

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Andrej PRODAN

**BIODOSTOPNOST SVINCA V ONESNAŽENIH TLEH
MEŽIŠKE DOLINE**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2011

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA AGRONOMIJO

Andrej PRODAN

**BIODOSTOPNOST SVINCA V ONESNAŽENIH TLEH MEŽIŠKE
DOLINE**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**BIOACCESSABILITY OF LEAD IN CONTAMINATED SOILS FROM
MEŽICA VALLEY**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2011

Diplomsko delo je zaključek Univerzitetnega študija agronomije Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Eksperimentalno delo smo opravili na Centru za pedologijo in varstvo okolja.

Študijska komisija Oddelka za agronomijo je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Domna Leštana.

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Franc BATIČ
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Domen LEŠTAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Član: prof. dr. Helena GRČMAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo

Datum zagovora:

Naloga je rezultat lastnega raziskovalnega dela. Podpisani se strinjam z objavo svoje naloge v polnem tekstu na spletni strani Digitalne knjižnice Biotehniške fakultete. Izjavljam, da je naloga, ki sem jo oddal v elektronski obliki, identična tiskani verziji.

Andrej Prodan

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD	Dn
DK	UDK 504.5:546.81:631.453(043.2)
KG	biodostopnost/onesnaženost tal/težke kovine/svinec/ sekvenčna ekstrakcija/PBET/TCLP/ <i>Lactuca sativa</i>
KK	AGRIS T01/P33
AV	PRODAN, Andrej
SA	LEŠTAN, Domen (mentor)
KZ	SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
ZA	Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo
LI	2011
IN	BIODOSTOPNOST SVINCA V ONESNAŽENIH TLEH MEŽIŠKE DOLINE
TD	Diplomsko delo (univerzitetni študij)
OP	XI, 40, [2] str., 8 pregl., 14 sl., 1 pril., 44 vir.
IJ	sl
JJ	sl/en
AI	Na 12 vzorcih iz onesnaženih tal Zgornje Mežiške doline s koncentracijami Pb od 469 do 4333 mg kg ⁻¹ smo izvedli osnovne pedološke analize (pH, delež organske snovi, teksturo tal, odstotek karbonatov, kationsko izmenjevalno kapaciteto in vsebnost fosforja). Najpomembnejši del naloge je bil Ruby-jev fiziološki ekstrakcijski test (PBET – physiologically based extraction test), ki smo ga izvedli na vzorcih onesnažene zemlje. Test PBET smo ponovili tudi na 12 vzorcih prahu iz onesnažene zemlje. Opravili smo test na fitodosegljivost (testna rastlina vrtna solata, <i>Lactuca sativa</i> L.) ter test mobilnosti Pb s TCLP metodo (toxicity characteristic leaching procedure). Izračunali smo korelacije med pridobljenimi spremenljivkami. Statistično značilne povezave ($p < 0,05$) so bile ugotovljene med Pb, fosforjem ter pH v solati, Pb in kationsko izmenjalno kapaciteto tal v želodčni fazi Ruby-ja ter celotnim Pb v črevesni fazi PBET. Rezultati nekaterih analiz so bili pričakovani, pri korelaciji s pH pa smo dobili neznačilne rezultate izpiranja svinca pri višjem pH, ki jih pripisujemo premajhnemu vzorcu.

KEY WORDS DOCUMENTATION

DN Dn
DC UDC 504.5:546.81:631.453(043.2)
CX bioaccessability/soil contamination/heavy metals/lead/
sequential extraction/PBET/TCLP/*Lactuca sativa*
CC AGRIS T01/P33
AU PRODAN, Andrej
AA LEŠTAN, Domen (supervisor)
PP SI-1000 Ljubljana, Jamnikarjeva 101
PB University of Ljubljana, Biotehnična fakulteta, Department of Agronomy
PY 2011
TI BIOACCESSABILITY OF LEAD IN CONTAMINATED SOILS FROM
MEŽICA VALLEY
DT Graduation Thesis (University studies)
NO XI, 40, [2] p., 8 tab., 14 fig., 1 ann., 44 ref.
LA sl
AL sl/en
AB Soil samples from various locations in Mežica valley, which are heavily contaminated by heavy metals, have undergone basic soil analysis (pH, percentage of organic matter, texture, carbonate percentage, cation exchange capacity (CEC) and phosphorus content), as well as Ruby's test (PBET – physiologically based extraction test) on soil and soil dust, phytoavailability test (test plant lettuce, *Lactuca sativa* L.) and mobility of Pb with the TCLP method (toxicity characteristic leaching procedure). Statistically significant correlations (p-value <0,05) were found between Pb, P and pH in lettuce, Pb and CEC of soil and stomach phase of Ruby's test as well as total Pb in intestine phase of PBET. Results of some analyses were as expected, but in correlation to pH, results of Pb leaching at higher pH were rather unexpected due to small range of samples.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija	III
Key words documentation	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Kazalo prilog	IX
Okrajšave in simboli	X
Slovar pojmov	XI
1 UVOD	1
1.1 POVOD ZA IZDELAVO NALOGE	2
1.2 NAMEN NALOGE	2
1.3 DELOVNE HIPOTEZE	2
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 OCENJEVANJE TVEGANJA ONESNAŽIL	3
2.1.1 Nevarnost svinca	3
2.1.2 Zakonska ureditev problematike težkih kovin v Sloveniji	4
2.2 PROBLEM SVINCA V ZGORNJI MEŽIŠKI DOLINI	5
2.3 BIODOSEGLJIVOST IN BIODOSTOPNOST	6
2.3.1 Kaj je biodosegljivost	6
2.3.2 Vpliv talnih lastnosti na biodostopnost težkih kovin	7
2.3.3 Procesi v tleh in njihov vpliv na biodostopnost težkih kovin	8
2.4 METODE DOLOČEVANJA BIODOSTOPNOSTI	9
2.4.1 Fiziološki model PBET	10
2.4.2 Vnos v rastline – fitodosegljivost	10
2.4.3 Mobilnost težkih kovin	11
2.5 FRAKCIONACIJA SVINCA	12
2.5.1 Sekvenčna ekstrakcija	12
3 MATERIAL IN METODE	15
3.1 MATERIAL	15
3.1.1 Vzorčenje in priprava tal	15
3.1.2 Prašenje vzorcev za test biodosegljivosti (PBET) iz prahu	15
3.1.3 Rastlinski material	15
3.2 METODE	16
3.2.1 Osnovne pedološke analize	16
3.2.2 Celokupna vsebnost svinca v vzorcih	16

3.2.3	Določanje frakcionacije svinca v vzorcih	16
3.2.4	Analiza rastlinskega tkiva	19
3.2.5	TCLP metoda	19
3.2.6	Fiziološki ekstrakcijski test (PBET)	20
3.3	STATISTIČNA ANALIZA	20
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	21
4.1	LASTNOSTI TAL	21
4.2	FRAKCIONACIJA SVINCA	23
4.3	BIODOSTOPNOST SVINCA	25
4.3.1	Fitodosegljivost, oralna biodostopnost ter mobilnost Pb	25
4.3.2	Odvisnosti med talnimi lastnostmi, frakcionacijo in biodostopnostjo	27
5	SKLEPI	35
6	POVZETEK	36
7	VIRI	37
7.1	CITIRANI VIRI	37
7.2	DRUGI VIRI	39
	ZAHVALA	
	PRILOGA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Preglednica 1: EPA lestvica prvih 12 nevarnih snovi	3
Preglednica 2: Lokacije vzorčenja določene z Gauss Krüger-jevim koordinatnim sistemom	15
Preglednica 3: Postopek sekvenčne ekstrakcije, (po Leštan in sod., 2003)	16
Preglednica 4: Pedološka analiza tal	21
Preglednica 5: Skupna koncentracija in frakcionacija Pb	23
Preglednica 6: Deleži Pb vezanega po posameznih talnih frakcijah	24
Preglednica 7: Vnos Pb v vrtno solato in ekstrakcija Pb s pomočjo PBET iz tal in prahu ter TCLP metoda	25
Preglednica 8: Rezultati linearne regresijske analize ($p < 0.05$)	27

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Shema sekvenčnih ekstrahiranj; modificirana po Tessier in sod. (1979)	17
Slika 2: Shematski prikaz PBET	20
Slika 3: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, topnega v talni raztopini (%), od celokupne vsebnosti Pb v tleh (mg kg^{-1})	28
Slika 4: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije izmenljivega Pb v tleh (%), od deleža karbonatov v tleh (%)	28
Slika 5: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, vezanega na karbonate v tleh (%), od kationske izmenjevalne kapacitete ($\text{mmol}_c 100 \text{ g}^{-1}$)	29
Slika 6: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, vezanega na karbonate v tleh (%), od vsebnosti organske snovi v tleh (%)	29
Slika 7: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, vezanega na organsko snov v tleh (%), od deleža organske snovi v tleh (%)	30
Slika 8: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb v ostanku (%) od celokupne vsebnosti organske snovi v tleh (mg kg^{-1})	30
Slika 9: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb v ostanku (%) od pH vrednosti talne raztopine	31
Slika 10: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb v ostanku (%) od vsebnosti fosfatov v tleh ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$),	31
Slika 11: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v vrtni solati (%) od pH vrednosti talne raztopine	32
Slika 12: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v vrtni solati (%) od vsebnosti fosfatov v tleh ($\text{mg } 100 \text{ g}^{-1}$)	32
Slika 13: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v želodčni fazi (zemlja) (%) od kationske izmenjevalne kapacitete tal ($\text{mmol}_c 100 \text{ g}^{-1}$)	33
Slika 14: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v črevesni fazi PBET (zemlja) (%) od celokupne vsebnosti Pb v tleh (mg kg^{-1})	33

KAZALO PRILOG

Priloga: Lokacije vzorčenja

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

Pb	kemijski simbol za svinec
Mn	kemijski simbol za mangan
Fe	kemijski simbol za železo
K.I.K.	kationska izmenjalna kapaciteta
PBET	Physiologically based extraction test
TCLP	Toxicity Characteristic Leaching Procedure

SLOVAR POJMOV

Frakcionacija težkih kovin	porazdelitev težkih kovin v tleh kot kemijske zvrsti med različne talne faze oz. frakcije
Eh	redoks potencial
AAS	atomska absorpcijska spektrofotometrija
Aqua regia	mešanica koncentrirane klorovodikove kisl. (HCl) in dušikove (V) kisl. v razmerju 3:1
<i>Lactuca sativa</i> L.	vrtna solata ali gojena ločika

1 UVOD

V Zgornji Mežiški dolini je več stoletij dolga izraba svinčene rude nad celotnim, bližnjim in širšim okoljem pustila neizbrisen pečat. Tako je njeno prebivalstvo že najmanj pol tisočletja izpostavljeno onesnaževanju s svincem. S težkimi kovinami onesnažena tla predstavljajo tveganje za okolje in posledično za zdravje ljudi. Zato narašča tudi skrb za vpliv težkih kovin na človeka.

Težkim kovinam smo izpostavljeni preko vdihavanja zraka onesnaženega s talnimi delci, preko neposrednega vnosa tal v usta (ponavadi pri otrocih), preko uživanja hrane pridelane na onesnaženih tleh ali s pitjem onesnažene vode.

Kritične in opozorilne vrednosti ter določitev primernosti in strategije remediacije onesnaženih tal pogosto temeljijo na celokupni koncentraciji težkih kovin v tleh. Le-ta pa je slaba ocena strupenosti za organizme, saj ne upošteva značilnosti tal, ki vplivajo na biodosegljivost težkih kovin.

Za oceno izpostavljenosti naštetih načinov vnosa potrebujemo podatek o biodosegljivosti težkih kovin.

Biodosegljivost težkih kovin je tudi močno odvisna od njihove porazdelitve in oblike v kateri se nahajajo v tleh. Pomembno je upoštevati, da se težke kovine lahko nahajajo v talni raztopini, izmenljivo vezane na mineralni del tal, vezane na železove in manganove okside, organsko snov ter karbonate. Za identifikacijo posamezne frakcije se uporabljajo metode sekvenčnih ekstrakcij.

Ocenjevanje deleža težkih kovin, ki so človeškemu telesu dostopna po oralnem zaužitju, je možno z uporabo testnih živali (pujski, podgane, zajci). Ti poskusi predstavljajo zelo dragocene informacije o biodosegljivosti onesnažil, vendar so dolgotrajni (tedni ali meseci), dragi in zahtevajo usposobljeno osebje. Zato so se razvile analitične metode, ki posnemajo fiziologijo človeške prebave.

Svinec predstavlja največjo nevarnost za prebivalce Mežiške doline, še posebej otrok, ki so zaradi obnašanja in vedenja ter fizioloških značilnosti najbolj ogrožena skupina.

1.1 POVOD ZA IZDELAVO NALOGE

V Mežiški dolini je bila izvedena obsežna epidemiološka študija na otrocih in odraslih, ki so vsakodnevno izpostavljeni onesnaženju. Zanima nas, kateri viri onesnaženosti so najpomembnejši pri biodostopnosti svinca.

Na onesnaženih območjih prebivalci po vrtovih pridelujejo zelenjavo. Pod drobnogled smo vzeli vrtno solato (*Lactuca sativa* L.).

Zaradi možnosti izpiranja svinca iz tal in posledično v podtalnico ter vire pitne vode, je potrebno določiti njegovo mobilnost.

Fini delci onesnaženih tal se tudi lažje oprimejo kože na rokah in obleki. To predstavlja potencialno nevarnost za vnos svinca v telo.

1.2 NAMEN NALOGE

V diplomski nalogi smo hoteli ugotoviti možne povezave med talnimi lastnostmi, frakcionacijo svinca, biodostopnostjo po metodi PBET, fitodosegljivostjo iz vrtno solate ter možnost izpiranja po metodi TCLP.

V naši študiji smo ugotavljali biodostopnost Pb v tleh v okolici vrtcev in šol ter v tleh zelenjavnih vrtov in igrišč v Mežiški dolini.

Posebno pozornost smo posvetili prašnim delcem iz izbranih vzorcev, na katerih smo izvedli dvostopenjski Rubyjev fiziološki test. Na ta način smo ugotavljali delež Pb, ki je biodostopen iz tal preko požiranja ter deloma tudi preko inhalacije prašnih talnih delcev.

Potencialno nevarnost vnosa Pb preko hrane smo ocenili z merjenjem kopičenja Pb v vrtni solati (*Lactuca sativa* L.) kot testni rastlini.

Nevarnost izpiranja Pb iz tal in s tem onesnaženja vodnih virov smo ugotavljali s testom mobilnosti TCLP.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

Predvidevamo, da:

- lastnosti tal vplivajo na frakcionacijo svinca in njegovo biodostopnost in mobilnost;
- je biodostopnost Pb povezana z nekaterimi talnimi lastnostmi;
- prašni delci onesnaženih tal predstavljajo večjo potencialno nevarnost pri testu oralne biodostopnosti kot izvorna tla;
- vrtna solata kopiči Pb, in tako ni primerna za uporabo v prehrani;
- obstaja nevarnost izpiranja Pb v podtalnico.

2 PREGLED OBJAV

2.1 OCENJEVANJE TVEGANJA ONESNAŽIL

Ocenjevanje tveganja onesnažil, ki obremenjujejo okolje, je predvsem povezano z identifikacijo nevarnosti, ki jo te snovi predstavljajo za zdravje ljudi, živali, rastlin in za okolje ter z ugotavljanjem verjetnosti, da se ta nevarnost tudi uresniči.

Danes so na voljo toksikološki podatki za številne v okolju običajno prisotne kemikalije, kljub temu pa je ugotavljanje rizika, ki ga prinaša prisotnost teh snovi v okolju še vedno podvrženo številnim neznankam.

