

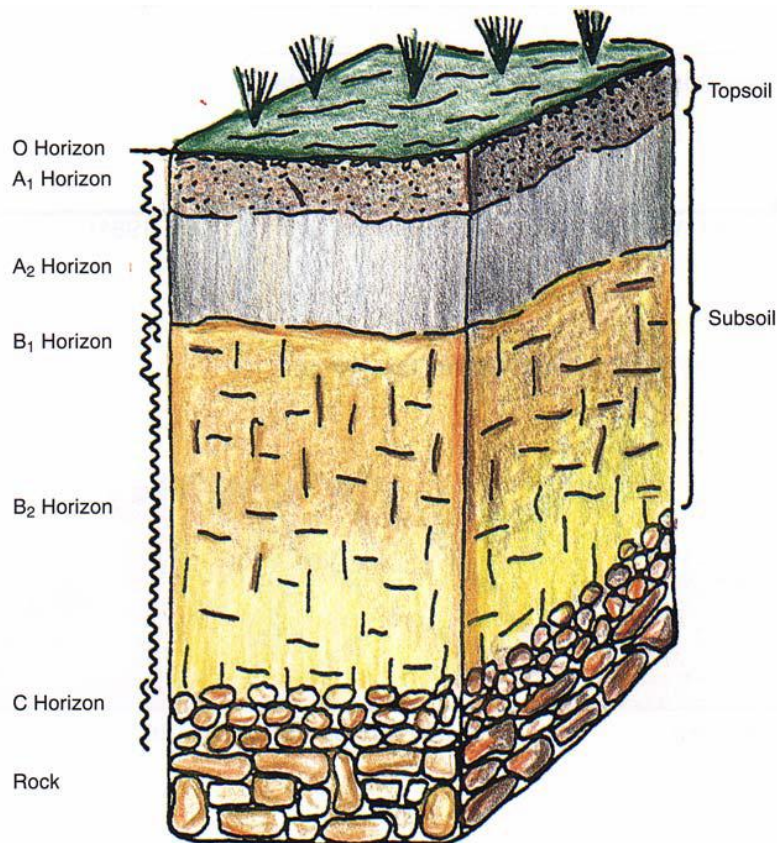


ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Αξιοποίησης Φυσικών πόρων
και Γεωργικής Μηχανικής

ΠΜΣ: Εδαφολογία και Διαχείριση Εδαφικών Πόρων

Επίδραση του χρόνου και του οργανικού υποστρώματος στη διαθεσιμότητα των Zn, Cu, Pb και Ni σε όξινο έδαφος



Παναγιώτης Δ. Δούσης

Γεωπόνος Γ.Π.Α, MSc

Αθήνα 2011

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Αξιοποίησης Φυσικών πόρων και Γεωργικής Μηχανικής

ΠΜΣ: Εδαφολογία και Διαχείριση Εδαφικών Πόρων

Μεταπτυχιακή μελέτη

Παναγιώτης Δ. Δούσης

Γεωπόνος Γ.Π.Α, MSc

**Επίδραση του χρόνου και του οργανικού υποστρώματος
στη διαθεσιμότητα των Zn, Cu, Pb και Ni σε όξινο έδαφος**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: κ. Μάσσας Ιωάννης, Επίκουρος καθηγητής

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ: κ. Μουστάκας Νικόλαος, Καθηγητής

κ. Χαϊντούτη Κωνσταντίνα, Καθηγήτρια

κ. Μάσσας Ιωάννης, Επίκουρος καθηγητής

Αθήνα 2011

Παναγιώτης Δ. Δούσης
Γεωπόνος Γ.Π.Α,
MSc, Περιβάλλον και Ανάπτυξη, Ε.Μ.Π

Copyright © Παναγιώτης Δ. Δούσης, 2011

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης και να διατηρείται το παρόν μήνυμα. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για κερδοσκοπικό σκοπό πρέπει να απευθύνονται προς τον συγγραφέα.

Ευχαριστίες

Θεωρώ υποχρέωση μου να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στους ανθρώπους, η συμβολή των οποίων ήταν καθοριστική στην πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης.

Καταρχήν, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον επιβλέποντα, κύριο Μάσσα Ιωάννη, επίκουρο καθηγητή, για το γεγονός ότι μου έδωσε την ευκαιρία να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα καθώς και για την πολύτιμη συμβολή, καθοδήγηση και υποστήριξη κατά τη διάρκεια της πραγματοποίησής της.

Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στα μέλη της τριμελούς επιτροπής, κύριο Μουστάκα Νικόλαο, καθηγητή, την κυρία Χαϊντούτη Κωνσταντίνα, καθηγήτρια, και τον κύριο Μάσσα Ιωάννη, επίκουρο καθηγητή, που δέχτηκαν να αξιολογήσουν και να βαθμολογήσουν την παρούσα εργασία.

Εν συνεχεία οφείλω τις μεγαλύτερες ευχαριστίες στους γονείς μου, Δημήτριο και Δήμητρα για όσα μου έχουν προσφέρει όλα αυτά τα χρόνια καθώς και στα αδέρφια μου Γιώργο και Αθηνόδωρο για την πολύτιμη στήριξη τους στα χρόνια των σπουδών μου.

Ένα πολύ μεγάλο και ειλικρινές ευχαριστώ στον διδάκτορα κύριο Γασπαράτο Διονύση, για την πολύτιμη στήριξη και συμβολή του στην ολοκλήρωση της παρούσας μελέτης.

Θα ήθελα, ακόμη, να ευχαριστήσω όλους τους ανθρώπους του εργαστηρίου Εδαφολογίας και Γεωργικής Χημείας και ιδιαιτέρως τον κύριο Δάλλα Στέλιο και τον υποψήφιο διδάκτορα κύριο Αναστόπουλο Ιωάννη για την άριστη συνεργασία που είχα μαζί τους κατά τη διάρκεια της μελέτης.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συνάδελφο και φίλο στο Π.Μ.Σ κύριο Πετρίδη Αναστάσιο, για το κλίμα αλληλεγγύης και συναδελφικότητας που εισέπραξα και τον καλό μου φίλο, Κώστα Παπαγεωργίου για τη συμβολή του στην εκτύπωση της παρούσας μελέτης.

Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω την Μαρία Γουρνάκη, για την αμέριστη συμπαράσταση της και την κατανόηση της στον χρόνο που αφιέρωσα για την επιτυχή έκβαση της όλης προσπάθειας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περιεχόμενα	2
Περίληψη	12
Abstract	13
Εισαγωγή	14
Κεφάλαιο 1. Ρύπανση του περιβάλλοντος από βαρέα μέταλλα	17
1.1 Γενικά	17
1.2 Έδαφος.....	18
1.3 Παράμετροι προσρόφησης μετάλλων στο έδαφος.....	19
Κεφάλαιο 2. Βαρέα Μέταλλα	21
2.1 Ψευδάργυρος (Zn)	21
2.1.1 Ο ψευδάργυρος στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά	21
2.1.2 Προσρόφηση του ψευδαργύρου στο έδαφος	22
2.2 Χαλκός (Cu).....	24
2.2.1 Ο χαλκός στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά.....	24
2.2.2 Προσρόφηση του χαλκού στο έδαφος.....	25
2.3 Μόλυβδος (Pb).....	27
2.3.1 Ο μόλυβδος στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά.....	27
2.4 Νικέλιο (Ni)	30
2.4.1 Το νικέλιο στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά	30
2.4.2 Προσρόφηση του νικελίου στο έδαφος	31

Κεφάλαιο 3. Διαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος	33
3.1 Γενικά	33
3.2 Μέθοδοι εκτίμησης της διαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων στο έδαφος	34
3.3 Μέθοδοι διαδοχικής εκχύλισης ή κλασμάτωσης	35
3.4 Μέθοδος Tessier.....	36
3.4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία κλασμάτωσης	41
Κεφάλαιο 4. Υλικά και μέθοδοι εργασίας	45
4.1 Σχεδιασμός πειράματος	45
4.2 Εργαστηριακές αναλύσεις	45
4.2.1 Μηχανική ανάλυση με τη μέθοδο Βουγιούκου	45
4.2.2 Ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (I.A.K)	46
4.2.3 Ενεργότητα ιόντων υδρογόνου - pH	46
4.2.4 Οργανική ουσία.....	46
4.2.5 Ολικές μορφές βαρέων μετάλλων.....	46
4.2.6 Διαθέσιμες μορφές βαρέων μετάλλων	47
4.2.7 Μεθοδολογία κλασμάτωσης (Tessier et al., 1979).....	47
4.3 Στατιστική επεξεργασία.....	48
Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα και συζήτηση	49
5.1 Κλασμάτωση ψευδαργύρου (Zn)	49
5.2 Κλασμάτωση χαλκού (Cu).....	63
5.3 Κλασμάτωση μολύβδου (Pb).....	76
5.4 Κλασμάτωση νικελίου (Ni).....	89
5.5 Διαθέσιμες μορφές βαρέων μετάλλων (DTPA).....	101

Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα..... 107

I. Βιβλιογραφία..... 110

II. Παράρτημα..... 115

Κατάλογος Διαγραμμάτων

- Διάγραμμα 1:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 50
- Διάγραμμα 2:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) 51
- Διάγραμμα 3:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 53
- Διάγραμμα 4:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) 53
- Διάγραμμα 5:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 55
- Διάγραμμα 6:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) 56
- Διάγραμμα 7:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 57
- Διάγραμμα 8:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) 58
- Διάγραμμα 9:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 59
- Διάγραμμα 10:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) 60

Διάγραμμα 11: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Zn των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG	62
Διάγραμμα 12: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	64
Διάγραμμα 13: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές)	64
Διάγραμμα 14: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσμιες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	66
Διάγραμμα 15: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσμιες σε όξινες συνθήκες)	66
Διάγραμμα 16: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	68
Διάγραμμα 17: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn)	68
Διάγραμμα 18: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	70
Διάγραμμα 19: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία)	70
Διάγραμμα 20: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	72

Διάγραμμα 21: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές)	72
Διάγραμμα 22: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Cu των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG	74
Διάγραμμα 23: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	77
Διάγραμμα 24: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές)	77
Διάγραμμα 25: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	79
Διάγραμμα 26: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσσιμες σε όξινες συνθήκες)	79
Διάγραμμα 27: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	81
Διάγραμμα 28: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn)	81
Διάγραμμα 29: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	83
Διάγραμμα 30: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία)	83

- Διάγραμμα 31:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 88
- Διάγραμμα 32:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) 85
- Διάγραμμα 33:** Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Pb των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσιμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσιμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσιμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG 87
- Διάγραμμα 34:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 90
- Διάγραμμα 35:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) 90
- Διάγραμμα 36:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 92
- Διάγραμμα 37:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) 92
- Διάγραμμα 38:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 94
- Διάγραμμα 39:** Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) 94
- Διάγραμμα 40:** Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης)..... 96

Διάγραμμα 41: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία)	96
Διάγραμμα 42: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης).....	98
Διάγραμμα 43: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές)	98
Διάγραμμα 44: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Ni των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσσιμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσσιμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσσιμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG	100
Διάγραμμα 45: Επίδραση του χρόνου στις συγκεντρώσεις των βιοδιαθέσιμων μορφών (DTPA) των 4 βαρέων μετάλλων Zn, Cu, Pb και Ni για την μεταχείριση M (απουσία γλυκόζης).....	104

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: Ιδιότητες επιφανειακού εδαφικού δείγματος (0-20 εκ.).....	49
Πίνακας 2: Μέσες συγκεντρώσεις (mg kg ⁻¹) ολικών και βιοδιαθέσιμων μορφών βαρέων μετάλλων στο έδαφος	49
Πίνακας 3: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας α=5%	50
Πίνακας 4: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας α=5%	52

Πίνακας 5: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	54
Πίνακας 6: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	57
Πίνακας 7: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	59
Πίνακας 8: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	63
Πίνακας 9: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	65
Πίνακας 10: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	67
Πίνακας 11: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	69
Πίνακας 12: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	71
Πίνακας 13: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	76
Πίνακας 14: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	78

Πίνακας 15: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	80
Πίνακας 16: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	82
Πίνακας 17: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	84
Πίνακας 18: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 1 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	89
Πίνακας 19: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 2 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	91
Πίνακας 20: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 3 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	93
Πίνακας 21: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 4 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	95
Πίνακας 22: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 5 ^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	97
Πίνακας 23: Ανάλυση διασποράς για τις βιοδιαθέσιμες μορφές (DTPA) των 4 βαρέων μετάλλων Zn, Cu, Pb, Ni για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$	102

Περίληψη

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία προσπαθεί να διερευνήσει την επίδραση του χρόνου και του οργανικού υποστρώματος στη διαθεσιμότητα των Zn, Cu, Pb και Ni σε ένα ελαφρώς όξινο έδαφος. Σχεδιάστηκε ένα διπαραγοντικό πείραμα (χρόνος και γλυκόζη) με τέσσερις επαναλήψεις για κάθε μεταχείριση και η επίδραση των δύο παραγόντων ελέγχθηκε και αναλύθηκε με Tukey's HSD test. Η γλυκόζη χρησιμοποιήθηκε σαν πηγή άνθρακα για να διερευνήσουμε την επίδραση της αναμενόμενης αύξησης της μικροβιακής δραστηριότητας στη διαθεσιμότητα των μετάλλων κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. 500 mg kg⁻¹ από Zn, Cu, Pb και Ni προστέθηκαν στο έδαφος με τη μορφή νιτρικών αλάτων σε υδατικό διάλυμα που περιείχε είτε 4 g kg⁻¹ γλυκόζης (MG, μέταλλα-γλυκόζη) είτε καθόλου γλυκόζη (M, μέταλλα-μη γλυκόζη). Τα δείγματα επώαστηκαν για 3 ώρες, 1 ημέρα, 3, 10 και 60 ημέρες στους 20 °C σε σταθερή υγρασία (περίπου στο 50% της εδαφικής υδατοϊκανότητάς τους). Στο τέλος της κάθε περιόδου επώασης εφαρμόσθηκε στα δείγματα η διαδικασία της διαδοχικής κλασμάτωσης του Tessier με την οποία επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των πέντε κλασμάτων σε ανταλλάξιμο, εκχυλίσιμο σε όξινες συνθήκες, αναγώγιμο, οξειδώσιμο και υπολειμματικό. Οι τιμές του ανταλλάξιμου κλάσματος των βαρέων μετάλλων (που θεωρείται ως μια ένδειξη για την πιθανή διαθεσιμότητα των μετάλλων) παρουσίασαν μια τάση μείωσης με το χρόνο, ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε για τα υπόλοιπα κλάσματα. Μέχρι την 30^η ημέρα η παρουσία γλυκόζης είχε ως αποτέλεσμα τις σημαντικά χαμηλότερες τιμές του ανταλλάξιμου κλάσματος των Zn, Cu, Pb και Ni που σημαίνει χαμηλότερη διαθεσιμότητα των μετάλλων. Η γλυκόζη, ως εύκολα μεταβολιζόμενη πηγή άνθρακα, προκάλεσε μια απότομη αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας, που οδήγησε στην ακινητοποίηση των μετάλλων και ενδεχομένως στη βαθμιαία απορρόφησή τους από τους ανθρακικούς μικροβιακούς μεταβολίτες. Ωστόσο στις 60 ημέρες στις MG μεταχειρίσεις (εκτός από τη περίπτωση του Pb), οι τιμές των ανταλλάξιμων κλασμάτων αυξήθηκαν αρκετά, που μπορεί να αποδοθεί στην απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων και αύξηση της κινητικότητας των μετάλλων στο εδαφικό περιβάλλον.

Abstract

The present postgraduate work was conducted to investigate the effect of time and a carbon source was investigated on zinc (Zn), copper (Cu), lead (Pb) and nickel (Ni) availability, in a slightly acid soil. A two factor experiment (time and glucose) was carried out with four replicates per treatment and the effect of both factors was monitored and analyzed (Tukeys HSD test). Glucose was used as the carbon source to examine the effect of the expected induction of microbial activity on the metal availability during the experimental period. 500 mg kg⁻¹ of Zn, Cu, Pb and of Ni were added to soils as nitrate salts in a water solution containing either 4 g kg⁻¹ glucose (MG, metals-glucose) or no glucose (M, metals-no glucose). The treated soil samples were incubated for 3 h, 1 day, 3, 10, 30 and 60 days at 20 °C at constant moisture (approx. 50% of the soil's water holding capacity). At the end of each incubation period, destructive sampling was performed and the Tessier fractionation procedure was applied to the samples, aiming to determine five metal fractions defined as exchangeable, acid soluble, reducible, oxidizable and residual. Heavy metals exchangeable fraction values (regarded as a measure for potential metal availability) showed a decreasing tendency with time, while the opposite was observed for the other fractions. Up to day 30 the presence of glucose resulted in significantly lower exchangeable fraction values for the Zn, Cu, Pb and Ni, pointing to lower availability of the metals. Glucose, as an easily metabolized carbon source, induced a sharp rise of the microbial activity, leading to immobilization of metals and potentially to their gradual absorption on carbonaceous microbial metabolites. However, at 60 days the MG treatments exchangeable fraction values were increased considerably (apart from the case of Pb), suggesting a decline of the microbial population and a consequent mobilization and release of the metals in the soil environment.

Εισαγωγή

Η ρύπανση του περιβάλλοντος από βαρέα μέταλλα όπως Cd, As, Hg, Cu, Zn, Pb Ni και άλλα, είναι ένα σημαντικό πρόβλημα της σύγχρονης εποχής. Τα βαρέα (δυσήθη) μέταλλα θεωρούνται από τους πλέον επικίνδυνους ρύπους του περιβάλλοντος, επειδή αυτά και οι ενώσεις τους, σε αντίθεση με τις οργανικές τοξικές ουσίες, δεν αποικοδομούνται, αλλά παραμένουν ή συσσωρεύονται στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα (Λουκίδου, 2003). Επίσης, εισέρχονται με απλό τρόπο σε μικρούς ή μεγάλους βιογεωχημικούς κύκλους (Butter, 1998).

Η παρουσία των βαρέων μετάλλων στο έδαφος, στο νερό και στην ατμόσφαιρα, απασχολεί όλο και περισσότερο την παγκόσμια ερευνητική κοινότητα, αλλά και την κοινή γνώμη, καθώς η αύξηση των συγκεντρώσεών τους είναι ραγδαία και οι επιπτώσεις της απόθεσης και διακίνησης τους στο περιβάλλον είναι όλο και πιο έντονες.

Τα βαρέα μέταλλα είναι φυσικά συστατικά του στερεού φλοιού της γης και περιλαμβάνουν μια μεγάλη ομάδα μεταλλικών και μεταλλοειδών κατιόντων που παρουσιάζουν βιολογικό και βιομηχανικό ενδιαφέρον. Επιπρόσθετα, τα βαρέα μέταλλα ανήκουν και στην κατηγορία των ιχνοστοιχείων, δηλαδή, των στοιχείων που υπάρχουν στα φυσικά συστήματα σε μικρές σχετικά συγκεντρώσεις. Σημειώνεται, ότι αρκετά από αυτά, όπως π.χ. ο χαλκός, ο ψευδάργυρος, το κοβάλτιο θεωρούνται απολύτως απαραίτητα σε μικρές ποσότητες για τη λειτουργία των ζωντανών οργανισμών (Plette, 1996).

Τα βαρέα μέταλλα σχετίζονται με πλήθος ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Η χρήση τους στην χημική βιομηχανία είναι ευρεία (βιομηχανίες παραγωγής χρωμάτων, φωτογραφικών υλικών, ηλεκτρονικού υλικού, παρασιτοκτόνων, συσσωρευτών, πυρομαχικών, μεταλλουργεία κ.ά.). Επίσης, άλλες σημαντικές πηγές εκπομπής είναι οι γεωργικές εργασίες όπως η χρήση λιπασμάτων, παρασιτοκτόνων κ.α. καθώς και λόγω φυσικών διεργασιών όπως είναι η αποσάθρωση των μητρικών πετρωμάτων, όπου κατά τη διαδικασία σχηματισμού του εδάφους απελευθερώνονται μέταλλα τα οποία είτε παραμένουν στο έδαφος, είτε μεταφέρονται στα επιφανειακά νερά ή και στον υδροφόρο ορίζοντα.

Η συνεχής συσσώρευση των βαρέων μετάλλων στο έδαφος, δημιουργεί οξύτερα προβλήματα ρύπανσης, ιδιαίτερα στα αστικά κέντρα, όπου η εναπόθεσή τους είναι

ιδιαίτερα αυξημένη. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι τα βαριά μέταλλα δεν βιοαποδομούνται αλλά μόνο μετασχηματίζονται κατά τη διάρκεια του κύκλου τους στο περιβάλλον. Ειδικότερα, όσον αφορά το έδαφος η παραμονή των βαρέων μετάλλων σε αυτό είναι πολύ μεγαλύτερη από ότι σε άλλα μέρη της βιόσφαιρας με αποτέλεσμα η ρύπανση του εδάφους να μπορεί να θεωρηθεί μόνιμη.

Η γνώση της κατανομής των μετάλλων μεταξύ των εδαφικών συστατικών είναι σημαντική για την εκτίμηση της δυνατότητας των εδαφών να παρέχουν επαρκή ποσά μικροθρεπτικών στοιχείων για την ανάπτυξη των φυτών και να συγκρατούν τις τοξικές ποσότητες των βαρέων μετάλλων. Η κατανομή των μετάλλων στα διάφορα εδαφικά συστατικά εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες των εδαφών και ειδικότερα από το pH, την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία και σε ανθρακικό ασβέστιο (CaCO_3), την ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (ΙΑΚ), την υπάρχουσα κατάσταση των θρεπτικών στοιχείων και τη δομή. Επομένως, είναι σημαντική η γνώση των μορφών των διαφόρων στοιχείων στο έδαφος και ο τρόπος με τον οποίο αυτά προσροφούνται στα εδαφικά συστατικά.

Η κλασμάτωση (fractionation) ή διαδικασία των επιλεκτικών διαδοχικών εκχυλίσεων (ΕΔΕ) (selective sequential extractions) αποτελεί μια διεθνώς αποδεκτή τεχνική, η οποία βρίσκει εφαρμογή σε ένα μεγάλο εύρος γεωχημικών υλικών και χρησιμοποιείται για τη μελέτη της συμπεριφοράς και της κατανομής των χημικών στοιχείων (κυρίως) ιχνοστοιχείων στη στερεά φάση του εδάφους.

Η χρήση των κλασματώσεων στηρίζεται στο γεγονός ότι το κάθε εκχυλιστικό που μετέχει στη διαδικασία θεωρείται ότι είναι επιλεκτικό στο να εκχυλίζει μια ορισμένη μορφή ή καλύτερα ένα "ειδικό" κλάσμα του υπό εξέταση στοιχείου. Η ποσότητα του στοιχείου που θα εκχυλισθεί εξαρτάται από ορισμένους παράγοντες όπως:

- Το είδος και τη συγκέντρωση του εκχυλιστικού. Γενικά τα πιο δραστικά εκχυλιστικά χρησιμοποιούνται στο τέλος της κλασμάτωσης, γιατί θεωρείται ότι μπορούν να απομακρύνουν περισσότερες από μία μορφές.
- Την ακολουθία της εκχύλισης. Η σειρά με την οποία θα χρησιμοποιηθούν τα διάφορα εκχυλιστικά και οι μετατροπές που προκαλεί το καθένα στη στερεά φάση θα πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπόψη για τη "λειτουργικότητα" της κλασμάτωσης και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

- Την αναλογία στερεάς και υγρής φάσης.

Όλοι οι παραπάνω παράγοντες καθορίζουν λειτουργικά (operationally defined) τη διαδικασία και γι' αυτό κάθε στάδιο κλασμάτωσης ουσιαστικά καθορίζεται από τη μέθοδο εκχύλισης και όχι από το ειδικό κλάσμα-στόχο που απομονώνεται.

Για την εκτίμηση της κινητικότητας και βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων, έχουν χρησιμοποιηθεί μέθοδοι απλών και διαδοχικών εκχυλίσεων. Μια από τις πρώτες μεθόδους διαδοχικής εκχύλισης είναι αυτή που προτάθηκε από τους Tessier et al. το 1979, η οποία υπήρξε η βάση για την ανάπτυξη και άλλων μεθόδων διαδοχικής εκχύλισης. Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτήν, τα εκχυλιζόμενα στοιχεία διαχωρίζονται στα εξής κλάσματα: 1) «υδατοδιαλυτό + ανταλλάξιμο», 2) «εκχυλίσιμο σε όξινες συνθήκες», 3) «αναγώγιμο», 4) «οξειδώσιμο» και 5) «υπολειμματικό». Η αρχική μέθοδος των Tessier et al. τροποποιήθηκε από διάφορους ερευνητές και οι τροποποιήσεις της αφορούσαν μερικώς τα προτεινόμενα αντιδραστήρια και τη σειρά εκχύλισης των κλασμάτων.

Σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής εργασίας ήταν η μελέτη της επίδρασης του χρόνου (επώαση έως 60 ημέρες) και της προσθήκης γλυκόζης (ως οργανικού υποστρώματος) στη συμπεριφορά και διαθεσιμότητα των Zn, Cu, Pb και Ni σε ένα ελαφρώς όξινο έδαφος.

Κεφάλαιο 1. Ρύπανση του περιβάλλοντος από βαρέα μέταλλα

1.1 Γενικά

Βαρέα μέταλλα είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για μια μεγάλη ομάδα ιχνοστοιχείων, που είναι τόσο βιομηχανικής όσο και βιολογικής σημασίας, και έχουν ατομική πυκνότητα μεγαλύτερη από 6 g/cm³. Άλλη ονομασία που τους έχει δοθεί είναι **τοξικά μέταλλα**, καθώς είναι τοξικά σε όλους τους οργανισμούς σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Ένας νεότερος όρος που χρησιμοποιείται όλο και ευρύτερα είναι **δυσμετάλλια στοιχεία** (Alloway, 1995).

Οι συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στα επιφανειακά και τα υπόγεια ύδατα αυξάνονται συνεχώς τα τελευταία χρόνια. Οι πηγές ρύπανσης των υδάτινων πόρων σχετίζονται τόσο με τις φυσικές διεργασίες, όπως η χημική αποσάθρωση των πετρωμάτων και των ορυκτών καθώς και η έκπλυση των εδαφών, όσο και με τις δραστηριότητες του ανθρώπου. Οι φυσικές διεργασίες επηρεάζονται και από βιολογικούς παράγοντες. Οι ανθρωπογενείς πηγές εκπομπής μετάλλων είναι κυρίως οι μεταλλουργικές δραστηριότητες, οι βιομηχανίες και τα αστικά λύματα. Τα κυριότερα βαρέα μέταλλα που ρυπαίνουν με την παρουσία τους τα ύδατα είναι τα ακόλουθα: As, Au, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se και Zn (Brundin & Selinus, 1987).

Το μεγαλύτερο ποσοστό των βαρέων μετάλλων στην ατμόσφαιρα (90%) έχει ανθρωπογενή προέλευση και προέρχεται από τις βιομηχανικές δραστηριότητες της βαριάς βιομηχανίας, την καύση του κάρβουνου, τις εγκαταστάσεις εξόρυξης και επεξεργασίας μεταλλευμάτων και την κίνηση των αυτοκινήτων (Simoneti et al., 2000). Είναι γεγονός ότι τα τελευταία χρόνια η ραγδαία τεχνολογική και βιομηχανική ανάπτυξη σε συνδυασμό με την εντατική εκμετάλλευση των πηγών πρώτων υλών και ενέργειας, οδήγησαν σε μια σταθερή παγκόσμια αύξηση των συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων στην ατμόσφαιρα. Έτσι, ορισμένα στοιχεία όπως Au, Br, Cd, Pb, Se, Sn, Te, εμφανίζουν συγκεντρώσεις στην ατμόσφαιρα ακόμα και χίλιες φορές περισσότερο από τις φυσιολογικές τιμές. Εκτός από τις ανθρωπογενείς δραστηριότητες, σημαντικά ποσά βαρέων μετάλλων προστίθενται στην ατμόσφαιρα από φυσικές πηγές, και κυρίως από την ηφαιστειακή δραστηριότητα.

1.2 Έδαφος

Το έδαφος είναι ένα πολύ ειδικό συστατικό της βιόσφαιρας, γιατί δεν αποτελεί μόνο γεωχημικό αποδέκτη για τους διάφορους ρύπους, αλλά συμπεριφέρεται και ως φυσικός ρυθμιστής που ελέγχει τη μεταφορά χημικών στοιχείων και ουσιών στην ατμόσφαιρα, την υδρόσφαιρα και τους ζωντανούς οργανισμούς. Εξάλλου θεωρείται ένα δυναμικό σύστημα στήριξης της ζωής (Life – Support system) με την παραγωγή προϊόντων απαραίτητων για την διαβίωση ζώων και ανθρώπων.

Το έδαφος έχει την ικανότητα να συγκρατεί μικροθρεπτικά στοιχεία και ιχνοστοιχεία μέχρι μια συγκεκριμένη ποσότητα, πέραν της οποίας υπάρχει ο κίνδυνος ρύπανσης του εδάφους και εμφάνισης τοξικότητας σε φυτά και ζώα (Adriano, 1986). Τα προαναφερόμενα στοιχεία απαντώνται με τις εξής κύριες μορφές στο έδαφος: ως 1) διαλυμένα στο εδαφικό διάλυμα, 2) ανταλλάξιμα και προσροφημένα στην επιφάνεια των κolloειδών συστατικών, 3) συνδεδεμένα με την οργανική ουσία, 4) συνδεδεμένα με τα οξείδια Fe-Mn και τα ανθρακικά άλατα και 5) συστατικά της δομής των πρωτογενών και δευτερογενών ορυκτών (Shuman, 1991). Οι δύο πρώτες μορφές είναι ευκίνητες και επομένως οι διαθέσιμες για τα φυτά, ενώ οι τρεις τελευταίες είναι ακινητοποιημένες μορφές, εκτός από ορισμένες περιπτώσεις (Adriano, 1986).

Τα βαρέα μέταλλα, τα οποία προέρχονται από διάφορες πηγές, μπορεί να φτάσουν τελικά στην επιφάνεια του εδάφους και η περαιτέρω συμπεριφορά τους εξαρτάται από τις εδαφικές ιδιότητες. Η παραμονή των ρυπαντών στο έδαφος είναι πολύ μεγαλύτερη απ' ό,τι σε άλλα στοιχεία της βιόσφαιρας και η ρύπανση του εδάφους μπορεί να θεωρηθεί μόνιμη. Απώλειες των μετάλλων από το έδαφος θεωρούνται η έκπλυση και η πρόσληψη τους από τα φυτά. Οι κυριότερες πηγές ανθρωπογενούς ρύπανσης των εδαφών από βαρέα μέταλλα είναι:

- Τα ορυχεία και τα χυτήρια μετάλλων.
- Οι διάφορες γεωργικές εργασίες, όπως λίπανση, χρήση χημικών, κλπ.
- Η ενεργός λάσπη.
- Η καύση κάρβουνου και υγρών καυσίμων.
- Οι μεταλλουργικές βιομηχανίες, κατά την παραγωγή, χρήση και διάθεση προϊόντων τους.

- Τα διάφορα ηλεκτρονικά: παραγωγή, χρήση και διάθεση τέτοιων προϊόντων.
- Οι χημικές βιομηχανίες.
- Η διάθεση αποβλήτων.
- Οι χώροι σκοποβολής και στρατιωτικής εκπαίδευσης.

