούν με απιονισμένο νερό.

Δοχείο αντίδρασης: Φιάλη, χωρητικότητας 250ml, στην οποία να μπορεί να προσαρμοσθεί υδρόψυκτος συμπυκνωτήρας, μήκους τουλάχιστον 200 ml.

Δοχείο απορρόφησης: Τύπου μη-επιστροφής. Το δοχείο απορρόφησης είναι απαραίτητο μόνον όταν πρόκειται να προσδιοριστεί υδράργυρος.

Διάταξη θέρμανσης: Κατάλληλη διάταξη για τη θέρμανση του περιεχόμενου του δοχείου αντίδρασης μέχρι τη θερμοκρασία που απαιτείται για τη διαδικασία εξάτμισης- επανασυμπύκνωσης του διαλύματος προσβολής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΗΣ

Τοποθετούνται στη φιάλη που θα γίνει η αντίδραση $3 \pm 0.001\text{g}$ δείγματος που έχει υποστεί φυσική ξήρανση στον αέρα (air-drying) (η περιεκτικότητα του νερού στο δείγμα που έχει υποστεί φυσική ξήρανση πρέπει να υπολογιστεί με ξεχωριστή δοκιμή σύμφωνα με το πρότυπο ISO 11465).

Στο έδαφος προστίθεται 0.5-1 ml νερού για να παραχθεί υδαρής και αναμίξιμος πολφός. Στη συνέχεια προστίθενται υπό ανάδευση 21 ml HCl, 12.0 mol/l και ακολούθως 7 ml 15.8 mol/l HNO_3 , στάγδην εάν αυτό κριθεί απαραίτητο για την αποφυγή αφρισμού.

Προστίθενται 15 ml HNO_3 0.5 mol L^{-1} στο δοχείο απορρόφησης, συνδέεται το δοχείο με τον συμπυκνωτήρα και τοποθετούνται και τα δύο επάνω στο δοχείο αντίδρασης. Η διάταξη αφήνεται επί 16 h σε θερμοκρασία δωματίου για να επιτευχθεί η αργή οξείδωση της οργανικής ύλης στο έδαφος.

Στη συνέχεια γίνεται αύξηση της θερμοκρασίας του μίγματος με αργό ρυθμό μέχρι να επιτευχθούν συνθήκες εξάτμισης-συμπύκνωσης και διατηρείται έτσι επί 2 ώρες. Η ζώνη συμπύκνωσης πρέπει να είναι μικρότερη από το 1/3 του ύψους του συμπυκνωτήρα.

Μετά το πέρας των 2 h αφήνεται το διάλυμα να έρθει σε θερμοκρασία δωματίου.

Προστίθεται το περιεχόμενο του δοχείου απορρόφησης στο δοχείο αντίδρασης μέσω του συμπυκνωτήρα και ξεπλένονται και τα δύο με 10 ml διαλύματος HNO_3 , 0.5 mol l^{-1} .

Μεταφέρεται το περιεχόμενο του δοχείου αντίδρασης σε ογκομετρική φιάλη 100 ml, ξεπλένεται το δοχείο με HNO_3 , 0.5 mol l^{-1} για την παραλαβή όλου του περιεχομένου του και πληρώνεται η φιάλη με απιονισμένο νερό μέχρις όγκου 100 ml. Η ογκομετρική φράσσεται και ανακινείται.

Αφού το αδιάλυτο υπόλειμμα καθιζάνει το υπερκείμενο χρησιμοποιείται για την τελική ανάλυση των στοιχείων.

Εάν το διάλυμα δεν διαυγάζει ικανοποιητικά τότε φυγοκεντρώμε ή φιλτράρουμε με μεμβράνες κυτταρίνης, με άνοιγμα πόρων 8 mm.

VI. XRF

Το φασματοφωτόμετρο εκπομπής ακτίνων-Χ φθορισμού του εργαστηρίου Μεταλλουργίας είναι της εταιρείας XEPOS και λειτουργεί σε συνεργασία με λογισμικό SPECTRO X-LAB PRO για τη μέτρηση συγκεντρώσεων στοιχείων. Το οπτικό σύστημα περιλαμβάνει τη λυχνία-πηγή εκπομπής των ακτίνων-Χ, αναλυτή 3