Na seznamu nevarnih snovi, ki jo objavlja EPA (Environmental Protection Agency, ZDA) in vključuje 275 snovi, ki se nahajajo v okolju in so po oceni tveganja razvrščene glede na potencialno nevarnost, ki jo predstavljajo za človeka, je svinec na prvem mestu (Leštan, 2002):

Preglednica 1: EPA lestvica prvih 12 nevarnih snovi

1. svinec	5. benzen	9. kloroform
2. arzen	6. PCB	10. benzo (b) fluoranten
3. živo srebro	7. kadmij	11. DDT
4. vinil-klorid	8. benzo (a) piren	12. araklor 1260

2.1.1 Nevarnost svinca

Svinec je najstarejši ter najbolj proučen poklicni in okoljski toksin.

Po podatkih Svetovne zdravstvene organizacije (WHO) je zmerno zaužitje 20 – 282 µg svinca na dan za odrasle osebe in 9 – 278 µg za otroke. Za velik vnos se smatra več kot 500 µg svinca na dan. Pri otrocih koncentracija 250 – 550 µg svinca na liter krvi pomeni zastrupitev.

Otroci do šestega leta starosti predstavljajo, zaradi fizioloških posebnosti ter načina življenja, tisto skupino prebivalcev, ki je za svinec v okolju še posebej občutljiva in pri kateri je tveganje za povečani vnos veliko. Vzroki za povečano tveganje so:

- sprejem svinca iz prebavnega trakta je pri otrocih znaten, okrog 40 – 50 %, pri odraslih pa le okrog 10 – 50 %,
- med otroci se pogosto pojavlja premajhen vnos, npr. železa ali vitamina D, kar pospeši sprejem svinca iz prebavnega trakta,
- zaščita možganovine še ni v celoti razvita,
- učinki svinca na krvotvorni sistem ter na živčevje se pojavijo pri nižji koncentraciji svinca v krvi,
- značilno obnašanje otrok med igro in pomanjkljiva higiena rok.

Toksični vplivi svinca pri živali in človeku se odražajo v kancerogenosti, mutagenosti, v blokadi encimskih aktivnosti in motnjah presnove ter se akumulirajo v organizmu; pri rastlinah se toksičnost kaže v inaktivaciji encimov, v blokiranju funkcionalnih skupin biološko pomembnih molekul in poškodbah celičnih membran (Ross, 1994).

Svinec povzroča metabolne, krvne in ledvične okvare; ovira vezavo Fe na protoporfirin in povzroča anemije, pri odraslih tudi hipertenzijo. Je prvi element, ki so ga neposredno povezali z motnjami v reprodukciji. Sorazmerno neovirano prehaja skozi placento. Ker otroci še nimajo popolnoma razvite bariere med krvjo in možgani, jih lahko poškoduje, kar se kaže kot hiperaktivnost, izpad motoričnih funkcij, encefalopatije in zaostalost.

2.1.2 Zakonska ureditev problematike težkih kovin v Sloveniji

V Sloveniji težke kovine v tleh obravnava Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh (1996). Na osnovi ekotoksikoloških študij, ocen tveganja za rastline, živali, ljudi, pitno vodo in druge dele okolja so definirane različne vrednosti za imisije snovi v tleh.

Imisija snovi v tleh je gostota posamezne nevarne snovi v tleh in se izraža v mg ali $\mu\text{g kg}^{-1}$ mase suhih tal.

Po definiciji je **mejna imisijska vrednost** gostota posamezne nevarne snovi v tleh, ki pomeni takšno obremenitev tal, da se zagotavljajo življenjske razmere za rastline in živali, in pri kateri se ne poslabšuje kakovost podtalnice ter rodovitnost tal. Pri tej vrednosti so učinki ali vplivi na zdravje človeka ali okolje še sprejemljivi. Za svinec je določena vrednost 85 mg kg^{-1} .

Opozorilna imisijska vrednost je gostota posamezne nevarne snovi v tleh, ki pomeni pri določenih vrstah rabe tal verjetnost škodljivih učinkov ali vplivov na zdravje človeka ali okolje. Za svinec je določena vrednost 100 mg kg^{-1} .

Kritična imisijska vrednost je gostota posamezne nevarne snovi v tleh, pri kateri zaradi škodljivih učinkov ali vplivov na človeka in okolje onesnažena tla niso primerna za pridelavo rastlin, namenjenih prehrani ljudi ali živali ter za zadrževanje ali filtriranje vode. Za svinec je določena vrednost 530 mg kg^{-1} .

Zakonsko je urejena tudi **zgornja mejna vrednost** (ZMV) nekaterih onesnažil v živilih v prilogi Pravilnika o onesnaževalcih v živilih (2003) in sicer za Pb velja:

- zelenjava, razen kapusnic, listnate zelenjave in gojenih gob. Pri krompirju velja ZMV za olupljeni krompir $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$,
- kapusnice, listnata zelenjava in gojene gobe $0,3 \text{ mg kg}^{-1}$.

Uredba o ugotavljanju onesnaženosti kmetijskih zemljišč in gozda (1996) opredeljuje kot onesnažena tista tla, ki vsebujejo toliko škodljivih snovi, da se zmanjša njihova samoočiščevalna sposobnost, poslabšajo fizikalne, kemične in biotične lastnosti, zavira ali preprečuje rast rastlin, onesnažuje podtalnico oziroma rastline, ali je zaradi teh škodljivih snovi kako drugače okrnjena trajna rodovitnost tal.

2.2 PROBLEM SVINCA V ZGORNJI MEŽIŠKI DOLINI

Rudarsko metalurška dejavnost v Mežiški dolini je imela merljive negativne vplive na okolje. Sama svinčeva ruda je kot taka inertna in neškodljiva, kakor hitro je udeležena v proizvodnem procesu pa prihaja do najrazličnejših oblik prahu, ki v velikih koncentracijah igrajo v okolju pomembno vlogo kot onesnažila.

Viri onesnaženja v Mežiški dolini so atmosferski depoziti svınca iz metalurške industrije in topilnic. Večina emisij svınca, predvsem iz metalurških dejavnosti, se pojavlja v mineralnih oblikah, kot so PbS , $PbCO_3$ in $PbSO_4$ (Kabata-Pendias in Pendias, 1984).

Izvore onesnaževanja zraka in s tem okolja na tem območju lahko razdelimo na **točkovne, definirane izvore** (Rudnik svınca in cinka Mežica, Metalurgija, plastika, inženiring – M.P.I. d.o.o., Tovarna akumulatorskih baterij – TAB d.d.), **disperzne nedefinirane izvore** (nepokrita skladišča surovin, umazane poti, nerekulvirane rudniške halde, odlagališče metalurških odpadkov) ter **sekundarno onesnaževanje** kot posledica obremenitev iz preteklosti (dvigovanje talnih delcev iz neporaščenih površin) (Ribarič Lasnik in sod., 2002).

Z ukinitvijo predelave svinčeve rude ter reševanjem ekološke problematike v naštetih družbah, se je stanje že izboljšalo. Vendar je še vedno potrebna velika mera pazljivosti v določenih segmentih okolja. Tla ostajajo onesnažena tudi po sanacijskih ukrepih, hrana živalskega in rastlinskega izvora (goveje ledvice in jetra, jajca in perutninsko meso iz proste reje, drobovina parkljaste divjadi) ter večina vrst vrtnin ter gob je oporečnih.

Za doseganje učinkovite stopnje varnosti je potrebno upoštevati ukrepe, ki preprečujejo izpostavljenost naštetim nevarnim dejavnikom: opuščanje vrtnarjenja, zatavljanje in utrjevanje površin, izločanje nevarnih živil iz prehrane ter dosledna higiena.

S sprejetjem proračunov za leti 2006 in 2007 je Vlada zagotovila, da bo v skladu z Zakonom o varstvu okolja, izhodišči iz Nacionalnega programa varstva okolja in v skladu s svojimi pooblastili pripravila program ukrepov odprave posledic onesnaženosti okolja s težkimi kovinami v Zgornji Mežiški dolini s posebnim poudarkom na onesnaženju, ki ga povzročajo prašni delci.

Tako so se šele leta 2006 prvič namenila sredstva za projekt sanacije onesnaženja s svincem Zgornje Mežiške doline in sicer v višini 150 milijonov tolarjev. Na podlagi programa ukrepov za leto 2006, ki ga je pripravila posebna strokovna skupina, je bila izvedena oz. je v izvajanju preplastitev cest in makadamskih površin ob stanovanjskih objektih v skupni vrednosti okrog 120 milijonov tolarjev. V postopku je bil tudi nakup opreme za izvajanje monitoringa svınca v zraku v celotni Zgornji Mežiški dolini. Monitoring, ki se je začel intenzivno izvajati v letu 2007, bo dal podrobne podatke o onesnaženju zraka in spremljanju zmanjševanja onesnaženja, ki bodo služili tako za pripravo podrobnega programa ukrepov za naslednja leta, kakor tudi za spremljanje učinkov izvedenih ukrepov.

2.3 BIODOSEGLJIVOST IN BIODOSTOPNOST

2.3.1 Kaj je biodosegljivost

Narodni svet za raziskave (National Research Council, 2003, cit. po Navarro in sod., 2006) opredeljuje biodosegljivost kot delež celotnega onesnažila v tleh ali sedimentu, ki je takoj razpoložljiv organizmu, oz. potencial za sprejetje kemikalij iz hrane ali okolice in vključitev v metabolizem.

Oralna biodosegljivost se nanaša na delež frakcije tal, ki je topna v prebavilih in tako razpoložljiva absorpciji v kri (Ruby in sod., 1999).

Biodosegljivost onesnažila se čedalje bolj uporablja za prikaz prave možne nevarnosti za okolje in za človeka kot pa njegova celokupna vsebnost. S težkimi kovinami in ostalimi onesnažili onesnažena tla predstavljajo veliko nevarnost za otroke. Ti v svojem raziskovanju okolice velikokrat vnašajo roke v usta in tako pogoltnejo nezanemarljivo količino tal.

Uporablja se tudi izraz biodostopnost, ki ima širši pomen: predstavlja delež snovi, ki je topna v prebavnem traktu in tako predstavlja možnost za absorpcijo v kri.

Oralna biodostopnost: delež snovi, ki se sprosti iz tal med prebavo in se tako lahko adsorbira. Izraža se kot količnik med količino sproščene (na enoto mase tal) in celotno koncentracijo snovi (na enoto mase tal).

Poleg prenosa TK po prehranjevalni verigi, je zaužitje tal ena glavnih poti vnosa težkih kovin v telo. Izpostavljanje onesnaženim tal je lahko precenjeno, če se ne upošteva biodosegljivosti. Za oceno mobilizacije onesnažil iz tal med procesom prebave so se razvili *in vitro* prebavni modeli.

Prenos težkih kovin po prehranjevalni verigi je za ljudi eden od glavnih poti izpostavljenosti, na s težkimi kovinami onesnaženih tleh. Za prehrano ljudi so od kmetijskih rastlin najbolj kritične korenovke in solatnice, slednje toliko bolj zaradi velike listne površine katera je bolj izpostavljena onesnaženju iz zraka. Kmetijske rastline so glede na sprejem kovin iz tal razdeljene v več skupin. V skupini z največjo akumulacijo so špinača, solata, endivija, repa, korenje; sledijo pesa, krompir in večina kapusnic. Najmanj kovin kopičijo fižol, grah, paradižnik, paprika, in sadje. Sprejem kovin je poleg vrste rastline odvisen tudi od starosti in prehranjenosti rastline ter talnih in klimatskih razmer.

Pri vnosu v telo je potrebno upoštevati celotno pot od ust in nosu do prebave v tankem črevesju. Pri vdihanem prahu je možnost, da se Pb sprosti tudi ob stiku z mikrobo populacijo v nosni sluznici (Turner in Ip, 2007). V tem pogledu sta najbolj problematični lahkodostopni fazi.

Delci velikosti pod 250 μm naj bi predstavljali frakcijo tal, ki se najpogosteje oprime kože na rokah in tako poveča tveganje za vnos v usta (Kissel in sod., 1996; Sheppard in Evenden., 1994).

2.3.2 Vpliv talnih lastnosti na biodostopnost težkih kovin

Težke kovine se v tleh nahajajo vezane na različne frakcije tal, od česar je odvisna njihova biološka dostopnost. Frakcionacija, oziroma prehajanje težkih kovin iz ene frakcije tal v drugo oziroma iz trdne v tekočo fazo tal, je odvisna od številnih talnih lastnostil (Leštan, 2002: 158; Rieuwerts in sod., 1998):

Reakcija tal (pH)

pH je poznan kot glavni faktor, ki vpliva na koncentracijo topnih in rastlinam dostopnih kovin. Z zniževanjem pH se topnost kovin povečuje. V kislem mediju je adsorpcija pomembnejša kot obarjanje, v alkalnem mediju pa je proces ravno obraten. Tudi specifična adsorpcija je močno odvisna od pH. V območju nevtralnega pH kompleksacija imobilizira kovine v tleh. Kationska adsorpcija je pogosto odvisna od pH. Adsorpcija lahko tudi ni povezana s pH, temveč je posledica strukturnih nabojev na površini določenih glinenih mineralov, kot so sljude in vermikuliti.

Delež gline v tleh

Glineni minerali v tleh omogočajo adsorpcijo težkih kovin tako z ionsko izmenjavo kot s specifično absorpcijo. Sorpcijo kovin omogočajo zaradi elektrostatične kationske izmenjave in specifične adsorpcije. Ti mehanizmi so za različne gline različni, v glavnem pa od pH talne raztopine neodvisni. Glina je poleg organske snovi glavni dejavnik, ki vpliva na adsorpcijo svinca.

Vsebnost organske snovi

Zaradi razkroja rastlinskega materiala se organska snov akumulira na površini tal. Kljub temu, da je vsebnost organske snovi v primerjavi z glino v tleh majhna, ima pomemben vpliv na vezavo kovin. Mehanizem, ki je udeležem pri zadrževanju kovin z organsko snovjo, zajema kompleksacijo (tvorjenje koordinacijskih vezi) in specifično absorpcijo. Kovine v koordinacijskih spojinah z raztopljeno organsko snovjo se lahko iz tal tudi izperejo. Raztopljena organska snov vpliva na topnost svinca.

Redoks potencial (Eh)

Visok redoks potencial je značilen za suha, zračna tla, medtem ko se mokra in tla bogata z organsko snovjo nagibajo k nizkemu redoks potencialu. V splošnem velja, da je delež vodotopnih specij kovin v talni raztopini večji v tleh nasičenih z vodo, torej v tleh z majhnimi vrednostmi redoks potenciala.

Železovi in manganovi oksidi

Hidrirani Fe in Mn oksidi se v glini pojavljajo kot plast glinastih silikatov in kot prosti geli in kristali. Hidrirani Fe in Mn oksidi lahko znižajo koncentracijo kovin v talni raztopini z obarjanjem in specifičnimi adsorpcijskimi reakcijami. Afiniteta oksidov za specifično

sorpcijo posameznih kovin je različna. Adsorpcija Pb na Mn okside je 40-krat večja kot adsorpcija Pb na Fe okside. To kaže, kako pomembni so Mn oksidi pri zadrževanju kovin v trdni fazi tal.

Kationi in anioni v talni raztopini

Kovinski kationi v tleh pogosto tekmujejo za ista sorpcijska mesta. Tudi koncentracija anionov v talni raztopini ima velik vpliv na topnost kovin. Anioni tvorijo komplekse s kovinskimi ioni. Nekateri anioni s težkimi kovinami tvorijo netopne snovi, npr. fostati s svincom.

2.3.3 Procesi v tleh in njihov vpliv na biodostopnost težkih kovin

Na težke kovine v tleh vplivajo geokemični in biogeokemični procesi, zaradi česar so težke kovine porazdeljene med različne talne faze ali frakcije. Vse te oblike težkih kovin nimajo enakega vpliva na okolje in niso v celoti dostopne rastlinam in mobilne. Tako podatek o skupni vsebnosti težkih kovin v tleh ni zanesljiv in zadosten indikator biodostopnosti in mobilnosti posameznih frakcij težkih kovin v tleh (Rieuwerts in sod., 1998). In kot tak ne predstavlja zadostnega kriterija onesnaženja in dejanske stopnje tveganja.