Τα βαρέα μέταλλα σχηματίζουν σταθερά σύμπλοκα με τα κολλοειδή του εδάφους κι έτσι συγκεντρώνονται κυρίως στον επιφανειακό ορίζοντα (Sterckeman et al., 2000). Η διαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος εξαρτάται κατά κύριο λόγο από το είδος των ορυκτών, το pH, τις οξειδοαναγωγικές συνθήκες, την περιεκτικότητα των εδαφών σε άργιλο και οργανική ουσία (Παναγιωτόπουλος, 2008). Σημαντικός παράγοντας που επιδρά στη μετακίνηση των μετάλλων μέσα στην εδαφοτομή θεωρείται το pH και συνήθως όσο αυτό μειώνεται, τόσο αυξάνει η κινητικότητα των μετάλλων. Το φαινόμενο αυτό πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι οι ενώσεις των μετάλλων γίνονται πιο ευδιάλυτες σε όξινες συνθήκες (McBride, 1994). Η οργανική ουσία μπορεί να συγκρατήσει ισχυρά τα στοιχεία αυτά, επειδή σχηματίζει σταθερές υδατοδιαλυτές είτε δυσδιάλυτες ενώσεις (χηλικές ενώσεις), με αποτέλεσμα τη μείωση της διαθεσιμότητάς τους για τα φυτά (Adriano, 1986). Όταν επικρατούν αναγωγικές συνθήκες, ορισμένα μικροθρεπτικά στοιχεία και ιχνοστοιχεία (Cu, Zn, Cd, Pb) μπορεί να σχηματίσουν δυσδιάλυτες ενώσεις, με αποτέλεσμα τη μείωση της κινητικότητας και διαθεσιμότητάς τους (Adriano, 1986). Επίσης, σημαντική είναι και η επίδραση της ΙΑΚ, της ποσότητας των ανθρακικών αλάτων, των οξειδίων Fe, Mn και Al, στη συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του αρνητικού ηλεκτρικού φορτίου του εδάφους τόσο μεγαλύτερη είναι και η ικανότητα του εδάφους αυτού να δεσμεύει μεταλλικά κατιόντα (Navrot et al., 1978; Abd-Elfattah και Wada, 1981).

1.3 Παράμετροι προσρόφησης μετάλλων στο έδαφος

Οι παράμετροι προσρόφησης των μετάλλων στο έδαφος, σύμφωνα με τον Alloway (1995), είναι οι εξής:

1. **Ανταλλαγή κατιόντων:** Ορισμένα στοιχεία υπάρχουν ως κατιόντα και η προσρόφησή τους εξαρτάται από την ένταση των αρνητικών φορτίων στις

επιφάνειες των εδαφικών κolloειδών. Έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά: είναι αναστρέψιμη, ελεγχόμενη από τη διάχυση, στοιχειομετρική και στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχει εκλεκτικότητα ή προτίμηση σε ιόντα που εξαρτάται από το σθένος, την ατομικότητα και το βαθμό ενυδάτωσης.

2. **Ειδική προσρόφηση:** είναι η ανταλλαγή κατιόντων βαρέων μετάλλων και ανιόντων προς σχηματισμό εν μέρει ομοιοπολικών δεσμών με δικτυωτή δομή.
3. **Συγκαθίζηση:** είναι η ταυτόχρονη καθίζηση ενός χημικού παράγοντα από κοινού με άλλα στοιχεία με οποιοδήποτε μηχανισμό και με κάθε ταχύτητα.
4. **Αδιάλυτη καθίζηση:** με τις κατάλληλες φυσικοχημικές καταστάσεις και υψηλές συγκεντρώσεις κατάλληλων ιόντων, πολλά μέταλλα σχηματίζουν αδιάλυτα ιζήματα που ελέγχουν τη διαλυτότητα τους στα εδαφικά διαλύματα.
5. **Οργανικά σύμπλοκα:** Επιπρόσθετα με την ανάμιξη σε αντιδράσεις ανταλλαγής κατιόντων, τα χουμικά οξέα του εδάφους προσροφούν επίσης μέταλλα σχηματίζοντας χηλικά σύμπλοκα.
6. **Εκλεκτικότητα προσρόφησης για τα διάφορα μέταλλα:** τα διάφορα μέταλλα διαφέρουν στην έκταση που απορροφώνται με διάφορους μηχανισμούς και οι προσροφητές εμφανίζουν διαφορές στην ακολουθία επιλογής των μετάλλων.
7. **Προσρόφηση ως επιφανειακή συμπλοκοποίηση:** Απ' την πλευρά των περιορισμών των παραδοσιακών προσεγγίσεων της ιοντικής προσρόφησης των μετάλλων, οι Sposito και Page (1985), όπως αναφέρεται στον Alloway (1995), πρότειναν μια εναλλακτική προσέγγιση όπου οι αντιδράσεις προσρόφησης θεωρούνται ως αντιδράσεις συμπλοκοποίησης με ενεργές ομάδες στις στερεές επιφάνειες, δημιουργώντας επιφανειακά είδη μετάλλων ανάλογα με τα κύρια είδη που υπάρχουν στο εδαφικό διάλυμα.
8. **Βιομεθυλίωση των βαρέων μετάλλων:** Ορισμένα στοιχεία, συμπεριλαμβανομένων των Hg, As, Se και Te, είναι δυνατό να υφίστανται μεθυλίωση από μικροοργανισμούς προς σχηματισμό ασταθών μορίων, όπως CH_3Hg^+ , CH_3Se και CH_3As , και αυτό μπορεί να αποτελέσει την κύρια οδό για απώλειες αυτών των στοιχείων από τα εδάφη (Alloway, 1995).

Κεφάλαιο 2. Βαρέα μέταλλα

2.1 Ψευδάργυρος (Zn)

2.1.1 Ο ψευδάργυρος στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά

Ο ψευδάργυρος είναι χαλκόφιλο στοιχείο, καθώς έχει την τάση να απαντάται ως ορυκτό ZnS σε πετρώματα, αλλά αποσαθρώνεται στο διαλυτό ιόν Zn^{2+} στο οξειδωτικό περιβάλλον των εδαφών. Η +2 οξειδωτική κατάσταση του ψευδάργυρου είναι η μοναδική που μπορεί να εμφανιστεί σε εδάφη. Σε όξινα, αερόβια εδάφη, ο ψευδάργυρος έχει μέση κινητικότητα και δεσμεύεται σε ανταλλάξιμες μορφές σε αργίλους και στην οργανική ύλη. Σε υψηλότερα pH, εντούτοις, η χημειορόφηση σε οξείδια και αργιλοπυριτικά καθώς και η συμπλοκοποίηση με το χούμο μειώνουν σημαντικά τη διαλυτότητα του Zn^{2+} και έτσι η κινητικότητα του Zn σε ουδέτερα εδάφη είναι πολύ χαμηλή. Εάν τα εδάφη είναι ελαφρώς αλκαλικά, ακόμη και αν η ενεργότητα του ελεύθερου Zn^{2+} είναι εξαιρετικά χαμηλή, τα σύμπλοκα Zn-οργανικών μπορεί να γίνουν διαλυτά και να αυξήσουν την κινητικότητα. Σε ισχυρά αλκαλικά εδάφη, μπορεί να σχηματίζονται ανιόντα Zn-υδροξυλίων αυξάνοντας τη διαλυτότητα. Σε εδάφη ρυπασμένα με υψηλά επίπεδα Zn, η καθίζηση των οξειδίων, υδροξειδίων και των όξινων ανθρακικών του Zn μπορεί να περιορίσουν την κινητικότητα του Zn^{2+} σε pH μεγαλύτερα του 6. Υπό όξινες, οξειδωτικές συνθήκες, το Zn^{2+} είναι ένα από τα πιο διαλυτά και ευκίνητα κατιόντα μετάλλων. Δε δημιουργεί ισχυρά σύμπλοκα με την οργανική ύλη σε χαμηλά pH. Ασβεστώδη και αλκαλικά εδάφη παρουσιάζουν συχνά έλλειψη σε Zn εξαιτίας της χαμηλής του κινητικότητας (McBride, 1994).

Στο έδαφος ο ψευδάργυρος εμφανίζεται με τις εξής μορφές (Μήτσιος, 2004):

- Υδατοδιαλυτές μορφές Zn. Οι μορφές αυτές αποτελούν το σύνολο των ενώσεων του Zn που βρίσκονται στο εδαφικό διάλυμα.
- Ανταλλάξιμες μορφές Zn. Οι ανταλλάξιμες μορφές του Zn συγκρατούνται στη στερεή φάση του εδάφους.
- Συμπλοκοποιημένες μορφές Zn. Οι μορφές αυτές του Zn δημιουργούν σύμπλοκες ενώσεις με οργανικούς υποκατάστατες. Στην ίδια κατηγορία

περιλαμβάνονται οι ενώσεις του μετάλλου που είναι προσροφημένες στην οργανική ουσία.

- Μορφές Zn που είναι προσροφημένες-δεσμευμένες από τα ορυκτά της αργίλου και από τα αδιάλυτα μεταλλικά οξείδια
- Μορφές του Zn σε μητρικά πετρώματα.

Οι παραπάνω μορφές του Zn καθώς και η συγκέντρωσή τους στο έδαφος εξαρτώνται από:

- Την καταβύθιση και τη διάλυση.
- Την συμπλοκοποίηση και την απελευθέρωση του μετάλλου κατά την αντίστροφη διαδικασία.
- Την προσρόφηση και εκρόφηση.

Ο Zn βρίσκεται σε χημική ισορροπία με τα διάφορα συστατικά του εδάφους. Οι παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν αυτή τη χημική ισορροπία είναι:

- Τα φυτά και ο ρυθμός πρόσληψης του Zn από αυτά.
- Οι απώλειες του Zn κατά την έκπλυση.
- Η προσθήκη Zn στο έδαφος είτε από αυξημένη γεωργική δραστηριότητα είτε από αέριες αποθέσεις.
- Η μεταβολή του % ποσοστού της υγρασίας του εδάφους.
- Η μεταβολή της τιμής pH του εδάφους.
- Η ανοργανοποίηση της οργανικής ουσίας του εδάφους.

2.1.2 Προσρόφηση του ψευδαργύρου στο έδαφος

Η προσρόφηση του Zn στο έδαφος γίνεται με δύο διαφορετικούς μηχανισμούς. Ο ένας μηχανισμός αναφέρεται σε όξινο περιβάλλον που εξαρτάται από τις επιφάνειες ιονανταλλαγής και ο άλλος σε αλκαλικό περιβάλλον ο οποίος θεωρείται χημειορόφηση. Η χημειορόφηση εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την παρουσία στο εδαφικό διάλυμα οργανικών υποκαταστάτων.

Οι ερευνητές McBride και Blasiac (1979), υποστήριξαν ότι η συγκράτηση του υδροξειδίου του Zn από τις επιφάνειες της αργίλου καθορίζεται σε σημαντικό βαθμό από την τιμή του pH. Συγκεκριμένα, η προσρόφηση του ιόντος Zn^{+2} είναι δυνατό να

ελαττωθεί σε $\text{pH} < 7$ από την παρουσία ανταγωνιστικών κατιόντων. Αυτό συντελεί σε μεγάλη κινητικότητα και έκπλυση του Zn από τα όξινα ελαφριάς σύστασης εδάφη.

Σε υψηλότερες τιμές pH και με αύξηση της συγκέντρωσης των οργανικών ενώσεων η διαλυτότητα του Zn οφείλεται στο σχηματισμό οργανοψευδαργυρικών ενώσεων.

Όπως ήδη έχουμε αναφέρει οι διεργασίες της προσρόφησης και της ιοντοανταλλαγής επηρεάζουν την παρουσία του ψευδάργυρου στα εδάφη. Ο ψευδάργυρος προσροφάται μέσω απλών αλληλεπιδράσεων Columb με τις θέσεις ανταλλαγής κατιόντων. Επομένως, οι κυριότεροι προσροφητές του ψευδαργύρου στα εδάφη είναι τα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου και σε μικρότερο βαθμό το οργανικό κλάσμα και τα αργιλικά ορυκτά. Η προσρόφηση του ψευδαργύρου στα οξείδια του σιδήρου, του μαγγανίου και του αργιλίου, καθώς και στο διοξείδιο του πυριτίου, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το pH . Αυτό οφείλεται στην υδρόλυση του ψευδαργύρου και στην αμφοτερική φύση των ορυκτών οξειδίων και υδροξειδίων (EPRI,1984).

Οι ερευνητές Zygin et al. (1976), υποστηρίζουν ότι η μεγαλύτερη ποσότητα του Zn συγκρατείται από τα οξείδια του σιδήρου και του αργιλίου (σε ποσοστό 14-38%), από τα ορυκτά της αργίλου (24-63%), ενώ οι υδατοδιαλυτές ενώσεις ανέρχονται από 1 μέχρι 20%, τα δε σύμπλοκα με τις οργανικές ενώσεις σε ποσοστό 1,5 μέχρι 2,3% της συνολικής ποσότητας του Zn στο έδαφος.

Σε συγκρίσιμες πειραματικές συνθήκες προσρόφησης σε οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου, η κορυφή της καμπύλης προσρόφησης του ψευδαργύρου πέφτει σε υψηλότερο pH σε σχέση με το χαλκό ή το μόλυβδο, υποδηλώνοντας ότι ο ψευδάργυρος προσροφάται λιγότερο ισχυρά. Αντιθέτως, ο ψευδάργυρος προσροφάται περισσότερο ισχυρά από το κάδμιο, το κοβάλτιο και το νικέλιο σε οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου. Η εξάρτηση της προσρόφησης του ψευδαργύρου από το pH ελαττώνεται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις ή όταν ο προσροφητής είναι τα αργιλικά ορυκτά (EPRI,1984).

Η παρουσία ανταγωνιστικών κατιονικών υποκαταστατών, μπορεί υπό συγκεκριμένες συνθήκες να μειώσει την προσρόφηση ή την ιοντοανταλλαγή του ψευδαργύρου στα εδάφη. Τα Ca^{2+} και Mg^{2+} σε υψηλές συγκεντρώσεις ($>10^{-3}\text{M}$), ανταγωνίζονται τον ψευδάργυρο για τις θέσεις ιοντοανταλλαγής στα εδάφη και στα αργιλικά ορυκτά. Σε μικρότερες, όμως, συγκεντρώσεις ($<10^{-4}\text{M}$) δεν επηρεάζουν τη διεργασία της ιοντοανταλλαγής. Ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το κάδμιο και ο μόλυβδος σε συγκρίσιμες συγκεντρώσεις ($<10^{-6}\text{M}$) δεν ανταγωνίζονται για τις θέσεις

προσρόφησης στα άμορφα οξείδια του σιδήρου, υποδηλώνοντας ότι λαμβάνει χώρα επιλεκτική προσρόφηση για το κάθε μέταλλο (EPRI,1984).

2.2 Χαλκός (Cu)

2.2.1 Ο χαλκός στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά

Ο χαλκός σε εδαφικά στερεά και διαλύματα απαντάται σχεδόν αποκλειστικά ως το δισθενές κατιόν Cu^{2+} . Παρόλα αυτά, η αναγωγή του Cu^{2+} σε Cu^+ και Cu^0 είναι πιθανή υπό αναγωγικές συνθήκες. Ο χαλκός είναι χαλκόφιλο στοιχείο, εξαιτίας της τάσης του να συνδέεται με σουλφίδια στα αδιάλυτα στερεά, Cu_2S και CuS . Σε αναγωγικά εδάφη, επομένως, ο χαλκός έχει πολύ χαμηλή κινητικότητα. Τα περισσότερα κολλοειδή υλικά των εδαφών (οξείδια του Mn, Al και Fe, πυριτικές άργιλοι και χούμος) προσροφούν τον Cu^{2+} ισχυρά και αυξανόμενα, όσο αυξάνει το pH (McBride, 1994). Το CuOH^+ περισσότερο από τον Cu^{2+} αποτελεί το προτιμώμενο προσροφόμενο είδος για πολλούς προσροφητές (EPRI,1984). Για εδάφη με υψηλή συσσώρευση Cu, είναι πιθανή η καθίζηση σε pH μεγαλύτερα του 6. Ο Cu^{2+} που έχει συμπλοκοποιηθεί οργανικά δεσμεύεται πιο ισχυρά από οποιοδήποτε άλλο μέταλλο μετάπτωσης. Η αστάθεια αυτών των συμπλόκων είναι πολύ χαμηλή, περιορίζοντας τη βιοδιαθεσιμότητα. Ο χαλκός θεωρείται στοιχείο χαμηλής κινητικότητας σε ουδέτερα εδάφη. Συσσωρεύεται στην επιφάνεια των ρυπασμένων εδαφών. Στα περισσότερα αλκαλικά εδάφη, ενώ η διαλυτότητα του ελεύθερου Cu^{2+} είναι εξαιρετικά χαμηλή, σχηματίζονται διαλυτά σύμπλοκα του Cu^{2+} (με υδροξύλια, ανθρακικά και την οργανική ύλη) και αυξάνουν τη συνολική διαλυτότητα του χαλκού. Επομένως, η κινητικότητα μπορεί να είναι σημαντική σε υψηλές τιμές του pH. Το μεγαλύτερο τμήμα του ολικού διαλυτού χαλκού σε επιφανειακά εδάφη σε ένα αρκετά μεγάλο εύρος του pH (και ιδιαίτερα σε υψηλές τιμές) είναι στη μορφή συμπλόκων Cu^{2+} -οργανικών.

Ο χαλκός βρίσκεται στο έδαφος με τις παρακάτω μορφές:

- Υδατοδιαλυτά ιόντα του μετάλλου, καθώς και ανόργανα και οργανικά σύμπλοκά του στο εδαφικό διάλυμα.
- Ανταλλάξιμος χαλκός.
- Σταθερά οργανικά σύμπλοκα με την οργανική ουσία.

- Προσροφημένος χαλκός στα οξείδια και υδροξείδια του σιδήρου, μαγγανίου και αργιλίου.
- Προσροφημένος χαλκός στα κolloειδή σωματίδια της αργίλου ή των χουμικών οξέων.
- Χαλκός που είναι δεσμευμένος στο κρυσταλλικό πλέγμα των ορυκτών του εδάφους.

2.2.2 Προσρόφηση του χαλκού στο έδαφος

Ο χαλκός προσροφάται ισχυρά στα εδάφη μέσω τριών διαφορετικών μηχανισμών: (α) συμπλοκοποίηση με την οργανική ύλη, (β) ειδική προσρόφηση και (γ) ιοντοανταλλαγή.

Ένας αριθμός ερευνητών προτείνουν ότι σε επιφανειακά εδάφη, η εδαφική οργανική ύλη αποτελεί τον κυρίαρχο μηχανισμό που ελέγχει την προσρόφηση του χαλκού. Στην πραγματικότητα, ο Hg και ο Cu φαίνεται να σχετίζονται περισσότερο με την εδαφική οργανική ύλη από όλα τα υπόλοιπα κατιόντα των βαρέων μετάλλων (Kerndorff και Schnitzer 1980). Σε χαμηλές υδατικές συγκεντρώσεις χαλκού και σε εδάφη με χαμηλό οργανικό περιεχόμενο, η προσρόφηση στα εδαφικά οξείδια των Fe, Al και Mn μπορεί να αποτελεί τον κυρίαρχο μηχανισμό παραμονής (EPRI, 1984). Η ιοντοανταλλαγή αποτελεί έναν σημαντικό μηχανισμό προσρόφησης σε υψηλότερες συγκεντρώσεις χαλκού, όταν έχει ξεπεραστεί η δυνατότητα συμπλοκοποίησης και προσρόφησης από τα εδαφικά ένυδρα οξείδια και την οργανική ύλη.

Το ηλεκτρικό φορτίο που παρουσιάζουν οι επιφάνειες των εδαφών ελέγχεται από την τιμή του pH (Paradopoulos και Rowell, 1988). Επομένως η προσρόφηση του χαλκού από την στερεή φάση του εδάφους, καθώς και οι μορφές του χαλκού που παρουσιάζονται στα εδάφη καθορίζονται από την τιμή του pH του εδάφους.

Το εδαφικό pH έχει μια πολύ σημαντική επίδραση στην προσρόφηση του χαλκού, καθώς επηρεάζει την διαλυτότητα τόσο των κατιοντικών όσο και των ανιονικών μορφών, την υδρόλυση και την κατανομή του επιφανειακού φορτίου στα αμφοτερικά ένυδρα οξείδια του εδάφους. Η εξάρτηση της προσρόφησης του χαλκού από το pH ποικίλει ανάλογα με τους προσροφητές. Ο Murray (1975) μελέτησε την δέσμευση του χαλκού στα οξείδια του μαγγανίου και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η προσρόφηση ενός ιόντος Cu^{2+} οδηγεί στην απελευθέρωση 1,2

ιόντων H^+ . Οι Schindler et al., (1976) βρήκαν ότι ο αριθμός των πρωτονίων που απελευθερώνεται ανά προσροφώμενο Cu^{2+} , αυξάνει από 1 σε 2 με την αύξηση του pH (Ponizovsky et al., 1999).

Η προσρόφηση του χαλκού από την οργανική ύλη δείχνει να εξαρτάται λιγότερο από το pH. Αντίθετα, η προσρόφηση του χαλκού από τα οξειδία του σιδήρου επιδεικνύει μια σαφή "κορυφή" προσρόφησης όπου η προσρόφηση αυξάνει από επίπεδα σχεδόν 0% σε 100% σε δυο μονάδες του pH. Η κορυφή της προσρόφησης εξαρτάται από τις πειραματικές συνθήκες (π.χ. τη συγκέντρωση του χαλκού ή των οξειδίων), αλλά εμφανίζεται ανάμεσα στο pH 3 και 6. Η εξάρτηση της προσρόφησης του Cu από το pH αποδίδεται στην προσρόφηση των συμπλόκων με τα υδροξύλια (π.χ., $CuOH^+$), τα οποία δεσμεύονται πιο ισχυρά στην επιφάνεια από τα ελεύθερα ένυδρα ιόντα του Cu^{2+} .

Ο σχηματισμός συμπλόκων μεταξύ του χαλκού και της οργανικής ουσίας του εδάφους είναι η σπουδαιότερη διεργασία που συμβαίνει στο έδαφος. Μεγάλος αριθμός οργανικών ενώσεων έχουν την ικανότητα να δημιουργούν τόσο ευδιάλυτα, όσο και αδιάλυτα σύμπλοκα, κυρίως με τα ιόντα δισθενούς χαλκού. Επομένως, η διαλυτότητα του χαλκού στο έδαφος καθορίζεται σημαντικά από την περιεκτικότητα σε οργανική ουσία του εδάφους (Randle και Harymann, 1995).

Η παρουσία σχετικά υψηλών συγκεντρώσεων (10^{-3} - 10^{-2} M) άλλων δισθενών κατιόντων, όπως του ασβεστίου, μειώνει την προσρόφηση του χαλκού (10^{-5} - 10^{-4} M) από το έδαφος, τα οξειδία του σιδήρου και τα αργιλικά ορυκτά. Η προσρόφηση του χαλκού σε άμορφα οξυδροοξειδία του σιδήρου δεν επηρεάζεται από την παρουσία ίσων συγκεντρώσεων Pb, Zn και Cd, υπονοώντας ότι τα μέταλλα δεσμεύονται το καθένα σε συγκεκριμένες θέσεις στην ειδική επιφάνεια (Benjamin και Leckie, 1982).

Όσον αφορά το βαθμό συγκράτησης του χαλκού από τα διάφορα εδαφικά συστατικά, έχει βρεθεί η ακόλουθη σειρά προσρόφησης: Οργανική ουσία > Οξειδία Mn, Fe > αργιλικά ορυκτά. Κατά γενικό κανόνα η δέσμευση του χαλκού στο έδαφος είναι τόσο μεγαλύτερη, όσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό της οργανικής ουσίας σ' αυτό. Ο χαλκός αντιδρά με τις φαινολικές και καρβοξυλικές ομάδες της οργανικής ουσίας του εδάφους και παραμένει εκεί σε ανταλλάξιμη μορφή (McBride, 1981).

2.3 Μόλυβδος (Pb)

2.3.1 Ο μόλυβδος στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά

Το έδαφος αποτελεί σημαντικό αποδέκτη του μολύβδου που προέρχεται από τις ανθρωπογενείς πηγές. Αρκετοί ερευνητές έχουν επισημάνει ότι η εισπνοή σκόνης έχει μεγαλύτερη σημασία από την είσοδο του στοιχείου στην τροφική αλυσίδα μέσω των φυτών. Έχει αποδειχθεί ότι το έδαφος και η σκόνη είναι σημαντικές πηγές μολύβδου, ειδικά για τα παιδιά, και οι συγκεντρώσεις του στο αίμα έχουν συσχετιστεί με τις συγκεντρώσεις στο έδαφος (Alloway, 1995).

Υπάρχει ένας σημαντικός αριθμός εργασιών που αναφέρουν ότι τα εδάφη και τα φυτά που βρίσκονται κοντά σε δρόμους μεγάλης κυκλοφορίας περιέχουν ασυνήθιστα υψηλά ποσά μολύβδου (Chronopoulos et al, 1997; Garcia & Millan, 1998; Zupancic, 1999). Απ' όλες αυτές τις εργασίες προκύπτει ότι υπάρχει μια ζώνη 5-15 m, περίπου, και από τις δύο πλευρές των περισσότερων δρόμων, όπου οι συγκεντρώσεις του μολύβδου υπερβαίνουν τα τοπικά φυσιολογικά επίπεδα. Είναι γνωστό ότι οι συγκεντρώσεις του μολύβδου στα επιφανειακά εδάφη αστικών περιοχών εξαρτώνται από τις χρήσεις γης. Στις μη βιομηχανικές πόλεις, οι πολυσύχναστοι δρόμοι και τα παλιά κτίρια, που έχουν βαφτεί με χρώματα υψηλής περιεκτικότητας σε μόλυβδο, αυξάνουν τις συγκεντρώσεις στα εδάφη (περίπου 1000 mg kg⁻¹) (Kelly et al., 1996). Το ίδιο αναφέρεται και σε μια άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην περιοχή Danag-Hoian του Βιετνάμ, όπου παρατηρήθηκαν πολύ υψηλά επίπεδα μολύβδου στα αγροτικά εδάφη (Thuy et al., 2000).

Ο μόλυβδος παρουσιάζει την τάση να συγκεντρώνεται στον επιφανειακό ορίζοντα του εδάφους, σχηματίζοντας σταθερά σύμπλοκα με τα οργανικά κολλοειδή (Li & Shuman, 1996). Το γεγονός ότι ο μόλυβδος συσσωρεύεται στο επιφανειακό στρώμα των εδαφών συνδέεται με την ύπαρξη οργανικής ουσίας η οποία και δεσμεύει το μέταλλο δημιουργώντας σύμπλοκες ενώσεις και ιόντα (Friedland et al. 1984; Pinheiro et al., 1994). Με βάση τις ανωτέρω εργασίες φαίνεται πως ο μόλυβδος ακινητοποιείται, οπότε και δεν είναι δυνατό να μεταφερθεί στα βαθύτερα στρώματα τη εδαφικής κατατομής με έκπλυση. Ανάλογα ήταν και τα συμπεράσματα των ερευνητών Tyler et al. (1989), όπως αναφέρεται στον Alloway (1995), δίνοντας την παρακάτω σειρά ηλεκτραρνητικότητας των μετάλλων Pb > Cu > Zn > Cd,

υποστηρίζουν πως ο μόλυβδος σχηματίζει τα πιο σταθερά σύμπλοκα και γι' αυτό φαίνεται να μη μετακινείται μέσα στο εδαφικό προφίλ.

Το ελεύθερο ιόν Pb^{2+} εμπλέκεται σε πολλές χημικές διεργασίες, όπως προσρόφηση σε αργίλους, οργανική ύλη και οξείδια του Fe/Mn, καθώς και με την καθίζηση αδιάλυτων ενώσεων.

Οι Santillan - Medrano και Jurikak (1975), υποστήριξαν ότι σε μη αλκαλικά εδάφη η διαλυτότητα του μολύβδου ρυθμίζεται από τις ενώσεις $Pb(OH)_2$, $Pb_3(PO_4)_2$, $Pb_5(PO_4)_2OH$, ενώ σε αλκαλικά εδάφη από το σχηματισμό της ένωσης $PbCO_3$.

Οι ερευνητές Khan και Frankland (1984), προσδιόρισαν σε ρυπασμένα εδάφη τις ενώσεις $PbCl_2$ και PbO . Επιπλέον υποστήριξαν ότι μέσα σε μία ώρα οι ενώσεις του μολύβδου που είναι υδατοδιαλυτές μετατρέπονται σε μορφές λιγότερο διαλυτές (εκχυλίσιμες με διάλυμα EDTA).

Οι σημαντικότεροι εδαφικοί παράγοντες οι οποίοι καθορίζουν την κινητικότητα ή τη συγκράτηση του μολύβδου από τη στερεή φάση του εδάφους, είναι η τιμή του pH και η ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (I.A.K). Η επίδραση της οργανικής ουσίας στη συγκράτηση του μολύβδου είναι σημαντικότερη σε σχέση με την καταβύθιση του ως ανθρακικό άλας ή την προσρόφηση του από τα ένυδρα οξείδια (Ainsworth et al., 1994). Οι Farraj και Pickering (1977), μελέτησαν τους πιθανούς μηχανισμούς προσρόφησης του μολύβδου από το μοντομοριλλονίτη με διαδικασίες ιονανταλλαγής, ενώ από τον καολινίτη και τον ιλλίτη ο μόλυβδος προσροφάται ανταγωνιστικά.

Οι Abd – Elfattah και Wada (1981), υποστήριξαν ότι παρατηρείται εκλεκτική προσρόφηση του μολύβδου από τα οξείδια του σιδήρου, σε σχέση με το χούμο, τον καολινίτη και το μοντομοριλλονίτη.

Άλλες εδαφικές ιδιότητες οι οποίες σχετίζονται θετικά με τη δέσμευση του μολύβδου είναι η περιεκτικότητα σε άργιλο (King, 1988) και ο βαθμός κορεσμού με βάσεις (Alloway, 1995).

Ο Gargia – Miragaya (1984), κατέληξε στο συμπέρασμα ότι σε εδάφη τα οποία βρίσκονταν δίπλα σε δρόμους το 0,7%, του ποσοστού του μολύβδου ήταν σε ανταλλάξιμη μορφή, ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό, ήταν δεσμευμένο από την οργανική ουσία του εδάφους. Μικρό μόνο ποσοστό του μολύβδου βρέθηκε να είναι δεσμευμένο, στα οξείδια του σιδήρου.

Οι ερευνητές Hildebrand και Blum (1975), ανέφεραν ότι σημαντικό ρόλο στην ακινητοποίηση του μολύβδου στο έδαφος παίζουν τα χουμικά και φουλβικά οξέα και ιδιαίτερα οι ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους. Οι συγκεντρώσεις του μολύβδου στο

εδαφικό διάλυμα είναι ιδιαίτερα χαμηλές με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται πολλά αναλυτικά προβλήματα κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό του.

Σε εργασία των Riga-Karandinos et al. (2006) που αφορούσε στις συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων σε εδάφη πλησίον εθνικών οδών και αστικών δρόμων της Αθήνας, βρήκαν ότι η συγκέντρωση του Pb δεν παρουσίασε σημαντική μείωση παρόλο την μειωμένη περιεκτικότητα σε Pb της βενζίνης (από 0,40 g/l σε 0,15 g/l το 1989) και την προοδευτική εισαγωγή της αμόλυβδης βενζίνης για τα καταλυτικά οχήματα στην Ελλάδα. Αυτή η υψηλή συσσώρευση του Pb στην επιφάνεια των εδαφών που βρίσκονται κοντά σε μεγάλους δρόμους οφείλεται στον αυξανόμενο αριθμό αυτοκινήτων που κυκλοφορούν στην Αθήνα κατά τη διάρκεια των τελευταίων 15 ετών και στο γεγονός ότι ένα υψηλό ποσοστό (~40%) της κυκλοφορίας των αυτοκινήτων χρησιμοποιεί παλαιά τύπου βενζίνη (Super). Επίσης η περιορισμένη διάβρωση της επιφάνειας των εδαφών από τον αέρα ή το νερό, σε συνδυασμό με τη δέσμευση του Pb από την οργανική ουσία του εδάφους έχει ως αποτέλεσμα την περιορισμένη δυνατότητα μετακίνησης του σε μεγαλύτερα βάθη (Kita et al., 2004). Επιπλέον εδάφη με pH μετρίως αλκαλικό έως ουδέτερο και με πολύ υψηλές συγκεντρώσεις ανθρακικού ασβεστίου εμφανίζουν χαμηλή κινητικότητα και βιοδιαθεσιμότητα μετάλλων (Martin and Coughtrey, 1982; Yassoglou et al., 1987; Cameron et al., 1997).

Η ερευνήτρια Al. Kabata (1972) προσδιόρισε συγκέντρωση μολύβδου στο εδαφικό διάλυμα ίση με 10^{-7} M. Οι Bradford et al. (1975), προσδιόρισαν συγκέντρωση μολύβδου 10^{-9} σε 68 εδαφικά δείγματα στην Καλιφόρνια των Η.Π.Α. 10^{-9} M.