στόχων και ανιχνευτή που εντοπίζει τη διαφορά της εντάσης της εισερχόμενης από την εξερχόμενη δέσμη. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ανάλυση φυσικών στερεών δειγμάτων με τη μορφή σκόνης είναι η turboquant η οποία πραγματοποιεί μετρήσεις της συγκέντρωσης κυρίων στοιχείων και ιχνοστοιχείων σε φυσικά και ρυπασμένα στερεά υλικά. Το κονιοποιημένο δείγμα πακτώνεται σε πρέσσα με τη βοήθεια ειδικού κεριού (συνεκτικό κεριό της εταιρείας fluxana) και μορφοποιείται σε ταμπλέτα η επιφάνεια της οποίας σαρώνεται από τη δέσμη των ακτίνων-Χ και με τη βοήθεια του αναλυτή λαμβάνεται φάσμα των εντάσεων των στοιχείων που περιέχει το δείγμα και πίνακας των συγκεντρώσεων και της απώλειας πύρωσης στις οποίες αντιστοιχούν οι εντάσεις των κορυφών του φάσματος. Το όργανο έχει τη δυνατότητα να πραγματοποιεί την ίδια ανάλυση σε τηγμένα δείγματα που έχουν μορφοποιηθεί σε υαλώδεις παστίλιες με τη βοήθεια ειδικού κλιβάνου τήξης. Η μέτρηση τηγμένων δειγμάτων έχει εξαιρετική ακρίβεια σε σχέση με τη μέτρηση σε ταμπλέτες πακτωμένης σκόνης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Allison J.D., D.S. Brown and J.K. Novo-Gradac (1991) '**Minteqa2/Prodefa2. Ageochemical Assessment Model for Environmental Systems**', Version 3.
2. Alloway, B.J. *Heavy metals in soils*; Blackie, Glasgow, UK, **1993**
3. Balch et al., 1979, **Methanogens : re-evaluation of a unique biological group**, *Microbiol. Rev.* 43, 260-296
4. Bhattacharya P., Mukherjee A.B., Jacks G., Nordqvist S., (2001), **Metal contamination at a wood preservation site: characterization and experimental studies on remediation**, *The Science of the Total Environment* 290 (2002) 165 – 180
5. Bose P., Sharma A., (2002), **Role of iron in controlling speciation and mobilization of arsenic in subsurface environment**, *Water Research* 36 (2002) 4916 – 4926
6. Choong T., T. Ghuah, Y. Robian, F. G. Koay, and I. Azni (2007) '**Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water: An overview**', *Desalination*, 217: 139-166
7. Coates, J.D., D.J. Lonergan, and D.R. Lovley (1995) '**Desulfuromonas palmitatis sp. Nov., a marine dissimilatory Fe(III) reducer that can oxidize long-chain fatty acids**', *Archives of Microbiology*, Vol. 164, pp. 406-413.
8. Cummings, D.E., F. Caccavo, Jr., S. Fendorf and R.F. Rosenzweig R.F. (1999) '**Arsenic mobilization by the dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium Shewanella alga BrY**' *Environmental Science and Technology*, Vol. 33(5), pp. 723-729.
9. Nelson D., Sommers L.: "**Methods of soil analysis, Part 3: Chemical Methods**", SSSA Book Series 5, 1996, pp.961.
10. Dobbin, P.S., Powell, A.K., McEwan, A.G. & Richardson, D.J., (1995), **The influence of chelating agents on the dissimilatory reduction of iron (III) by Shewanella putrefaciens**, *BioMetals* 8, 163-173.
11. Dove, P.M.; Rimstidt, J.D.; *American Mineralogist*, **1985**, 70, 838-844.
12. Elliot, H.A. and N.L. Shastri (1999) '**Extractive decontamination of metal polluted soils using oxalate**' *Water, Air and Soil Pollution*, Vol. 110, pp. 335-346.
13. Elliot, H.A., J.H. Linn and G.A. Shields (1989) '**Role of Fe in extractive decontamination of Pb-polluted soils**' *Hazardous Waste and Hazardous Materials*, Vol. 6. pp. 223-229.
14. Garcia-Manyes S., Jimenez G., Padro A., Rubio R., Rauret G., (2002), **Arsenic speciation in contaminated soils**, *Talanta* 58 (2002) 97 – 109
15. Garcia-Sanchez A., Alvarez-Ayuso E., (2003), **Arsenic in soils and waters and its relation to geology and mining activities (Salamanca Province, Spain)**, *Journal of Geochemical Exploration* 80 (2003) 69 – 79
16. Gihring T.M., Banfield J.F., (2001), **Arsenite oxidation and arsenate respiration by a new thermus isolate**, *FEMS Microbiology Letters* 204, 335-340
17. Greenberg, A.E.; Trusseli, R.R.; Clesceri, L.S.; **Standard Methods for the examination of water and wastewater**; *American Public Health Association*, **1985**, 215-220.