Tipi reakcij, ki urejajo porazdelitev težkih kovin v tleh so: adsorpcije in desorpcije, obarjanja, površinske kompleksacije, ionske izmenjave, prodiranja v kristalne strukture mineralov ter biološke mobilizacije in imobilizacije (Levy in sod., 1992).

Frakcionacija in s tem biodostopnost težkih kovin je v veliki meri odvisna od njihove porazdelitve med trdno in tekočo fazo v tleh. Premeščanje težkih kovin med obema fazama, od dostopnih do nedostopnih oblik in obratno, torej frakcionacijo težkih kovin v tleh, določajo številni procesi (Rieuwerts in sod., 1998; Leštan, 2002):

Kationska izmenjava

Gre za reverzibilno elektrostatično vezavo in izmenjavo kationov na negativno nabitih površinah talnih koloidov – mineralov gline in humusa. Negativni naboj površine talnih koloidov nevtralizirajo kationi talne raztopine, ki se glede na pH talne raztopine ter koncentracijo in afiniteto kationov do izmenjalnih mest izmenjujejo. Kationska izmenjalna kapaciteta humusa in večine glin je močno odvisna od pH.

Specifična adsorpcija

Specifična adsorpcija je tvorjenje koordinativnih vezi med težkimi kovinami in električno nabitimi površinami trdne faze tal: glinenimi minerali, humusom in seskvioksidi. Specifična adsorpcija je močno odvisna od pH. TK se vežejo po prednostnem redu: $Cd > Zn > Cu > Pb$. Vezavna mesta za selektivno adsorpcijo so torej selektivna za specifične katione TK, kar pomeni, da na vezavo kationov z veliko afiniteto do vezavnega mesta morebitna povišana koncentracija drugih kationov bistveno ne vpliva.

Obarjanje in raztapljanje

Kovine se iz talne raztopine lahko oborijo kot fosfati, karbonati, sulfati ali hidroksidi. Na obarjanje vpliva pH talne raztopine. V kislih tleh je obarjanje manjše.

Kompleksacija – tvorjenje koordinacijskih spojin

TK v talni raztopini tvorijo koordinacijske spojine tako z organskimi kot z anorganskimi ligandi. Znano je, da je 99 % kovin v talni raztopini v obliki koordinacijskih spojin. Med organske ligande spadajo citronska, oksalna kislina in pa bolj kompleksne snovi, kot so fulvo in huminske kisline. Najpomembnejša anorganska liganda sta hidroksidni in kloridni ion. V talni raztopini je npr. Pb le v manjšem delu prisoten v ionski obliki Pb^{2+} , mnogo pogostejše je prisoten v obliki koordinacijskih spojin $Pb(OH)^+$ in $PbCl^+$. TK v koordinacijskih spojinah imajo drugačno sposobnost vezave kot proste TK.

Biološka mobilizacija in imobilizacija

Mobilizacija je proces prehajanja TK iz rastlin po prehrabnih nivojih, imobilizacija pa je akumulacija TK iz tal v organizme, posebno rastline.

2.4 METODE DOLOČEVANJA BIODOSTOPNOSTI

Biodostopnost težkih kovin in s tem njihova sposobnost za vstop v prehranjevalno verigo ter mobilnost težkih kovin je odvisna od reakcij v tleh: adsorpcije/desorpcije, obarjanja, prodiranja v kristalno strukturo mineralov in biološke mobilizacije oziroma imobilizacije. Te reakcije so v veliki večini odvisne od teksture tal, vsebnosti organske snovi, vsebnosti in vrste glinenih mineralov, vsebnosti Al, Fe in Mn oksidov ter od fizikalno-kemičnih talnih razmer: zasičenosti, prezračenosti, pH in redoks potenciala tal.

Celokupna vsebnost TK v tleh nam poda le površno informacijo o onesnaženosti tal in omogoča identifikacijo površin z značilno onesnaženostjo. Kot kriterij onesnaženosti tal predvideva, da imajo vse oblike kovin v tleh enak vpliv na okolje in da je tako določena vsebnost TK v celoti na razpolago rastlinam. Glavni problem tega pristopa je torej, da ne upošteva različnih oblik v katerih se kovine pojavljajo v tleh in ne odraža dejanske stopnje tveganja. Večina anorganskih onesnažil ima namreč v tleh različne geokemične lastnosti in oblike, ki niso vse enako nevarne in niso vse enako dostopne rastlinam, saj imajo različno topnost in s tem različno mobilnost in biološko dosegljivost. Pojavna oblika teh kovin v tleh in njihove interakcije s tlemi določajo tveganje in potencialni uspeh remediacije (Tessier in sod., 1979; Ross, 1994).

Biodostopnost določamo z različnimi metodami, z uporabo živali in rastlin, ali z drugimi analitičnimi metodami.

Biološko dostopne so tiste TK, ki so prisotne v talni raztopini v različnih ionskih oblikah ali adsorbirane na kationskih izmenjalnih mestih na talnih koloidih.

Kolikšna je absorbcija TK v človeškem prebavnem traktu, ni odvisno le od lastnosti tal, temveč tudi od starosti, diete in prehranjenosti osebkov. Odrasli ponavadi absorbirajo 7 – 15 % s hrano zaužitega Pb, medtem ko so ocene za absorbcijo pri otrocih med 40 in 53 %. Večina absorbiranega Pb se veže v kosti, manjše koncentracije pa so v krvi in mehkih tkivih.

2.4.1 Fiziološki model PBET

Za ocenjevanje dostopnosti svinca v človeškem organizmu, kadar živalski poskusi niso možni, so razvili fiziološke ekstrakcijske teste.

In vitro simulacije prebave so primernejša alternativa *in vivo* testom, glede hitrejše in cenejše predstavitve biodosegljivosti nevarnih kemičnih snovi človeškemu organizmu. Najbolj uporabljene so štiri metode: PBET, SBET, nemška DIN metoda ter nizozemska RIVM metoda. V našem poskusu smo uporabili metodo PBET (Ruby in sod., 1996).

PBET – Physiologically based extraction test

PBET je *in vitro* test, ki vključuje parametre prebavnega trakta (pH ter kemijo želodca in tankega črevesja, razmerja med tlemi in želodčno raztopino, peristaltiko in čas prebave). Sestavlja ga dve fazi: želodčna in faza tankega črevesja. PBET je, v primerjavi z *in vivo* živalskimi testi, human in cenejši ter predstavlja hitrejši način določevanja biodosegljivosti. Rezultati testa PBET so linearno odvisni od Spargue-Dawley-evega modela s podganami (r^2 med *in vivo* ter *in vitro* testi je 0,93) (Ruby in sod., 1996).

2.4.2 Vnos v rastline – fitodosegljivost

Svinec je izmed težkih kovin poznan kot najmanj mobilni element med težkimi kovinami (Kabata-Pendias in Pendias, 1984), prav tako majhna sta njegova topnost in biodostopnost. Velik vpliv na topnost Pb ima reakcija tal in sicer se z apnenjem tal topnost in biodostopnost močno zmanjšata.

Biološka dostopnost svinca je odvisna od pH tal, deleža organske snovi in deleža glinenih delcev v tleh (Kabata-Pendias in Pendias, 1984). Sprejem svinca v rastline je pasiven, stopnja sprejema pa je odvisna od pH talne raztopine. Absorbcija Pb poteka večinoma preko koreninskih laskov. Svinec se kopiči v koreninah, translokacija v nadzemne dele pa je omejena in počasna. Zaradi tega lahko rastline tolerirajo tudi od 500 do 1000 $\mu\text{g Pb g}^{-1}$ tal (Adriano, 1986). V rastlinskih tkivih Pb lahko zaradi biološkega antagonizma zamenja kalcij in druge elemente.

Aktivnost kovin v onesnaženih tleh in njihova dostopnost rastlinam sta močno odvisni od frakcionacije težkih kovin v tleh (Maiz in sod., 2000). Kovinski ioni, topni v talni raztopini in izmenljivi iz talnih koloidov, predstavljajo frakcije, neposredno dostopne rastlinam.

Pb se močno veže na adsorpcijski kompleks tal in zato ostaja v vrhnjih plasteh tal, vezan na netopne stabilne mineralne oblike (Imperato in sod., 2003). V taki obliki ni dostopen za rastline.

Dosegljivost kovin je za rastline odvisna predvsem od oblike (frakcije), v kateri je neka kovina v tleh prisotna. Rastlinam so dostopne le kovine, ki so raztopljene v talni vodi. Raztapljanje lahko rastlina sama doseže na več načinov (Raskin in sod., 1994):

- v rizosfero izloča kelatne molekule, ki vežejo in raztapljajo kovine vezane na talne delce,
- reducirajo in sprostijo vezane kovinske ione z različnimi encimi,
- korenine sproščajo protone, zniža se pH tal in poveča se dostopnost kovinskih ionov.

Toksični učinki se na rastlinah pojavijo šele pri zelo visokih koncentracijah Pb v rastlinah in so posledica inhibicije dihanja in fotosinteze z motnjami prenosa elektronov (Kabata-Pendias in Pendias, 1984).

Na onesnaženih območjih pride do nalaganja Pb iz atmosfere na zelene dele rastlin. Zato je vsebnost Pb v neopranih rastlinah večja kot opranih. Koncentracije se z oddaljenostjo od vira onesnaženja hitro zmanjšujejo. Koliko Pb se v obliki depozita nalaga na rastlino je odvisno od hitrosti vetra in drugih razmer. Na dlakavih listih so odkrili 7-krat več zračnega nanosa (Kasparowski in Frank, 1989).

2.4.3 Mobilnost težkih kovin

S transportom TK po talnem profilu se poveča možnost za onesnaženje podtalne vode, kar lahko ogroža zdravje ljudi. Za ocenjevanje mobilnosti TK po talnem profilu se uporablja TCLP test (Toxicity Characteristic Leaching Procedure) (US EPA, 1995).

TCLP test se uporablja za določevanje mobilnosti tako organskih kot anorganskih onesnažil v tekočih, trdnih ali mešanih fazah. Za nevarne snovi obstajajo predpisane vrednosti, ki jih snovi ne smejo preseči, drugače spadajo med nevarne odpadke. Kritična vrednost za svinec je 5 mg L^{-1} .

Oblike TK, ki so topne v vodi in izmenljive, so brez težav mobilne in dostopne rastlinam, kovine vezane v kristalne strukture glin pa so relativno nedostopne. Druge oblike – vezane na karbonate, železove, manganove in aluminijeve okside ali organsko snov – se smatrajo za relativno nemobilne, odvisno od dejanske kombinacije fizičnih in kemičnih lastnosti tal. Na splošno je v tleh le majhen del kovin v sledovih v rastlinam dostopni obliki (Kabala in Singh, 2001). Ravno tako predstavljajo nevarnost za podtalnico le tiste TK, ki so prisotne v talni raztopini.

Wang in sod., 2001, poročajo, da so z dodajanjem fosfatov in karbonatov v tla, zmanjšali TCLP pri Pb od 87 – 99,8%.

Določitev deleža TK, ki so zastopane v posameznih frakcijah, še posebej tistih, ki so mobilne in biološko dosegljive, je pomembno, ker se te frakcije potencialno lahko izperejo in onesnažijo podtalno vodo ali s privzemom v rastline vstopijo v prehranjevalno verigo. Za določitev posameznih frakcij TK v tleh se uporablja sekvenčna ekstrakcija.

2.5 FRAKCIONACIJA SVINCA

TK se v tleh nahajajo v različnih ionskih oblikah, topnih v talni raztopini, in v različnih oblikah trdne faze tal. To porazdelitev TK v tleh med posamezne talne frakcije imenujemo frakcionacija TK. Oblike TK, ki so topne v talni raztopini in izmenljive s talnih koloidov, so mobilne in dostopne rastlinam. Kovine, vezane v kristalne rešetke glinenih mineralov, so nedostopne. Oblike TK, vezane na karbonate, železove in manganove okside ter vezane na organsko snov, so nemobilne in rastlinam nedostopne, odvisno od prisotnih fizikalnih in kemičnih lastnosti tal. Na splošno je v tleh le majhen del kovin v sledovih v rastlinam dostopnih oblikah (Kabala in Singh, 2001).

Za tla je bilo razvitih in uporabljenih veliko število različnih sekvenčnih ekstrakcijskih postopkov, z namenom ugotoviti, kolikšen delež kovin v tleh je prisoten v različnih talnih frakcijah: v talni raztopini, izmenljivo vezanih, adsorbiranih, organsko vezanih, vezanih na Mn okside, vezan na amorfnе Fe okside, vezanih na kristalne Fe okside, vezanih na karbonate in v netopni ostanek (Ross, 1994).

2.5.1 Sekvenčna ekstrakcija

Celokupna vsebnost težkih kovin v tleh ni zadosten kriterij za oceno nevarnosti za okolje ter posledično za ljudi. Potrebno je razumeti količinsko porazdelitev svinca oz. njegovih kemijskih oblik v tleh – tako v trdni kot v tekoči fazi tal.

Sekvenčna ekstrakcija TK je postopek uporabe serije kemičnih reagentov, s katerimi spreminjamo razmere pri postopku, kot npr.: ustvarimo rahlo kisle razmere, spremenimo redoks potencial raztopine, oksidiramo organsko snov.

Ekstrakcije začnemo z najšibkejšimi in najmanj agresivnimi reagenti. Te ekstrakcije so najbolj specifične in se zaključijo z najmočnejšimi in najbolj agresivnimi reagenti, ki so najmanj specifični, kjer se pojavijo v sekvencah kasneje, ko preostanejo le ena ali dve skupini spojin, ki jih reagenti lahko raztopijo (Ross, 1994).

Z vsako od naslednjih zaporednih ekstrakcij izločimo TK, ki so vezane na točno določeno talno fazo. Na ta način ugotovimo, kolikšen delež TK je prisoten v talni raztopini, izmenljivo vezan na talne koloide, vezan na karbonate, manganove in železove okside, organsko snov. TK, ki so prisotne v talni raztopini oz. izmenljivo vezane na talne koloide in del kovin vezan na organsko snov, so rastlinam večinoma dostopne (Tessier in sod., 1979). Metoda daje informacije o deležu mobilnih in o deležu stabilno vezanih oz. nemobilnih TK v tleh.

Kljub relativni preprostosti metode sekvenčnih ekstrakcij in dejstvu, da je njihova uporaba verjetno najbolj učinkovito orodje, ki omogoča predvidevanje dolgoročno škodljivih učinkov s TK onesnaženih tal, nastopa v povezavi z njihovo uporabo še nekaj težav: občutljivost na variabilnost pri izvedbi postopka, omejitve pri selektivnosti reagentov, ponovna adsorpcija ali obarjanje TK v različnih fazah ekstrakcije in preobremenjenost kemičnega sistema, če je koncentracija kovin prevelika (Ramos in sod., 1994; Chlopecka in sod., 1996). Na rezultate lahko vpliva priprava vzorcev: sušenje talnih vzorcev v peči s prisilnim prezračevanjem ali ne, čas ekstrakcije in izbrani ekstrakcijski reagent, razmerje med maso tal in volumnom ekstrakcijske raztopine (prevelik delež vzorca tal s povečano pufersko kapaciteto lahko preobremeni ekstrakcijo zaradi spremembe pH, volumen ekstrakcijske posode, metoda in intenzivnost stresanja ekstrakcijskih raztopin in ekstrakcijska temperatura (Förstner, 1992; Ross, 1994). Glavni problem pa je, da ekstrakcijski postopki le grobo ločijo med različnimi oblikami TK v tleh, pojavljajo se področja prekrivanja in negotovost v načinu, na katerega sekvenčni reagenti vplivajo (selektivnost reagentov) na razgradnjo kovinskih kompleksov. Npr.: uporaba vodikovega peroksida za določanje TK vezanih na organsko snov je pokazala, da razgradnja organske snovi s tem reagentom ni čisto popolna, uporaba bolj učinkovitih reagentov za razgradnjo organske snovi pa bi povzročila tudi razpad kristalne mreže v silikatih (Tessier in sod., 1979). V nobenem primeru ekstraktant ne more odstraniti vseh TK ene faze, ne da bi načel tudi TK vezane v drugih oblikah.