Η συσσώρευση του μολύβδου στην επιφάνεια των εδαφών έχει μεγάλη οικολογική σημασία, γιατί ο μόλυβδος επηρεάζει τη βιολογική δραστηριότητα στα εδάφη. Ο Tyler, (1975); οι Hughes et al. (1980) και ο Woytowicz, (1980), απέδειξαν ότι αυξημένα επίπεδα μολύβδου στο έδαφος είναι δυνατό να περιορίσουν την ενζυματική δράση των μικροοργανισμών με αποτέλεσμα στον επιφανειακό ορίζοντα, να συσσωρεύεται οργανική ουσία η οποία δεν αποικοδομείται.

Η ρύπανση του εδάφους με μόλυβδο μπορεί να θεωρηθεί ως μη αντιστρεπτή διαδικασία και αυτό επειδή η συσσώρευση του στοιχείου συνεχίζεται ακόμα κι αν οι εισροές είναι χαμηλές (Zurancic, 1999). Επίσης, λόγω της χαμηλής διαλυτότητας του έχει μεγάλο χρόνο παραμονής στο έδαφος (χρόνος ημιζωής 740 - 5900 χρόνια) (Kabata – Pendias και Pendias, 1992).

2.4 Νικέλιο (Ni)

2.4.1 Το νικέλιο στο έδαφος - η χημική του συμπεριφορά

Η +2 οξειδωτική κατάσταση είναι η μοναδική σταθερή μορφή του νικελίου σε εδαφικά περιβάλλοντα (McBride, 1994). Οι συγκεντρώσεις του Ni στο έδαφος μπορεί να ελέγχονται είτε από διεργασίες προσρόφησης/εκρόφησης, είτε από διεργασίες καθίζησης/διαλυτοποίησης. Σύμφωνα με τους Ma και Lindsay (1995), η προσρόφηση/εκρόφηση μπορεί να είναι σημαντική σε μη ρυπασμένα εδάφη με χαμηλό pH, ενώ οι διεργασίες καθίζησης/διαλυτοποίησης μπορεί να λειτουργούν σε εδάφη με υψηλό pH και/ή υψηλά επίπεδα Ni. Η προσρόφηση του Ni επηρεάζεται από έναν αριθμό εδαφικών παραγόντων, όπως το pH, η σύσταση, το περιεχόμενο CaCO₃, η οργανική ύλη κ.α. Οι πιο σημαντικοί προσροφητές στα εδάφη είναι η οργανική ύλη, οι επιστρώσεις πυριτικών, τα υδροξείδια των Si, Al, Fe και Mn και τα ανθρακικά ιόντα. Τα πιο ισχυρά προσροφώμενα είδη είναι τα κατιονικά είδη Ni²⁺ και NiOH⁺ (Zehetner & Wenzel, 1999). Ως το μικρότερο από τα δισθενή μεταλλικά κατιόντα μεταπτώσεως, το Ni²⁺ εφαρμόζει εύκολα σε οκταεδρικές θέσεις, συγκατακρημιζόμενο εύκολα με οξείδια του Mn και Fe στα εδάφη. Η χημειορόφηση ευνοείται σε pH > 6, ενώ σε μικρότερα pH κυριαρχεί η Ni²⁺ μορφή. Υψηλό ποσοστό οργανικής ύλης σε εδάφη πλούσια σε Ni μπορεί να διαλυτοποιεί το Ni²⁺, ως οργανικά σύμπλοκα (Kabata-Pendias, 2001). Το Ni²⁺ είναι σχεδόν τόσο ηλεκτροαρνητικό όσο και ο Cu²⁺. Το γεγονός αυτό, καθώς και η ηλεκτρονιακή του δομή ευνοούν το σχηματισμό συμπλόκων με την οργανική ύλη, συγκρινόμενης σταθερότητας με εκείνης του Cu²⁺ (McBride, 1994). Κατιόντα, όπως τα Ca²⁺ και Mg²⁺, έχει αναφερθεί ότι μειώνουν την προσρόφηση του νικελίου, εξαιτίας του ανταγωνισμού για τις θέσεις προσρόφησης. Ανιόντα, όπως τα SO₄²⁻, μειώνουν την προσρόφηση μέσω της μείωσης της ενεργότητας του Ni²⁺ ως αποτέλεσμα της συμπλοκοποίησης (EPRI, 1984).

Ο μέσος όρος της συγκέντρωσης του νικελίου στο έδαφος, είναι γύρω στα 20 mg kg⁻¹, οι τιμές όμως, παρουσιάζουν διακύμανση μεταξύ των διαφόρων τύπων εδαφών. Η περιεκτικότητα του νικελίου σ' ένα έδαφος εξαρτάται πολύ από τη φύση του μητρικού υλικού. Για παράδειγμα, εδάφη πάνω σε σερπεντινίτη, μπορεί να περιέχουν 10 - 7000 mg kg⁻¹ Ni (Brookes, 1987).

Έχει παρατηρηθεί ότι σε χαμηλές τιμές pH, το νικέλιο γίνεται πιο διαλυτό και ότι τα σουλφίδια του είναι οι ενώσεις που ελέγχουν τη συγκέντρωση του στο εδαφικό διάλυμα. Το νικέλιο - σιδερίτης (NiFe_2O_4) είναι η πιθανή στερεή μορφή του νικελίου με την οποία το στοιχείο αυτό εμφανίζεται στο έδαφος.

Ο πιο σημαντικός παράγοντας που καθορίζει την ισορροπία του νικελίου μεταξύ της στερεής και της υγρής φάσης, φαίνεται πως είναι το pH, ενώ παράγοντες, όπως η περιεκτικότητα σε άργιλο και τα ποσά των οξειδίων σιδήρου και μαγγανίου στο έδαφος, είναι δευτερεύουσας σημασίας. Η κινητικότητα του νικελίου στα εδάφη αυξάνεται, όσο το pH και η IAK μειώνονται. Επίσης, αξιοσημείωτη αύξηση του διαλυτού νικελίου έχει καταγραφεί σε όξινα εδάφη ($\text{pH} < 6$) που έχουν δεχτεί ενεργό λάσπη. Ισχυρά όξινα εδάφη από τη Φινλανδία, όπως και εδάφη, ρυπασμένα με νικέλιο, από την περιοχή Sudbury του Καναδά, τα οποία επηρεάζονταν από βιομηχανικές εκπομπές σουλφιδίων, έδειξαν αυξημένα ποσά εκχειλίσιμου νικελίου, σαν αποτέλεσμα του χαμηλού pH των εδαφών και στις δυο περιπτώσεις (Alloway, 1995). Οι Beckett et al. (1983), σύμφωνα με τον Alloway (1995), αναφέρουν ότι η διαθεσιμότητα του νικελίου είναι μεγάλη σε εδάφη με επεξεργασμένη λάσπη αποβλήτων, συγκριτικά με εδάφη τα οποία δεν έχουν δεχτεί ενεργό λάσπη.

2.4.2 Προσρόφηση του νικελίου στο έδαφος

Το νικέλιο προσροφάται από τα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου. Η ισχύς της προσρόφησης είναι μικρότερη από των Pb, Cu και Zn, αλλά είναι μεγαλύτερη από αυτή του Cd. Η προσρόφηση στα εδάφη, όπως και στα υπόλοιπα κατιονικά μέταλλα, πιθανόν ελέγχεται από την υδρόλυση, την ειδική προσρόφηση και την ιοντοανταλλαγή. Επομένως, τα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου, και σε μικρότερο βαθμό τα αργιλικά ορυκτά, αποτελούν τους σημαντικότερους προσροφητές. Η οργανική ύλη, φαίνεται να μην αποτελεί σημαντικό προσροφητή στα εδάφη.

Η προσρόφηση του νικελίου εξαρτάται από το pH. Απουσία ισχυρών υποκαταστατών συμπλοκοποίησης, η κορυφή της προσρόφησης κυμαίνεται από 5,5 έως 8,5 εξαρτώμενη από τον προσροφητή και τις πειραματικές συνθήκες. Η προσρόφηση του νικελίου απελευθερώνει περίπου 1 με 1,5 moles H^+ για κάθε mole Ni που προσροφάται από τα οξείδια του σιδήρου και του μαγγανίου, ενώ απελευθερώνονται έως και 2,3 πρωτόνια για κάθε είδος Ni που προσροφάται από

οξείδια του αργιλίου. Αυτά τα δεδομένα καταδεικνύουν ότι ενώ το Ni^{2+} παραμένει το κυρίαρχο διαλυτό είδος του νικελίου για pH μικρότερο του 8.

Ανταγωνιστικά κατιόντα και υποκαταστάτες συμπλοκοποίησης μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά την προσρόφηση του νικελίου από εδάφη. Αυξημένη ιοντική ισχύς με $NaCl$, $NaClO_4$, $NaNO_3$, $CaCl_2$, $Ca(ClO_4)_2$ ή $Ca(NO_3)_2$ μειώνει την προσρόφηση του νικελίου από τις αργίλους. Η ανταγωνιστικότητα των κατιόντων για τις θέσεις προσρόφησης καθώς και η μειούμενη ενεργότητα του Ni^{2+} αποτελούν δυο πιθανές εξηγήσεις για αυτό το φαινόμενο. Μεγαλύτερη μείωση στην προσρόφηση παρατηρείται όταν κυριαρχεί το Ca^{2+} , γεγονός που δείχνει ότι αποτελεί τον πιο σημαντικό ανταγωνιστή του νικελίου. Ομοιότητες στη φαινόμενη χημεία προσρόφησης δείχνει ότι ο Zn και το Cd μπορεί να αποτελούν πιθανούς ανταγωνιστές του νικελίου για τις θέσεις προσρόφησης σε ορισμένα οξείδια του σιδήρου και του αργιλίου.

Κάποιες μελέτες δείχνουν ότι η κινητική της εκρόφησης του νικελίου από ουδέτερα και βασικά εδάφη μπορεί να είναι αργή. Αυτή η μερικώς μη αντιστρεπτή προσρόφηση μπορεί να καταδεικνύει το σχηματισμό μιας αδιάλυτης στερεάς φάσης του νικελίου, η οποία μειώνει περαιτέρω τη μεταφορά του νικελίου στα υποεπιφανειακά περιβάλλοντα (EPRI, 1984).

Κεφάλαιο 3. Διαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στο έδαφος

3.1 Γενικά

Οι ολικές συγκεντρώσεις των βαρέων μετάλλων στο έδαφος έχουν χρησιμοποιηθεί από αρκετούς ερευνητές ως σημαντικός δείκτης του βαθμού ρύπανσης του περιβάλλοντος από ανθρωπογενείς πηγές (Erel et al., 1997; Thuy et al., 2000; Mellor, 2001, Massas et al., 2010). Έχει αποδειχθεί όμως, ότι οι τιμές αυτές είναι περιορισμένης αξιοπιστίας για την εκτίμηση του ποσοστού των βαρέων μετάλλων που είναι άμεσα διαθέσιμο για τα φυτά (Ullrich et al., 1999). Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις βαρέων μετάλλων στο έδαφος μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένη πρόσληψη τους από τα φυτά. Παρόλα αυτά, δεν έχουν παρατηρηθεί ισχυρές συσχετίσεις μεταξύ των συγκεντρώσεων των μετάλλων στο έδαφος με τις αντίστοιχες στα φυτά, αφού παράγοντες, όπως η βιοδιαθεσιμότητα, το είδος ή ακόμα και η ποικιλία των φυτικών ειδών, η κατανομή των μετάλλων μέσα στα φυτικά είδη και άλλοι, καθορίζουν τη συμπεριφορά των βαρέων μετάλλων στο σύστημα έδαφος- φυτό (Voutsas et al., 1996).

Με τον όρο **βιολογικά ενεργό ή βιοδιαθέσιμο κλάσμα** (bioavailable fraction), περιγράφονται τα ποσά των βαρέων μετάλλων που βρίσκονται σε διαλυτή, ανταλλάξιμη και οργανική (χηλική) μορφή και μπορούν εύκολα να προσληφθούν από τα φυτά (Maiz et al., 2000). Γενικά, θεωρείται αρκετά πολύπλοκο να καθοριστούν οι παράγοντες που επηρεάζουν τη φύση του διαθέσιμου κλάσματος, όπως και να εκτιμηθεί ποσοτικά αυτό το κλάσμα, εξαιτίας όλων εκείνων των φυσικοχημικών διεργασιών, που συμβαίνουν σ' ένα περίπλοκο φυσικό σύστημα, όπως το έδαφος.

Η επίδραση της οργανικής ουσίας στη διαθεσιμότητα των μετάλλων είναι αρκετά γνωστή και καθορίζεται, όχι μόνο από την ποσότητα, αλλά και από το είδος της οργανικής ουσίας, η οποία μπορεί να αντιδρά με τα μέταλλα σχηματίζοντας σύμπλοκα και χηλικές ενώσεις διαφορετικής σταθερότητας (Leita et al., 1999).

Επίσης, καθοριστικός μπορεί να θεωρηθεί και ο ρόλος του pH στη βιοδιαθεσιμότητα των μετάλλων. Υψηλές τιμές pH αυξάνουν τις θέσεις προσρόφησης του εδάφους και την ικανότητα του να δεσμεύει τα μέταλλα σε πιο σταθερές μορφές. Αντίθετα, όσο μειώνεται το pH, αυξάνεται η κινητικότητα και η διαθεσιμότητα των μετάλλων (Adriano, 1986).

3.2 Μέθοδοι εκτίμησης της διαθεσιμότητας των βαρέων μετάλλων στο έδαφος

Η διαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων στα έδαφος, μπορεί να εκτιμηθεί με δύο τρόπους:

1) Με τη χρήση εκχυλιστικών, τα οποία θεωρείται ότι εκχυλίζουν μόνο τις μορφές, οι οποίες είναι διαθέσιμες για τα φυτά. Τα εκχυλιστικά αυτά, μπορεί να ταξινομηθούν σε 4 διαφορετικές κατηγορίες (Martens & Lindsay, 1990):

- I. Ανόργανα οξέα,
- II. Ουδέτερα άλατα,
- III. Αναγωγικοί παράγοντες και
- IV. Παράγοντες χηλικοποίησης.

Στην τελευταία κατηγορία ανήκει και το DTPA⁽¹⁾, το οποίο αρχικά χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση χαμηλών συγκεντρώσεων των ιχνοστοιχείων στο έδαφος. Τον τελευταίο καιρό, χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα για την εκτίμηση του διαθέσιμου κλάσματος των βαρέων μετάλλων, σε εδάφη που παρουσιάζουν υψηλό φορτίο ρύπανσης (Maiz et al., 2000; Gasparatos et al., 2001; Massas et al., 2010).

2) Με τη χρήση διαδοχικών εκχυλίσεων με αντιδραστήρια αυξανόμενης ισχύος, που εκχυλίζουν διαφορετικές μορφές βαρέων μετάλλων (Wilke et al., 1998).

Αν και οι διαδοχικές εκχυλίσεις δίνουν πολύ σημαντικές πληροφορίες όσον αφορά τη γεωχημική συμπεριφορά των μετάλλων και την κατανομή τους στα διάφορα εδαφικά συστατικά (ανθρακικό ασβέστιο, οργανική ουσία, οξειδία του σιδήρου, πρωτογενή ορυκτά), εμφανίζουν ορισμένα μειονεκτήματα (Verner et al., 1996), όπως:

- Το κάθε κλάσμα καθορίζεται "λειτουργικά", περισσότερο με εμπειρικό τρόπο, παρά ως αποτέλεσμα της επιλεκτικότητας του αντιδραστηρίου.
- Την επαναπροσρόφηση του μετάλλου του από άλλο συστατικό του εδάφους.

Οι Singh et al. (1998), αναφέρουν ότι ενώ οι διαδοχικές εκχυλίσεις μπορεί να δώσουν σημαντικές πληροφορίες για τις χημικές μορφές των βαρέων μετάλλων στα εδάφη, η εκχύλιση με DTPA θεωρείται ως πιο αποτελεσματική για τον καθορισμό των διαθέσιμων μορφών των βαρέων μετάλλων για τα φυτά.

⁽¹⁾ DTPA: Dienthylene – Triamine – Pentaacetic Acid – Διαιθύλενο – Τριάμινο – Πεντακετικό Οξύ.

3.3 Μέθοδοι διαδοχικής εκχύλισης ή κλασμάτωσης

Η διαδικασία διαδοχικής εκχύλισης ή κλασμάτωσης είναι ουσιαστικά η διαδικασία εκείνη του διαδοχικού προσδιορισμού της ποσότητας των διαφορετικών μορφών ή φάσεων, με τις οποίες ένα στοιχείο εμφανίζεται στο εδαφικό δείγμα. Η διαδικασία αυτή είναι σημαντικής σπουδαιότητας στην περιβαλλοντική έρευνα, δεδομένου ότι παρέχει τις κρίσιμες πληροφορίες για τα διάφορα χαρακτηριστικά των βαρέων μετάλλων (κινητικότητα, βιολογική διαθεσιμότητα, τοξικότητα) (Gasparatos et al., 2005).

Διάφορες εμπειρικές διαδικασίες κλασμάτωσης έχουν αναπτυχθεί και έχουν εφαρμοσθεί. Η κλασμάτωση αποτελείται από μια σειρά διαδοχικών χημικών αντιδραστηρίων, κάθε ένα από τα οποία είναι πιο δραστικό ή διαφορετικής φύσεως από τα προηγούμενα.

Οι διάφορες φυσικοχημικές μορφές των μετάλλων περιλαμβάνουν:

- τις ανταλλάξιμες μορφές (με τη μορφή κατιόντος) στο εδαφικό διάλυμα ή την εξωτερική επιφάνεια των συμπλόκων του εδάφους.
- τις προσροφημένες μορφές στο εσωτερικό των συστατικών του εδάφους, όπου σχηματίζονται σύμπλοκα μεταξύ των κατιόντων και των ενεργών ομάδων των εδαφικών συστατικών.
- τις φορτισμένες θέσεις του πλέγματος των πρωτογενών και δευτερογενών ορυκτών.

Στις διαφορετικές διαδοχικές διαδικασίες εκχύλισης χρησιμοποιούνται ποικίλα αντιδραστήρια. Η μεταβλητότητα στις πειραματικές διαδικασίες, όπως: την αποθήκευση δειγμάτων, τις θερμοκρασίες ξήρανσης δειγμάτων, τον αριθμό σταδίων σχετικά με την κλασμάτωση, τη συγκέντρωση και την αλληλουχία των μέσων εκχύλισης, τη διάρκεια της εκχύλισης, τον έλεγχο pH κ.τ.λ. κάνει συχνά δύσκολη τη σύγκριση και αντιπαραβολή των ερευνητικών αποτελεσμάτων μεταξύ των διαφόρων μεθόδων κλασμάτωσης.

Πολλές διαφορετικές μέθοδοι διαδοχικής εκχύλισης έχουν εφαρμοσθεί στο παρελθόν. Εντούτοις ορισμένες διαδικασίες έχουν τύχει ιδιαίτερης προσοχής, είναι ευρύτερα γνωστές και χρησιμοποιούνται περισσότερο από τους διάφορους ερευνητές. Έτσι η μέθοδος Tessier που αναπτύχθηκε απ' τους Tessier et al. (1979) είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος.

Το 1987, The Commission of the European Communities Bureau of Reference (BCR), έθεσε σε εφαρμογή ένα πρόγραμμα με σκοπό να τυποποιήσει μια διαδοχική μεθοδολογία κλασμάτωσης και να δημιουργήσει ένα επικυρωμένο πρωτόκολλο αναφοράς. Η τυποποίηση αυτή δικαιολογείται από το γεγονός ότι είναι ο μοναδικός τρόπος για να επιτευχθεί σύγκριση κατά τη χρησιμοποίηση των διαφόρων διαδικασιών και κατά συνέπεια η εφαρμογή πρωτοκόλλων με μεγάλη ακρίβεια να είναι ουσιαστική.

Δημιουργήθηκε, έτσι, ένα σχέδιο με 3 βήματα αναφοράς. Το σχέδιο αυτό βασίστηκε στα σχέδια των Tessier et al (1979) και των Salomons και Förstner (1984) και πιστοποιήθηκε για τα επιλεγμένα μέταλλα: Cd, Cr, Cu, Ni, Pb και Zn. Η διαδοχική διαδικασία κλασμάτωσης σε 3 στάδια (BCR) τυποποιήθηκε απ' τους Quevauviller et al. (1994).

Αξίζει, επίσης, ν' αναφερθεί η διαδικασία Salbu et al. (1998) που είναι μια τροποποιημένη έκδοση Tessier et al. (1979). Αυτή, περιλαμβάνει έξι στάδια, ένα δηλαδή περισσότερο από τη μέθοδο Tessier. Πρέπει, ωστόσο, να τονισθεί ότι μπορεί τα σύνθετα σχέδια να δίνουν μια αναλυτικότερη και λεπτομερέστερη εικόνα και ανάλυση των χημικών μορφών των στοιχείων στα εδαφικά συστατικά και να φαίνονται εκ πρώτης όψεως καλύτερα, εντούτοις είναι διαδικασίες πιο πολύπλοκες και παρουσιάζουν μειωμένη ακρίβεια, ως αποτέλεσμα της συσσώρευσης των λαθών.

3.4 Μέθοδος Tessier

Μια από τις ευρέως εφαρμοζόμενες διαδικασίες διαδοχικής εκχύλισης είναι αυτή που προτάθηκε απ' τους Tessier et al. (1979). Η συγκεκριμένη μέθοδος διαδοχικής εκχύλισης περιλαμβάνει πέντε μέρη, χωρίζει δηλαδή τα ποσά των στοιχείων σε πέντε λειτουργικά καθορισμένα γεωχημικά μέρη που περιλαμβάνουν:

- το ανταλλάξιμο μέρος
- το εκχυλίσσιμο σε όξινες συνθήκες ή/και μορφές δεσμευμένες στα ανθρακικά άλατα
- το αναγώγιμο μέρος ή/και προσροφημένο στα οξειδία σιδήρου - μαγγανίου
- το οξειδώσιμο μέρος ή/και προσροφημένο στην οργανική ουσία
- το υπολειμματικό.

Παρά τη γενική παραδοχή και αποδοχή αυτής της μεθόδου υπάρχουν ακόμα προβλήματα που σχετίζονται με την αποδοτικότητα των μέσων εκχύλισης, την ανακατανομή των ιχνοστοιχείων μεταξύ των κλασμάτων κατά τη διάρκεια των εκχυλίσεων και γενικότερα την ακρίβεια των αποτελεσμάτων. Ακόμα, πάντως και με αυτούς τους περιορισμούς, πολλές χρήσιμες πληροφορίες έχουν ληφθεί από μελέτες που χρησιμοποίησαν τη συγκεκριμένη διαδικασία διαδοχικής εκχύλισης.

α. Ανταλλάξιμες μορφές

Η διαδικασία της εκχύλισης αυτού του σταδίου περιλαμβάνει τις ασθενώς προσροφημένες μορφές των μετάλλων, ιδιαίτερα εκείνες που διατηρούνται στην επιφάνεια των εδαφικών κolloειδών με σχετικά ασθενείς ηλεκτροστατικές δυνάμεις. Τα χρησιμοποιούμενα γι' αυτό το λόγο αντιδραστήρια είναι ηλεκτρολύτες σε διάλυμα ύδατος, όπως τα άλατα των ισχυρών οξέων και των βάσεων ή άλατα των ασθενών οξέων και των βάσεων σε pH=7.

Το επικρατέστερο αντιδραστήριο είναι το $MgCl_2$ (1 M), το οποίο στηρίζεται στη μάλλον ισχυρή δυνατότητα ανταλλαγής των ιόντων Mg^{2+} , με τα προσροφημένα κατιόντα στη κolloειδή φάση του εδάφους. Το αντιδραστήριο αυτό δεν εκχυλίζει μορφές συνδεδεμένες με την οργανική ουσία, τα πυριτικά άλατα ή τα σουλφίδια μετάλλων. Κάποια μικρή διάλυση των ανθρακικών αλάτων (2-3%) η οποία παρατηρείται, μπορεί να αποφευχθεί με τον περιορισμό του χρόνου εξαγωγής. Εντούτοις έχει βρεθεί να υπερεκτιμά τα ανταλλάξιμο μέρος σε ορισμένες περιπτώσεις και ιδιαίτερα στην περίπτωση του καδμίου. Επίσης έχει παρατηρηθεί μια σημαντική μείωση του pH κατά τη διάρκεια της εκχύλισης, με τη χρήση του συγκεκριμένου αντιδραστηρίου.

β. Εκχύλιση σε όξινες συνθήκες ή/και μορφές δεσμευμένες στα ανθρακικά άλατα

Αυτό το στάδιο είναι ευαίσθητο στις αλλαγές του pH και η απελευθέρωση μετάλλων επιτυγχάνεται σε pH=5. Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού οξέος με οξικό νάτριο είναι το αντιδραστήριο που συνήθως χρησιμοποιείται και το οποίο προσαρμόζεται καλά για να διαλυτοποιήσει τα ανθρακικά άλατα του ασβεστίου.

Εντούτοις η διαλυτοποίηση του δολομίτη, στις περισσότερες περιπτώσεις δεν είναι συνολική. Επιπλέον η μείωση του pH από 7 (που ήταν στην προηγούμενο στάδιο) σε 5 έχει ως αποτέλεσμα να απελευθερωθεί και ένα ποσοστό των

μετάλλων που είναι συνδεδεμένο με τα οξείδια Fe-Mn και την οργανική ουσία. Επίσης, μεγάλα ποσοστά της συνολικής συγκέντρωσης Mn βρίσκονται συχνά στα εκχυλίσματα του ρυθμιστικού αυτού διαλύματος.

Σύμφωνα με τους Xiao-Quan και Bin (1993) καθώς και τους Arunachalam et al. (1996) το Mn που εξήχθη με αυτό το αντιδραστήριο θα μπορούσε να προέλθει από τη διαλυτοποίηση των συγκεντρώσεων ανθρακικών αλάτων, δεδομένου ότι το Mn^{2+} μπορεί να αντικαταστήσει το Mg^{2+} καθώς και το Ca^{2+} στα ορυκτά των ανθρακικών αλάτων. Επιπλέον μια μερική διαλυτοποίηση FeS μπορεί επίσης να λάβει χώρα κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος. Σε κάθε περίπτωση, για να είναι αποδεκτοί οι όροι που καθορίζονται στο σχέδιο Tessier, πρέπει η συγκέντρωση των εξεταζόμενων δειγμάτων σε ανθρακικά άλατα να είναι χαμηλή, καθώς μια ελλιπής διαλυτοποίηση αυτής της φάσης παρατηρήθηκε στην περίπτωση δειγμάτων με υψηλό ποσοστό ανθρακικού ασβεστίου ($CaCO_3$ 16%). Στην περίπτωση αυτή η διαλυτοποίηση του ανθρακικού ασβεστίου συνεχίστηκε κατά τη διάρκεια του επομένου βήματος του σχεδίου, γεγονός που οδήγησε σε μια υπερεκτίμηση του τρίτου (αναγώγιμου) μέρους.

Στην πραγματικότητα η αποδοτικότητα της διαλυτοποίησης των ανθρακικών αλάτων εξαρτάται από διάφορες παραμέτρους σχετικές με το δείγμα όπως: το μέγεθος των κόκκων, την αρχική ποσότητα και τη φύση των ανθρακικών αλάτων.

Προκειμένου να επιτευχθεί ένα υψηλό ποσοστό διαλυτοποίησης (πάνω από 90%) ο Gommy (1997) πρότεινε μια ελάχιστη αναλογία στερεάς/υγρής φάσης (1:25) σε συνάρτηση πάντα με την αρχική περιεκτικότητα του υλικού που μελετάται. Οι Ma and Uren (1995) πρότειναν τη χρησιμοποίηση οξικού νατρίου σε συγκέντρωση 0,5 mol/l σε pH 4,74. Τέλος ο Pickering (1986) προτείνει τη συχνή ρύθμιση του pH κατά τη διάρκεια της εκχύλισης και την αύξηση του χρόνου της αντίδρασης.

γ. Αναγώγιμο μέρος ή/και μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe, Mn και Al

Με τον έλεγχο του δυναμικού οξειδοαναγωγής (Eh) και του pH των αντιδραστηρίων, μπορεί να επιτευχθεί η διαλυτοποίηση των οξειδίων Fe-Mn που συγκρατούν τα μέταλλα. Αυτή η διαδικασία μπορεί να πραγματοποιηθεί σε ένα, δύο ή τρία βήματα διαχωρίζοντας τα άμορφα ή κρυσταλλικά οξείδια του Fe και Mn. Τα πιο δραστικά αντιδραστήρια για τη διαδικασία αυτή και τα πιο ευρέως χρησιμοποιούμενα για τον προσδιορισμό των μετάλλων τα οποία είναι

προσροφημένα στα οξειδία Fe-Mn περιλαμβάνουν έναν αναγωγικό παράγοντα καθώς και ένα χηλικό παράγοντα, ο οποίος συμπλοκοποιεί τα ιόντα Fe και Mn όταν αυτά βρίσκονται σε διαλυτή μορφή.

Διάλυμα υδροξυλαμίνης (NH_2OH) σε νιτρικό ή οξικό οξύ είναι το συνηθέστερο χρησιμοποιούμενο αντιδραστήριο. Η υδροξυλαμίνη αποτελεί αναγωγικό παράγοντα ($E_0 = -1,87 \text{ V}$) και η δυνατότητά της να διαλυτοποιεί τα διάφορα μεταλλικά οξειδία εξαρτάται από το pH, από τη συγκέντρωση, το χρόνο εκχύλισης και τη θερμοκρασία.

Ο Chao (1972) έδειξε ότι η συγκέντρωση και ο χρόνος δεν επηρεάζουν πολύ τη διαλυτοποίηση των οξειδίων Mn, η οποία είναι μάλλον γρήγορη, ενώ η διαλυτοποίηση των οξειδίων Fe εξαρτάται άμεσα από τους παράγοντες αυτούς και μάλιστα ευνοείται από μια αύξηση τη συγκέντρωσης του αντιδραστηρίου και του χρόνου αντίδρασης. Επίσης η μείωση του pH (με το νιτρικό οξύ π.χ.) ευνοεί τη διαλυτοποίηση των οξειδίων του Fe.

Από διάφορες μελέτες βρέθηκε ότι συγκέντρωση 0,1 mol/l υδροξυλαμίνης σε 0,01 mol/l νιτρικού οξέος (pH=2) μπορεί να διαλυτοποιήσει τα οξειδία Mn σε 30 λεπτά, ελαχιστοποιώντας την εκχύλιση οξειδίων Fe σε ποσοστό <5%. Προκειμένου να εκχυλισθούν τα διάφορα μέταλλα που είναι συνδεδεμένα στα οξειδία του Fe χρησιμοποιείται θερμή υδροξυλαμίνη, σε pH=2 και χρόνο εκχύλισης που κυμαίνεται μεταξύ 30 λεπτών και 6 ωρών. Στην περίπτωση αυτή είναι προτιμότερο το οξικό ή το υδροχλωρικό οξύ ν' αντικαταστήσουν το νιτρικό οξύ. Οι Chao και Zhou (1983), διαλυτοποίησαν όλα τα άμορφα οξειδία σιδήρου, ελαχιστοποιώντας την εκχύλιση των κρυσταλλικών μορφών (<1%) με τη χρήση 0,25 mol/l υδροξυλαμίνης σε 0,25 mol/l HCl. Οι περισσότεροι ερευνητές, πάντως, προτιμούν τη χρήση υδροξυλαμίνης μαζί με οξικό οξύ. Στην περίπτωση αυτή οι τιμές είναι υψηλότερες από τις αντίστοιχες που λαμβάνονται με συνδυασμό υδροξυλαμίνης και νιτρικού οξέος.

Η ταυτόχρονη εκχύλιση των οξειδίων Fe-Mn μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση 0,02 mol/l ή 0,04 mol/l υδροξυλαμίνης μαζί με οξικό οξύ (25% v/v), σε υψηλή θερμοκρασία (96-100°C). Οι Tessier et al. (1979) απέδειξαν ότι η διαλυτοποίηση των οξειδίων του Fe μπορεί να επιτευχθεί μέσα σε 6 ώρες. Εντούτοις, κάτι τέτοιο θεωρήθηκε ανεπαρκές στην περίπτωση δειγμάτων με υψηλή συγκέντρωση σε οξειδία Fe.