18. Hartley w., Edwards R., Lepp N.W., (2004), **Arsenic and heavy metal mobility in iron oxide-amended contaminated soils as evaluated by short- and long-term leaching tests**, *Environmental Pollution* 131 (2004) 495 – 504
19. <http://chemistry.about.com/od/periodictableelements/ig/Element-Photo-Gallery.--98/Arsenic.htm>
20. <http://www.bgs.ac.uk/mineralsuk/commodity/world/home.html>
21. <http://www.newscientist.com/news/news.jsp?id=ns99994024>
22. Johnson, D and Pilson, M., (1972), **Spectrophotometer determination of arsenite, arsenate and phosphate in natural waters**, *Anal. Chim. Acta* 58, 289-299
23. Jones, C.A., Langner, H.W., Anderson, K., McDermot, T.R. and Inskeep, W.P., (2000), **Rates of Microbially Mediated Arsenate Reduction and Solubilization**, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:600-608
24. Jones, C.A.; Langner, H.W.; Anderson, K.; McDermot, T.R. and Inskeep, W.P.; *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **2000**, 64, 600-608.
25. Khoe, G.H.; Huang J.C. and Robins R.G.; *EPD Congress 91*, **1991**,103-105
26. Krause, E and Ettl V.A.; *American Mineralogist*, **1988**, 73, 850-854.
27. Langner, H.W. and Inskeep, W.P., (2000), **Microbial reduction of arsenate in the presence of ferrihydrite**, *Environ. Sci. Technol.* 34, 3131-3136
28. Laverman, A., J. Switzer Blum, J.K. Schaefer, E.J. Philips, D.R. Loveley and R. Oremland, (1995), **Growth of strain SES-3 with arsenate and other diverse electron acceptor**, *Appl. Environ. Microbiol.* 61:3556-3561
29. Lojou, E. Bianco P., Brucchi M.; *Electrochimica Acta*, **1998**, 43, (14-15), 2005-2013.
30. Lovley, D.R., (1997), **Microbial Fe (III) reduction in subsurface environments**, *FEMS Microbiology reviews* 20:305-313
31. Lovley, D.R., Greening R.C., Ferry J.G., (1984), **Rapidly growing rumen methanogenic organism that synthesizes coenzyme M and has a high affinity for formate**, *Appl. Environ. Microbiol.* 48:81-87
32. Lovley D.R., Lloyd J.R., (2000), **Microbes with a mettle for bioremediation**, *NATURE BIOTECHNOLOGY VOL.18 JUNE 2000*
33. Lovley, D.R.; Phillips, E.J.P. and Lonergan, D.J.; *Appl. Environ. Microbiol.*, **1989**, 55, 700-706.
34. Macur, R.E., Wheeler, J.T., McDermott, T.R., Inskeep, W.P., (2001), **Microbial populations associated with the reduction and enhanced mobilization of arsenic in mine tailings**, *Environ. Sci. Technol.* 35:3676-3682
35. Macy, J. M., J. M. Santini, B. V. Pauling, A. H. O'Neill, L. I. Sly.; (2000), **Two new arsenate/sulfate-reducing bacteria: mechanisms of arsenate reduction**, *Arch. Microbiol.* 173 (1), 49-57
36. Manning, B.; Fendorf, S.; Goldberg, S; *Environ. Sci. Technol.*, **1998**, 32, 2383-2388.
37. Matera V., Le Hecho I., Laboudique A., Thomas P., Tellier S., Astruc M., (2003), **A methodological approach for the identification of arsenic bearing phases in polluted soils**, *Environmental Pollution* 126 (2003) 51 – 64
38. Mukhopadhyay R., Rosen B.P., Phung Le T., Silver S., (2002), **Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes**, *FEMS Microbiology reviews* 26, 311-325