Nekateri avtorji opozarjajo tudi na transformacijo kovinskih faz, ki se lahko sproži med pripravo in shranjevanjem vzorcev. Ta se lahko pojavi tudi pri zračnih, predvsem pa pri mokrih vzorcih.

Kljub tem težavam, ki imajo določen vpliv, pa metode sekvenčnih ekstrakcij ostajajo široko uporabljen postopek pri proučevanju tal, onesnaženih s težkimi kovinami (Leštan in sod., 2003).

Speciacija težkih kovin, povzeta po Tessier in sod. (1979), predpostavlja pet frakcij:

I. Izmenljivo vezane težke kovine

Težke kovine v tej skupini so na talne delce nespecifično adsorbirane in ionsko izmenljive. Procese adsorpcijske in desorpcijske dosežemo z reagenti, ki vplivajo na spremembe v ionski sestavi vode. Ti sprožijo sprostitev ionov, ki so z elektrostatičnimi privlačnimi silami vezani na negativno nabitih površinah talnih koloidov.

II. Težke kovine vezane na karbonate

Večja kot je vsebnost karbonatov v tleh, večja je puferska sposobnost tal, posledično pa je tudi večja sposobnost takih tal za zadrževanje težkih kovin (Cabral in Lefebvre, 1998). Frakcija je dovzetna za spremembe pH. Čas, ki je potreben za raztapljanje karbonatov, je odvisen od vrste karbonatov, njihove vsebnosti, velikosti vzorcev in velikosti talnih delcev.

III. Težke kovine, vezane na železove in manganove okside

Frakcija zajame težke kovine vezane na amorfne ali na kristalizirane železove, manganove pa tudi aluminijeve okside. Ti oksidi so tako posamič kot skupaj odlična skladišča težkih kovin: v tleh so relativno stabilni, dokler so razmere v tleh aerobne, nestabilni postanejo v anaerobnih razmerah, ko preidejo v talno raztopino. Železovi in manganovi oksidi so v tleh prisotni kot konkrecije in prevleke na talnih delcih. Selektivni reagenti, ki jih izberemo za ekstrakcijo te talne frakcije, ne smejo reagirati z organsko snovjo ali silikatnimi minerali (Tessier in sod., 1979; Cabral in Lefebvre, 1998).

IV. Težke kovine, vezane na organsko snov

Težke kovine se vežejo na organsko snov z različnimi mehanizmi (z adsorbcijo, s tvorbo koordinacijskih spojin, s peptozacijo) ali pa so vezane v različnih živih organizmih. Organska snov se razgradi v procesih oksidacije, pri čemer pride do sprostitve ionov težkih kovin v talno raztopino.

V. Težke kovine vezane v preostanku

Po ekstrakciji prvih štirih frakcij, preostanek lahko vsebuje zlasti primarne in sekundarne minerale. Težke kovine so vezane v njihovi kristalni strukturi. V naravi se sprostijo šele pod dolgotrajnimi vplivi okolja. V postopku ekstrakcije pa jih lahko sprostimo z razklopom z močnimi, koncentriranimi kislinami pri povišani temperaturi.

Ta metoda je bila v osnovi narejena za analizo sedimentov. Glede na podobnosti med sedimenti in tlemi pa je uporabna tudi za kemično analizo tal.

V našem poskusu smo vključili tudi frakcijo, ki je topna v talni raztopini in kot taka najbolj dostopna za vnos v rastline in telo.

3 MATERIAL IN METODE

3.1 MATERIAL

3.1.1 Vzorčenje in priprava tal

Vzorke tal smo nabrali na 12 lokacijah po Mežiški dolini, predvsem v okolici vrtcev in šol ter po dvoriščih in vrtovih. Lokacije vzorčenja so opisane v preglednici 2.

Odvzeli smo vrhnja plast tal do globine 10 cm in jih označili od 1M do 12M.

Sledilo je drobljenje in homogeniziranje zračno suhih tal. Vzorke smo presegali skozi sita velikosti 5 mm, 2 mm in 0,25 mm. Skelet smo zavrgli. Zemljo presegano skozi 5 mm sito smo uporabili pri poskusu vnosa TK v testno rastlino, skozi 2 mm in 0,25 mm pa za nadaljne analize.

Preglednica 2: Lokacije vzorčenja določene z Gauss Krüger-jevim koordinatnim sistemom

Št. lokacije	Opis lokacije	x	y
1	Igrišče vrtca v Črni na Koroškem., Lamperče 26	489241	147157
2	Zelenjavni vrt za vrtcem v Črni na Koroškem	489280	147092
3	Dvorišče VVE pri OŠ Črna, Center 142	489175	147152
4	Zelenjavni vrt Žerjav	490804	149010
5	Igrišče vrtca v Žerjavu, Žerjav 23	490787	148973
6	Zelenjavni vrt v Žerjavu	490784	149006
7	Zelenjavni vrt v Žerjavu	490450	148983
8	Dvorišče večstanovanjske hiše v Žerjavu	491091	148829
9	Dvorišče družinske hiše v Mežici	490307	150814
10	Zelenjavni vrt v Mežici	489636	152110
11	Zelenjavni vrt v Mežici	489056	152972
12	Igrišče vrtca v Mežici, Partizanska 10	488974	152754

3.1.2 Prašenje vzorcev za test biodosegljivosti (PBET) iz prahu

Plastično posodo z 200 g zračno suhega vzorca tal smo postavili v 60 L polietilensko vrečo. Neprodušno smo jo zavarili ter energično stresali. Ko se je nabralo dovolj vzorca, smo prah shranili v manjših polipropilenskih epruvetah.

3.1.3 Rastlinski material

Kot poskusno rastlino smo uporabili vrtno solato (*Lactuca sativa* L sorta 'Ljubljanska ledenka'). Poskus smo zasnovali v štirih ponovitvah.

Semena smo posejali v 150 mL lončkih. Vznik je sledil po 14 dnevih. Solato smo štiri mesece gojili v rastlinjaku Biotehniške fakultete. Vzorci so bili zalivani 2 do 3- krat na teden, brez dodanih hranil in herbicidov.

3.2 METODE

3.2.1 Osnovne pedološke analize

V laboratoriju Centra za pedologijo in varstvo okolja so določili teksturo tal, vsebnost organske snovi in fosforja (P_2O_5) ter kationsko izmenjalno kapaciteto tal.

Vsebnost karbonatov in pH vzorcev sta bila opravljena v okviru projektnega dela pri opredelilnem predmetu ekopedologija.

Reakcijo tal smo določili elektrometrično v suspenziji 10 mL talnega vzorca in 50 mL 0.01 M $CaCl_2$ (razmerje tla:raztopina je bil 1:2.5). Delež organske snovi smo določili po Walkley – Black metodi, kationsko izmenjevalno kapaciteto z amonij-acetatno Melichovo metodo, teksturo tal s sedimentacijsko pipetno metodo, lahko dostopen fosfor z kolorimetrično Egner – Domingovo metodo, karbonate manometrično po reakciji tal s HCl ter celokupno koncentracijo svinca z razklopom z zlatotopko.

3.2.2 Celokupna vsebnost svinca v vzorcih

Za določitev koncentracije svinca v talnih vzorcih smo uporabili metodo z zlatotopko (ISO 11466, 1995; ISO/DIS 11047, 1995).

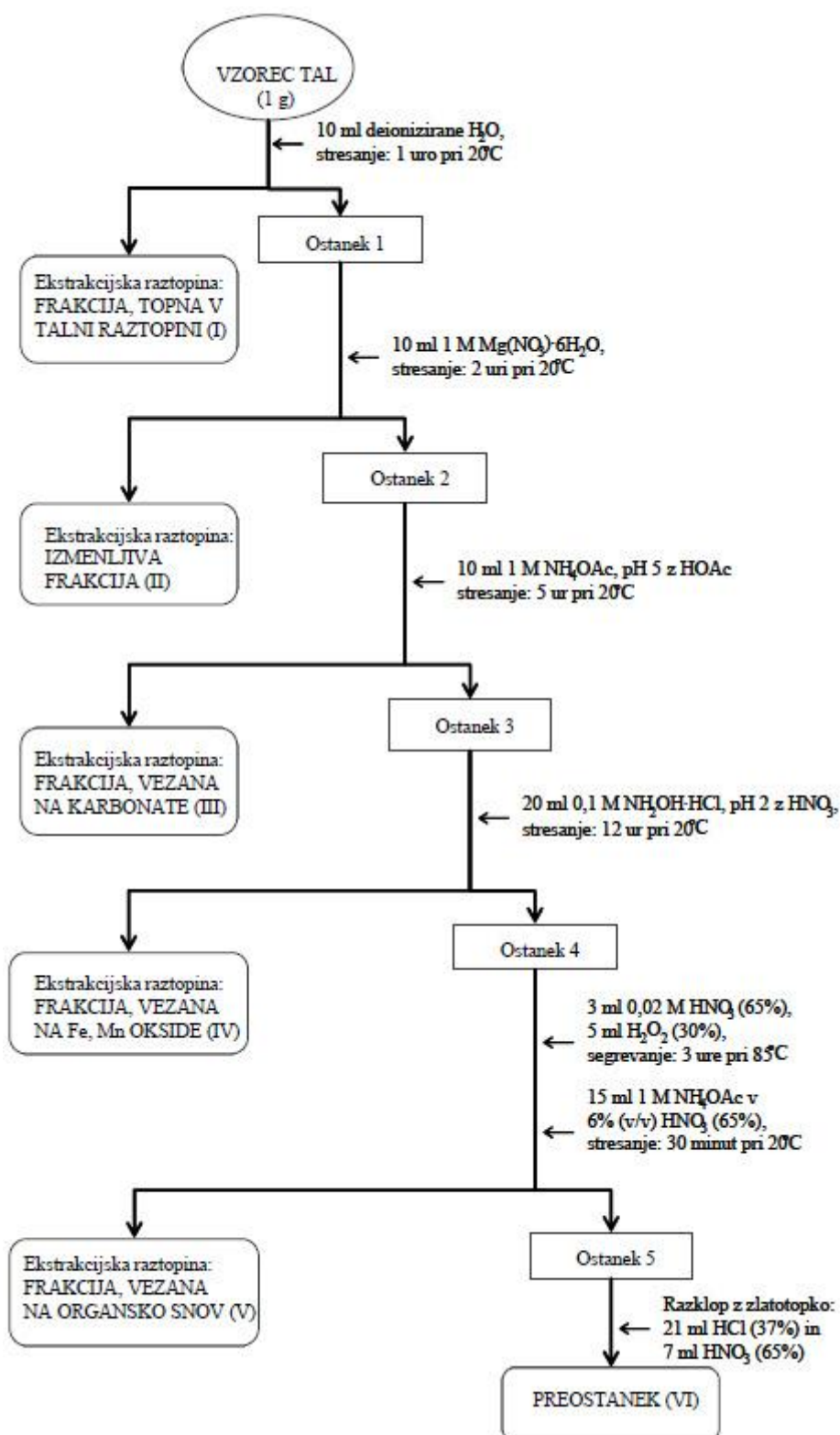
Talne vzorce smo strli v ahatni terilnici in jih presejali skozi 150 μm sito. V reakcijsko posodo smo zatehtali 3g vzorca in dodali 21 mL HCl in 7 mL HNO_3 . Tako smo jih pustili 16 ur pri sobni temperaturi. Naslednji dan smo jih 20 minut počasi segrevali, nato pa so se 2 uri kuhali. Po ohlajanju smo vzorce filtrirali v 100 mL čaše. Nato smo do oznake dodali deionizirano vodo. Vzorci so bili pripravljeni za merjenje koncentracije z AAS.

3.2.3 Določanje frakcionacije svinca v vzorcih

Frakcionacijo svinca smo določili z metodo zaporednih ekstrakcij (Leštan in sod., 2003) na 12 vzorcih zemlje v treh ponovitvah. Zaporedna ekstrakcija je potekala kot je navedeno v preglednici 3:

Preglednica 3: Postopek sekvenčne ekstrakcije (Leštan in sod., 2003)

Frakcija	Ekstrakcijska raztopina
Kovine topne v talni raztopini	10 mL dH_2O
Izmenljive iz talnih koloidov	10 mL 1 M $Mg(NO_3)_2$ + 8 ml dH_2O
Vezane na karbonate	10 mL 1 M NH_4Oac + 8 ml dH_2O
Vezane na Fe in Mn okside	20 mL 0,1 M $NH_2OH \times HCl$ + 8 ml dH_2O
Vezane na organsko snov	15 mL 1 M NH_4Oac + 8 ml dH_2O
Preostala frakcija	21 mL HCl + 7 mL HNO_3



Slika 1: Shema sekvenčnih ekstrahiranj; modificirana po Tessier in sod. (1979)

I. sekvenca: Pb v talni raztopini

Vzorec smo strli v ahatni terilnici in presejali skozi 160 μm sito. V polipropilenske epruvete za centrifugiranje smo zatehtali 1 g zračno suhega vzorca. Prelili smo ga z 10 mL deionizirane vode in stresali na stresalniku 1 uro pri 400 tresljajih/min pri sobni temperaturi. Suspenzijo smo centrifugirali 30 min pri 1500 obr./min.

Supernatant smo prenesli v 20 mL polipropilensko plastenko in shranili pri 4°C do nadaljne analize.

II. sekvenca: izmenljivi Pb

Ostanku smo dodali 10 mL 1 M raztopine $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, ga na stresalniku stresali 2 uri pri sobni temperaturi in centrifugirali 30 minut pri 1500 obr./min.

Supernatant smo odpipetirali v polipropilensko plastenko. Ekstrakcijo smo ponovili z deionizirano vodo (10 min na stresalniku). Po centrifugiranju smo vodni ekstrakt dodali supernatantu iz prve ekstrakcije. Plastenko smo shranili pri 4°C do nadaljne analize.

III. sekvenca: Pb vezan na karbonate

Ostanku smo dodali 10 mL NH_4OAc (pH 5 raztopine smo uravnali z dodajanjem HOAc). Stresali smo 5 ur in centrifugirali 30 min.

Supernatant smo odpipetirali v polipropilensko plastenko in ponovili ekstrakcijo z 8 mL deionizirane vode (stresanje 10 min). Po centrifugiranju smo vodni ekstrakt dodali supernatantu iz prve ekstrakcije. Plastenko smo shranili pri 4°C do nadaljne analize.

IV. sekvenca: Pb vezan na Fe in Mn okside

Ostanku smo dodali 20 mL 0,1 M vodne raztopine $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (pH 2 raztopine smo uravnali z dodajanjem posebno čiste 65% HNO_3), stresali 12 ur in centrifugirali.

Supernatant smo odpipetirali v polipropilensko plastenko in ponovili ekstrakcijo z 8 mL deionizirane vode (stresanje 10 min). Po centrifugiranju smo vodni ekstrakt dodali supernatantu iz prve ekstrakcije. Plastenko smo shranili pri 4°C do nadaljne analize.

V. sekvenca: Pb vezan na organsko snov

Ostanku smo dodali 3 mL 0,02 M raztopine HNO_3 in centrifugirke namestili v predhodno segreto kopel na 85°C. Vsakemu vzorcu smo postopoma dodajali 5 mL 30 % H_2O_2 in segrevali 3 ure, da je vodikov peroksid izparel. Ohlajenemu vzorcu smo dodali 15 mL 1M raztopino NH_4OAc v 6 % (v/v) posebno čiste 65 % HNO_3 , stresali 2 uri in centrifugirali.