Επίσης, η συνολική διαλυτοποίηση των οξειδίων Mn, των άμορφων οξειδίων Fe και ενός μέρους των κρυσταλλικών οξειδίων Fe, επιτεύχθηκε στην περίπτωση 10 ρυπασμένων εδαφών με τη μείωση του pH στο 1,7, την αύξηση της συγκέντρωσης της υδροξυλαμίνης (0,25 mol/l) και το διπλασιασμό της αναλογίας της στερεάς προς την υγρή φάση.

δ. Οξειδώσιμο μέρος ή/και μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία

Τα ιχνοστοιχεία μπορούν να δεσμευθούν σε διάφορες μορφές οργανικής ουσίας. Στα εδαφικά δείγματα το οργανικό μέρος περιλαμβάνει κυρίως τις σύνθετες πολυμερείς ενώσεις, γνωστές ως χουμικές ενώσεις και σε μικρότερο βαθμό άλλα προϊόντα όπως οι υδατάνθρακες, οι πρωτεΐνες, τα πεπτίδια, τα αμινοξέα, τα λίπη και οι ρητίνες.

Το οργανικό υλικό πρέπει να οξειδωθεί ώστε να επέλθει απελευθέρωση των προσροφημένων μετάλλων. Έτσι, τα οξειδωτικά αντιδραστήρια όπως το H_2O_2 ($E_0 = 1,77 V$) ή το $NaClO$ ($E_0 = 0,90 V$) χρησιμοποιούνται συχνά στις μελέτες, προκειμένου να εξαχθεί το μέρος των μετάλλων που συνδέεται με την οργανική ουσία.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), χρησιμοποιείται γενικά σε αραιά διαλύματα νιτρικού οξέος για τον προσδιορισμό του κλάσματος των μετάλλων που είναι προσροφημένο στην οργανική ουσία. Η διαδικασία της οξείδωσης της οργανικής ουσίας επιταχύνεται με θέρμανση για αρκετές ώρες. Ένα σημαντικό τμήμα των μετάλλων που προσροφώνται στην οργανική ουσία απελευθερώνεται χάρη στο H_2O_2 και την προσθήκη του σε διάλυμα HNO_3 .

Παρά το γεγονός ότι η οξείδωση με H_2O_2 είναι πλέον πολύ συχνά χρησιμοποιούμενη, έχουν υπάρξει πολυάριθμες κριτικές σχετικά μ' αυτή. Οι κριτικές αυτές αφορούν στο κατά πόσο το H_2O_2 μπορεί να οξειδώσει την οργανική ουσία στο σύνολό της.

Ένα σημαντικό υποπροϊόν οξείδωσης κατά τη διάρκεια καταστροφής της οργανικής ουσίας είναι το οξαλικό οξύ, το οποίο είναι σε θέση να διαλύσει τα οξείδια Fe και να προκαλέσει καθίζηση αυτών. Εντούτοις ο Gomomy (1997) έδειξε ότι το H_2O_2 μπορεί να διαλυτοποιήσει ολοκληρωτικά τα οξείδια αυτά και πως η δευτερογενής αντίδραση που σχετίζεται με τη διαλυτοποίηση αυτή, δεν τροποποιεί το τελικό αποτέλεσμα.

Οι Couturas et al. (2000) μελέτησαν την επίδραση της οξείδωσης, που προκαλεί το H_2O_2 με HNO_3 , στην οργανική ουσία και την απελευθέρωση των μετάλλων από αυτήν. Έδειξαν, λοιπόν, ότι η μέγιστη περιεκτικότητα λήφθηκε μέσα σε χρόνο 180 λεπτών με τη συγκέντρωση H_2O_2 να είναι στα 2 mol/l και ότι η καταστροφή της οργανικής ουσίας δεν επηρεάστηκε σημαντικά από μια αύξηση στο pH.

Το υπεροξείδιο του υδρογόνου έχει επίσης αναγωγικές ικανότητες, έτσι είναι ικανό να προκαλέσει αναγωγή των οξειδίων Mn σε $pH < 5$. Για να αποφευχθεί η αναγωγή αυτή, η χρήση H_2O_2 γίνεται μετά το βήμα εκχύλισης των μετάλλων από τα οξείδια Fe-Mn, στο σχέδιο της διαδοχικής εκχύλισης. Μερικοί ερευνητές προτιμούν την εφαρμογή του H_2O_2 μετά από τη διαλυτοποίηση των οξειδίων του Mn και πριν από αυτή των οξειδίων Fe, καθώς όπως προαναφέρθηκε το H_2O_2 έχει τη δυνατότητα της ολικής διαλυτοποίησης και εκχύλισης των μετάλλων που είναι συνδεδεμένα με τα οξείδια Fe, ταυτόχρονα με την εκχύλιση των οργανικά συνδεδεμένων μετάλλων.

ε. Υπολειμματικές μορφές

Το υπολειμματικό μέρος τη διαδικασίας κλασμάτωσης περιλαμβάνει τα μέταλλα τα οποία βρίσκονται ισχυρά δεσμευμένα στο κρυσταλλικό πλέγμα των ορυκτών. Στην περίπτωση αυτή η καταστροφή του πλέγματος και η εκχύλιση των μετάλλων επιτυγχάνεται με ισχυρά οξέα όπως: HF, $HClO_4$, HCl και HNO_3 . Το ποσό των μετάλλων που συγκρατείται σ' αυτό το μέρος, υπολογίζεται από μερικούς ερευνητές ως η διαφορά μεταξύ της συνολικής συγκέντρωσης των μετάλλων και του ποσού των μετάλλων που έχουν εξαχθεί στα τέσσερα προηγούμενα βήματα. Ωστόσο η διαδικασία αυτή δεν επιτρέπει τον ικανοποιητικό ποιοτικό έλεγχο.

3.4.1 Παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία κλασμάτωσης

➤ Εργαστηριακοί παράγοντες

Η διαδοχική κλασμάτωση των μετάλλων είναι μια διαδικασία αρκετά δύσκολη, που απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή κατά την εφαρμογή της, για να οδηγήσει σε ασφαλή αποτελέσματα. Οι μικρές λειτουργικές παραλλαγές που αφορούν την εργαστηριακή διαδικασία, είναι πολύ σημαντικές και μπορούν να οδηγήσουν σε λανθασμένα συμπεράσματα. Το πειραματικό σκέλος, επομένως, της διαδοχικής διαδικασίας εκχύλισης των μετάλλων είναι υψίστης σημασίας.

Πρόσφατα, έχει υπάρξει ενδιαφέρον για τους παράγοντες εκείνους που επηρεάζουν την ποιότητα των μεθόδων αυτών. Οι Sahuquillo et al. (1999), πραγματοποίησαν μια συστηματική μελέτη των μεταβλητών που θεωρούσαν ως πιθανές πηγές αβεβαιότητας στη χρήση του σχεδίου Tessier. Οι παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν: τα όρια του pH κατά τη διαδικασία κλασμάτωσης, η θερμοκρασία, ο χρόνος εκχύλισης, η συγκέντρωση και το είδος των μέσων εκχύλισης καθώς και ο τύπος του οξέος που χρησιμοποιείται για τη ρύθμιση του pH. Η χρήση εναλλακτικών αντιδραστηρίων εξετάστηκε επίσης. Η μελέτη ωστόσο εστιάστηκε στο 3ο βήμα της διαδοχικής κλασμάτωσης (αναγώγιμο μέρος) δεδομένου, ότι και προηγούμενες εργασίες είχαν δείξει ότι αυτό το βήμα ήταν ιδιαίτερα καθοριστικό. Από τη μελέτη και τις εξεταζόμενες μεταβλητές αποδείχθηκε ότι το pH του μέσου εκχύλισης ήταν ιδιαίτερης σημασίας. Στο τρίτο βήμα επομένως, με τη χρήση 0,1 mol/l υδροξυλαμίνης σε HNO₃, εφαρμόστηκαν διαφορετικές τιμές του pH, στα όρια 1,0 - 3,0. Το Cd, Ni και ο Zn βρέθηκαν να είναι λιγότερο ευαίσθητα στις μεταβολές του pH σε αντίθεση με το Cr, Cu και το Pb, τα οποία παρουσίασαν δραματική μείωση όσο το pH αυξανόταν.

Σε κάθε περίπτωση πάντως, η κατάλληλη και ακριβής τιμή του pH εξαρτάται από τη σύσταση των δειγμάτων που εξετάζονται.

Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν ότι το pH είναι ένας παράγοντας ιδιαίτερης σημασίας και επομένως μια μη ακριβής ρύθμισή του θα μπορούσε να επιφέρει λανθασμένα συμπεράσματα.

Όσο για την επίδραση των οξέων που χρησιμοποιούνται για τη ρύθμιση του pH, μια σύγκριση μεταξύ του νιτρικού και υδροχλωρικού οξέος, απέδειξε ότι δεν υπάρχουν ουσιαστικές διαφορές σχετικά με τη δυνατότητα εκχύλισης στις διάφορες τιμές pH. Η χρήση, πάντως, του νιτρικού οξέος γενικά προτιμάται.

Επίσης η θερμοκρασία και η διάρκεια κλασμάτωσης δεν επηρέασαν έντονα τα αποτελέσματα στο τρίτο στάδιο (αναγώγιμο).

Καταλληλότερο αντιδραστήριο για το βήμα αυτό, θεωρήθηκε, σε κάθε περίπτωση, η υδροξυλαμίνη σε HCl (σε σύγκριση με άλλα προτεινόμενα αντιδραστήρια όπως το οξαλικό οξύ) και κατάλληλη συγκέντρωση αυτής τα 0,5 mol/l σε pH 1,5 (σε διάλυμα αραιού νιτρικού οξέος) για την καλύτερη εκχύλιση των μετάλλων στο βήμα αυτό.

➤ **Εδαφικές ιδιότητες**

Όπως, ήδη, έχει προαναφερθεί, τα βαρέα μέταλλα έχουν διαφορετική χημική συμπεριφορά στο έδαφος με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν διαφορετικό βαθμό βιοδιαθεσιμότητας. Ο βαθμός συγκράτησης του καθενός από αυτά στα εδαφικά κολλοειδή, είναι διαφορετικός, γεγονός που επηρεάζει και την κινητικότητα των βαρέων μετάλλων στο εδαφικό προφίλ.

Οι Anju et al. (2002) σε πρόσφατη μελέτη κατά την οποία δείγματα συλλέχθηκαν από τρεις διαφορετικές τοποθεσίες (βιομηχανική, βαριάς κυκλοφορίας και αγροτική), στο Δελχί της Ινδίας, μελέτησαν τις κατανομές των μετάλλων Cd, Zn, Pb, Cu στα εξής μέρη: ανταλλάξιμο, συνδεδεμένο στα ανθρακικά άλατα, δεσμευμένο στα οξείδια Fe-Mn, δεσμευμένο στην οργανική ουσία και τέλος, το υπολειμματικό. Το Cd ήταν το μόνο σε υψηλό ποσοστό (27,16%) στο ανταλλάξιμο μέρος, ενώ ο χαλκός σε ποσοστό 44,26% ήταν προσροφημένος στην οργανική ουσία. Ο Pb (28,26 %) και ο Zn (44,26%) ήταν παρόντα κυρίως στα οξείδια Fe-Mn.

Η διαδοχική διαδικασία κλασμάτωσης του Tessier που εφαρμόστηκε σε αυτή τη μελέτη είναι χρήσιμη στον προσδιορισμό της βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων αυτών, στα δείγματα που συλλέχθηκαν. Η βιοδιαθεσιμότητα σχετίζεται με τις γεωχημικές μορφές τους και μειώνεται κατά τη σειρά: ανταλλάξιμα > συνδεδεμένα στα ανθρακικά άλατα > στα οξείδια Fe-Mn > στην οργανική ουσία > στο υπολειμματικό. Οι πρώτες δύο φάσεις απελευθερώνουν τις μορφές των μετάλλων σε τιμές pH 7 και 5 αντίστοιχα και είναι οι πιο ενεργές. Συνεπώς, αυτές οι δύο φάσεις επηρεάζουν περισσότερο τη βιολογική διαθεσιμότητα των μετάλλων. Το Cd έχει τη μέγιστη χημική συγγένεια στο ανταλλάξιμο μέρος, σε σχέση με τα υπόλοιπα μέταλλα γεγονός που φανερώνει την υψηλότερη βιοδιαθεσιμότητά του.

Το Cd (22,31%) και ο Zn (20,87%) παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις από το Pb (12%) και το Cu (2,94%), σχετικά με το μέρος που είναι συνδεδεμένο με τα ανθρακικά άλατα, το οποίο επίσης μπορεί ν' απελευθερώσει τα ιόντα των μετάλλων σε όξινες συνθήκες, γεγονός που επίσης φανερώνει τη μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα του Cd και Zn έναντι του Pb και Cu.

Σε κάθε περίπτωση, πάντως, η εξαγωγή των αποτελεσμάτων σε μια διαδικασία διαδοχικής κλασμάτωσης καθώς και τα ποσοστά των μορφών με τα οποία τα μέταλλα εμφανίζονται στα εδαφικά δείγματα, εξαρτώνται και επηρεάζονται κατά μεγάλο μέρος από τις εδαφικές ιδιότητες και φυσικά τη σύσταση του εδάφους, που συμβάλλουν περισσότερο από κάθε τι στη σχετική κατανομή των μετάλλων. Έτσι,

μπορεί η γνώση του συνολικού περιεχομένου των βαρέων μετάλλων στα υπό μελέτη δείγματα, να παρέχει περιορισμένες πληροφορίες για τις πιθανές συμπεριφορές τους στους εδαφικούς ορίζοντες ωστόσο τα βαριά μέταλλα συνδέονται με τα διάφορα εδαφικά κλάσματα με διαφορετικούς τρόπους, και αυτές οι ενώσεις είναι που καθορίζουν τη συμπεριφορά και τη βιοδιαθεσιμότητά τους (Kabata - Pendias and Pendias, 1992).

Οι υδατοδιαλυτές και ανταλλάξιμες μορφές θεωρούνται οι πλέον ενεργές και διαθέσιμες, ενώ τα μέταλλα που ενσωματώνονται στα κρυσταλλικά πλέγματα των αργιλικών ορυκτών εμφανίζονται σχετικά ανενεργά. Οι άλλες μορφές (κυρίως με τα ανθρακικά άλατα και λιγότερο με τα οξειδία και την οργανική ουσία) θεωρούνται σχετικά ενεργές, σε συνδυασμό, φυσικά, με τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του εδάφους.

Κατά συνέπεια, η κοκκομετρική σύσταση (περιεκτικότητα σε άργιλο), η περιεκτικότητα σε οργανική ουσία, η παρουσία ανθρακικών αλάτων και οξειδίων Fe-Mn καθώς και το pH, είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την παρουσία των μετάλλων στα εδαφικά κολλοειδή.

Γενικά, υπό φυσικές συνθήκες, μόνο ένα μικρό ποσοστό των μετάλλων βρίσκεται σε ανταλλάξιμη διαθέσιμη μορφή (Kabata - Pendias and Pendias, 1992). Εντούτοις σε μερικά φυσικά εδάφη όπου το μητρικό υλικό είναι πλούσιο σε μέταλλα καθώς και σε εδάφη ιδιαίτερα ρυπασμένα, η παρουσία ασταθών μορφών των μετάλλων είναι υψηλή.

Ο συνδυασμός σε κάθε περίπτωση της φύσης και της χημικής συμπεριφοράς του εξεταζόμενου μετάλλου, παράλληλα με τις εδαφικές ιδιότητες και τη σύσταση του εδαφικού υλικού, εξηγούν τα αποτελέσματα μιας διαδικασίας διαδοχικής εκχύλισης και ερμηνεύουν τη βιοδιαθεσιμότητα του κάθε μετάλλου.

Κεφάλαιο 4. Υλικά και μέθοδοι εργασίας

4.1 Σχεδιασμός πειράματος

Σύμφωνα με το σκοπό της εργασίας, επιλέχθηκε ένα ελαφρώς όξινο έδαφος από περιοχή της Βόρειας Ελλάδας. Ικανή ποσότητα επιφανειακού εδάφους (0-20 cm) μεταφέρθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Χημείας του Γ.Π.Α., αεροξηράνθηκε, λειοτριβήθηκε και πέρασε από κόσκινο των 2 mm. Όλες οι εργαστηριακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν στο κλάσμα της λεπτής γης.

Ο σχεδιασμός του πειράματος αφορά σε ένα διπαραγοντικό πείραμα τεσσάρων επαναλήψεων ((6x2)x4). Ο ένας παράγοντας είναι ο χρόνος επώασης και ο άλλος παράγοντας το οργανικό υπόστρωμα (προσθήκη ή μη γλυκόζης).

Οι χρόνοι επώασης που επιλέχθηκαν ήταν 3 ώρες, 1 ημέρα, 3, 10, 30 και 60 ημέρες.

Οι μεταχειρίσεις ήταν **M** (βαρέα μέταλλα-όχι γλυκόζη) και **MG** (βαρέα μέταλλα-γλυκόζη).

Το έδαφος επιμολύνθηκε με συγκέντρωση Cu, Zn, Pb, και Ni ίση με 500 mg kg⁻¹ ενώ προστέθηκε γλυκόζη σε συγκέντρωση 4 g kg⁻¹ στην αντίστοιχη μεταχείριση. Αναλυτικά 2 g εδάφους τοποθετήθηκαν σε ειδικά πλαστικά φιαλίδια (falcon) των 50 ml. Για τον κάθε χρόνο επώασης χρησιμοποιήθηκαν 8 falcons (4 για κάθε μεταχείριση). Τα δείγματα επωάζονταν στο 50% της υδατοϊκανότητας του εδάφους. Σε κάθε falcon προστέθηκε 1 mg Cu, Zn, Pb, και Ni (ισοδύναμο με συγκέντρωση 500 mg kg⁻¹) με την μορφή διαλύματος νιτρικών αλάτων και 8 mg γλυκόζης (ισοδύναμο με συγκέντρωση 4 g kg⁻¹) ανάλογα με την μεταχείριση.

4.2 Εργαστηριακές Αναλύσεις

Όλες οι αναλύσεις έγιναν σε 2 επαναλήψεις και για την παρουσίαση/αξιολόγηση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι μέσοι όροι.

4.2.1 Μηχανική ανάλυση με τη μέθοδο Βουγιούκου

Η μηχανική ανάλυση των εδαφικών δειγμάτων από την οποία καθορίζεται η κοκκομετρική τους σύσταση, έγινε με τη μέθοδο Βουγιούκου (Βουγιούκος, 1951).

Κατά τη μέθοδο αυτή, το εδαφικό δείγμα, γνωστού ξηρού βάρους, διασπείρεται σε μια στήλη ύδατος και η πυκνότητα του αιωρήματος μετράται σε προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα.

4.2.2 Ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων (I.A.K)

Για τον προσδιορισμό της ικανότητας ανταλλαγής κατιόντων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του οξικού νατρίου 1 N (pH 8,2), (Page et al, 1982). Η μέτρηση της συγκέντρωσης του Na πραγματοποιήθηκε στο φλογοφωτόμετρο (PGI 2000 Flame Photometer) και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ ξηρού εδάφους.

4.2.3 Ενεργότητα ιόντων υδρογόνου – pH

Ο προσδιορισμός έγινε σε αιώρημα εδάφους-ύδατος 1:1 με ηλεκτρικό πεχάμετρο (Grewelling et al., 1965), αφού προηγουμένως το αιώρημα είχε αφεθεί για εξισορρόπηση επί μια ώρα (Mclean, 1982). Το όργανο ρυθμίστηκε με τη βοήθεια ρυθμιστικών διαλυμάτων γνωστού pH.

4.2.4 Οργανική ουσία

Ο προσδιορισμός της οργανικής ουσίας των εδαφικών δειγμάτων έγινε με τη μέθοδο των Walkley-Black η οποία στηρίζεται στην οξείδωση της οργανικής ουσίας με ένα οξειδωτικό μέσο (Page, 1982). Το οξειδωτικό μέσο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το διχρωμικό κάλι ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ -1 N).

4.2.5 Ολικές μορφές βαρέων μετάλλων

Για τον προσδιορισμό των ολικών μορφών των βαρέων μετάλλων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος της υγράς οξείδωσης με aqua regia (Gasparatos D. & Haidouti C., 2001).

Ο προσδιορισμός των βαρέων μετάλλων έγινε σε όργανο ατομικής απορρόφησης (Varian SpectrA-A300) και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg kg^{-1} ξηρού εδάφους.

4.2.6 Διαθέσιμες μορφές βαρέων μετάλλων

Οι διαθέσιμες μορφές των βαρέων μετάλλων εκχυλίστηκαν με DTPA, όπως περιγράφεται από τους Lindsay & Norvell (1978).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των διαθέσιμων μορφών των βαρέων μετάλλων έγινε σε όργανο της ατομικής απορρόφησης (Varian SpectrA-A300) και τα αποτελέσματα εκφράστηκαν σε mg kg^{-1} ξηρού εδάφους.

4.2.7 Μεθοδολογία κλασμάτωσης (Tessier et al., 1979)

Αρχικά τοποθετούνται 2 g εδάφους σε πλαστικό φιαλίδιο (falcon) των 50 ml. Στη συνέχεια ακολουθούν τα εξής διαδοχικά στάδια εκχύλισης:

❖ **Στάδιο Α: Υδατοδιαλυτό - Ανταλλάξιμο κλάσμα του μετάλλου**

Προστίθενται 16 ml διαλύματος MgCl_2 (1N) ακολουθεί ανακίνηση για 1 h, φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές / min για 5 min και στη συνέχεια διήθηση.

❖ **Στάδιο Β: Κλάσμα του μετάλλου εκχυλίσσιμο σε όξινες συνθήκες ή/και προσροφημένο στα ανθρακικά άλατα**

Προστίθενται 16 ml διαλύματος CH_3COONa (1N) ακολουθεί ανακίνηση για 5 h, φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές / min για 5 min και στη συνέχεια διήθηση.

❖ **Στάδιο Γ: Αναγώγιμο κλάσμα του μετάλλου ή/και προσροφημένο στα οξειδία Fe-Mn**

Προστίθενται 40 ml διαλύματος υδροξυλαμίνης σε CH_3COOH και το δείγμα τοποθετείται σε υδατόλουτρο (στους 95°C) για 5 h με περιοδική ανακίνηση. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές/min για 5 min και διήθηση.

❖ **Στάδιο Δ: Οξειδώσιμο κλάσμα του μετάλλου ή/και προσροφημένο στην οργανική ουσία**

Προστίθενται 16 ml εκχυλιστικού (10 ml H_2O_2 με $\text{pH}=2$ + 6 ml HNO_3 0,02 N) και στη συνέχεια το δείγμα τοποθετείται για 2 h σε υδατόλουτρο ($85 \pm 2^\circ\text{C}$) με περιοδική ανακίνηση. Μετά από 2 h προστίθενται ακόμα 6 ml H_2O_2 ($\text{pH} = 2$) και το δείγμα παραμένει για ακόμα 3 h στο υδατόλουτρο με περιοδική ανακίνηση. Στη συνέχεια

προστίθενται 10 ml εκχυλιστικού (3,2 M οξικό αμμώνιο σε 20% HNO₃) + 8 ml απιονισμένο νερό. Ακολουθεί ανακίνηση για 30 min, φυγοκέντρηση στις 5000 στροφές / min για 5 min και διήθηση.

❖ **Στάδιο Ε: Υπολειμματικό κλάσμα του μετάλλου**

Μετά το τέλος των τεσσάρων προηγούμενων βημάτων, προστίθενται 50 ml aqua regia. Στη συνέχεια η διαδικασία που ακολουθείται είναι ακριβώς η ίδια όπως και στην περίπτωση του προσδιορισμού των ολικών συγκεντρώσεων των βαρέων μετάλλων.

4.3. Στατιστική επεξεργασία

Για την στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων, εφαρμόστηκε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) και οι πολλαπλές συγκρίσεις των μέσων όρων για στατιστικά σημαντικά διαφορές πραγματοποιήθηκαν σύμφωνα με το κριτήριο του Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) test. Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε είναι το Statistica 8 (Stat Soft 2007).

Κεφάλαιο 5. Αποτελέσματα και συζήτηση

Από το πίνακα 1 συμπεραίνουμε ότι το υπό μελέτη έδαφος χαρακτηρίζεται ως ελαφρώς όξινο και αμμοαργιλοπηλώδη (SCL), με μέση περιεκτικότητα σε οργανική ουσία και με σχετικά υψηλή ΙΑΚ. Ως προς τις συγκεντρώσεις των υπό μελέτη μετάλλων (πίνακας 2) το έδαφος δεν παρουσιάζει επιβάρυνση.

Πίνακας 1: Ιδιότητες του επιφανειακού εδαφικού δείγματος (0-20 εκ.).

pH _{H₂O} (1:1) (w/v)	Ορ. Ουσία (%)	Ι.Α.Κ cmol _c kg ⁻¹	Άμμος (%)	Ιλύς (%)	Άργιλος (%)	Κλάση
6,2	1,43	24,15	49,5	26,0	24,5	SCL

Πίνακας 2: Μέσες συγκεντρώσεις (mg kg⁻¹) ολικών και βιοδιαθέσιμων μορφών βαρέων μετάλλων στο έδαφος.

	Zn	Cu	Pb	Ni
Ολικές μορφές Aqua Regia	116	34,52	72,87	47,63
Βιοδιαθέσιμες μορφές DTPA	0,89	2,38	0,64	0,81

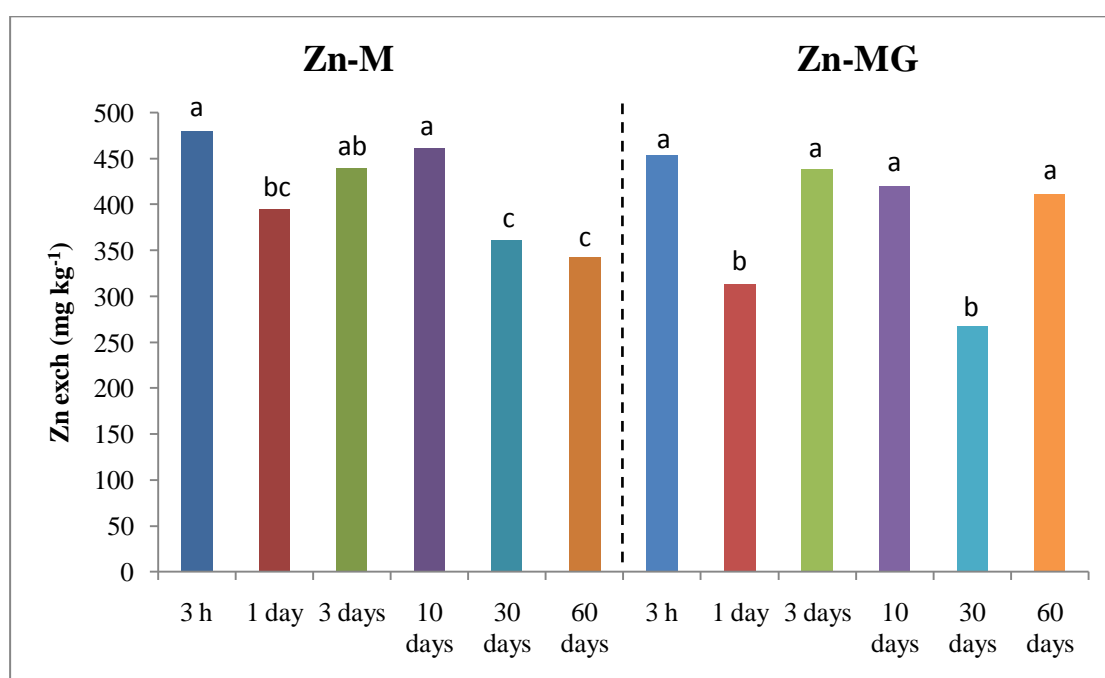
5.1 Κλασμάτωση ψευδαργύρου (Zn)

Στο Zn για το 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης δηλαδή τις ανταλλάξιμες μορφές, από το πίνακα 3 συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Zn. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 3). Από τα διαγράμματα 1 και 2 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Zn και στις δυο μεταχειρίσεις μειώνεται με την πάροδο του χρόνου με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 30 ημέρες. Ενώ η τάση αυτή παρέμεινε σταθερά πτωτική και στις 60 ημέρες για την M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη), στην περίπτωση της μεταχείρισης MG, (παρουσία γλυκόζης) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της

συγκέντρωσης των ανταλλάξιμων μορφών του Zn. Είναι πιθανό πως η προσθήκη γλυκόζης αποτέλεσε μια σημαντική πηγή ενέργειας για την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητάς της και την επακόλουθη ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων Zn.

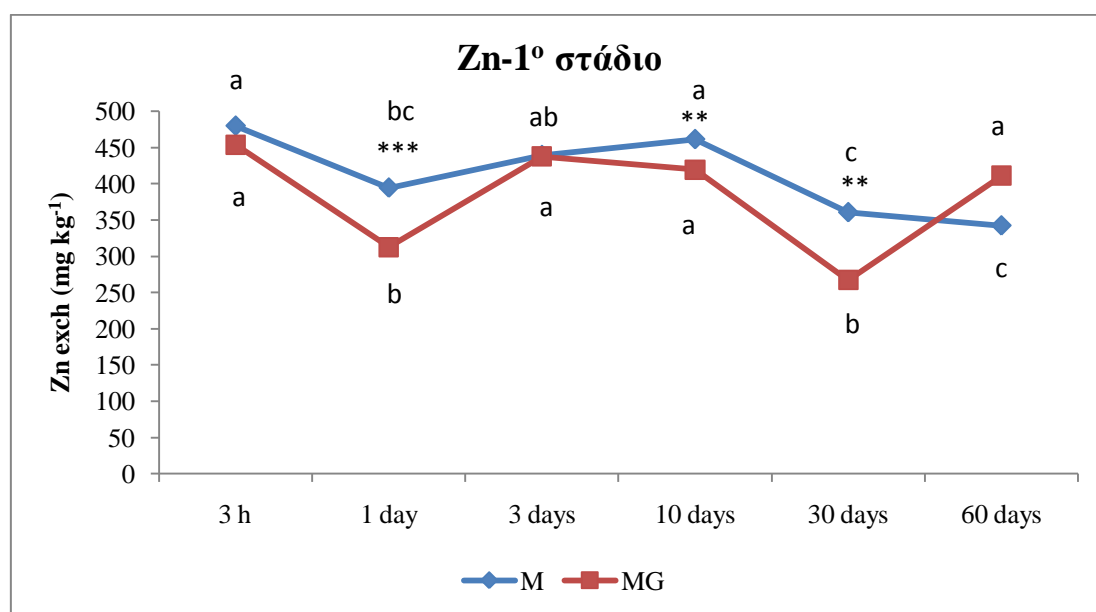
Πίνακας 3: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	9050	1	9050	13,09	0,001
Χρόνος	121147	5	24229	35,05	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	29124	5	5825	8,42	0,000
Σφάλμα	21429	31	691		



Διάγραμμα 1: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

Στο διάγραμμα 2 που ακολουθεί, αποτυπώνεται η σημαντικά χαμηλότερη διαθέσιμη συγκέντρωση Zn στις 30 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση, ενισχύοντας αυτή την υπόθεση. Η παρατηρούμενη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των ανταλλάξιμων μορφών του Zn στις 60 ημέρες για την MG μεταχείριση, υποδηλώνει πιθανή απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων Zn και αύξηση της κινητικότητας του στο εδαφικό περιβάλλον (Διαγράμματα 1 και 2).