39. Mulligan C.N., Yong R.N., Gibbs B.F., (2001), **Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation**, *Engineering Geology* 60, pp.193-207
40. Newman, D.K., Beveridge, T.J., Morel, F.M.M., (1997), **Precipitation of Arsenic Trisulfide by *Desulfotomaculum auripigmentum***, *Appl. Environ. Microbiol.* 63(5) 2022-2028
41. Nickson, R.T., J.M. McAthur, P. Ravenscroft, W.G. Burgess and K.M. Ahmed (2000) **'Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal'**, *Applied Geochemistry*, Vol. 15, pp. 403-413.
42. Niggemyer, A., Spring, S., Stackebrandt, E. and Rosenzweig, R.F., (2001), **Isolation and characterization of a novel As(V)-reducing bacterium: implications for arsenic mobilization and the genus *Desulfitobacterium***, *Applied and Environmental Microbiology* 67(12):5568-5580
43. Nishimura, T., Itoh, C.T. and Tozawa, K. (1988), **Stabilities and solubilities of metal arsenites and arsenates in water and effect of sulphate and carbonate ions in their solubilities.** In « *Arsenic Metallurgy. Fundamentals and Applications*», *Proceedings of the 1st International Conference on Hydrometallurgy. ICHM '88. Eds. Zheng Yulian and Xu Jiazhong, Intern. Academy Publishers, 77-112*
44. Oremland R.S. and J.F. Stolz (2003) *The ecology of arsenic*, *Science*, 300: 939-944
45. Oremland R.S., Switzer B.J., Culbertson C.W., Visscher P.T., Miller L.G., Dowdle P., Strohmaier F.E, (1994), **Isolation, Growth, and Metabolism of an Obligately Anaerobic, Selenate-Respiring Bacterium, Strain SES-3**, *Applied and Environmental Microbiology* Aug.1994, p. 3011 – 3019, Vol. 60, No. 8
46. Oremland, R.S., Dowdle, P.R., Hoefft, S., Sharp, J.O., Schaefer, J.K., Miller, L.G., Blum, J., Smith, R.L., Bloom, N.S., and Wallschlaeger, D., (2000), **Bacterial dissimilatory reduction of arsenate and sulfate in meromictic Mono Lake, California**, *Geochimica et Cosmochimica Acta* v. 64, p. 3073-3084
47. Oremland, R.S., Hollibauch J.T., Maest A.S., Presser T., Miller L.G., Culbertson C.W., (1989), **Selenate reduction to elemental selenium by anaerobic bacteria in sediments and culture: Biogeochemical significance of a novel, sulfate-independent respiration**, *Applied and Environmental microbiology*, 55, 9, 2333-2343
48. Papassiopi N., S. Tambouris and A. Kontopoulos (1999) **'Removal of heavy metals from calcareous contaminated soils by EDTA leaching'** *Water, Air and Soil Pollution*, Vol. 109, pp. 1-15.
49. Papassiopi, N., K. Vaxevanidou and I. Paspaliaris (2003) **'Investigating the use of iron reducing bacteria, as an option for the remediation of As contaminated soils'**, *Water, Air and Soil Pollution*, Focus 3: 81-90.
50. Postgate, J.R., 1984. **The Sulphate Reducing Bacteria**, 2nd ed., Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK.
51. Raven, K.; Jain, A.; Loeppert, R.; *Environ. Sci. Technol.*, **1998**, 32, 344-349.
52. Robins, R.G.; In A.J. Oliver (Ed.), *Impurity Control and Disposal, 15th Annual Hydrometallurgical Meeting of CIM, Vancouver, Canada, Aug. 18-22, 1985*, August, 1-1, 1-26.
53. Robins, R.J.; *American Mineralogist*, **1987**, 72, 842-844.