Supernatant smo odpipetirali v polipropilensko plastenko in ponovili ekstrakcijo z 8 mL deionizirane vode (stresanje 10 min). Po centrifugiranju smo vodni ekstrakt dodali supernatantu iz prve ekstrakcije. Plastenko smo shranili pri 4°C do nadaljne analize.

VI. sekvenca: Preostali Pb

Ostanek smo iz centrifugirk kvantitativno prenesli v steklene posodice za razklop tako, da smo si pomagali z reagenti zlatotopke: 21 mL HCl (37 %) in 7 mL HNO_3 (65 %). Pustili smo stati 16 ur pri sobni temperaturi. Nato smo kuhali 2 uri na kuhalniku s povratnimi hladilniki.

Ohlajene vzorce smo filtrirali v 100 mL bučke in dopolnili z DIN-kislino (35 mL HNO_3 (65%) v 1 L deionizirane vode) do 100 mL. Ekstrakcijske raztopine smo prelili v 20 mL polipropilenske plastenke ter jih shranili pri 4°C do nadaljne analize.

3.2.4 Analiza rastlinskega tkiva

Vnos svinca v testno rastlino smo določili po mikrovalovnem razklopu s posebej čisto koncentrirano (65%) dušikovo V kislino (HNO_3).

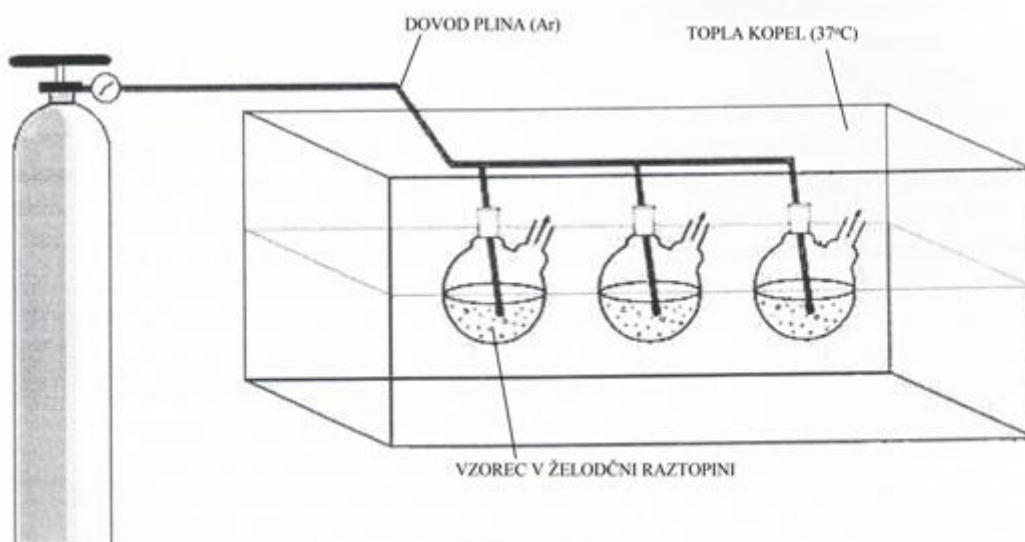
Porezane rastline smo temeljito oprali, posušili in zmleli v titanovem mlinu. V namenske plastične posodice za razklop smo zatehtali okoli 0,3 g vzorca. Vzorce smo najprej prelili z 2 mL HNO_3 in kasneje še z 2 mL deionizirane vode. Vzorce smo razkrojili v mikrovalovni pečici (MDS-2000). Ko so se vzorci ohladili smo jih razredčili z deionizirano vodo do 25 mL. Koncentracijo svinca v nadzemnih delih rastline smo določili z metodo atomske absorpcijske spektrofotometrije (AAS, Perkin-Elmer 1100-B). Kontrolo smo zagotovili s slepim vzorcem in standardnim referenčnim vzorcem.

3.2.5 TCLP metoda

Mobilnost in izpiranje svinca smo določili z uporabo TCLP (toxicity characteristic leaching procedure) metodo v treh ponovitvah. 10 g vzorca in 200 mL ekstrakcijske raztopine (0,0992 M očetne kisline in 0,0643 M NaOH, pH 4,93±0,05) smo 18 ur stresali v rotacijskem stresalniku (300 obr./min) pri sobni temperaturi. Vsebino smo filtrirali (Whatman No.4 filter papir), znižali pH pod 2 s koncentrirano HNO_3 in shranili vzorec pri 5°C za nadaljne analize.

3.2.6 Fiziološki ekstrakcijski test (PBET)

Oralno biodostopnost Pb smo določili z metodo PBET, ki simulira dogajanje v želodcu in tankem črevesu po zaužitju onesnaženih tal. Poskus je bil opravljen v treh ponovitvah. Za pripravo želodčne raztopine smo v 1 L destilirane vode raztopili 1,25 g pepsina, 0,50 g citrata, 0,50 g malata, 420 μL mlečne kisline in 500 μL očetne kisline ter vse skupaj umerili na pH 2,50 ($\pm 0,05$) z 12N HCl. Za vsak vzorec tal smo po rahlem mletju v mineralni terilnici in presejanju skozi 250 μm sito zatehtali 0,4 g tal. 40 mL želodčne raztopine smo z 0,4 g vzorca dali v polipropilenske lončke, kjer smo z vpihavanjem navlaženega argona (20 L/h) mešali vsebino. Po tri vzorce hkrati smo v toplo kopel (37°C) postavili za eno uro; po prvih 5 minutah in vsakih nadaljnjih 15 min smo v obsegu 1 ure uravnavali pH v lončkih na 2,5. Po pretečeni uri smo zbrali po 2 mL vzorca želodčne faze. Ostali vsebini smo dodali 2 mL želodčne raztopine in po zvišanju na pH=7,0 z dializno vrečko (1 g NaHCO_3 in 2 mL dH_2O) dodali 20 mg pankreatina in 70 mg žolčnega ekstrakta. Po 1 h smo vzeli še 2 mL vzorca črevesne faze ter vse skupaj centrifugirali in shranili na hladnem (5°C) za nadaljnje analize.



Slika 2: Shematski prikaz PBET

3.3 STATISTIČNA ANALIZA

S pomočjo računalniškega programa Statgraph 4.0 smo naredili linearno regresijsko analizo za določitev odvisnosti biodostopnosti in mobilnosti svinca od izbranih talnih lastnosti.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 LASTNOSTI TAL

Prevladujoča tla v Mežiški dolini so koluvijski nanosi na dolomitu. 12 izbranih lokacij se razteza od Mežice do Črne na Koroškem.

Izbrana tla so antropogenega izvora različnih namembnosti:

- okolica vrtca (lokacije 1, 5 in 12),
- šole (lokacija 3),
- dvorišče (lokaciji 8 in 9) ter
- zelenjavni vrtovi (lokacije 2, 4, 6, 7, 10 in 11).

Delež organske snovi smo določili v masnih odstotkih (m/m) glede na maso suhih tal. Vrednosti izbranih talnih lastnosti so predstavljene v preglednici 4:

Preglednica 4: Pedološke lastnosti zgornjega sloja tal (0 – 5 cm)

Lokacija	pH (CaCl ₂)	Org. snov (%)	Tekstura			CO ₃ ²⁻ (%)	K.I.K. (mmol _c 100 g ⁻¹)	P ₂ O ₅ (mg 100 g ⁻¹)
			Pesek (%)	Melj (%)	Glina (%)			
1	7,4	5,7	37,8	43,2	19,0	13,0	29,2	5,4
2	7,4	10,1	26,3	44,9	28,8	7,8	42,8	63,2
3	7,3	5,7	57,8	30,8	11,4	4,5	23,8	22,2
4	6,9	12,1	47,9	42,3	9,8	41,3	39,1	177,7
5	7,5	7,6	42,9	45,3	11,8	47,2	26,0	25,3
6	6,9	13,6	37,0	47,7	15,3	43,1	35,1	182,4
7	6,7	12,5	49,2	40,2	10,6	31,3	30,4	179,7
8	7,4	21,2	48,5	39,1	12,4	25,9	61,6	10,4
9	7,1	6,4	72,3	19,6	8,1	28,7	20,8	78,8
10	7,0	10,5	43,8	43,8	12,4	13,0	39,6	124,2
11	7,0	6,6	39,9	41,3	18,8	17,6	27,1	102,4
12	7,3	5,6	60,2	28,3	11,5	26,0	20,3	23,1

Vzorci tal so imeli pH vrednosti med 6,7 in 7,5. Topnost kovin se povečuje pri nižjem pH, kjer se obarjanje in kompleksacija (nastanek kompl. spojin) zamenjata z adsorpcijo. Le-ta se zmanjšuje z zmanjševanjem pH, zaradi kompeticije kationov TK s protoni (H⁺) na površini talnih koloidov. To pomeni večjo adsorpcijo Pb v tleh s pH 3 - 5. Obarjanje in kompleksacija Pb prevladujeta pri pH 6 - 7 (Rieuwerts in sod., 1998).

Vzorci imajo relativno visoko vsebnost organske snovi, od 5,7 do 21,2 %. Deleži so veliki na vrtnih tleh, verjetno zaradi gnojenja s hlevskim gnojem. Ekstremno velika vsebnost org. snovi je bila v vzorcu 8 z dvorišča v Žerjavu. Razlog za to je morda rendzina, kjer se organska snov akumulira hitreje, kot pa se je mineralizira.

Čeprav je delež organske snovi v tleh ponavadi manjši od deleža gline, ima le-ta velik vpliv na vezavo kovin. Organska snov zadrži TK s kompleksacijo, adsorbcijo ter ionsko izmenjavo. Karboksilna skupina huminske snovi pri višjih vrednostih pH ionizira ter tako privede do nastanka bolj stabilnih kovinskih kompleksov. Za svinec velja, da se zadržuje v vrhnji plasti tal (na površini tal); če se kovinski ioni vežejo na nizkomolekularne, vodotopne fragmente humusne snovi, tvorijo stabilne mobilne komponente, ki se lahko iz tal tudi izperejo. Na ta način se lahko izpira v globlje plasti talnega profila (Rieuwerts in sod., 1998). Večji, trdni delci humusa pa kovine v tleh zadržujejo, preprečujejo izpiranje, jih imobilizirajo in zmanjšajo dostopnost rastlinam.

Vsebnost karbonatov je sorazmerno velika, od 4,5 do 47,2 %. Izbrana tla spadajo v skupino rjavih pokarbonatnih tal na apnencu in dolomitu ter evtrična rjava tla na prevladujočem karbonatnem aluviju. Kot taka so zelo bogata s karbonati. Kalcijev karbonati delujejo kot močni adsorbent. TK lahko kompleksirajo kot dvojne soli (npr. $\text{CaCO}_3 \cdot \text{PbCO}_3$) (Ramos in sod., 1994).

Vsebnost gline se od vzorca do vzorca spreminja; deleži so od 8,1 % do 28,2 %. Tla v vzorcih so pripadala naslednjim teksturnim razredom: ilovnata, glineno-ilovnata in peščeno-ilovnata tla. Glinena frakcija mineralne faze tal veže kovine z ionsko izmenjavo in s specifično adsorbcijo. Adsorbcija je večinoma odvisna od pH, vendar se spreminja z vrsto glinenih mineralov.

Vrednosti kationske izmenjevalne kapacitete tal v vzorcih so bile med 20,3 in 61,6 mmol_c na 100 g tal. Kationska izmenjava težkih in drugih kovin je odvisna od gostote negativnih vezavnih mest na talnih koloidih in od relativne nabitosti oblik težkih kovin prisotnih v talni raztopini.

Vsebnosti lahko dostopnega fosforja so od 5,4 do 183,4 mg na 100 g tal. Koncentracija fosfatov v tleh ima pomemben vpliv na biodostopnost težkih kovin, ker lahko tvorijo težko topne soli.

Raba tal na nekaterih lokacijah, kjer je presežena kritična meja vsebnosti Pb (530 mg kg⁻¹):

- lokacija 7.....zelenjavni vrt
- lokacija 8.....naselje Žerjav, pod travno rušo
- lokacija 9.....travna ruša, dvorišče in igrišče ob hiši
- lokacija 11....vrt pri hiši

Iz tega je razvidno, da so ljudje na tem območju v vsakodnevni neposredni nevarnosti vnosa Pb v telo.

4.2 FRAKCIONACIJA SVINCA

S šeststopenjsko sekvenčno ekstrakcijo smo določili porazdelitev svinca po posameznih talnih frakcijah. Prikazane vrednosti in standardni odkloni so povprečja treh meritev. Izkoristek predstavlja razmerje med vsoto koncentracij svinca posameznih frakcij ter celokupno vsebnostjo svinca po vzorcih in je izražen v odstotkih.

Rezultati frakcionacije svinca (v mg kg^{-1}) v talnih vzorcih so predstavljeni v preglednici 5:

Preglednica 5: Skupna koncentracija in frakcionacija Pb

Lokacija	Skupni Pb (mg kg^{-1})	Frakcionacija Pb (mg kg^{-1})						Izkoristek (%)
		Topen v talni raztopini	Izmenljivi	Vezan na karbonate	Vezan na Fe in Mn oksidi	Vezan na organsko snov	Pb v ostanku	
1	680,33±6	0,70±0,4	0,97±0,9	70,77±1,3	1,53±0,6	584,55±5,1	154,33±5,0	119,5
2	469,00±17	0,43±0,1	0,27±0,4	24,60±0,5	1,60±0,9	484,95±26,2	62,00±7,2	122,4
3	541,56±12	0,60±0,4	0,90±0,4	43,67±1,9	3,13±1,2	593,40±5,7	85,67±6,1	134,3
4	3398,33±49	1,00±0,1	6,00±0,2	186,47±6,1	7,47±1,1	3100,00±218,3	424,00±22,1	109,6
5	1763,33±20	0,93±0,3	3,50±0,7	224,67±19,9	6,53±0,5	1612,00±120,6	245,00±8,7	118,7
6	2790,00±71	1,43±0,2	5,57±0,3	178,47±10,0	6,40±1,5	1693,50±497,6	361,33±6,7	80,5
7	4333,33±118	1,97±0,2	10,37±0,2	290,33±8,8	19,07±2,1	3819,00±438,0	372,00±20,0	104,1
8	943,33±8	0,93±0,4	1,53±0,6	19,97±1,5	0,47±0,8	223,90±15,7	177,00±7,0	44,9
9	3073,33±278	0,67±0,3	3,23±0,4	551,67±42,6	21,60±8,5	2670,00±229,4	424,00±9,9	119,5
10	1969,33±36	0,57±0,3	1,93±0,6	209,70±108,6	3,20±0,7	1735,50±137,8	220,33±2,1	110,3
11	1039,11±28	0,80±0,4	0,80±0,2	228,83±6,9	0,80±0,8	603,25±259,1	119,00±4,4	91,8
12	551,67±13	0,17±0,2	0,67±0,1	162,80±6,7	1,33±1,2	397,30±10,6	90,33±1,2	118,3

Skupna koncentracija svinca v vzorcih je od 469,00 do 4333,33 mg kg^{-1} . Vseh 12 vzorcev presega kritično imisijsko vrednost svinca v tleh, določeno na 530 mg kg^{-1} Pb. Največja vrednost je bila izmerjena na zelenjavnem vrtu, kjer je koncentracija kritično vrednost presegla za 8-krat; do 3-kratno vrednost vzorci presegajo na štirih lokacijah v okolici vrtcev in šol. Te vrednosti pa ne prikažejo dejanske biodostopnosti in mobilnosti in s tem bolj verjetne nevarnosti, ki jo taka tla predstavljajo.