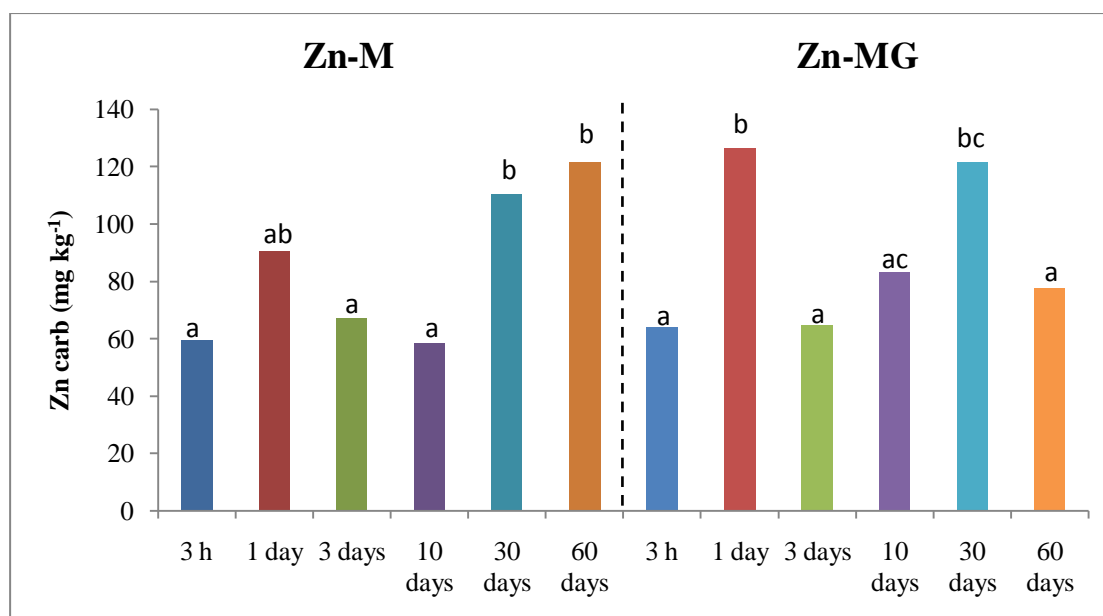
Διάγραμμα 2: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 1^o στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Από το πίνακα 4 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση των εκχυλίσμων μορφών του Zn σε όξινες συνθήκες. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 4). Από τα διαγράμματα 3 και 4 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Zn στην M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη) αυξάνεται μετά τις 10 μέρες, με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που παρατηρείται στο χρονικό

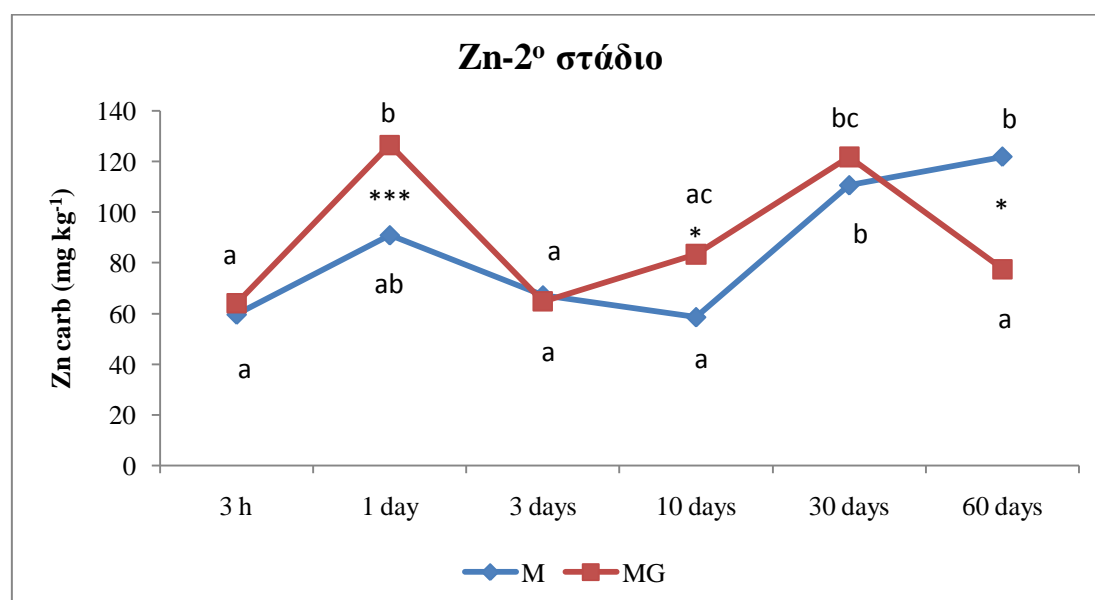
διάστημα επώασης των 30 και 60 ημερών αντίστοιχα. Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης) σημειώνεται σταδιακή αύξηση στη συγκέντρωση του Zn μετά τις 3 ημέρες επώασης με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που παρατηρείται στο χρονικό διάστημα επώασης των 30 ημερών. Στις 60 ημέρες επώασης η συγκέντρωση του Zn στη MG μεταχείριση παρουσιάζει πτώση σε σχέση με τις 30 ημέρες επώασης, χωρίς όμως να υπάρχει κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά με την συγκέντρωση του Zn στις 3 ώρες επώασης. Η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Zn στις 30 και 60 ημέρες για τη M και στις 30 ημέρες για τη MG μεταχείριση οφείλεται στη μείωση που σημειώθηκε στη συγκέντρωση του μετάλλου στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Στο διάγραμμα 4 που ακολουθεί, αποτυπώνεται η σημαντικά χαμηλότερη εκχυλίσιμη σε όξινες συνθήκες συγκέντρωση Zn στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση. Η παρατηρούμενη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των εκχυλίσιμων μορφών του Zn σε όξινες συνθήκες στις 60 ημέρες συνδέεται με την αύξηση τους στην MG μεταχείριση στο 1^ο στάδιο και υποδηλώνει πως η πιθανή απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού είχε ως αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων Zn και αύξηση της κινητικότητας του στο εδαφικό περιβάλλον. Τελικά στις 60 ημέρες επώασης η συγκέντρωση του Zn είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην M μεταχείριση (Διάγραμμα 4).

Πίνακας 4: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές διαθέσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	236,8	1	236,8	1,351	0,254
Χρόνος	18984,7	5	3796,9	21,663	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	6015,7	5	1203,1	6,864	0,000
Σφάλμα	4907,7	28	175,3		



Διάγραμμα 3: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές διαθέσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



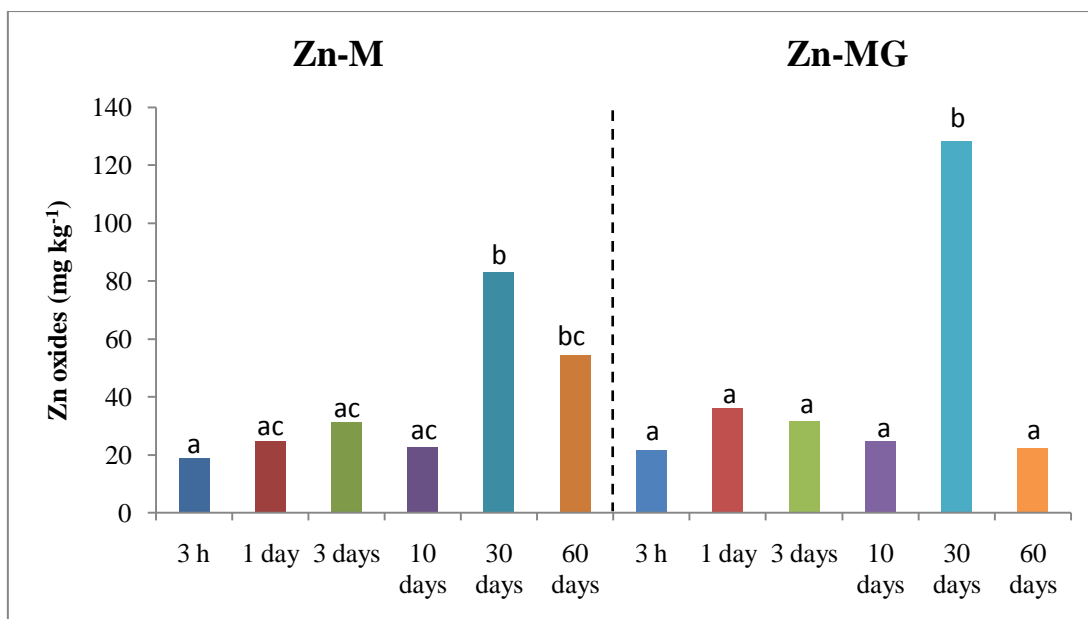
Διάγραμμα 4: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές διαθέσιμες σε όξινες συνθήκες). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Με βάση την ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση του Zn στο αναγώγιμο κλάσμα (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) (Πίνακας 5) παρατηρούμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης). Δεν υπάρχει όμως, σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη). Αναλυτικότερα από τα διαγράμματα 5 και 6 παρατηρούμε ότι και στις δυο μεταχειρίσεις η συγκέντρωση του Zn δεν παρουσιάζει κάποια ιδιαίτερη μεταβολή μέχρι το χρονικό διάστημα επώασης των 10 ημερών, ενώ στις 30 ημέρες επώασης η συγκέντρωση του Zn εμφανίζει αύξηση με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που παρατηρείται. Στις 60 ημέρες παρατηρείται μείωση της συγκέντρωσης του Zn που στην περίπτωση της MG μεταχείρισης είναι σημαντική με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του Zn να επανέρχεται στα επίπεδα αυτής των 3 ημερών.

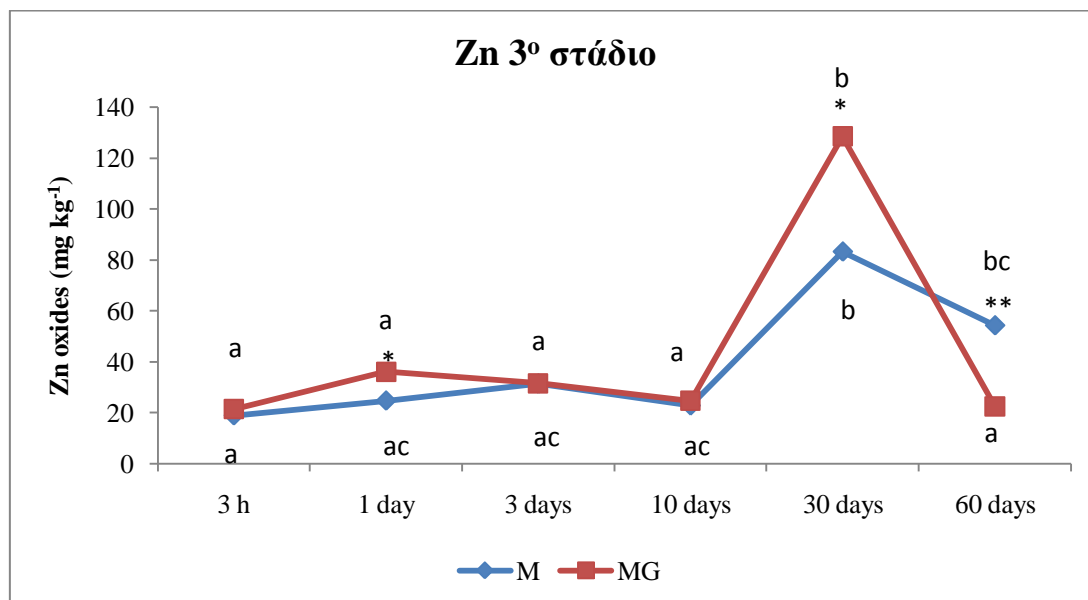
Στο διάγραμμα 6 που ακολουθεί, αποτυπώνεται η σημαντικά αυξημένη συγκέντρωση Zn στις 30 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση. Η παρατηρούμενη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των δεσμευμένων στα οξείδια Fe και Mn μορφών του Zn στις 30 ημέρες και για τις δυο μεταχειρίσεις M και MG, υποδηλώνει τη τάση που έχουν τα μέταλλα στο έδαφος να μετασχηματίζονται από τις ασθενώς δεσμευμένες μορφές σε πιο σταθερές. Αξίζει να σημειωθεί πως η αύξηση που παρατηρείται στη συγκέντρωση του Zn στη μεταχείριση MG, στις 30 ημέρες, πιθανότατα συνδέεται με τα όσα ήδη έχουν αναφερθεί παραπάνω περί του πληθυσμού της μικροβιακής κοινότητας στο έδαφος. Επίσης, στις 60 ημέρες επώασης η συγκέντρωση του Zn είναι σημαντικά μεγαλύτερη στην M μεταχείριση (Διάγραμμα 6).

Πίνακας 5: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	252,4	1	252,4	1,49	0,230
Χρόνος	40201,9	5	8040,3	47,73	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	5666,6	5	1133,3	6,72	0,000
Σφάλμα	5053,5	30	168,4		



Διάγραμμα 5: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



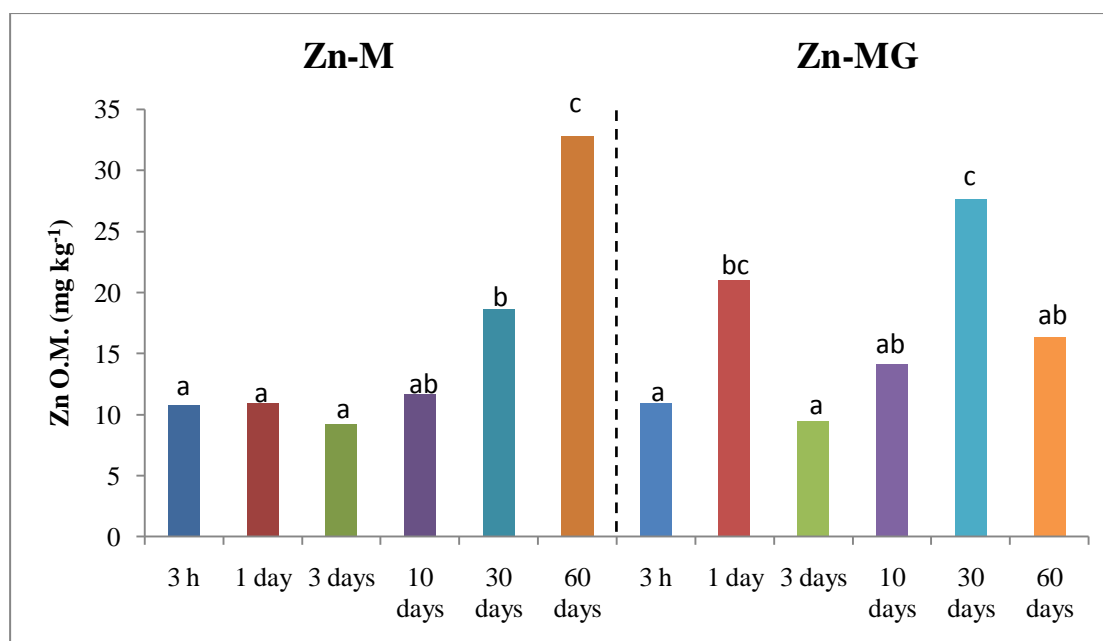
Διάγραμμα 6: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Από το πίνακα 6 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση του Zn στο οξειδώσιμο κλάσμα δηλαδή τις μορφές που είναι δεσμευμένες στην οργανική ουσία. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 6). Από τα διαγράμματα 7 και 8 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Zn και στις δυο μεταχειρίσεις αυξάνεται μετά τις 3 ημέρες επώασης με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 30 ημέρες. Ενώ η τάση αυτή παρέμεινε σταθερά αυξητική και στις 60 ημέρες για την M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη), στην περίπτωση της μεταχείρισης MG (παρουσία γλυκόζης), παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των μορφών του Zn που είναι δεσμευμένες στην οργανική ουσία.

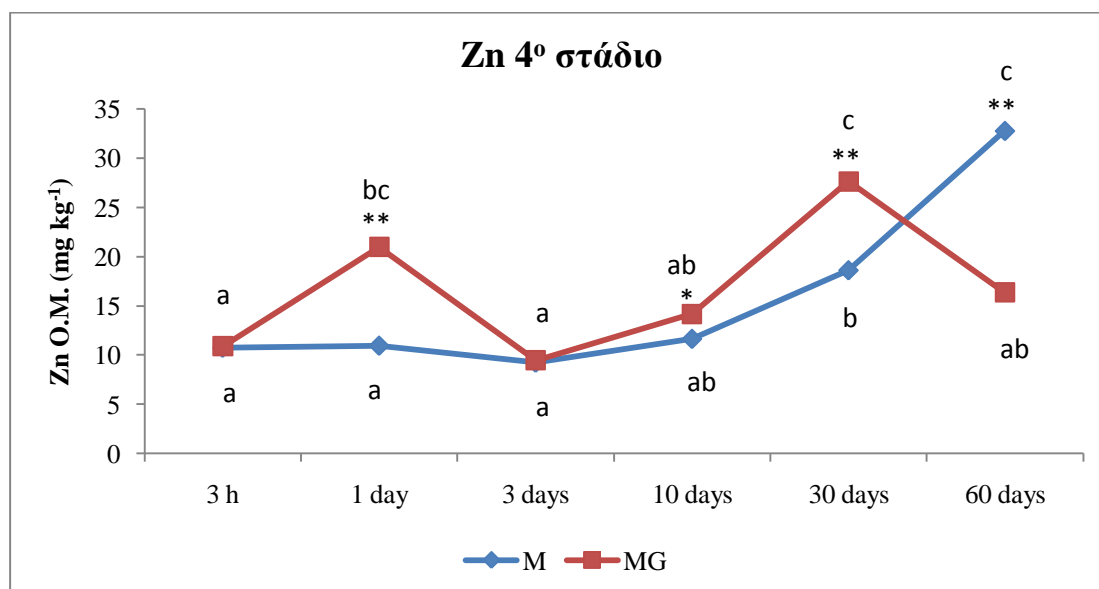
Στο διάγραμμα 8, αποτυπώνεται η σημαντικά χαμηλότερη διαθέσιμη συγκέντρωση Zn στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση. Η παρατηρούμενη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των δεσμευμένων στην οργανική ουσία μορφών του Zn στις 60 ημέρες για την MG μεταχείριση, συνδέεται με την πιθανή απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού που είχε ως αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων Zn και αύξηση της κινητικότητας του στο εδαφικό περιβάλλον. Η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Zn στις 60 ημέρες, στη M μεταχείριση συνδέεται με τη μείωση που παρατηρήθηκε στο 1^ο στάδιο και τη σταδιακή μεταφορά ποσοτήτων του μετάλλου στα επόμενα στάδια, δηλαδή σε πιο σταθερές μορφές.

Πίνακας 6: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	9,5	1	9,5	1,02	0,318
Χρόνος	1569,7	5	313,9	33,89	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	880,7	5	176,1	19,02	0,000
Σφάλμα	305,6	33	9,2		



Διάγραμμα 7: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



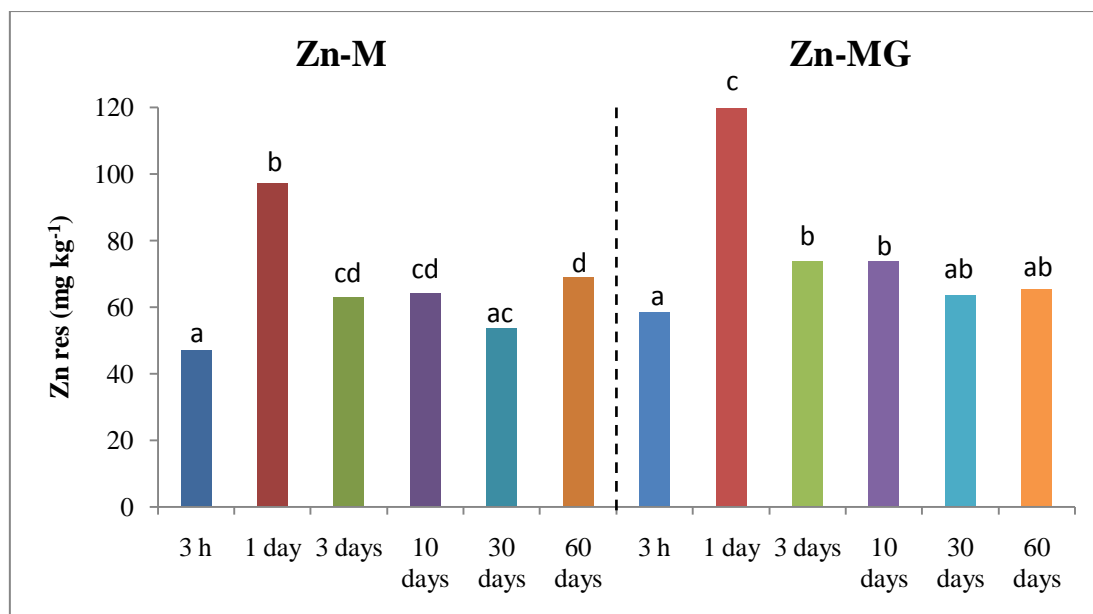
Διάγραμμα 8: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Από το πίνακα 7 συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Zn. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 7). Από τα διαγράμματα 9 και 10 παρατηρούμε μια σχετικά σταθεροποιητική τάση στη συγκέντρωση του Zn για το χρονικό διάστημα επώασης από τις 3 μέχρι τις 60 ημέρες και για τις δυο μεταχειρίσεις M (χωρίς γλυκόζη) και MG (παρουσία γλυκόζης). Στη περίπτωση της M μεταχείρισης παρατηρείται σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των υπολειμματικών μορφών του Zn στις 60 ημέρες σε σχέση με τον αρχικό χρόνο επώασης (3 ώρες), ενώ στην MG μεταχείριση δεν παρατηρήθηκε αντίστοιχη σημαντική διαφορά.

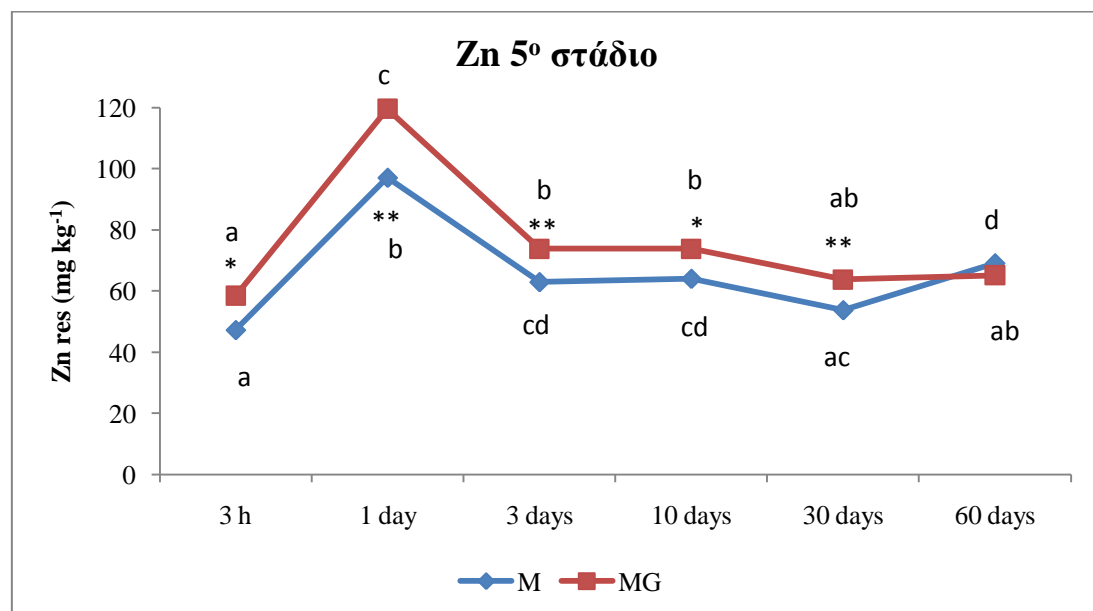
Στο διάγραμμα 10, αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών Zn για τις M και MG μεταχειρίσεις. Παρατηρούμε πως για όλους τους χρόνους επώασης μέχρι τις 30 ημέρες η υπολειμματική συγκέντρωση του Zn είναι λίγο αλλά σημαντικά μεγαλύτερη στην MG μεταχείριση, ενώ στις 60 ημέρες δεν παρατηρείται διαφορά μεταξύ των δυο μεταχειρίσεων.

Πίνακας 7: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Zn στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	1196,7	1	1196,7	61,90	0,000
Χρόνος	13555,8	5	2711,2	140,24	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	660,3	5	132,1	6,83	0,000
Σφάλμα	676,6	35	19,3		



Διάγραμμα 9: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Zn στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



Διάγραμμα 10: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Zn στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

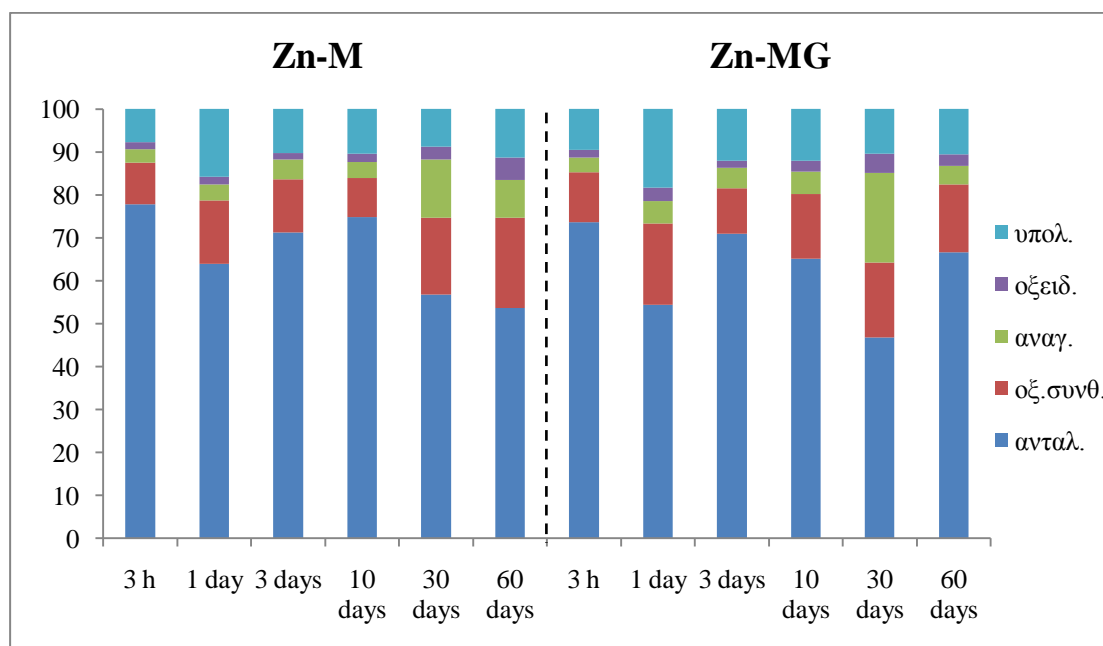
Στο διάγραμμα 11 αποτυπώνεται η κατανομή % των συγκεντρώσεων των διαφόρων κλασμάτων του Zn για τις μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης) για τους διάφορους χρόνους επώασης. Η σειρά κατάταξης των κλασμάτων του Zn για την μεταχείριση M, για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 3, 30 και 60 ημερών ακολουθούν την εξής σειρά: Zn ανταλ. >> Zn οξ. συνθ. > Zn υπολ. > Zn αναγ. > Zn οξειδ., ενώ για τους χρόνους της 1 ημέρας και των 10 ημερών η σειρά είναι η εξής: Zn ανταλ. >> Zn υπολ. > Zn οξ. συνθ. > Zn αναγ. > Zn οξειδ. Για την μεταχείριση MG και για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 1 ημέρας, 10 και 60 ημερών η σειρά κατάταξης των κλασμάτων του Zn είναι η εξής: Zn ανταλ. >> Zn οξ. συνθ. > Zn υπολ. > Zn αναγ. > Zn οξειδ., ενώ για την επώαση των 3 ημερών η σειρά είναι: Zn ανταλ. >> Zn υπολ. > Zn οξ. συνθ. > Zn αναγ. > Zn οξειδ. και τέλος για την επώαση των 30 ημερών η σειρά είναι: Zn ανταλ. >> Zn αναγ. > Zn οξ. συνθ. > Zn υπολ. > Zn οξειδ.

Από το διάγραμμα 11 παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση του Zn στο ανταλλάξιμο κλάσμα για την μεταχείριση M (απουσία γλυκόζης) μειώνεται στις 60 ημέρες, παρουσιάζοντας ωστόσο διακύμανση στη συγκέντρωση του για κάποιους χρόνους επώασης που όμως δεν ξεπερνά την αρχική των 3 ωρών. Αντίστοιχα η συγκέντρωση του Zn στα υπόλοιπα τέσσερα κλάσματα παρουσιάζει αύξηση από τις 3 ώρες στις 60 ημέρες. Πιο συγκεκριμένα, ενώ στις 3 ώρες η συγκέντρωση του Zn στο ανταλλάξιμο κλάσμα είναι 78% μειώνεται στην 1 ημέρα, στο 64% και ύστερα αυξάνεται μέχρι τις 10 ημέρες φθάνοντας στο 75% και ακολουθεί σταδιακή μείωση της μέχρι τις 60 ημέρες όπου τελικά καταλήγει στο 54%. Για τις εκχυλίσιμες μορφές Zn σε όξινες συνθήκες η συγκέντρωση του από το 9,6% στις 3 ώρες αυξάνεται στο 20,9% στις 60 ημέρες, ενώ για τις μορφές που είναι εκχυλίσιμες υπό αναγωγικές συνθήκες δεσμευμένες η συγκέντρωση του αυξάνεται από το 3% στις 3 ώρες σε 8,8% στις 60 ημέρες. Στο οξειδώσιμο κλάσμα παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του Zn από 1,7% στις 3 ώρες σε 5,3% στις 60 ημέρες και τέλος στη συγκέντρωση των υπολειμματικών του μορφών παρατηρείται αύξηση από το 7,3% (3 ώρες) στο 11% (60 ημέρες). Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν και οι Clemente et al. (2006), οι οποίοι κάνοντας επώαση χρησιμοποιώντας κοπριά ως οργανικό υλικό, σε επιβαρυμένα αλκαλικά εδάφη με αυξημένες τιμές βαρέων μετάλλων για τα χρονικά διαστήματα 15, 28 και 56 ημερών αντίστοιχα, παρατήρησαν μείωση στην συγκέντρωση των δυνητικά διαθέσιμων μορφών του Zn.

Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης), η συγκέντρωση του Zn στο ανταλλάξιμο κλάσμα μειώνεται μέχρι τις 60 ημέρες (από 73,7% σε 66,7%), ωστόσο στο χρονικό διάστημα επώασης των 30 ημερών η μείωση που παρουσιάζεται στο ανταλλάξιμο κλάσμα του Zn είναι μεγαλύτερη (46,8%). Αντίστοιχα στα υπόλοιπα τέσσερα κλάσματα παρατηρείται αύξηση στη συγκέντρωση του Zn μέχρι τις 30 ημέρες ενώ στις 60 ημέρες σημειώνεται μείωση. Επιπρόσθετα παρατηρούμε πως και στις δύο μεταχειρίσεις ότι ο Zn με την πάροδο του χρόνου τείνει να μεταφερθεί από τις ασθενώς δεσμευμένες μορφές (ανταλλάξιμες-υδατοδιαλυτές) στις πιο σταθερές (οξειδία Fe-Mn, οργανική ουσία, υπολειμματικές μορφές). Η παρατήρηση αυτή συμφωνεί με τα πειράματα των Lim et al. (2002) και LU et al. (2005), που μελέτησαν τη προσρόφηση των βαρέων μετάλλων για χρόνους επώασης 65 και 56 ημερών, αντίστοιχα. Η τάση μετασχηματισμού των ασθενών μορφών των βαρέων μετάλλων (όπως είναι η ανταλλάξιμη μορφή) και η μετατροπή τους σε λιγότερες διαλυτές μορφές έχει αναφερθεί και από τους Mann and Ritchie, 1994; Lim et al., 2002; Lu et al., 2005; Rajaie et al., 2006. Παρόμοια εικόνα παρουσιάζει ο Zn και στα υπόλοιπα κλάσματα του.