54. Roden, E.(2004), **Analysis of long-term bacterial vs. chemical Fe(III) oxide reduction kinetics**, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68(15): 3205-3216
55. Roden, E.E., (2003), **Fe(III) Oxide Reactivity toward biological versus chemical reduction**, *Environ. Sci. Technol.*, 37(7): 1319-14324
56. Rosen B., (2002), **Transport and detoxification systems for transition metals, heavy metals and metalloids in eucaryotic and procaryotic microbes**, *Comparative Biochemistry and Physiology* 133, 689-693
57. Speir et al., (1999), **Simple kinetic approach to determine the toxicity of As(V) to soil biological properties**, *Soil Biology & Biochemistry* 31, 705-713
58. Stolz J.F., Oremland R.S., (1999), **Bacterial respiration of arsenic and selenium**, *FEMS Microbiology Reviews* 23 (1999) 615 – 627
59. Stolz, J.F., Gugliuzza T., Blum J.S., Oremland, R.S., Murillo F.M., **Differential cytochrome content and reductase activity in Geospirillum barnesii strain SeS3b**, *Archives of Microbiology*, 167. 1-5
60. Stolz, J.F.; and Oremland, R.S.; *FEMS Reviews*, 1999, 23, 615-627
61. Sullivan, K.A. and R.C. Aller (1996) **'Diagenetic cycling of arsenic in Amazon shelf sediments'** *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Vol. 60(9), pp. 1465-1477.
62. Sun B., F.J. Zhao, E. Lombi and S.P. McGrath (2001) **'Leaching of heavy metals from contaminated soils using EDTA'** *Environmental Pollution*, Vol. 113, pp. 111-120.
63. Sun, X; Doner, H.E. *Soil Sci.* 1998, 163, 278-287.
64. Switzer, B. J., Burns Bindi, A., Buzelli, J., Stolz, J.F., and Oremland, R.F., (1998), ***Bacillus arsenicoselenatis*, sp. nov. and *Bacillus selenitireducens*, sp. nov.: two haloalkaliphiles from Mono Lake, California which respire oxyanions of selenium and arsenic**, *Arch. Microbiol* v. 171, p. 19-30
65. Tamura H., Goto K., Yotsuyanagi T., Nagayama M., (1974), **Spectrophotometric determination of Fe(II) with 1.10-phenanthroline in the presence of large amounts of Fe(III)**, *Talanta* 21, 314-318
66. Theodoratos P., N. Papassiopi, T. Georgoudis and A. Kontopoulos (2000) **'Selective removal of lead from calcareous polluted soils using the Ca-EDTA salt'** *Water, Air and Soil Pollution*, Vol. 122, pp. 351-368.
67. Turpeinen R., Pansar-Kallio M., Kaiseralo T., (1999), **Influence of microbes on the mobilization, toxicity and biomethylation of arsenic in soil**, *The Science of Total Environment* 236, 173-180
68. Turpeinen R., Pansar-Kallio M., Kaiseralo T., (2002), **Role of microbes in controlling the speciation of arsenic and production of arsines in contaminated soils**, *The science of the total environment* 285, 133-145
69. Vahter M., (2002), **Mechanisms of arsenic biotransformation**, *Toxicology* 181-182, 211-217
70. Vaxevanidou K., Papassiopi N., Paspaliaris I. (2005), **Indirect mobilization of arsenic from contaminated soils through the microbial reduction of Fe(III)-oxides**, *Proceedings of Consoil 2005*, 2372-2383
71. Vaxevanidou, K., N. Papassiopi and I. Paspaliaris (2008) **'Removal of heavy metals and arsenic from contaminated soils using bioremediation and chelant extraction techniques'**, *Chemosphere*, 70(8): 1329-1337

72. Wallace, R.M. and J.F. Hinton, **Determination of small amounts of aminocarboxylic acid complexing agents in the presence of excess trivalent lanthanides and actinides**, *Anal. Chim. Acta*, **1970**, 51:536-538.
73. Waychunas G.A., Rea B.A., Fuller C.C., Davis J.A.(1993), **Surface chemistry of ferrihydrite: Part1. EXAFS studies of the geometry of coprecipitated and adsorbed arsenate**, *Geochimica et cosmochimica Acta* 57(10)2251-2269
74. Yamamura S., Ike M., Fujita M., (2003), **Dissimilatory arsenate reduction by a facultative anaerobe, *bacillus sp.* Strain SF-1**, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 96, 5, 454-460
75. Yamamura S., M. Watanabe, N. Yamamoto, S. Kazunari and M. Ike (2009) **'Potential for microbially mediated redox transformations and mobilization of arsenic in uncontaminated soils'**, *Chemosphere*, 77: 169-174
76. Zorbrist, J.; Dowdle, P.R., Davis, J.A., and Oremland, R.S., (2000), **Mobilization of arsenite by dissimilatory reduction of adsorbed arsenate**, *Environmental Science & Technology* 34, 4747-4753
77. Παπασιώπη Ν., Πασπαλιάρης Ι., (2003), **Αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών**, *Ε.Μ.Π. Τμήμα Μηχ. Μεταλλείων Μεταλλουργών, Περιβαλλοντική Μηχανική και Περιβάλλον*
78. Τσέζος Μ., Ρεμουντάκη Εμ., (1995), **Εισαγωγή στην περιβαλλοντική μηχανική**, *Ε.Μ.Π. Τμήμα Μηχ. Μεταλλείων Μεταλλουργών, Τομέας Μεταλλουργίας και Τεχνολογίας των Υλικών*
79. Χρήστου Χ.: **«Απομάκρυνση Αρσενικού από εδάφη με χρήση αρσενοαναγωγικών βακτηρίων»**, Διπλωματική Εργασία, Αθήνα, 2008.
80. Madigan M., Martinko J., Parker J.: **“Βιολογία των μικροοργανισμών”**, Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 2005