S šestsopenjsko sekvenčno ekstrakcijo smo ocenili delež Pb vezanega na biološko dostopne in nedostopne frakcije tal. Za lažjo predstavo razporeditve svinca po talnih frakcijah so v preglednici 6 prikazani deleži Pb po posameznih frakcijah:

Preglednica 6: Deleži Pb vezanega po posameznih talnih frakcijah

Lokacija	Delež Pb (%)						Skupaj
	Topen v talni raztopini	Izmenljivi	Vezan na karbonate	Vezan na Fe in Mn okside	Vezan na organsko snov	Pb v ostanku	
1	0,09	0,12	8,71	0,19	71,91	18,99	100
2	0,08	0,05	4,29	0,28	84,51	10,80	100
3	0,08	0,12	6,00	0,43	81,58	11,78	100
4	0,03	0,16	5,01	0,20	83,22	11,38	100
5	0,04	0,17	10,74	0,31	77,03	11,71	100
6	0,06	0,25	7,94	0,28	75,38	16,08	100
7	0,04	0,23	6,43	0,42	84,63	8,24	100
8	0,22	0,36	4,71	0,11	52,83	41,76	100
9	0,02	0,09	15,03	0,59	72,73	11,55	100
10	0,03	0,09	9,66	0,15	79,93	10,15	100
11	0,08	0,08	24,00	0,08	63,27	12,48	100
12	0,03	0,10	24,95	0,20	60,88	13,84	100

Po pričakovanjih se je izkazalo, da je največ Pb vezanega na organsko snov (od 52,83 do 84,63 %), saj je znano, da ima z njo največjo afiniteto. Ugotovljeni deleži Pb, vezanega v ostanku oz. vključenega v kristalno strukturo primarnih in sekundarnih mineralov, so bili od 8,2 do 41,8 %. Sorazmerno velike vrednosti v tretji frakciji pripisujemo sami pedološki zgradbi tal, saj so, kot je bilo prej omenjeno, zelo bogata s karbonati. S tem pa so taka tla dovzetna na spremembo reakcije tal.

Analize so pokazale, da se Pb v največji meri pojavlja v frakciji, vezan na organsko snov, v manjši meri pa tudi v karbonatni frakciji in v ostanku. Naštete oblike Pb so bodisi nedostopne bodisi potencialno dostopne organizmom.

S tem, da je večji delež Pb biološko nedostopen, do neke mere zmanjšuje neposredno nevarnost za človeka. Speciacija Pb je ključnega pomena pri razumevanju usode onesnažila in njegove biodostopnosti.

4.3 BIODOSTOPNOST SVINCA

4.3.1 Fitodosegljivost, oralna biodostopnost ter mobilnost Pb

V preglednici 7 so predstavljeni rezultati vnosa Pb v vrtno solato, rezultati oralne biodostopnosti po PBET metodi za vzorce zemlje in prahu ter rezultati mobilnosti po TCLP metodi. Koncentracija svinca v solati je izražena v mg Pb na kg suhe snovi solate. Koncentracije v rastlini ter PBET so podane v mg Pb na kg tal. Mobilnost svinca je podana v mg Pb na liter ekstrakcijske raztopine.

Preglednica 7: Vnos Pb v solato in ekstrakcija Pb s pomočjo PBET iz tal in prahu ter TCLP metoda

Lokacija	Pb v vrtni solati (mg kg ⁻¹)	PBET (mg kg ⁻¹)				TCLP (mg/L)
		Vzorci zemlje		Vzorci prahu (delci velikosti < 250 µm)		
		Želodčna faza	Črevesna faza	Želodčna faza	Črevesna faza	
1	5,83 ^b	85,50±22,47	8,18±4,44	9,65±15,27	1,07±1,34	0,21±0,02
2	4,05 ^b	53,07±27,35	6,43±1,78	5,29±35,47	0,63±1,40	0,12±0,01
3	4,09 ^b	122,17±43,49	17,57±9,55	13,63±27,91	0,94±4,66	0,24±0,01
4	- ^a	269,23±128,70	97,60±14,44	65,60±190,87	8,03±34,74	0,88±0,05
5	9,76±3,12	210,47±37,32	62,90±25,42	35,21±129,38	3,42±17,68	0,98±0,05
6	5,19 ^b	440,63±140,17	113,35±51,90	33,87±64,48	3,03±13,70	1,19±0,51
7	13,75±2,10	832,60±243,04	332,00±94,01	110,24±272,14	16,61±89,78	1,95±0,63
8	7,20 ^b	26,30±15,19	25,83±4,84	5,98±20,54	1,03±5,06	0,32±0,24
9	- ^a	390,48±78,03	275,47±14,35	48,43±93,05	5,47±20,25	0,78±0,02
10	4,17±2,41	223,93±81,97	40,17±7,25	23,38±145,38	6,63 ^b	0,51±0,04
11	3,33±1,04	142,27±37,58	36,47±5,62	24,23±69,86	3,15 ^b	0,39±0,03
12	3,94±0,71	79,93±10,91	20,80±3,47	11,07±30,68	1,91±4,85	0,29±0,12

^a Koncentracije Pb v rastlinskem ekstraktu ni bilo mogoče določiti (manj kot 0,3 g vzorca)

^b Standardni odklon ni podan zaradi premajhnega števila meritev

Koncentracije Pb v listih vrtno solate so od 3,3 do 13,8 mg kg⁻¹. Določena zgornja vrednost koncentracije Pb v rastlinah, ki se uporabljajo v prehrani, je v Sloveniji določena na 0,3 mg/kg (Ur.l. RS št. 69/2003). Izmerjene koncentracije Pb pri listih vrtno solate v našem poskusu to mejo presegajo. Za namen našega poskusa je rastlina uspevala v zavarovanem rastlinjaku in tako ni bila izpostavljena zračnim emisijam. S temeljitim pranjem listov smo na tudi odstranili morebitne delce onesnaženega prahu.

Postopek PBET upošteva delovanje dveh, med seboj povezanih prebavnih delov človeškega prebavnega trakta: želodec in tanko črevo. V želodcu, HCl (klorovodikova kisl.) ustvari kislo okolje (pH 1 do 5), kjer se raztopijo mineralni oksidi, sulfidi in karbonati ter se tako iz njih sprostijo TK. Pepsin, proteolitični encim, ki ima boljšo aktivnost v takem kislem okolju, razgradi polipeptide in beljakovine ter tako pripomore k razkroju talnih vzorcev. Ta proces v organizmu lahko traja 3 ure.

V tankem črevesju so vzorci izpostavljeni nadaljni prebavi z različnimi encimi (tripsin, pankreatin in amilaza), žolčnim encimom in sodi bikarboni. Razgradijo se polisaharidi, proteini ter maščobe. Večji del absorpcije se vrši v tankem črevesju pri pH 7, kjer se prebava zaključí. Celoten proces lahko traja tudi 7 ur.

Za pravilno interpretacijo teh rezultatov je potrebno upoštevati, da metoda PBET ne posnema celotnega fiziološkega dogajanja, ki nadzoruje vnos svinca v telo in ni bila zasnovana za ocenjevanje absorpcije preko črevesnega epitela glede na zaužito dozo (Ruby in sod., 1996). Čeprav metoda PBET ni standardizirana, se jo pogosto poslužuje kot referenca.

Navarro in sod (2006) ugotavljajo, da manjša biodostopnost pri nevtralnem pH, ki sledi kisli ekstrakciji, nakazuje na manjšo dostopnost TK v tankem črevesju. Tako se tudi pri našem poskusu izkaže, da glavnina Pb v talnih vzorcih ni oralno dostopna; delež PBET želodčne faze za vzorce zemlje je bil od 2,8 % (vzorec 8) do 22,9 % (vzorec 3) ter PBET črevesna faze še manjši, od 1,2 % (vzorec 1) do 9,0 % (vzorec 9) celokupnega Pb. Deleži Pb iz meritev na prašnih delcih želodčne faze so od 1,3 % (vzorec 2) do 2,5 % (vzorec 7) ter PBET črevesne faze od 0,1 % (vzorec 2) do 0,4 % (vzorec 7) celokupnega Pb.

Koncentracije oralno dostopnega Pb iz vzorcev prahu so precej manjše od koncentracij Pb dosegljivega iz vzorcev zemlje. To si lahko razlagamo s tem, da večino talnega prahu predstavljajo frakcije tal, ki močno vežejo težke kovine, kot so glineni minerali in organsko mineralni delci z veliko specifično adsorpcijo.

Kot je razvidno iz preglednice 7, v nobenem od talnih vzorcev ni bila presežena mejna TCLP vrednost za Pb. Najvišjo koncentracijo Pb v ekstraktu ($1,95 \text{ mg L}^{-1}$) smo določili v tleh iz lokacije 7 (zelenjavni vrt). Mobilnost onesnažil določa njihovo izpiranje iz tal v površinske in podzemne vode. EPA je določila mejno vrednosti za Pb v TCLP ekstraktih na 5 mg L^{-1} . Tla in ostale trdne več-fazne snovi, kjer onesnažila presegajo mejne vrednosti, uvrščamo med nevarne odpadke, ki jih je možno odlagati samo na posebnih deponijah.

4.3.2 Odvisnosti med talnimi lastnostmi, frakcionacijo in biodostopnostjo

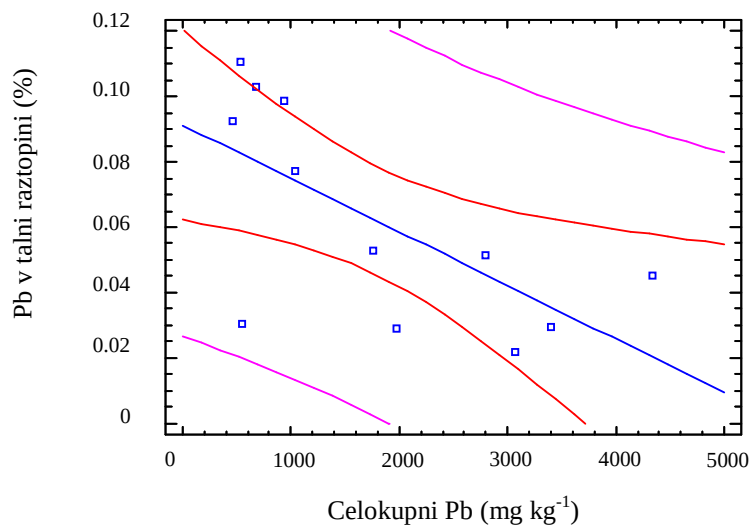
Analize dveh spremenljivk, ki so prikazale statistično značilne povezave ($p < 0,05$) so predstavljene v preglednici 8:

Preglednica 8: Rezultati linearne regresijske analize ($p < 0.05$)

	p vrednost	r^2 (%)	Model
I. Pb v talni raztopini			
Celokupna vsebnost Pb	0,0202	43,18	$y = 0,0912 - 1,6366 \cdot 10^{-5}x$
II. Izmenljivi Pb			
Karbonati	0,0311	38,59	$y = 0,0850 + 2,415 \cdot 10^{-3}x$
III. Pb vezan na karbonate			
K.I.K.	0,0124	48,10	$y = 27,1206 - 0,4754x$
Organska snov	0,0182	44,29	$y = 22,7197 - 1,1510x$
V. Pb vezan na organsko snov			
Organska snov	0,0289	39,40	$y = 110,92 - 3,1622x$
VI. Pb v frakciji ostanek			
Celokupna vsebnost Pb	0,0291	39,31	$y = 17,4661 - 1,7812 \cdot 10^{-3}x$
pH	0,0083	51,79	$y = -60,6019 + 10,4590x$
Fosfati	0,0035	59,07	$y = 17,7150 - 0,0416x$
Vnos Pb v vrtni solati			
pH	0,0088	59,71	$y = 0,0470 + 7,2274 \cdot 10^{-3}x$
Fosfati	0,0077	60,98	$y = 0,0071 - 2,8453 \cdot 10^{-5}x$
Pb v želodčni fazi – zemlja			
K.I.K.	0,0099	50,20	$y = 23,2088 - 0,3079x$
Pb v črevesni fazi – zemlja			
Celokupna vsebnost Pb	0,0157	45,76	$y = 1,5991 + 1,1975 \cdot 10^{-3}x$

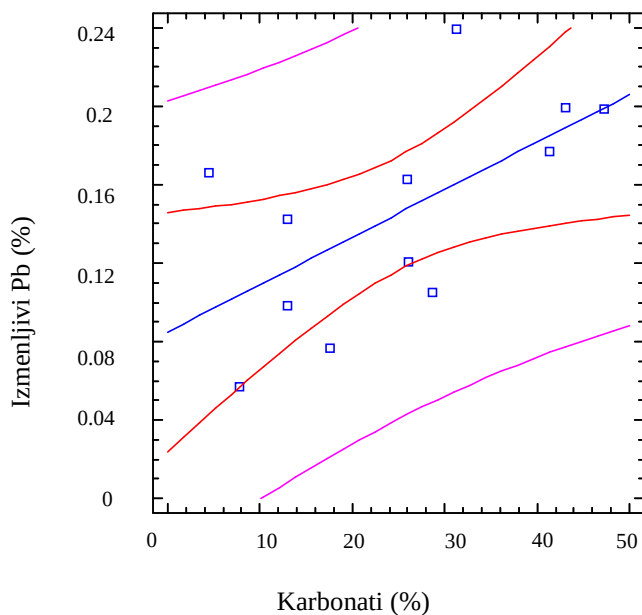
V prvem stolpcu preglednice 8 so navedene spremenljivke, med katerimi obstajajo statistično značilne odvisnosti ($p < 0,05$), tj. 5 odstotna verjetnost tveganja. Nad črto je navedena odvisna spremenljivka (y), pod njo pa neodvisna spremenljivka (x). V drugem stolpcu je naveden regresijski koeficient (r^2) za računski model v četrtem stolpcu.

Slika 3:



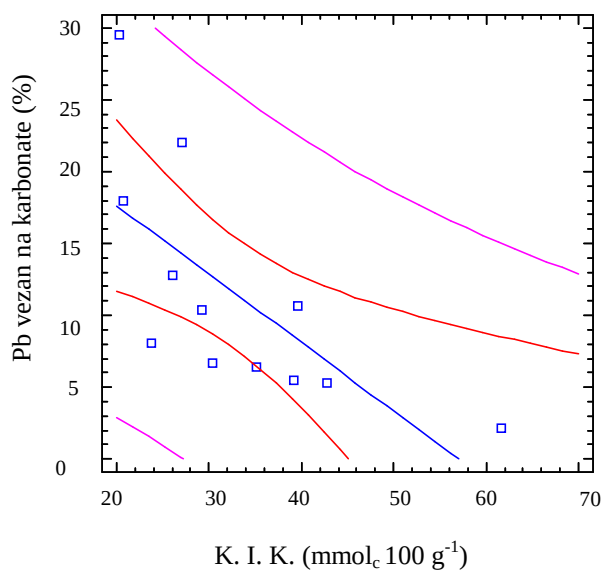
Slika 3: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, topnega v talni raztopini (%), od celokupne vsebnosti Pb v tleh (mg kg^{-1})

Slika 4:



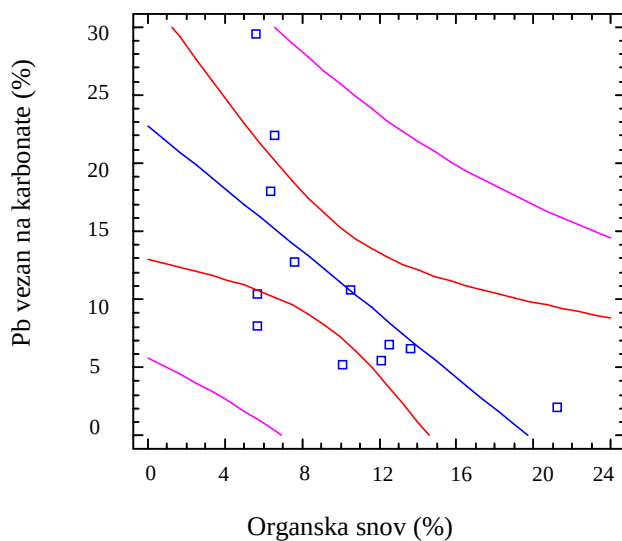
Slika 4: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije izmenljivega Pb v tleh (%), od deleža karbonatov v tleh (%)