Συγκρίνοντας στη συνέχεια τις συγκεντρώσεις του Zn στις δύο μεταχειρίσεις συμπεραίνουμε ότι εκτός από την επίδραση του χρόνου σημαντικό ρόλο είχε και η προσθήκη γλυκόζης. Στη μεταχείριση M μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η μείωση που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Zn στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης συνοδεύεται με την παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του στα υπόλοιπα τέσσερα στάδια στις 60 ημέρες επώασης. Στη μεταχείριση MG μέχρι τις 30 ημέρες η παρατηρούμενη μείωση στη συγκέντρωση Zn στο ανταλλάξιμο κλάσμα είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση στην συγκέντρωση του στα υπόλοιπα κλάσματα. Αν συνδυάσουμε λοιπόν τη μειωμένη διαθεσιμότητα του Zn μέχρι τις 30 ημέρες (1^ο στάδιο, Διάγραμμα 2) και την αύξηση της συγκέντρωσης του Zn στα επόμενα στάδια στην MG σε σχέση με την M μεταχείριση για το ίδιο χρονικό διάστημα (διαγράμματα 4, 6, 8 και 10), προκύπτει μια σαφής επίδραση της προσθήκης γλυκόζης αφενός στη μείωση του ανταλλάξιμου κλάσματος του Zn αλλά και στη μετάπτωσή του Zn σε περισσότερο σταθερές μορφές. Αυτό προφανώς συνδυάζεται με αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας μέχρι και τις 30 ημέρες και με δέσμευση σημαντικής ποσότητας Zn στα κύτταρα των μικροοργανισμών του εδάφους, ενώ η σημαντική αντίστροφη τάση που παρατηρήθηκε στις 60 ημέρες σε όλα τα στάδια (εκτός του υπολειμματικού) ενισχύει την άποψη πως μετά τις 30

ημέρες ο μικροβιακός πληθυσμός του εδάφους μειώθηκε απότομα λόγω έλλειψης πηγής ενέργειας (εξάντληση του υποστρώματος της γλυκόζης) με αποτέλεσμα την απελευθέρωση στο έδαφος σημαντικών ποσοτήτων εύκολα διαθέσιμων μορφών Zn. Συνοψίζοντας τις παραπάνω παρατηρήσεις για την μεταχείριση MG συμπεραίνουμε ότι υπάρχει μια σταθερότητα στη συγκέντρωση του Zn, χωρίς να παρουσιάζονται σημαντικές μεταβολές στη συγκέντρωση του για το χρονικό διάστημα επώασης μεταξύ των 3 ωρών και των 60 ημερών.



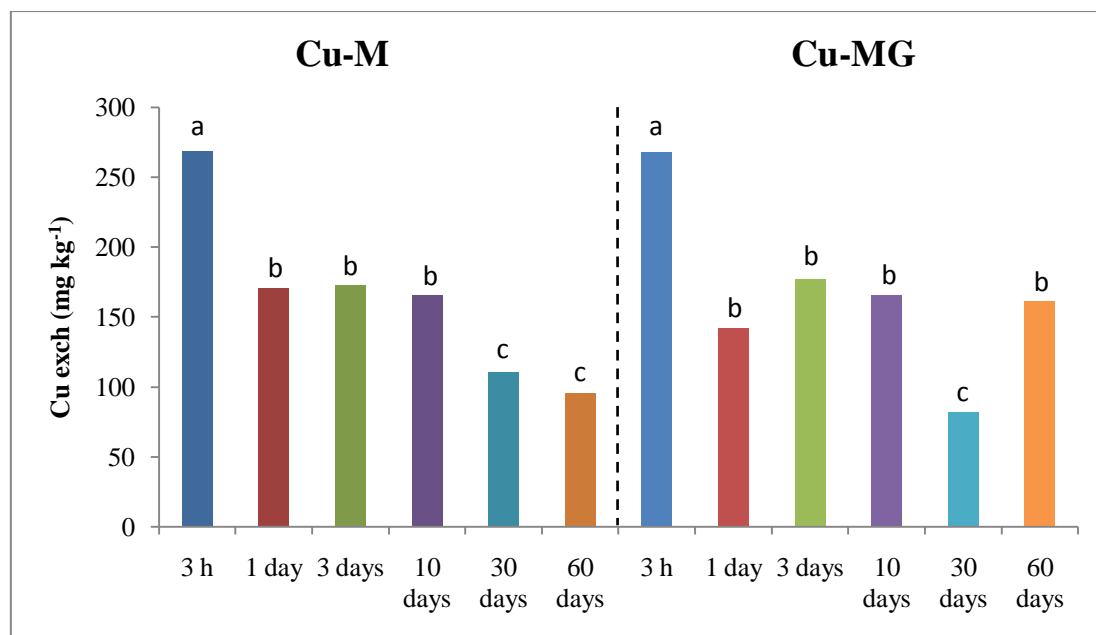
Διάγραμμα 11: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Zn των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG.

5.2 Κλασμάτωση χαλκού (Cu)

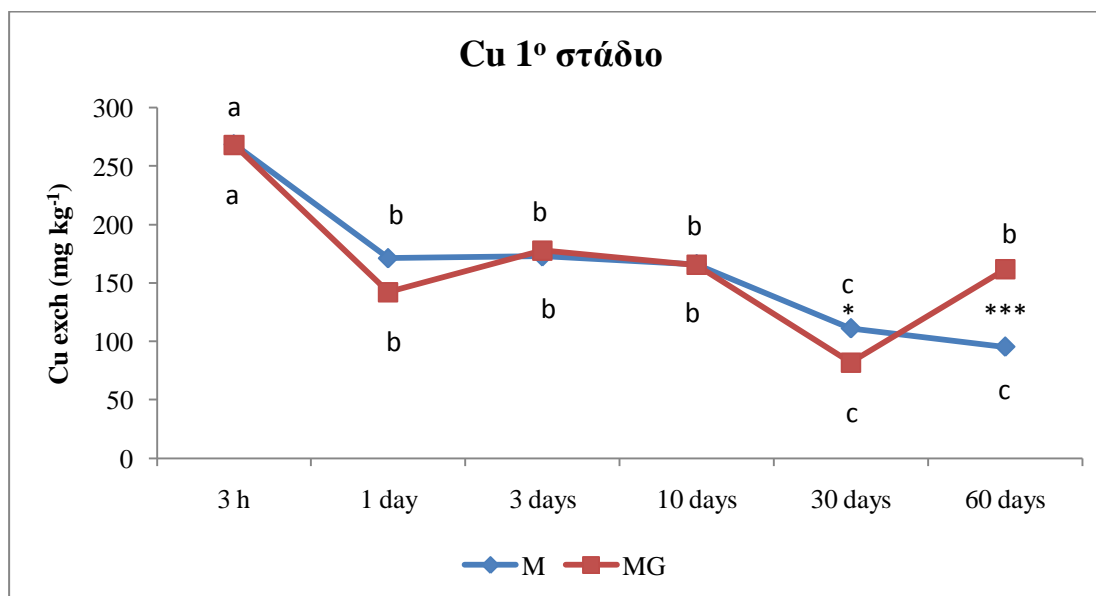
Από το πίνακα 8 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Cu. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 8). Από το διάγραμμα 12 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Cu και στις δυο μεταχειρίσεις μειώνεται με την πάροδο του χρόνου με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 30 ημέρες. Ενώ η τάση αυτή παρέμεινε σταθερά πτωτική και στις 60 ημέρες για την M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη), στην περίπτωση της μεταχείρισης MG, (παρουσία γλυκόζης) παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των ανταλλάξιμων μορφών του Cu. Είναι πιθανό πως η προσθήκη γλυκόζης αποτέλεσε μια σημαντική πηγή ενέργειας για την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητάς της και την επακόλουθη ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων Cu. Στο διάγραμμα 13, αποτυπώνεται η σημαντικά χαμηλότερη διαθέσιμη συγκέντρωση Cu στις 30 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση, ενισχύοντας αυτή την υπόθεση. Η παρατηρούμενη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των ανταλλάξιμων μορφών του Cu στις 60 ημέρες για την MG μεταχείριση, υποδηλώνει πιθανή απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων Cu και αύξηση της κινητικότητας του στο εδαφικό περιβάλλον (Διαγράμματα 12 και 13).

Πίνακας 8: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	42	1	42	0,16	0,684
Χρόνος	126484	5	25297	102,24	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	9779	5	1956	7,90	0,000
Σφάλμα	7670	31	247		



Διάγραμμα 12: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

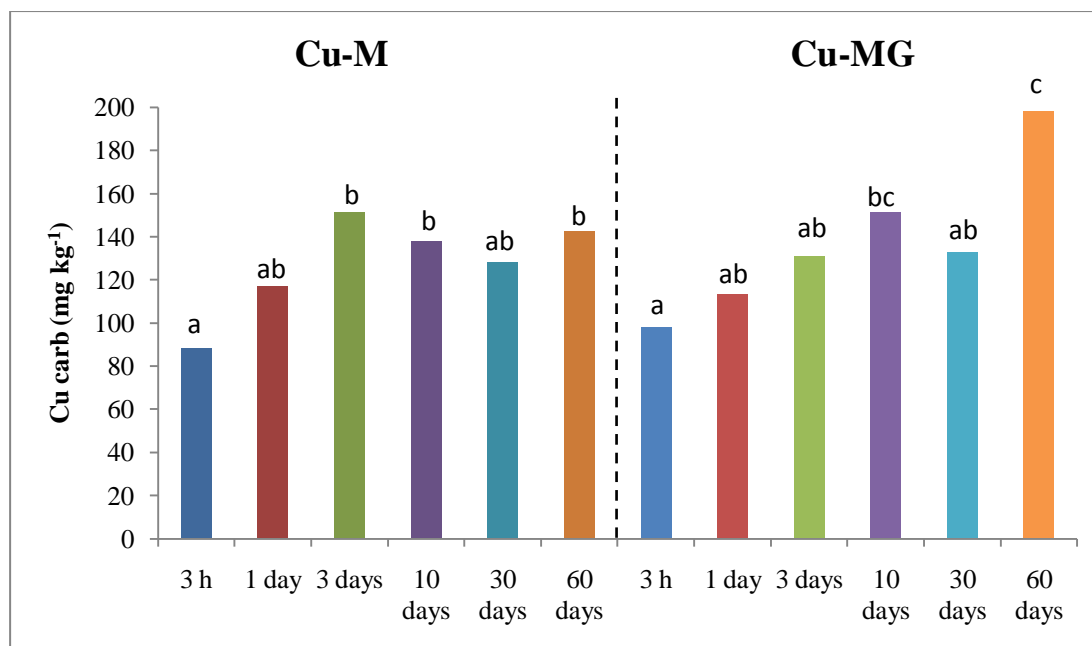


Διάγραμμα 13: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

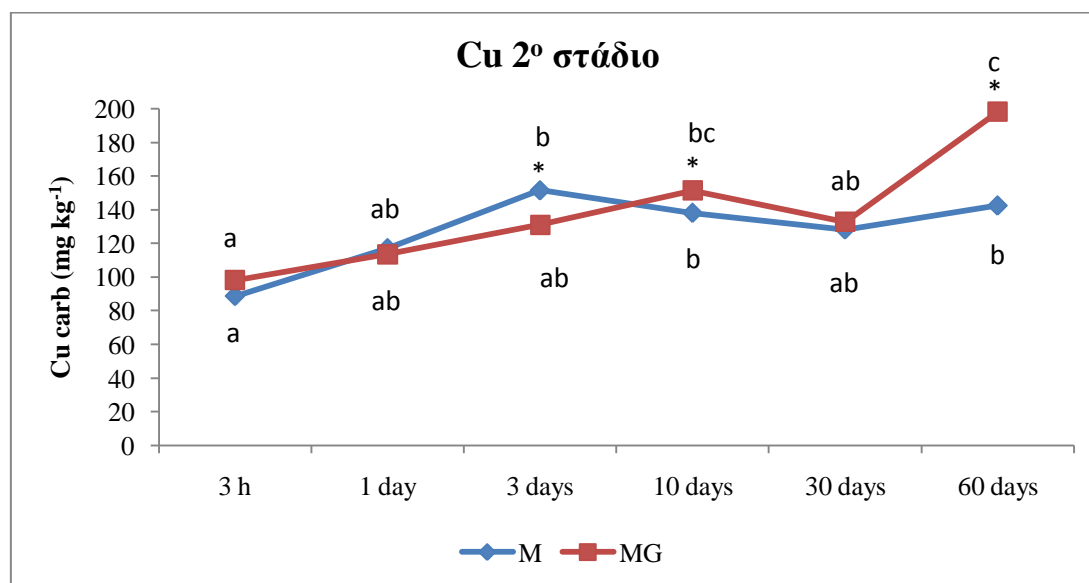
Με βάση την ανάλυση διασποράς και της σύγκρισης των μέσων σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (Πίνακας 9), δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση των εκχυλίσιμων μορφών του Cu σε όξινες συνθήκες. Υπάρχει όμως, σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 9). Από τα διαγράμματα 14 και 15 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Cu στην M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη) αυξάνεται μέχρι τις 3 ημέρες, ύστερα εμφανίζει μια πτωτική τάση (όχι σημαντική) μέχρι τις 30 ημέρες και τελικά σημειώνεται αύξηση στη συγκέντρωση του Cu στις 60 ημέρες με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται. Αντιθέτως στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης) παρατηρείται σταδιακή αύξηση στην συγκέντρωση του Cu μέχρι τις 60 ημέρες (στατιστικά σημαντική διαφορά με τον αρχικό χρόνο επώασης των 3 ωρών), όπου στο μεσοδιάστημα των 30 ημερών σημειώνεται ελαφρά πτώση. Η παρατηρούμενη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης των εκχυλίσιμων μορφών του Cu σε όξινες συνθήκες στις 60 ημέρες στη M μεταχείριση συνδέεται με την μείωση που σημειώθηκε στη συγκέντρωση του μετάλλου στο 1^ο στάδιο. Στη MG μεταχείριση η αύξηση αυτή, συνδέεται με την μείωση της συγκέντρωσης του Cu στο 1^ο στάδιο (οι συγκρίσεις γίνονται με μεταξύ του αρχικού και του τελικού χρόνου επώασης). Στο διάγραμμα 15 που ακολουθεί, αποτυπώνεται η σημαντικά υψηλότερη εκχυλίσιμη σε όξινες συνθήκες συγκέντρωση Cu στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση.

Πίνακας 9: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές διαθέσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	957,2	1	957,2	3,60	0,067
Χρόνος	22539,7	5	4507,9	16,97	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	5106,0	5	1021,2	3,84	0,008
Σφάλμα	7435,2	28	265,5		



Διάγραμμα 14: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές διαθέσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

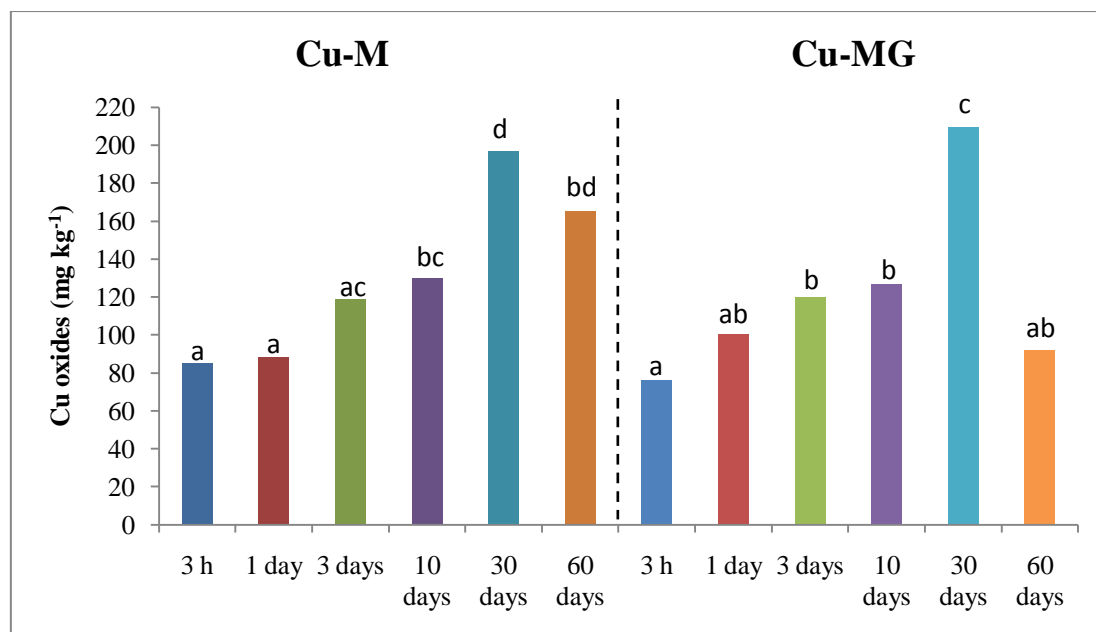


Διάγραμμα 15: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές διαθέσιμες σε όξινες συνθήκες). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

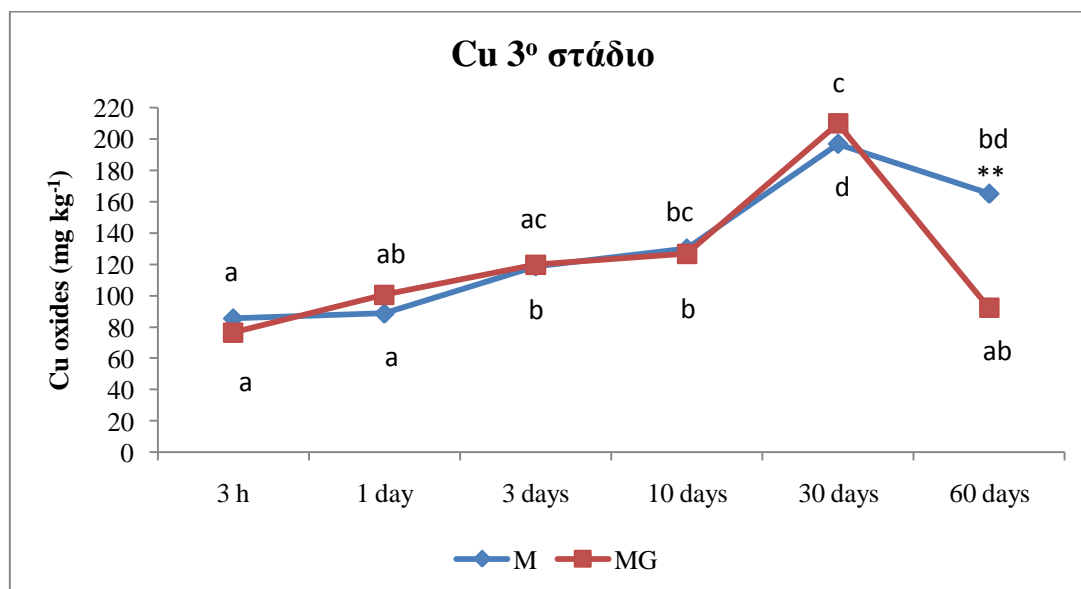
Από το πίνακα 10 συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης στη συγκέντρωση του Cu στο αναγώγιμο κλάσμα δηλαδή τις μορφές που είναι δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 10). Από τα διαγράμματα 16 και 17 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Cu και στις δυο μεταχειρίσεις M και MG, αυξάνεται με την πάροδο του χρόνου μέχρι τις 30 ημέρες με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα επώασης. Ενώ η τάση αυτή παρέμενε σταθερά αυξητική και στις δύο μεταχειρίσεις μέχρι τις 30 ημέρες, ωστόσο στις 60 ημέρες παρουσιάζεται μείωση στη συγκέντρωση του αναγώγιμου Cu. Η αυξητική τάση που παρατηρήθηκε και στις δύο μεταχειρίσεις μέχρι τις 30 ημέρες, οφείλεται στη μείωση που σημειώθηκε στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Cu στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης που είχε ως αποτέλεσμα τη σταδιακή μεταφορά ποσοτήτων μετάλλου στα επόμενα στάδια και στο γεγονός ότι τα μέταλλα από τη φύση τους παρουσιάζουν την τάση να μετασχηματίζονται από τις ασθενώς δεσμευμένες μορφές σε πιο σταθερές. Στο διάγραμμα 17, αποτυπώνεται η σημαντικά χαμηλότερη διαθέσιμη συγκέντρωση Cu στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση. Η παρατηρούμενη αύξηση του αναγώγιμου κλάσματος του Cu στις 60 ημέρες, στη περίπτωση της M μεταχείρισης συνδέεται με την μείωση στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Cu στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Στη MG μεταχείριση η μείωση που παρατηρείται στις 60 ημέρες, συνδέεται με το γεγονός ότι η μείωση στη συγκέντρωση του Cu στο 1^ο στάδιο αποτυπώθηκε ως αύξηση στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης.

Πίνακας 10: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	963,1	1	963,1	4,22	0,049
Χρόνος	56079,2	5	11215,8	49,22	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	7741,4	5	1548,3	6,79	0,000
Σφάλμα	6379,4	28	227,8		



Διάγραμμα 16: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



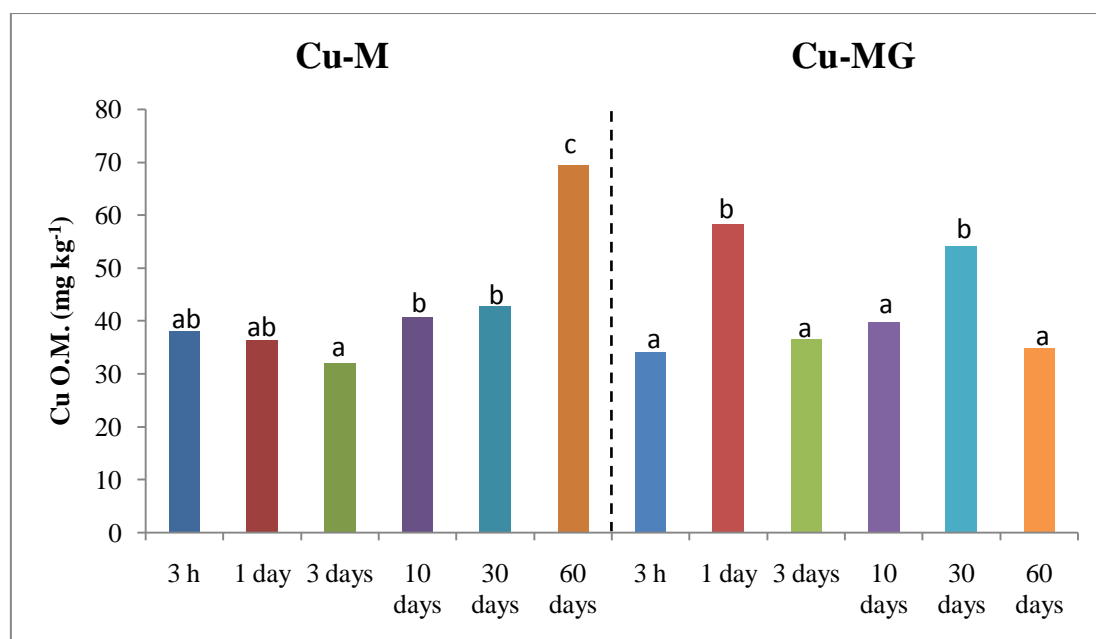
Διάγραμμα 17: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Από το πίνακα 11 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση του Cu στο οξειδώσιμο κλάσμα δηλαδή τις μορφές που είναι δεσμευμένες στην οργανική ουσία. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 11). Από τα διαγράμματα 18 και 19 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Cu και στις δυο μεταχειρίσεις αυξάνεται σταδιακά μετά τις 3 ημέρες. Η τάση αυτή παρέμεινε σταθερά αυξητική και στις 60 ημέρες για την M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη), με αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του Cu στις 60 ημέρες σε σχέση με τις 3 ώρες. Στην περίπτωση της μεταχείρισης MG (παρουσία γλυκόζης) όμως, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συγκέντρωσης του οξειδώσιμου κλάσματος του Cu στις 60 ημέρες, με αποτέλεσμα τα επίπεδα του να είναι παρόμοια με αυτά των 3 ωρών.

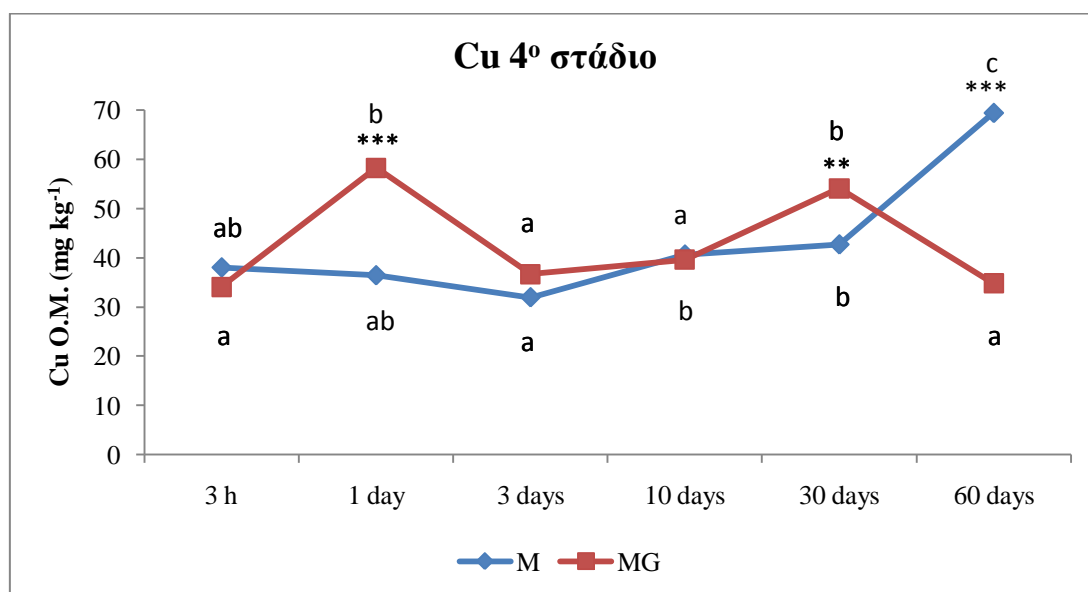
Στο διάγραμμα 19, αποτυπώνεται η σημαντικά μεγαλύτερη εκχυλίσιμη συγκέντρωση Cu στις 60 ημέρες επώασης στην μεταχείριση M σε σχέση με την MG μεταχείριση. Η παρατηρούμενη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του Cu στις 60 ημέρες για την M μεταχείριση, συνδέεται με την απότομη μείωση της συγκέντρωσης του ανταλλάξιμου Cu που παρατηρήθηκε στο 1^ο στάδιο που είχε ως αποτέλεσμα την σταδιακή μεταφορά ποσοτήτων του μετάλλου στο 2^ο, 3^ο και 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Επιπρόσθετα η διαφορά που παρατηρείται στις δύο μεταχειρίσεις στο χρονικό διάστημα επώασης των 30 ημερών, οφείλεται πιθανότατα στη παρουσία της γλυκόζης όπου μέχρι το συγκεκριμένο χρόνο επώασης επιδρούσε στη συμπεριφορά και την διαθεσιμότητα του Cu.

Πίνακας 11: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	0,7	1	0,78	0,06	0,794
Χρόνος	1734,1	5	346,8	30,73	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	2905,2	5	581,0	51,49	0,000
Σφάλμα	327,2	29	11,2		



Διάγραμμα 18: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



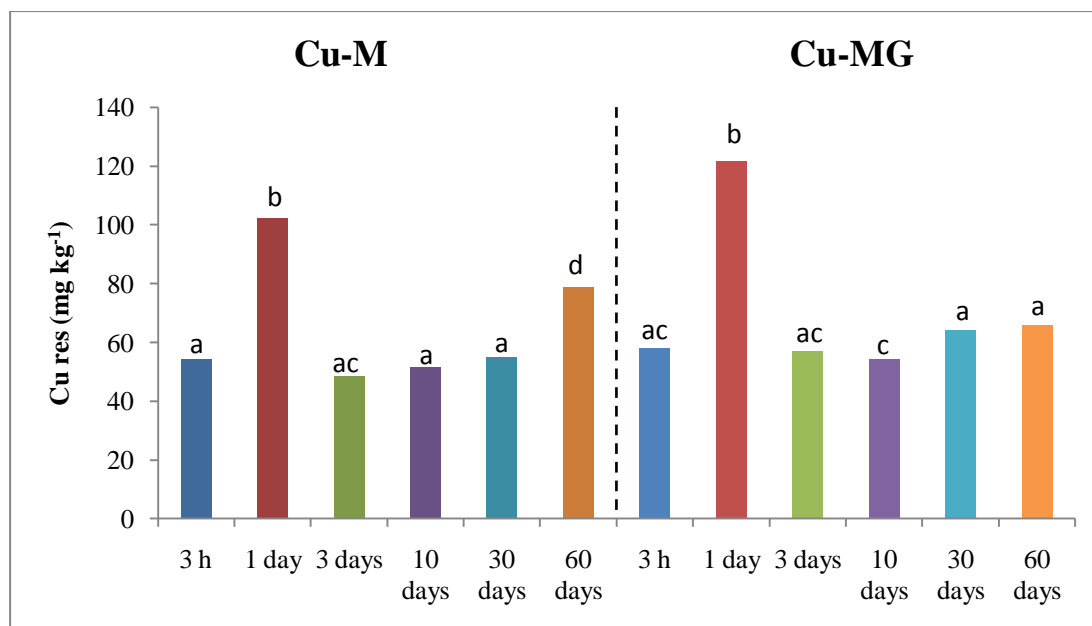
Διάγραμμα 19: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Από το πίνακα 12 συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Cu. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 12). Από τα διαγράμματα 20 και 21 παρατηρούμε στη μεταχείριση M (χωρίς γλυκόζη), μια αυξητική τάση στη συγκέντρωση του Cu με την πάροδο του χρόνου με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 60 ημέρες επώασης. Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης), η τάση αυτή σημειώνεται μετά το χρονικό διάστημα των 10 ημερών χωρίς ωστόσο να παρατηρείται κάποια στατιστικά σημαντική διαφορά για τα χρονικά διαστήματα επώασης των 30 και 60 ημερών αντίστοιχα.

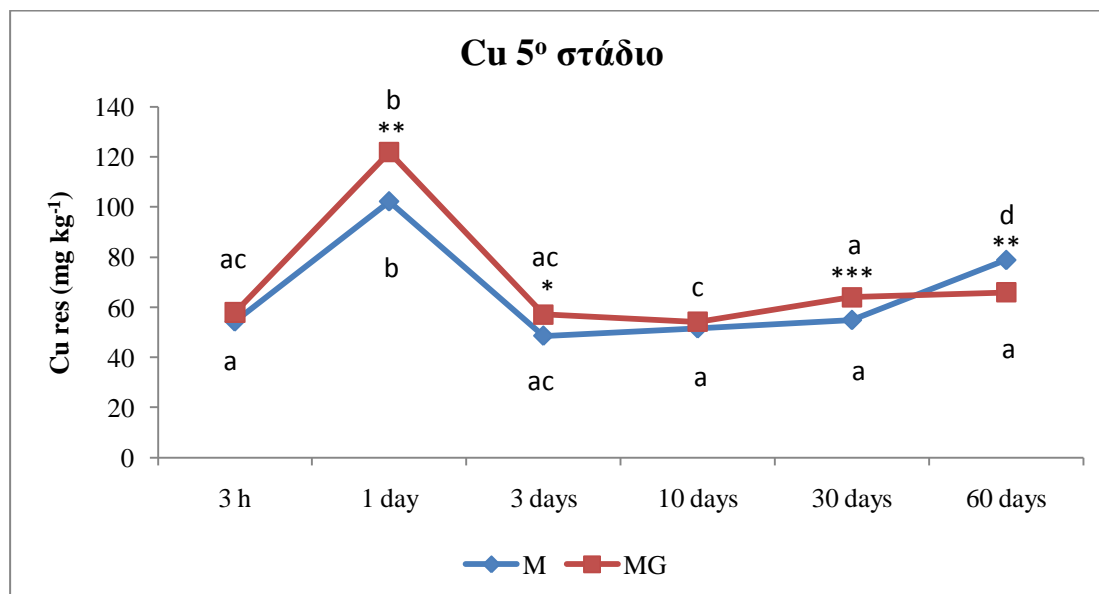
Στο διάγραμμα 21, αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών Cu για τις M και MG μεταχειρίσεις. Η παρατηρούμενη αύξηση της συγκέντρωσης των υπολειμματικών μορφών του Cu στις 60 ημέρες για τη M μεταχείριση, υποδηλώνει πως η μείωση στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Cu που παρατηρήθηκε στο 1^ο στάδιο είχε σαν αποτέλεσμα τη σταδιακή μεταφορά ποσοτήτων του μετάλλου στα υπόλοιπα τέσσερα στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης. Στη περίπτωση της MG μεταχείρισης δεν παρατηρείται καμία μεταβολή στη συγκέντρωση του Cu στις 60 ημέρες επώασης που οφείλεται στο γεγονός ότι η μείωση που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του Cu στο 1^ο στάδιο μεταφέρθηκε μονάχα στο 2^ο στάδιο και καθόλου στα υπόλοιπα τρία.

Πίνακας 12: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Cu στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	270,8	1	270,8	23,7	0,000
Χρόνος	18017,2	5	3603,4	316,0	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	976,4	5	195,3	17,1	0,000
Σφάλμα	342,0	30	11,4		



Διάγραμμα 20: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Cu στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



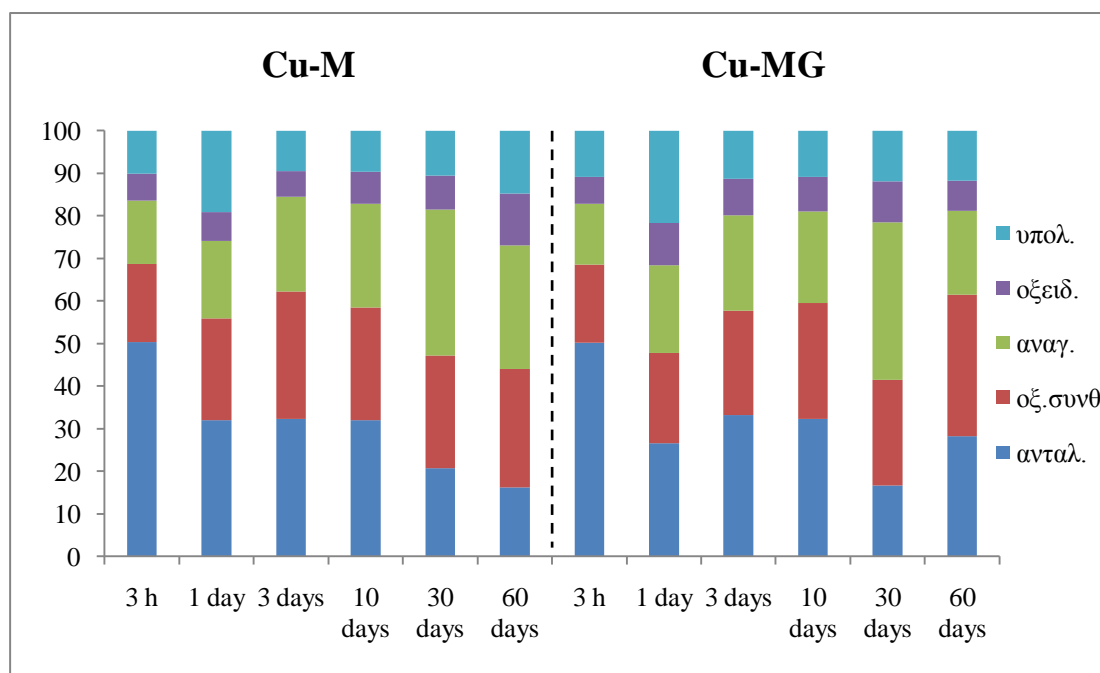
Διάγραμμα 21: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Cu στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Στο διάγραμμα 22 αποτυπώνεται η κατανομή % των συγκεντρώσεων των διαφόρων κλασμάτων του Cu για τους διάφορους χρόνους επώασης, για τις μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Η σειρά κατάταξης των κλασμάτων του Cu για την μεταχείριση M, για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 3, και 10 ημερών είναι η εξής: Cu ανταλ. >> Cu οξ. συνθ. > Cu αναγ.> Cu υπολ. > Cu οξειδ., για το χρόνο της 1 ημέρας η σειρά είναι: Cu ανταλ. >> Cu οξ. συνθ. > Cu υπολ. > Cu αναγ. > Cu οξειδ. ενώ για τις 30 και 60 ημέρες: Cu αναγ. > Cu οξ. συνθ. > Cu ανταλ. > Cu υπολ. > Cu οξειδ. Για την μεταχείριση MG και για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 3, 10 και 60 ημερών η σειρά κατάταξης είναι η εξής: Cu ανταλ. >> Cu οξ. συνθ. > Cu αναγ. > Cu υπολ. > Cu οξειδ., ενώ για την επώαση της 1 ημέρας η σειρά είναι: Cu ανταλ. >> Cu οξ. συνθ. > Cu υπολ. > Cu αναγ. > Cu οξειδ. και τέλος για την επώαση των 30 ημερών η σειρά είναι: Cu αναγ. > Cu οξ. συνθ. > Cu ανταλ. > Cu υπολ. > Cu οξειδ.

Από το διάγραμμα 22 παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση του Cu στο ανταλλάξιμο κλάσμα για την μεταχείριση M (απουσία γλυκόζης) μειώνεται στις 60 ημέρες, χωρίς να παρουσιάζει έντονες διακυμάνσεις με το χρόνο. Αντίστοιχα η συγκέντρωση του Cu στα υπόλοιπα τέσσερα κλάσματα παρουσιάζει αύξηση από τις 3 ώρες στις 60 ημέρες. Πιο συγκεκριμένα, ενώ στις 3 ώρες η συγκέντρωση του Cu στο ανταλλάξιμο κλάσμα είναι 50,3% τελικά στις 60 ημέρες μειώνεται στο 16,2%. Για τις εκχυλίσιμες μορφές του Cu σε όξινες συνθήκες από το 18,4% στις 3 ώρες αυξάνονται στο 27,9% στις 60 ημέρες, στις μορφές που είναι δεσμευμένες στα οξειδία Fe-Mn η συγκέντρωση του Cu αυξάνεται από 14,9% στις 3 ώρες σε 29% στις 60 ημέρες, στο οξειδώσιμο κλάσμα παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του από 6,4% στις 3 ώρες σε 12,3% στις 60 ημέρες και τέλος στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Cu παρατηρείται αύξηση από το 10,2% (3 ώρες) στο 14,7% (60 ημέρες).

Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης), η συγκέντρωση του Cu στο ανταλλάξιμο κλάσμα μειώνεται μέχρι τις 60 ημέρες (από 50,1% σε 28,1%), ωστόσο στο χρονικό διάστημα των 30 ημερών η μείωση που παρουσιάζεται στο ανταλλάξιμο κλάσμα του Cu είναι μεγαλύτερη (16,6%). Αντιθέτως το εκχυλίσιμο σε όξινες συνθήκες κλάσμα του Cu παρουσιάζει σταδιακή αύξηση σε όλους τους χρόνους επώασης (από 18,4% σε 33,3%). Στα υπόλοιπα κλάσματα παρατηρείται αύξηση στη συγκέντρωση του Cu μέχρι τις 30 ημέρες ενώ στις 60 ημέρες σημειώνεται μείωση. Πιο αναλυτικά στο αναγώγιμο και οξειδώσιμο κλάσμα η συγκέντρωση του Cu αυξάνεται από 14,3% και 6,4% αντίστοιχα στις 3 ώρες σε 36,9% και 9,63% στις 30

ημέρες και τελικά σε 19,8 και 7%, αντίστοιχα στις 60 ημέρες. Τέλος στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Cu παρατηρείται μικρή αύξηση από το 10,8% (3 ώρες) στο 11,9 % (60 ημέρες). Επιπρόσθετα παρατηρούμε ότι και στις δύο μεταχειρίσεις με την πάροδο του χρόνου παρουσιάζεται αύξηση στη συγκέντρωση του Cu που είναι δεσμευμένος στα οξείδια Fe-Mn και την οργανική ουσία. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τις εργασίες των M. Jalali και Z.V. Khanlari (2007) που κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι ο Cu παρουσιάζει μια υψηλή εκλεκτικότητα για την οργανική ουσία από τη οποία δεσμεύεται πολύ ισχυρά. Παρόμοιες παρατηρήσεις έχουν αναφερθεί και από τους McLaren and Crawford, (1973), Tyler and McBride (1982), Mabila et al. (2001), Lu et al. (2005). Επίσης, με την πάροδο του χρόνου παρατηρούμε τη τάση του Cu για μετασχηματισμό των ασθενών μορφών του και τη μετατροπή τους σε λιγότερες διαλυτές μορφές.



Διάγραμμα 22: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Cu των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξείδ.: εκχυλίσμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG.

Συγκρίνοντας στη συνέχεια τις συγκεντρώσεις του Cu στις δύο μεταχειρίσεις συμπεραίνουμε ότι εκτός από την επίδραση του χρόνου σημαντικό ρόλο είχε και η

προσθήκη γλυκόζης. Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης), μέχρι τις 30 ημέρες παρατηρήθηκε μείωση στη συγκέντρωση Cu στο ανταλλάξιμο κλάσμα, όπου όμως συνοδεύεται με αύξηση στο 3^ο και 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Πιθανότατα η προσθήκη γλυκόζης αποτέλεσε μια σημαντική πηγή ενέργειας για την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητάς της και την επακόλουθη ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων Cu. Ωστόσο η αύξηση που παρατηρήθηκε στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών υποδηλώνει πιθανή απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων Cu και αύξηση της κινητικότητας του στο εδαφικό περιβάλλον. Σε εργασίες των Clemente et al. (2006), οι οποίοι κάνοντας επώαση σε επιβαρυμένα αλκαλικά εδάφη, με υψηλές συγκεντρώσεις σε βαρέα μέταλλα, για τα χρονικά διαστήματα 15, 28 και 56 ημερών αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας οργανικά υλικά (κοπριά και compost από φυτικά υπολείμματα ελιάς) παρατήρησαν ότι η συγκέντρωση των διαθέσιμων μορφών του Cu δεν ήταν ανιχνεύσιμη και οφειλόταν κυρίως στη δέσμευση του χαλκού από την προστιθέμενη οργανική ουσία υπό μορφή κοπριάς και στη μεταφορά του στα υπόλοιπα κλάσματα του εδάφους. Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν και οι Ruiz et al. (2009), οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση στη πρόσληψη βαρέων μετάλλων από οργανισμούς του εδάφους (σκουλήκια) και παρατήρησαν κάνοντας κλασμάτωση με τη μέθοδο BCR ότι η συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Cu ήταν μη ανιχνεύσιμη και ότι το μεγαλύτερο μέρος του είχε μεταφερθεί στα υπόλοιπα κλάσματα του εδάφους καθώς και ένα μέρος του Cu, είχε δεσμευτεί από τους οργανισμούς που είχαν προστεθεί στο έδαφος. Ακόμη, οι Nahami et al. (2007), διαπίστωσαν ότι η συγκέντρωση του Cu στους μικροοργανισμούς αυξάνεται στα ελαφρού τύπου εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε Cu. Επίσης η ικανότητα των μικροοργανισμών να απορροφούν μεγάλες ποσότητες Cu και άλλων μετάλλων όπως π.χ. Zn, πιθανότατα εξαρτάται και από τη μορφή υπό την οποία βρίσκονται στο έδαφος (Heikens et al., 2001, Renoux et al., 2007).

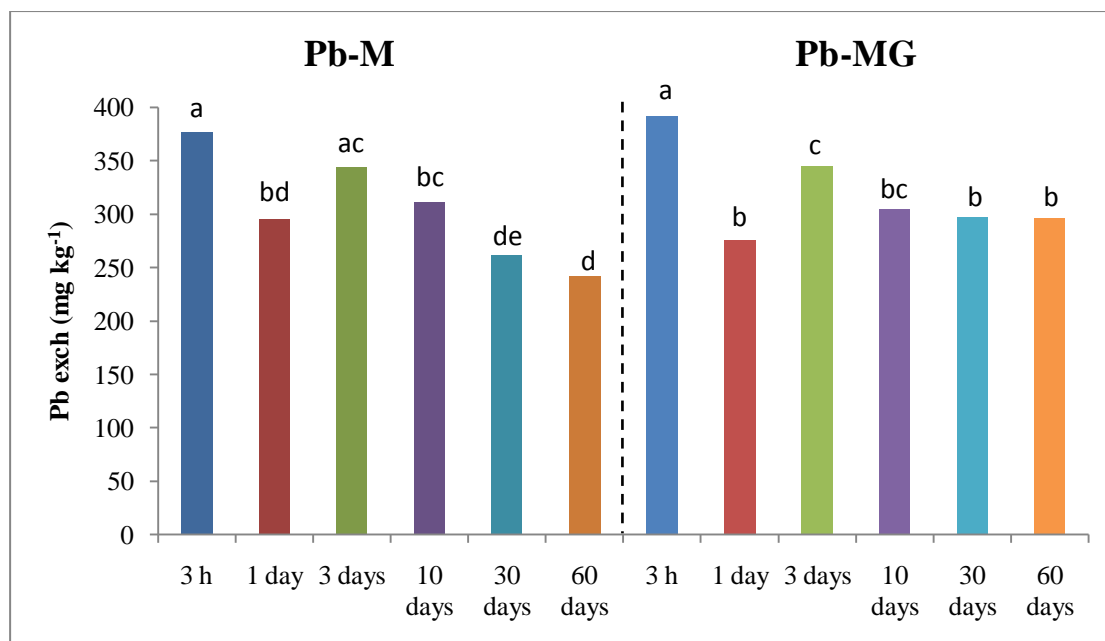
Συνοψίζοντας τις παραπάνω παρατηρήσεις μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στη περίπτωση της M μεταχείρισης η μείωση στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Cu στις 60 ημέρες μεταφέρθηκε σταδιακά στα υπόλοιπα τέσσερα στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης, ενώ στη περίπτωση της MG μεταχείρισης η παρατηρούμενη μείωση στη συγκέντρωση του Cu στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών μεταφέρθηκε μόνο στο 2^ο στάδιο ενώ στα υπόλοιπα στάδια παρουσιάζεται μια σταθεροποίηση στη συγκέντρωση του.

5.3 Κλασμάτωση μολύβδου (Pb)

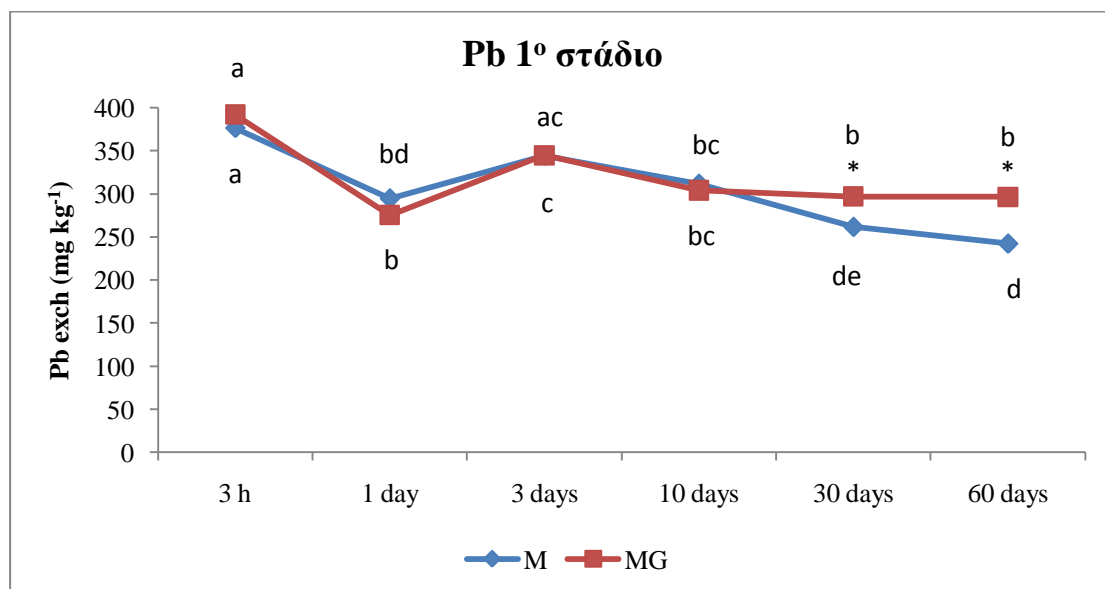
Στον πίνακα 13 βλέπουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Pb. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 13). Από τα διαγράμματα 23 και 24 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Pb και στις δύο μεταχειρίσεις M και MG παρουσιάζει σταδιακή μείωση μετά το χρονικό διάστημα επώασης των 10 ημερών, που όμως είναι πιο έντονη στη M μεταχείριση, με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 60 ημέρες επώασης. Στη περίπτωση της MG μεταχείρισης είναι πιθανό πως η συγκέντρωση του Pb μετά από κάποιο χρονικό διάστημα επέδρασε ανασταλτικά στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών του εδάφους παρόλη την προσθήκη γλυκόζης και γι αυτό δεν παρατηρήθηκε αξιόλογη ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων του μετάλλου όπως στη περίπτωση του Zn και του Cu. Στο διάγραμμα 23, αποτυπώνεται η χαμηλότερη διαθέσιμη συγκέντρωση Pb στις 30 και στις 60 ημέρες επώασης στην M μεταχείριση σε σχέση με την MG μεταχείριση. Η διαφορετική συμπεριφορά του Pb στη MG μεταχείριση σχέση με τον Zn και το Cu, πιθανά οφείλεται στο ότι ο Pb δεν αποτελεί θρεπτικό στοιχείο για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του εδάφους και κατά συνέπεια δεν αφομοιώθηκε από αυτούς και επιπλέον ίσως είναι και ένδειξη κάποιας μικρής τοξικότητας.

Πίνακας 13: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντικά επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	1748	1	1748	6,45	0,016
Χρόνος	67020	5	13404	49,45	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	6420	5	1284	4,74	0,002
Σφάλμα	7861	29	271		



Διάγραμμα 23: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

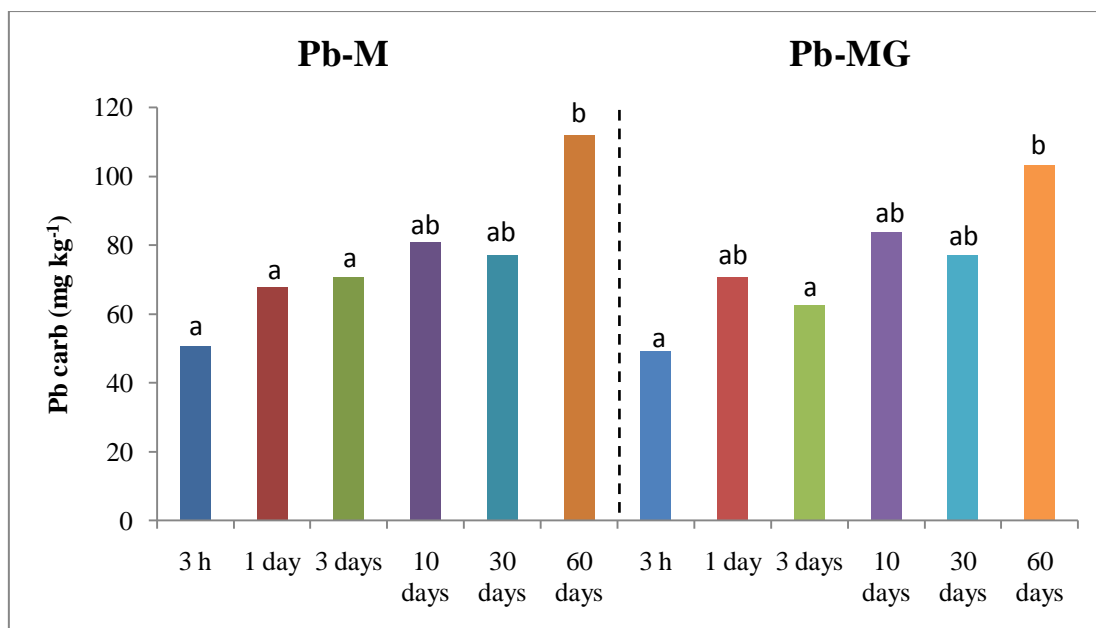


Διάγραμμα 24: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

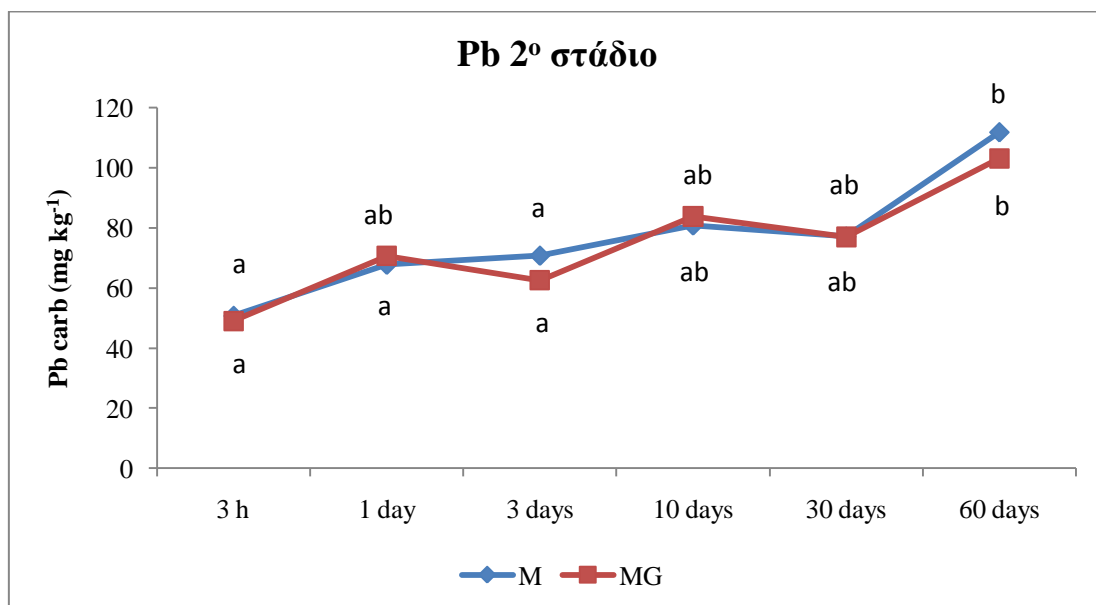
Με βάση την ανάλυση διασποράς και της σύγκρισης των μέσων για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (πίνακας 14), δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση των εκχυλίσιμων μορφών του Pb σε όξινες συνθήκες καθώς και καμία σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης). Αντιθέτως, παρατηρείται μόνο σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης (Πίνακας 14). Από τα διαγράμματα 25 και 26 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Pb στην M μεταχείριση (χωρίς γλυκόζη) παρουσιάζει μια αυξητική τάση με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 60 ημέρες επώασης. Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης) παρατηρείται διακύμανση στη συγκέντρωση του Pb με τη πάροδο του χρόνου και τελικά στις 60 ημέρες σημειώνεται αύξηση στη συγκέντρωση του με αποτέλεσμα τη στατιστικά σημαντική διαφορά που εμφανίζεται. Η παρατηρούμενη αύξηση και στις δύο μεταχειρίσεις συνδέεται πιθανώς με τη μείωση που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του Pb στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Στο διάγραμμα 26, αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των εκχυλίσιμων μορφών του Pb σε όξινες συνθήκες για τις M και MG μεταχειρίσεις, χωρίς ωστόσο να παρατηρείται κάποια σημαντική διαφορά στη συγκέντρωση του, παρουσιάζοντας παρόμοια εικόνα.

Πίνακας 14: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	48,5	1	48,5	0,27	0,607
Χρόνος	13815,7	5	2763,1	15,35	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	244,1	5	48,8	0,27	0,925
Σφάλμα	5579,0	31	180,0		



Διάγραμμα 25: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

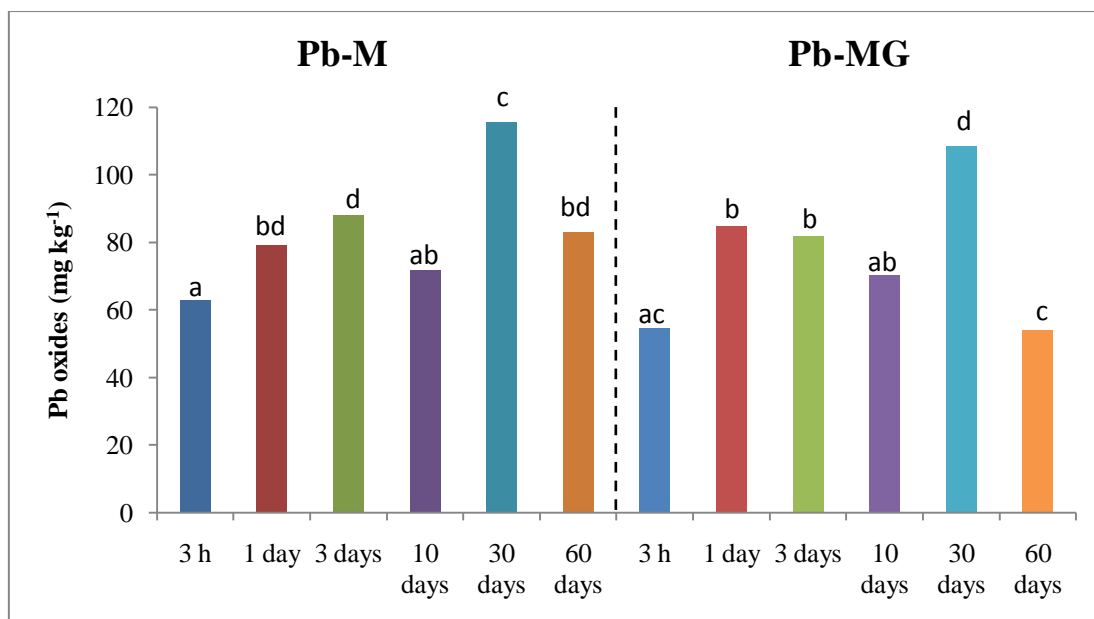


Διάγραμμα 26: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

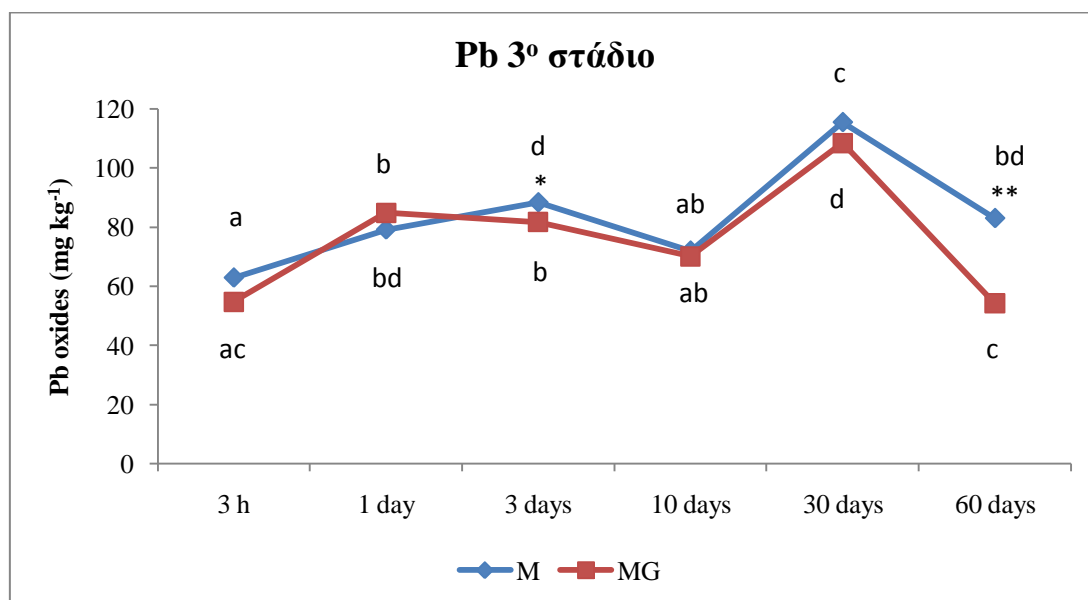
Με βάση την ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση του Pb στο αναγώγιμο κλάσμα (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) (Πίνακας 15) συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 15). Αναλυτικότερα από τα διαγράμματα 27 και 28 παρατηρούμε ότι σημειώνεται διακύμανση στη συγκέντρωση του Pb με την πάροδο του χρόνου και στις δυο μεταχειρίσεις, με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 30 ημέρες επώασης. Η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Pb στις 30 ημέρες και στις δυο μεταχειρίσεις, συνδέεται με την μείωση που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Pb στο 1^ο στάδιο και με την αύξηση που σημειώθηκε στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Η παρατηρούμενη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των δεσμευμένων στα οξείδια Fe και Mn μορφών του Pb στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών, σε σχέση με τις 30 ημέρες, υποδηλώνει τη τάση που έχουν τα μέταλλα στο έδαφος να μετασχηματίζονται από τις ασθενώς δεσμευμένες μορφές σε πιο σταθερές, όπως προκύπτει από την μελέτη των επόμενων κλασμάτων. Στο διάγραμμα 28, αποτυπώνεται η μειωμένη συγκέντρωση Pb στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση, που πιθανά οφείλεται στην κάπως μεγαλύτερη συγκέντρωση του Pb στο 2^ο κλάσμα στην MG μεταχείριση (Διάγραμμα 26).

Πίνακας 15: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	568,8	1	568,8	19,42	0,000
Χρόνος	11138,3	5	2227,7	76,06	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	993,2	5	198,6	6,78	0,000
Σφάλμα	761,4	26	29,3		



Διάγραμμα 27: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

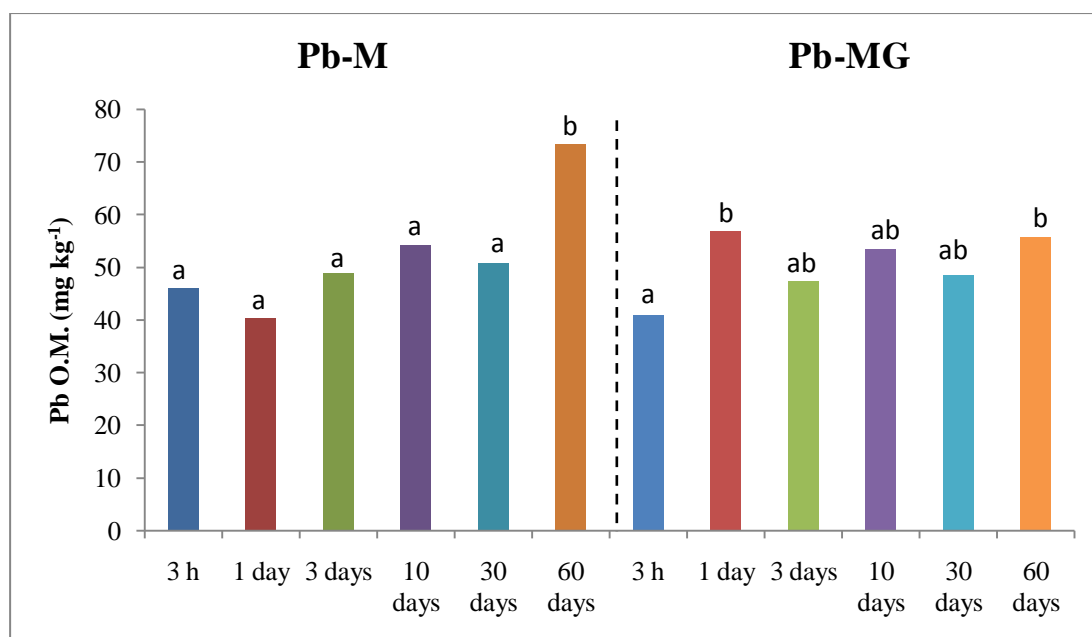


Διάγραμμα 28: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

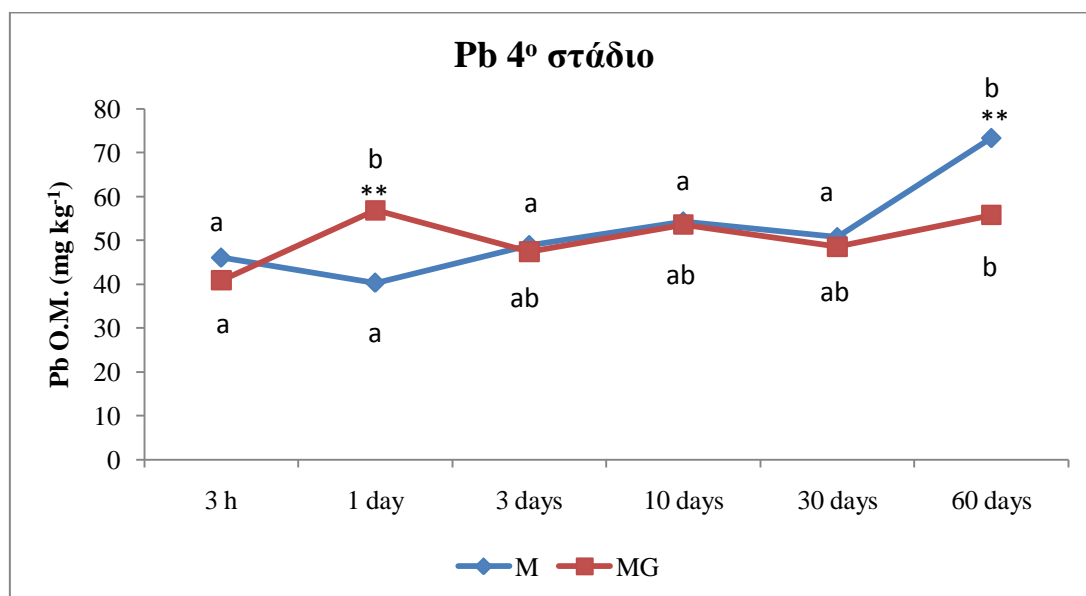
Από το πίνακα 16 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση του Pb στο οξειδώσιμο κλάσμα δηλαδή τις μορφές που είναι δεσμευμένες στην οργανική ουσία. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 16). Από τα διαγράμματα 29 και 30 παρατηρούμε πως και στις δυο μεταχειρίσεις, η συγκέντρωση του Pb παρουσιάζεται σημαντικά αυξημένη στις 60 ημέρες, σε σχέση με τον αρχικό χρόνο επώασης των 3 ωρών. Στο διάγραμμα 30, αποτυπώνεται η σημαντικά χαμηλότερη εκχυλίσιμη συγκέντρωση Pb στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση, που είναι αποτέλεσμα της διαφορετικής συμπεριφοράς του Pb στις δυο μεταχειρίσεις στα προηγούμενα στάδια της κλασμάτωσης.