Slika 5



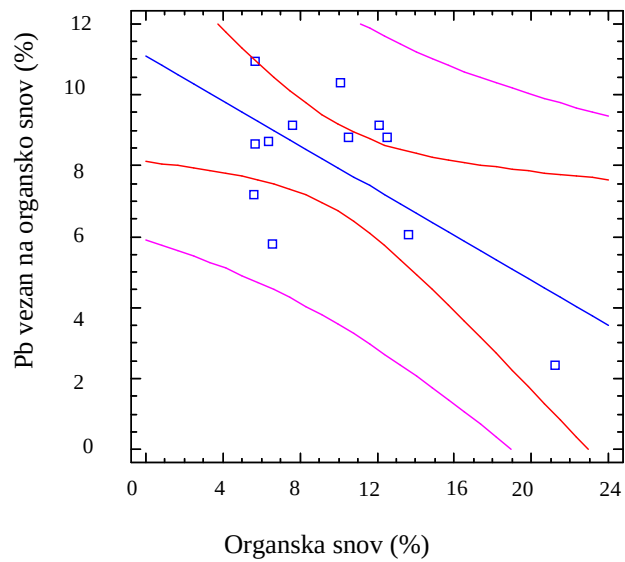
Slika 5: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, vezanega na karbonate v tleh (%), od kationske izmenjevalne kapacitete (mmol_c 100 g⁻¹)

Slika 6:



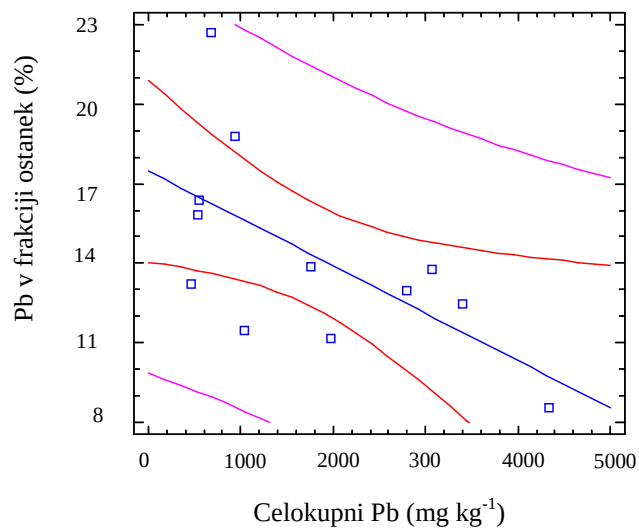
Slika 6: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, vezanega na karbonate v tleh (%), od vsebnosti organske snovi v tleh (%)

Slika 7:



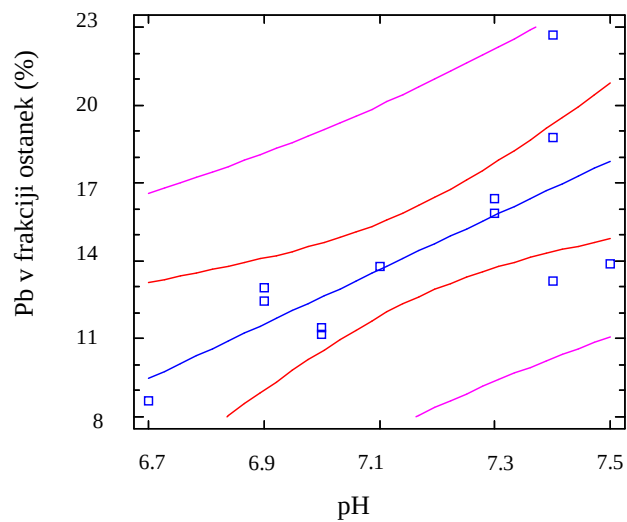
Slika 7: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb, vezanega na organsko snov v tleh (%), od deleža organske snovi v tleh (%)

Slika 8:



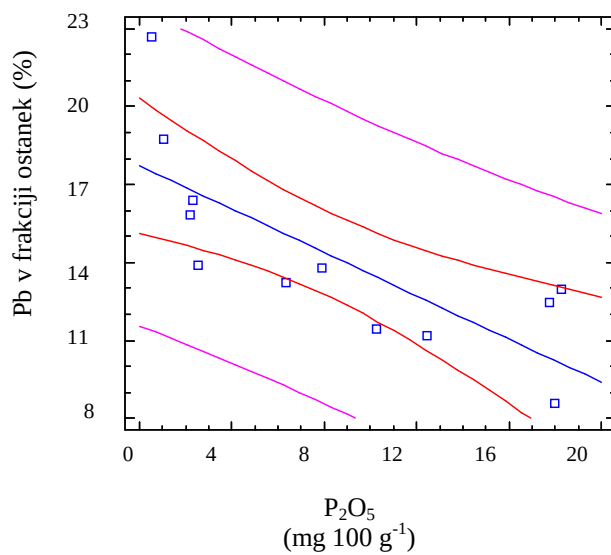
Slika 8: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb v ostanku (%) od celokupne vsebnosti organske snovi v tleh (mg kg⁻¹)

Slika 9:



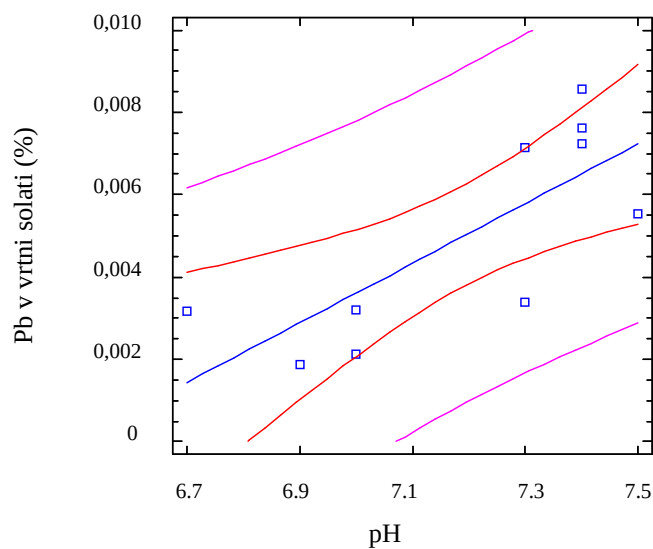
Slika 9: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb v ostanku (%) od pH vrednosti talne razopine

Slika 10:



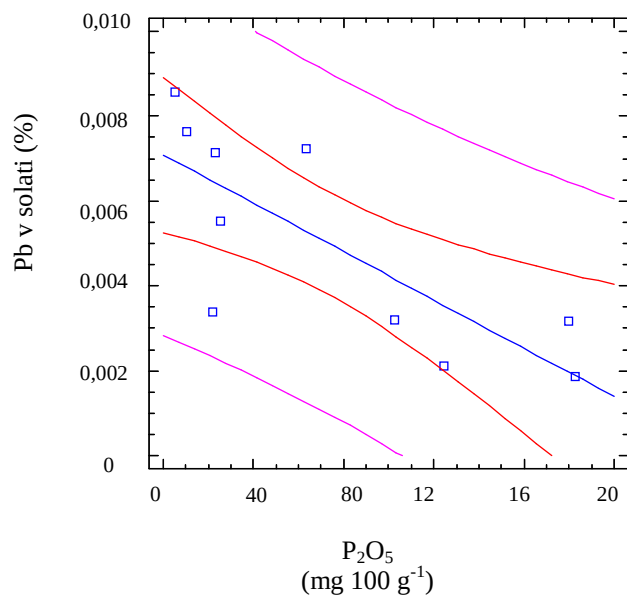
Slika 10: Linearni regresijski model za odvisnost deleža frakcije Pb v ostanku (%) od vsebnosti fosfatov v tleh (mg 100 g⁻¹)

Slika 11:



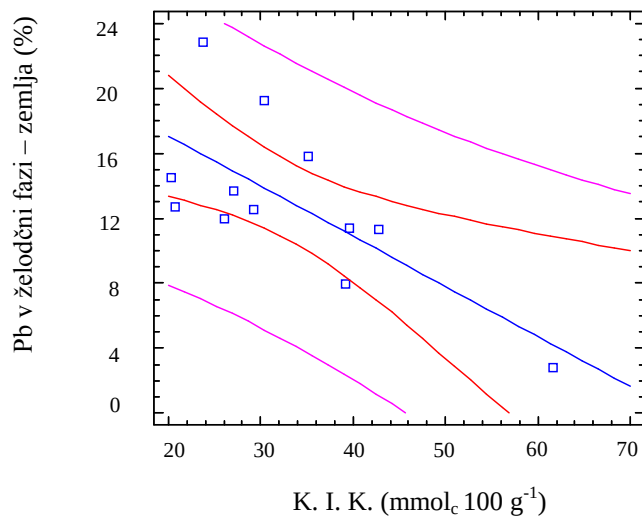
Slika 11: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v solati (%) od pH vrednosti talne raztopine

Slika 12:



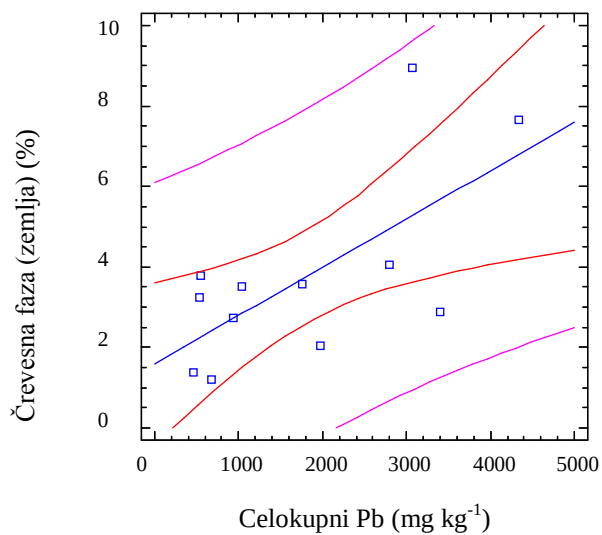
Slika 12: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v vrtni solati (%) od vsebnosti fosfatov v tleh (mg 100 g⁻¹)

Slika 13:



Slika 13: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v želodčni fazi (zemlja) (%) od kationske izmenjevalne kapacitete tal (mmolc 100 g⁻¹)

Slika 14:



Slika 14: Linearni regresijski model za odvisnost deleža Pb v črevesni fazi PBET (zemlja) (%) od celokupne vsebnosti Pb v tleh (mg kg⁻¹)

Najprej moramo poudariti, da je zaradi premajhnega vzorca ekstrapolacija rezultatov otežena. Z večjim številom vzorcev bi imeli na razpolago natančnejše izračune. Zato je potrebno v našem primeru pridobljene podatke uporabljati z določeno mero pazljivosti.

Med množico izračunanih korelacij smo dobili dvanajst statistično značilnih. Za naš poskus so najbolj pomembne tiste, ki se nanašajo na biodostopnost.

Vnos Pb v vrtno solato je odvisen od pH: višji kot je pH, več Pb je fitodosegljivega. Vendar ti rezultati ne kažejo dejanskega stanja, ker je bil razpon vrednosti pH premajhen: vse pH vrednosti so bile okrog 7. Za realne rezultate bi potrebovali tla s širšim razponom pH. Le-ta ima od vseh talnih lastnosti največji vpliv na delež topne oblike TK. Topnost TK se povečuje z nižanjem pH.

Ugotovljena je negativna korelacija med fitodosegljivostjo in fosfati v tleh: pri zelo majhnem odstotku tveganja ($p < 0,01$), smo pri testu fitodosegljivosti, skoraj 61 % variabilnosti deleža Pb pojasnili z vsebnostjo fosfatov v tleh. Negativno povezavo med vsebnostjo fosfatov v talni raztopini in vnosom Pb v solato lahko razložimo z vezavo fosfatov in kovin v netopne komplekse. Vendar pa je v talni raztopini zelo majhen delež Pb, kar kaže tudi zelo majhen nagib premice v modelu. Če se prisotnost ostalih kationov in anionov v talni raztopini spremeni, pride do sprememb na vezalnih mestih talnih koloidov. V tem primeru, zaradi povečanja koncentracije ionov v talni raztopini, pride do tekmovanja med ioni za kationsko izmenjavo in specifično adsorpcijo. Nekateri ioni lahko tvorijo komplekse s kovinskimi kationi, kot na primer fosfati s svincem.

Pri povezavi med KIK in želodčno fazo PBET smo ugotovili, da je korelacija negativna: pri veliki vrednosti KIK je izmerjena vsebnost Pb v želodčni fazi manjša kot pri majhni vrednosti KIK. To pripisujemo izmenjavi Pb med izmenjalno fazo tal in želodčno raztopino. Odstotek tveganja je zelo majhen ($p < 0,01$). V želodčni fazi lahko pojasnimo 50,20 % svinca. Pri izmenjavi Pb iz talnega kompleksa se izmenljivo veže toliko protonov, kolikor jih je sposobna vsebovati želodčna raztopina. Vendar pa je vsebnost protonov v želodčni raztopini premajhna, da bi protoni zasedli vsa izmenljiva mesta s Pb.

Pozitivna korelacija med celokupnim Pb in črevesno fazo PBET pri pH 7 na vzorcih zemlje: biodostopnost v črevesni raztopini se večja pri višji koncentraciji Pb tleh. Odstotek tveganja je zelo majhen ($p = 0,0157$). V črevesni fazi PBET lahko pojasnimo približno 46 % variabilnosti deleža svinca s celokupno vsebnostjo Pb v tleh. To je zelo verjetno, saj se večina zaužitega Pb absorbira prav iz tankega črevesja (Mushak, 1991).

5 SKLEPI

Naše ugotovitve so:

- frakcionacija Pb je odvisna od lastnosti tal, kar nam je potrdila tudi regresijska analiza;
- statistično značilne povezave smo dobili pri testu PBET (zemlja) ter vnosom Pb v rastlino solate in nekaterimi lastnostmi tal;
- koncentracije oralno dosegljivega Pb v talnem prahu so precej manjše od koncentracij Pb biodosegljivega iz talnih vzorcev;
- izmerjene koncentracije Pb v listih vrtnice solate so presegale z zakonom določene mejne vrednosti in tako rastlina ni primerna v prehrani;
- v nobenem od talnih vzorcev, mejna TCLP vrednost za Pb ni bila presežena.

Množica sanacijskih ukrepov, vključno z ukinitvijo primarnega pridobivanja svinčeve rude ter ostalimi ukrepi, lahko močno prizadeto okolje Zgornje Mežiške doline spremenijo v okolje, kjer, z dobrim poznavanjem stanja in upoštevanjem nekaterih preventivnih ukrepov, življenje postane podobno življenju v ostalih manj onesnaženih industrijskih predelih Slovenije.

Vendar dosednji rezultati pedoloških analiz kažejo, da so površine še vedno močno onesnažene in kot take neprimerne kot rekreacijske površine za igro otrok. Še posebej nevarna sta inhalacija in ingestija onesnaženih tal. Po naših ugotovitvah je Pb na tak način biodostopen iz talnega prahu.

Tudi zaradi prekoračene kritične imisijske vrednosti za Pb, na teh tleh ni primerna pridelava rastlin, namenjenih prehrani ljudi ali živali.

Test biodostopnosti ima velik potencial pri oceni nevarnosti onesnažila. Metoda je razširjena in uveljavljena v znanstvenih krogih. Za določanje Pb je dodatno potrjena z *in vitro* modeli. Z usvojeno tehniko je relativno hitra in nezahtevna. Trenutna pomanjkljivost je njena nezmožnost ocene dejanske biodosegljivosti v človeškem telesu, tudi zaradi mnogoterih dejavnikov, ki vplivajo na absorpcijo.

6 POVZETEK

Tla v Mežiški dolini so zaradi metalurške industrije močno onesnažena predvsem s svincem. Izpostavljenost težkim kovinam v tleh vključuje vdihavanje onesnaženih talnih delcev, uživanje hrane pridelane na onesnaženih tleh, zaužitje tal preko rok pri otrocih in pitje, preko takih tal onesnažene podtalnice.

Biološko dosegljivost ter s tem toksičnost Pb in drugih težkih kovin je odvisna od mineralne oblike v kateri se nahaja v tleh, velikosti delcev in strukturne vezave z drugimi minerali, glino in organsko snovjo tal.

V tej nalogi smo si zadali cilj, na grobo oceniti, ter glede na omejen vzorec in začetne praktične težave zaradi zahtevnega postopka, z izbrano metodologijo preučiti oralno biodostopnost onesnaženih talnih delcev. Poseben poudarek smo dali na volatilne delce prahu (250 μ m), ter ugotavljali bolj verjetno nevarnost izpostavljenosti takim tlem.

Upoštevali smo obliko in naravo obnašanja TK, kot tudi povezavo med sestavo in lasnostmi tal. Enostavneje je, na podlagi analize celokupne vsebnosti onesnažila, sklepati o nevarnosti in potegniti zaključke. Vendar, zaradi prej omenjenih lastnosti TK in tal, smo vzorce uvedli v zahtevnejši postopek metod in analiz, da bi na ta način zajeli čimveč parametrov, ki vplivajo na biodosegljivost.

Za kvantitativno oceno tveganja izpostavljenosti težkim kovinam v tleh potrebujemo podatek o biodostopnosti in mobilnosti težkih kovin, ki smo jih izmerili kot fitodosegljivost svinca za vrtno solato (*Lactuca sativa* L) kot bioindikatorsko rastlino; oralno biodostopnost svinca smo določili *in vitro* z metodo po Ruby-ju (Physiologically based extraction test), mobilnost svinca pa z metodo TCLP (Toxicity characteristic leaching procedure). S pomočjo enostavnih linearnih modelov smo izračunali statistično značilne povezave med izbranimi lastnostmi tal ter biodosegljivostjo in mobilnostjo v tleh. Za določitev frakcionacije svinca v talnih vzorcih smo uporabili šeststopenjsko sekvenčno ekstrakcijo: svinec topen v talni raztopini, izmenljivi svinec, Pb vezan na karbonate, vezan na Fe in Mg okside, vezan na organsko snov ter ostanek topen v zlatotopki. Izkoristek po posamezni frakciji smo izračunali s seštevkom vseh šestih stopenj sekvenčne ekstrakcije.

Poskus se je osredotočil na posnemanje biokemičnih razmer v človeškem prebavnem traktu. Pomembno se je posluževati standardiziranih postopkov, kot je široko uporabljeni PBET. Pri našem poskusu je potrebno poudariti, da test ne simulira celotnega fiziološkega procesa absorpcije skozi črevesni epitel (biodosegljivost), temveč le biodostopnost Pb v človeškem želodcu in tankem črevesju.

Za natančnejša dognanja glede biodostopnosti bi bilo potrebno vzorčiti tudi prah iz gospodinjstev in pisarn, kjer se človek najdlje zadržuje in je najbolj podvržen neprekinjeni nevarnosti morebitnega vnosa Pb v telo.

Analize vsekakor niso suho zlato, vendar jih po drugi strani tudi ne gre metati v koš. Menim, da so lahko dobra podlaga in izhodišče, a celotnega dela ne morejo opraviti namesto nas. Podatke moramo pozorno preučiti, tolmačiti in prevesti v domačo realnost tam, kjer je to mogoče.

7 VIRI

7.1 CITIRANI VIRI

- Adriano D.C. 1986. Trace elements in the terrestrial environment. New York, Springer-Verlag: 533 str.
- Cabral A.R., Lefebvre G. 1998. Use of sequential extraction in the study of heavy metal retention by silty soils. *Water, Air and Soil Pollution*, 102: 329-344
- Chlopecka A., Bacon J.R., Wilson M.J., Kay J. 1996. Heavy metals in the environment. *Journal of Environmental Quality*, 25: 69-79
- Förstner U. 1993. Metal speciation – general concepts and applications. *Environmental Analytical Chemistry*, 51: 5-23
- Imperato M., Adamo P., Naimo D., Arienzo M., Stanzione D., Violante P. 2003. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples city, Italy. *Environmental Pollution*, 124: 247-256
- Kabala C., Singh B.R. 2001. Fractionation and mobility of copper, lead and zinc in soil profiles in the vicinity of a copper smelter. *Journal of Environmental Quality*, 30: 485-492
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1984. Trace Elements in Soil and Plants. Boca Raton, Florida. CRC Press: 315 str.
- Kasperowski, E., Frank, E. 1989. Boden und vegetationsuntersuchungen im bereich der scheitelstrecke der tauernautobahn. Wien, Umweltbundessamt: 126 str.
- Kissel J.C., Richter K.Y., Fenske R.A. 1996. Factors affecting soil adherence to skin in hand-press trials. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 56, 5: 722-728
- Leštan D., 2002. Ekopedologija, študijsko gradivo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za agronomijo, Katedra za pedologijo in varstvo okolja: 268 str.
- Leštan D., Grčman H., Zupan M., Bačac N. 2003. Relationship of soil properties to fractionation of Pb and Zn in soil and their uptake into *Plantago lanceolata*. *Soil and Sediment Contamination*, 12, 4: 507-522
- Maiz I., Arambarri I., Garcia R., Millian E. 2000. Evaluation of heavy metal availability in polluted soils by two sequential extraction procedures using factor analysis. *Environmental Pollution*, 110: 3-9

- Mushak, P., 1991. Gastro-intestinal absorption of lead in children and adults: overview of biological and biophysico-chemical aspects. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 3: 87-104
- Navarro M.C., Pérez-Sirvent C., Martínez-Sánchez M.J., Vidal J., Marimón. 2006. Lead, cadmium and arsenic bioavailability in the abandoned mine site of Cabezo Rajao (Murcia, SE Spain). *Chemosphere*, 63: 484-489
- Pravilnik o onesnaževalcih v živilih. Ur. l. RS št. 69-10723/03 (skupaj s prilogo-Priloga 1: Zgornje mejne vrednosti nekaterih onesnaževalcev v živilih)
- Ramos L., Hernandez L.M., Gonzales M.J. 1994. Sequential fractionation of copper, lead, cadmium and zinc in soils from or near Doñana national park. *Journal of Environmental Quality*, 23: 50-57
- Raskin I., Kumar P.B.A.N, Dushenkov S., Salt E.A. 1994. Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 5: 285-290
- Ribarič Lasnik C., Eržen I., Kugonič N., Pokorny B., Končnik D., Svetina M., Justin B., Bole M., Rošer Drev A., Vetrih M., Flis J., Kotnik K., Mausar R., Pačnik L., Savinek K., 2002. Primerjalna študija onesnaženosti okolja v Zgornji Mežiški dolini med stanji v letih 1989 in 2001. Končno poročilo. Velenje, ERICo Velenje, inštitut za ekološke raziskave: 1 zv.
- Rieuwerts J.S., Thornton I., Farago M.E., Ashmore M.R. 1998. Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals. *Chemical Speciation and Bioavailability*, 10, 2: 61-75
- Ross S.M. 1994. *Toxic Metals in Soil Plant System*. New York, John Wiley and Sons: 496 str.
- Ruby M.V., Davis A., Link T.E., Schoof R., Eberle S., Sellstone C.M. 1996. Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. *Environmental Science Technology*, 30: 422-430.
- Ruby V.M., Schoof R., Brattin W., Goldade M., Post G., Harnois M., Mosby D.E., Casteel S.W., Berti W., Carpenter M., Edwards D., Cragin D., Chappel W. 1999. Advances in Evaluating the Oral Bioavailability of Inorganics in Soil for Use in Human Health Risk Assessment. *Environmental Science and Technology*, 33, 21: 2697-2704
- SIST ISO 10390. Kakovost tal – Ugotavljanje pH. 1996: 5 str.
- SIST ISO 11261. Kakovost tal – Določanje skupnega ogljika – modificirana Kjeldahlova metoda. 1996: 4 str.

Tessier A., Campbell P.G.C., Bisson M. 1979. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 51, 7: 844-851

Turner A., Ip K. 2007. Bioaccessibility of Metals in dust from the indoor environment: Application of a physiologically based extraction test. *Environmental Science and Technology*, 41: 7851-7856

Uredba o mejnih, opozorilnih in kritičnih imisijskih vrednostih nevarnih snovi v tleh. Ur. l. RS št. 68-5773/96

Uredba o ugotavljanju onesnaženosti kmetijskih zemljišč in gozda. Ur. l. RS št. 41-1694/04

US EPA. Test methods for evaluation of solid waste, vol. IA. Laboratory manual physical/chemical methods, SW 86, 40 CFR Parts 403 and 503. 1995. 3rd ed. Washington, DC, US Government Printing Office metal contaminated site. *Journal of Hazardous Materials*. 88: 63-74

Wang, Y.M., Chen, T.C., Yeh, K.J., Shue, M.F. 2001. Stabilization of an elevated heavy metal contaminated site. *Journal of Hazardous Materials*, 88: 63-74

7.2 DRUGI VIRI

Basta N., Gradwohl R. 2000. Estimation of Cd, Pb and Zn bioavailability in smelter-contaminated soils by a sequential extraction procedure. *Journal of Soil Contamination*, 9, 2: 149-164

Brown S., Chaney R.L., Hallfrisch J.G., Xue L. 2003. Heavy metals in the environment. *Journal of Environmental Quality*, 32: 100-108

Council Directive 86/278/EEC, 1986. On the Protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. *EC Official Journal* L181

Finžgar N., Leštan D. 2008. Ocena dostopnosti težkih kovin iz onesnaženih tal Mežiške doline. *Acta agriculturae Slovenica*, 91-1: 157-166

Gleyzes C., Tellier S., Astruc M. 2002. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *Trends in Analytical Chemistry*, 21:451-467

Intawongse M., Dean J.R. 2006. *In-vitro* testing for assessing oral bioaccessibility of trace metals in soil and food samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 25: 876-886

ISO 11466. Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia. 1995: 6 str.

ISO/DIS 11047. Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc – Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. 1995: 7 str.

Levi D.B., Barbarick K.A., Siemer E.G., Sommers L.E. 1992. Distribution and partitioning of trace metals in contaminated soils near Leadville, Colorado. *Journal of Environmental Quality*, 21: 185-195

Li X., Thornton I. 2001. Chemical partitioning of trace and major elements in soils contaminated by mining and smelting activities. *Applied Geochemistry*, 16: 1693-1706

Oliver M.A. 1997. Soil and human health. *European Journal of Science*, 48. 573-592

Sang-Woo L., Byung-Tae L., Ju-Yong K., Kyoung-Woong K., Jin-Soo L. 2006. Human risk assessment for heavy metals and As contamination in the abandoned metal mine areas, Korea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 119: 233-244

Sauvé S., McBride M.B., Hendershot W.H. 1997. Speciation of lead in contaminated soils. *Environmental Pollution*, 98, 2: 149-155

Sheppard S.C., Evenden W.G. 1994. Contaminant enrichment and properties of soil adhering to skin. *Journal of Environmental Quality*, 23, 3: 604-613

ZAHVALA

Zahvaljujem se svojemu mentorju , prof. dr. Domnu Leštanu.
Spoštujem ljudi, ki me znajo česa novega in pomembnega naučiti.
Hvala za Vašo potrpežljivost.

Neži Finžgar in Zalki Ilc za strokovne nasvete ter pomoč pri delu in analizah.

Vsem, ki ste mi omogočili študij in me z razumevanjem podpirali.

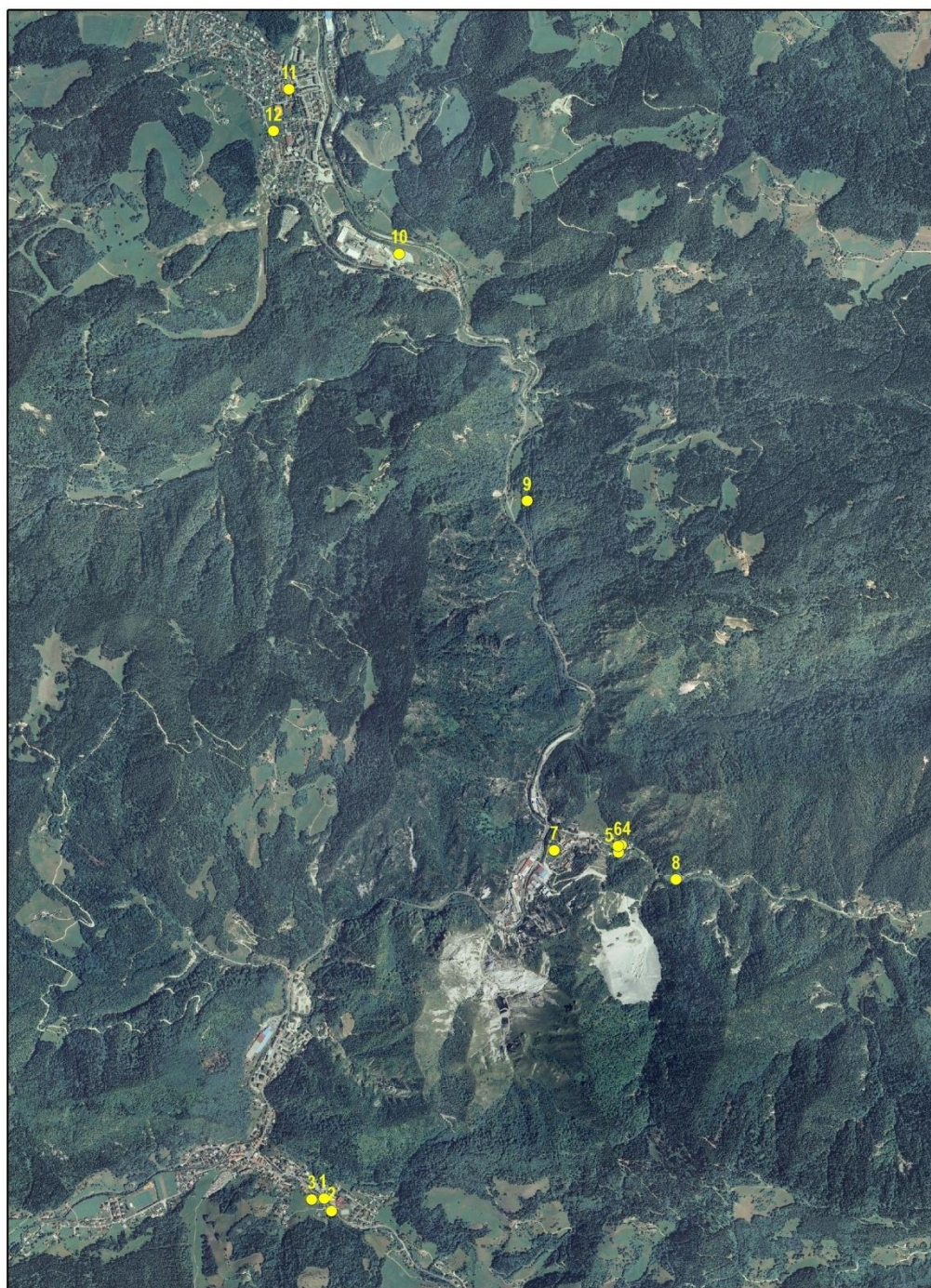
PRILOGA

Lokacije vzorčenja

Univerza v Ljubljani,
Biotehniška fakulteta,
Oddelek za agronomijo

LOKACIJE VZORČENJA

INFRASTRUKTURNI CENTER
ZA PEDOLOGIJO
IN VARSTVO OKOLJA
Jamnikarjeva 101, 1000 Ljubljana



● Lokacije vzorčenja

■ DOF5 (GURS)

Merilo izrisa 1: 30.000

Vir podatkov:
- GURS: Geodetska uprava Republike Slovenije