Πίνακας 16: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	34,0	1	34,0	1,24	0,272
Χρόνος	1895,4	5	379,1	13,90	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	1032,0	5	206,4	7,56	0,000
Σφάλμα	872,7	32	27,3		



Διάγραμμα 29: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

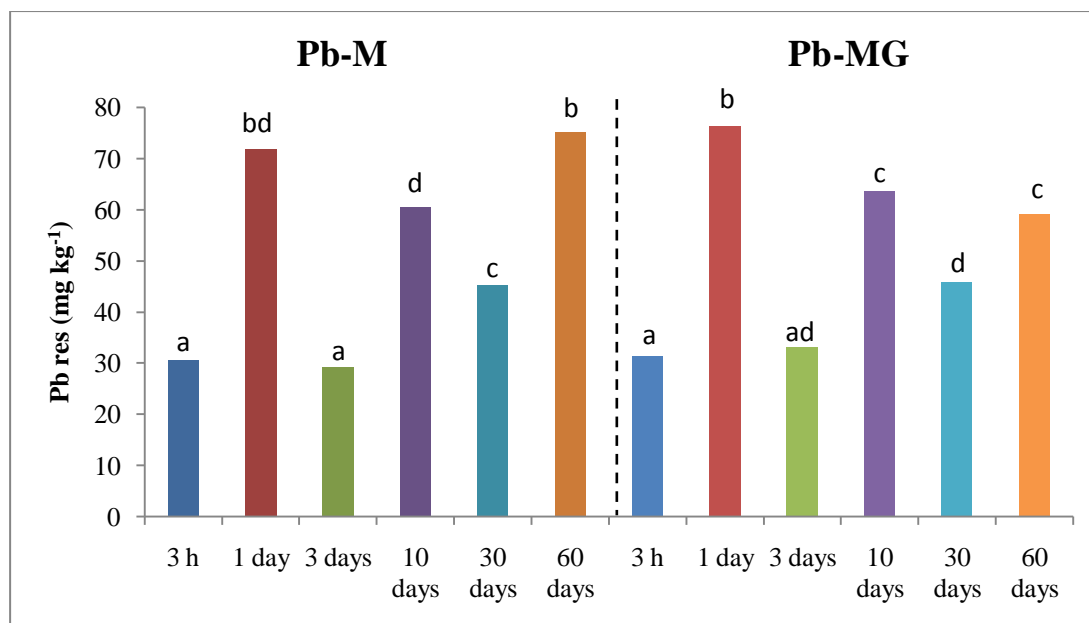


Διάγραμμα 30: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

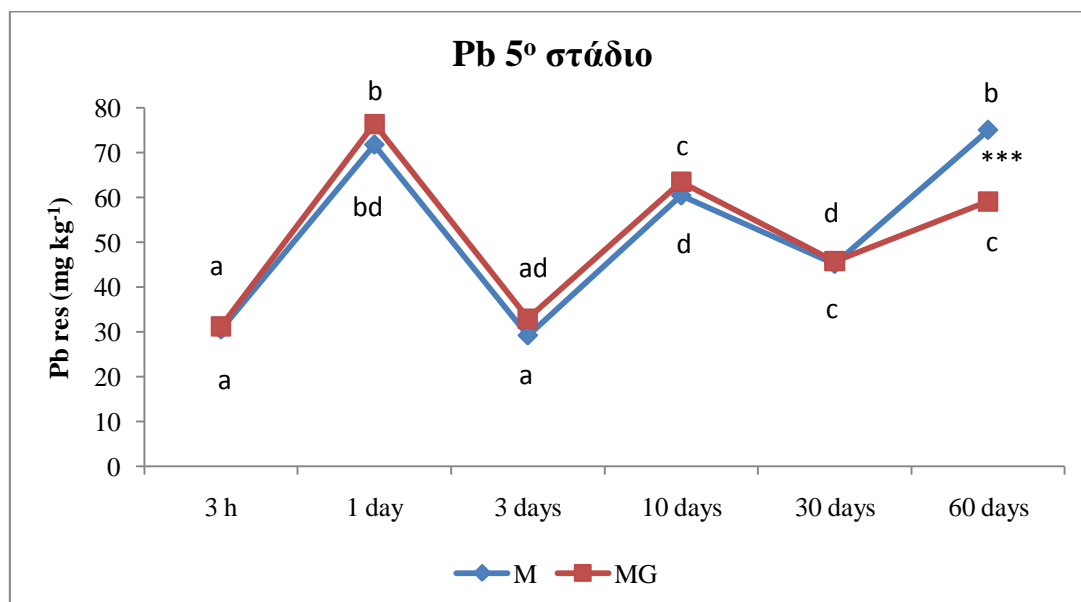
Από το πίνακα 17 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Pb. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 17). Από τα διαγράμματα 31 και 32 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Pb και στις δυο μεταχειρίσεις M (χωρίς γλυκόζη) και MG (παρουσία γλυκόζης), παρουσιάζει έντονη διακύμανση με το χρόνο με αποτέλεσμα τη σημαντική αύξηση της συγκέντρωσης του Pb στο υπολειμματικό κλάσμα στις 60 ημέρες, σε σχέση με τον αρχικό χρόνο επώασης των 3 ωρών. Στο διάγραμμα 32, όπου αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Pb παρατηρούμε τη χαμηλότερη εκχυλίσιμη συγκέντρωση Pb στις 60 ημέρες επώασης στη MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση, γεγονός που αποδίδεται στη διαφορετική συμπεριφορά του μετάλλου στις δυο μεταχειρίσεις στα δυο πρώτα στάδια της κλασμάτωσης.

Πίνακας 17: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Pb στο 5^ο στάδιο τις διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	2,9	1	2,9	0,12	0,728
Χρόνος	11594,1	5	2318,8	96,86	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	508,2	5	101,6	4,24	0,004
Σφάλμα	718,2	30	23,9		



Διάγραμμα 31: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Pb στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



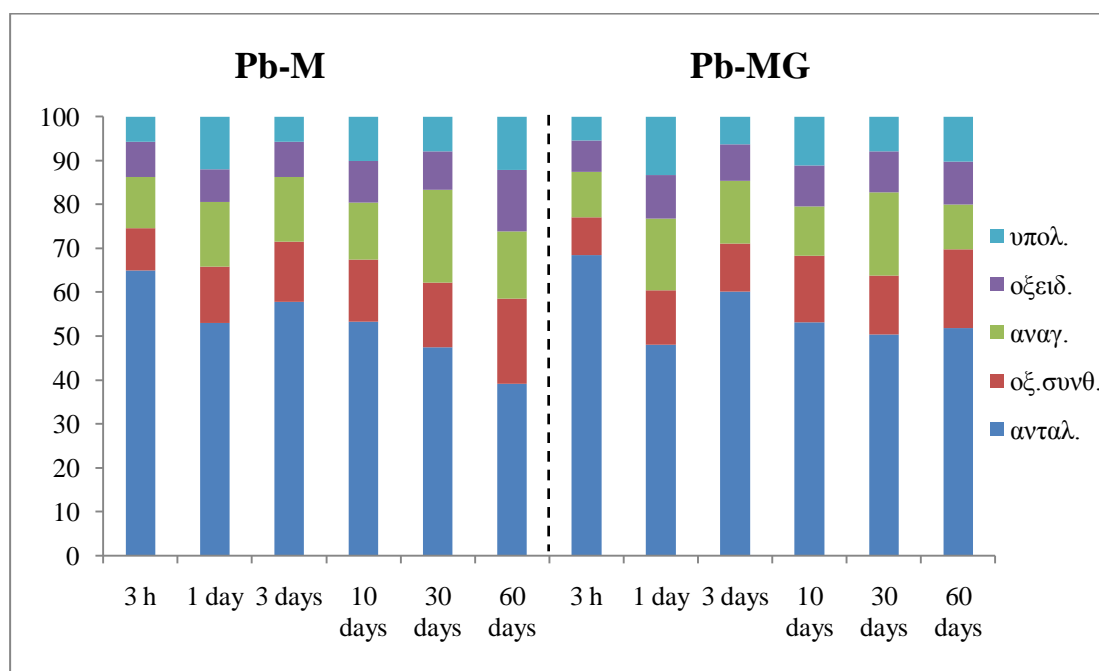
Διάγραμμα 32: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Pb στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Στο διάγραμμα 33 αποτυπώνεται η κατανομή % των συγκεντρώσεων των διαφόρων κλασμάτων του Pb για τους διάφορους χρόνους επώασης, για τις μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Η σειρά κατάταξης των κλασμάτων του Pb για την μεταχείριση M, για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών και 30 ημερών είναι η εξής: Pb ανταλ. >> Pb αναγ. > Pb οξ. συνθ. > Pb οξειδ. > Pb υπολ., για το χρόνο της 1 ημέρας και 3 ημερών η σειρά είναι: Pb ανταλ. >> Pb αναγ. > Pb οξ. συνθ. > Pb υπολ. > Pb οξειδ., για τις 10 ημέρες: Pb ανταλ. >> Pb οξ. συνθ. > Pb αναγ. > Pb υπολ. > Pb οξειδ., ενώ για τις 60 ημέρες είναι: Pb ανταλ. >> Pb οξ. συνθ. > Pb αναγ. > Pb οξειδ. > Pb υπολ. Για την μεταχείριση MG και για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 3 και 30 ημέρες η σειρά κατάταξης είναι η εξής: Pb ανταλ. >> Pb αναγ. > Pb οξ. συνθ. > Pb οξειδ. > Pb υπολ., για την επώαση της 1 ημέρας η σειρά είναι: Pb ανταλ. >> Pb αναγ. > Pb υπολ. > Pb οξ. συνθ. > Pb οξειδ., ενώ για την επώαση των 10 ημερών η κατάταξη: Pb ανταλ. >> Pb οξ. συνθ. > Pb αναγ. > Pb υπολ. > Pb οξειδ. είναι και τέλος για την επώαση των 60 ημερών η σειρά είναι: Pb ανταλ. >> Pb οξ. συνθ. > Pb υπολ. > Pb αναγ. > Pb οξειδ.

Από το διάγραμμα 33 παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση του Pb στο ανταλλάξιμο κλάσμα για την μεταχείριση M (απουσία γλυκόζης) μειώνεται από τις 3 ώρες στις 60 ημέρες (65% σε 39%) ενώ στο αναγώγιμο κλάσμα παρουσιάζει σταδιακή αύξηση στη συγκέντρωση του μέχρι τις 30 ημέρες (από 11,6% σε 21,1%) και τελικά στις 60 ημέρες σημειώνεται μείωση (15,3%). Αντίστοιχα η συγκέντρωση του Pb στα υπόλοιπα κλάσματα παρουσιάζει αύξηση από τις 3 ώρες στις 60 ημέρες. Πιο συγκεκριμένα, για τις εκχυλίσιμες μορφές του Pb σε όξινες συνθήκες από το 9,7% στις 3 ώρες αυξάνεται στο 19,5% στις 60 ημέρες, η συγκέντρωση του Pb στο οξειδώσιμο κλάσμα είναι 8% στις 3 ώρες και στις 60 ημέρες αυξάνεται στο 13,9%, και τέλος στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Pb παρατηρείται αύξηση από το 5,7% (3 ώρες) στο 12,1% (60 ημέρες).

Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης), η συγκέντρωση του Pb στο ανταλλάξιμο κλάσμα μειώνεται μέχρι τις 60 ημέρες (από 68,4% σε 51,8%), ωστόσο στο χρονικό διάστημα των 30 ημερών η μείωση που παρουσιάζεται στο ανταλλάξιμο κλάσμα του Pb είναι λίγο μεγαλύτερη (50,3%). Αντιθέτως το εκχυλίσιμο σε όξινες συνθήκες κλάσμα του Pb παρουσιάζει σταδιακή αύξηση σε όλους τους χρόνους επώασης (από 8,5% σε 18%) ενώ παρόμοια εικόνα παρουσιάζει και το οξειδώσιμο κλάσμα του Pb (από 7,1% σε 9,7%). Στο αναγώγιμο κλάσμα η συγκέντρωση του Pb αυξάνεται από 10% στις 3 ώρες στο 18,9% στις 30 ημέρες και στις 60 ημέρες

παρουσιάζεται πτώση στη συγκέντρωση του (10,2%). Τέλος στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Pb παρατηρείται μικρή αύξηση από το 5,5% (3 ώρες) στο 10,3% (60 ημέρες). Επιπρόσθετα παρατηρούμε πως και στις δύο μεταχειρίσεις η κυρίαρχη χημική μορφή του Pb (εκτός από την ανταλλάξιμη) είναι αυτή που είναι δεσμευμένη στα οξείδια του Fe-Mn και μετά ακολουθεί το δεσμευμένο κλάσμα στην οργανική ουσία. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα ευρήματα των M. Jalali, Z.V. Khanlari (2007) που παρατήρησαν ότι ο Pb εμφανίζει μια επιδεκτικότητα να συγκεντρώνεται στα οξείδια του Fe-Mn σε σύγκριση με τα υπόλοιπα κλάσματα ενώ και οι Norrstrom and Jacks (1998) βρήκαν ότι το 39-54% του Pb εντοπίζεται δεσμευμένο στα οξείδια του Fe-Mn. Επίσης σε εργασία των Lim et al. (2002) όπου μελέτησαν την επίδραση του χρόνου στην κλασμάτωση του Pb σε τροπικά παράκτια εδάφη πλούσια σε άργιλο, βρήκαν ότι σε τιμές pH=6, η συγκέντρωση του Pb στο ανταλλάξιμο και στο εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες κλάσμα μειώνεται μέχρι τις 65 ημέρες, ενώ στο αναγωγίμο κλάσμα παρατήρησαν ότι αυξάνεται η συγκέντρωση του Pb με την πάροδο του χρόνου. Στο οξειδώσιμο και στο υπολειμματικό κλάσμα δεν παρατήρησαν καμία ιδιαίτερη μεταβολή στη συγκέντρωση του Pb με το χρόνο.



Διάγραμμα 33: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Pb των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG.

Συγκρίνοντας στη συνέχεια τις συγκεντρώσεις του Pb στις δύο μεταχειρίσεις συμπεραίνουμε ότι καθοριστικό ρόλο στη συμπεριφορά και στην συγκέντρωση του μετάλλου είχε ο χρόνος επώασης ενώ η προσθήκη γλυκόζης είχε μικρή επίδραση. Στη περίπτωση της MG μεταχείρισης (παρουσία γλυκόζης), φαίνεται πως επειδή ο Pb δεν αποτελεί θρεπτικό στοιχείο για τους μικροοργανισμούς, δεν αφομοιώθηκε σημαντικά από αυτούς με αποτέλεσμα η αύξηση της μικροβιακής δραστηριότητας που προκλήθηκε από την προσθήκη της γλυκόζης να μην συμβάλλει ιδιαίτερα στην ακινητοποίηση του, όπως πολύ έντονα παρατηρήθηκε στην περίπτωση των Zn και Cu. Παρόλα αυτά στην MG μεταχείριση παρατηρήθηκε μια μικρή αλλά σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση του Pb στο 1^ο στάδιο της κλασμάτωσης (ανταλλάξιμο) τόσο στις 30 όσο και στις 60 ημέρες, σε σχέση με την M μεταχείριση, δηλαδή ενωρίτερα από ότι στις αντίστοιχες περιπτώσεις των Zn και Cu, που αφενός υποδηλώνει κάποιο βαθμό ακινητοποίησης του Pb αλλά και κάποια πιθανή ελαφρά τοξικότητα.

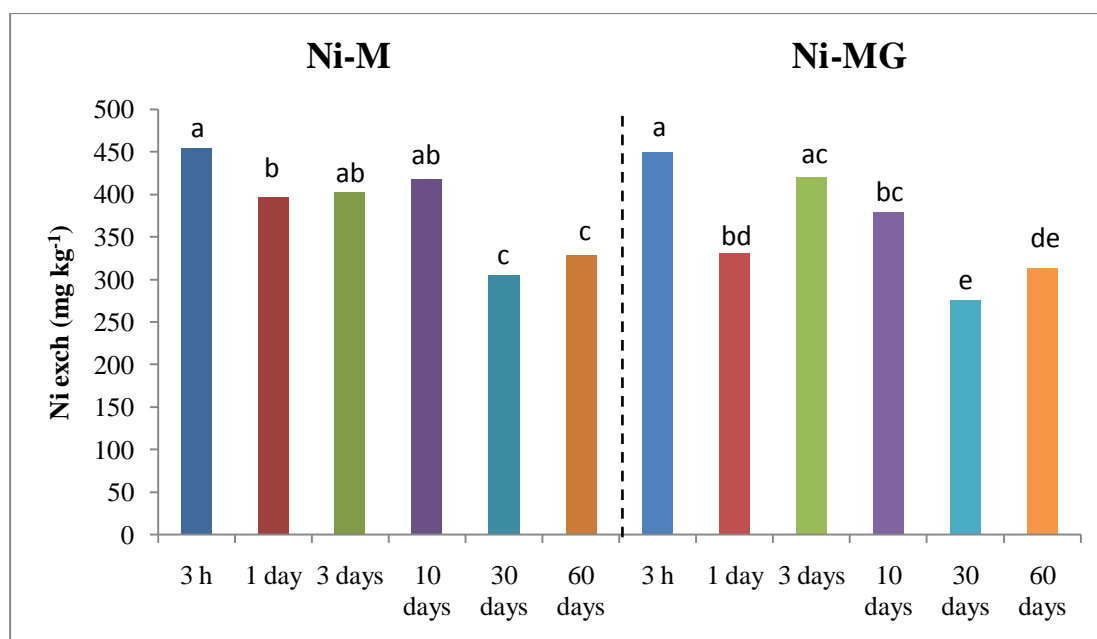
Συνοψίζοντας τις παραπάνω παρατηρήσεις μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στη περίπτωση της M μεταχείρισης (χωρίς γλυκόζη) η μείωση στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Pb στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών μεταφέρθηκε σταδιακά στα υπόλοιπα στάδια της κλασμάτωσης. Αποτέλεσμα ήταν η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Pb σ' αυτά τα στάδια. Στη περίπτωση της MG μεταχείρισης (παρουσία γλυκόζης) φαίνεται πως η αύξηση της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους που προκλήθηκε από την προσθήκη της γλυκόζης δεν συμβάλλει ιδιαίτερα στην ακινητοποίηση του μετάλλου. Η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Pb στις 60 ημέρες επώασης στο 2^ο, 4^ο και 5^ο στάδιο μπορεί να συνδυαστεί με τη μείωση των ποσοτήτων του μετάλλου στο 1^ο στάδιο και την μεταφορά τους στα συγκεκριμένα στάδια κλασμάτωσης.

5.4 Κλασμάτωση νικελίου (Ni)

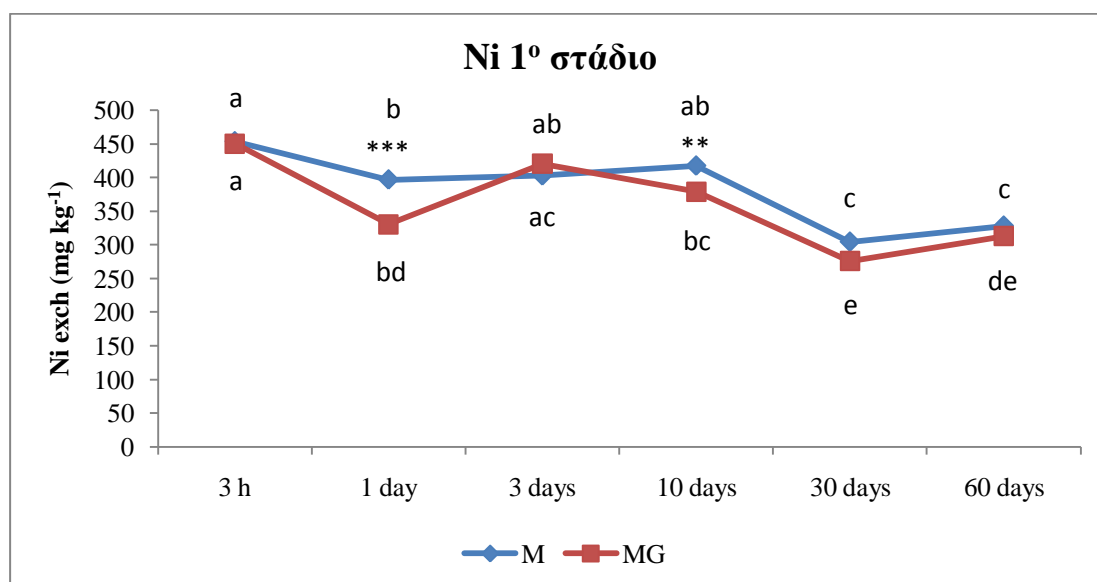
Από το πίνακα 18 συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Ni. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 18). Από τα διαγράμματα 34 και 35 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Ni στη μεταχείριση M (χωρίς γλυκόζη) και MG (παρουσία γλυκόζης) παρουσιάζει διακυμάνσεις με την πάροδο του χρόνου και τελικά στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών σημειώνεται μείωση στη συγκέντρωση του με αποτέλεσμα τη στατιστικά σημαντική διαφορά που εμφανίζεται, σχέση με τον αρχικό χρόνο επώασης των 3 ωρών. Αν και η προσθήκη γλυκόζης αποτέλεσε μια σημαντική πηγή ενέργειας για την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους με αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητάς της και την επακόλουθη ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων των Zn και Cu μέχρι τις 30 ημέρες στη περίπτωση του Ni φαίνεται ότι δεν επηρεάζει καθόλου τη συμπεριφορά και την διαθεσιμότητα του μετάλλου. Στο διάγραμμα 35, αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών του Ni και για τις δύο μεταχειρίσεις M και MG όπου παρουσιάζουν την ίδια σχεδόν συμπεριφορά. Η παρατηρούμενη μείωση της συγκέντρωσης των ανταλλάξιμων μορφών του Ni στις 60 ημέρες για τις δύο μεταχειρίσεις, μπορεί να αποδοθεί στο χρόνο επώασης δηλαδή ότι με τη πάροδο του χρόνου η συγκέντρωση του Ni τείνει να μειωθεί και να μεταφερθεί στα υπόλοιπα κλάσματα.

Πίνακας 18: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	4698	1	4698	15,01	0,000
Χρόνος	109579	5	21916	70,01	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	7188	5	1438	4,59	0,003
Σφάλμα	8139	26	313		



Διάγραμμα 34: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

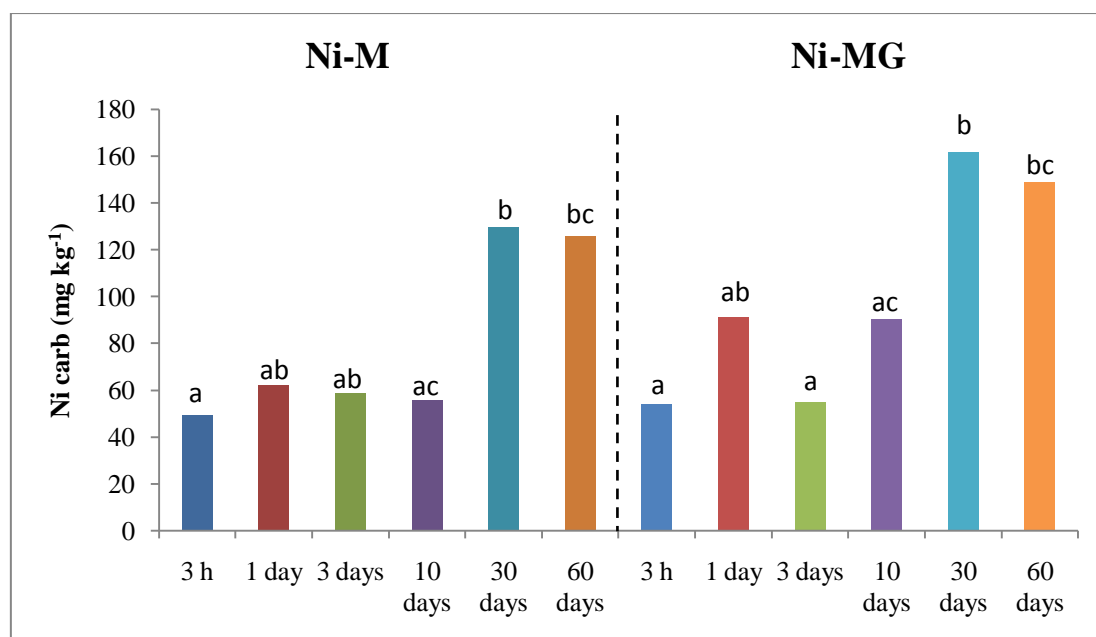


Διάγραμμα 35: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

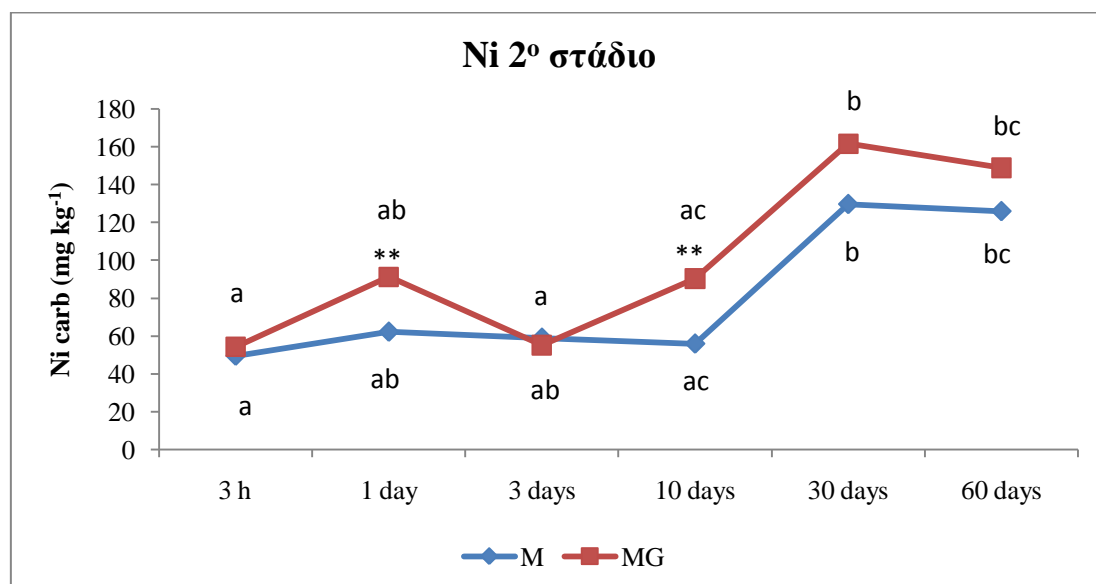
Με βάση την ανάλυση διασποράς και της σύγκρισης των μέσων για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (Πίνακας 19), δεν παρατηρήθηκε καμία σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) στη συγκέντρωση των εκχυλίσιμων μορφών του Ni σε όξινες συνθήκες. Αντιθέτως, παρατηρείται σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και του χρόνου επώασης (Πίνακας 19). Από τα διαγράμματα 36 και 37 παρατηρούμε πως η συγκέντρωση του Ni παρουσιάζει διακύμανση με την πάροδο του χρόνου και στις δύο μεταχειρίσεις M και MG (χωρίς γλυκόζη-παρουσία γλυκόζης) και τελικά στις 60 ημέρες σημειώνεται αύξηση στη συγκέντρωσή του, με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται. Η παρατηρούμενη διακύμανση στη συγκέντρωση των εκχυλίσιμων μορφών του Ni σε όξινες συνθήκες συνδέεται με τις συγκεντρώσεις που παρατηρήθηκαν στο ανταλλάξιμο Ni και υποδηλώνει τη σταθερότητα και συμπληρωματικότητα των δυο πρώτων κλασμάτων δηλαδή η μείωση που σημειώθηκε στη συγκέντρωση του Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης μεταφέρθηκε στο 2^ο στάδιο προκαλώντας έτσι την αύξηση της συγκέντρωσής του. Στο διάγραμμα 37, αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των εκχυλίσιμων μορφών Ni σε όξινες συνθήκες για τις M και MG μεταχειρίσεις που παρουσιάζουν ίδια σχεδόν συμπεριφορά.

Πίνακας 19: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	4001,2	1	4001,2	6,17	0,019
Χρόνος	56031,3	5	11206,3	17,28	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	2150,6	5	430,1	0,66	0,654
Σφάλμα	18800,4	29	648,3		



Διάγραμμα 36: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

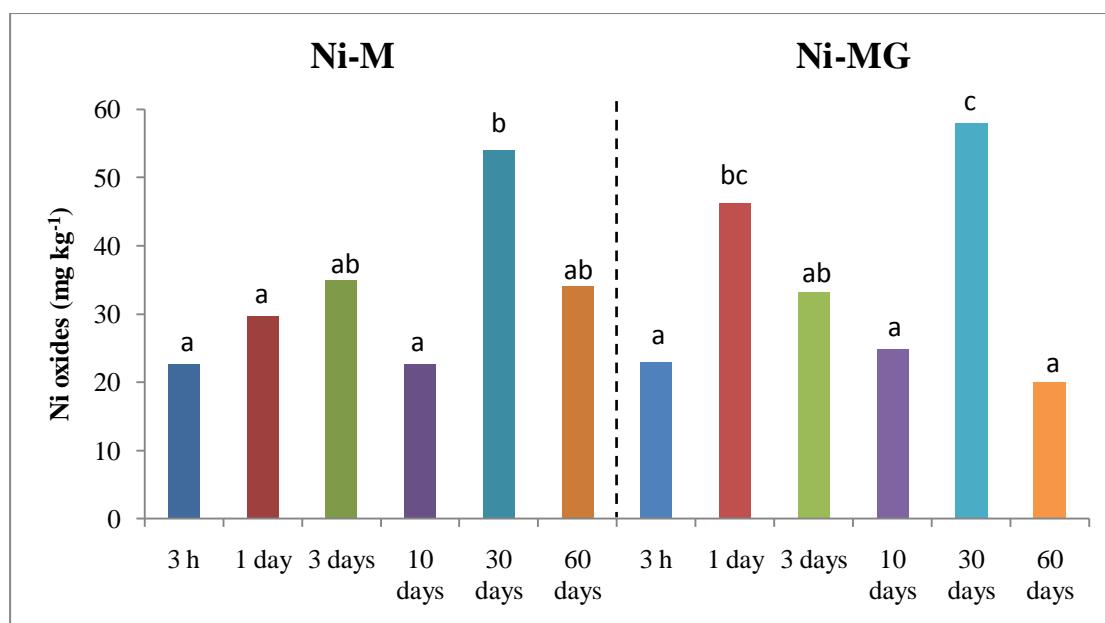


Διάγραμμα 37: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές εκχυλίσιμες σε όξινες συνθήκες). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

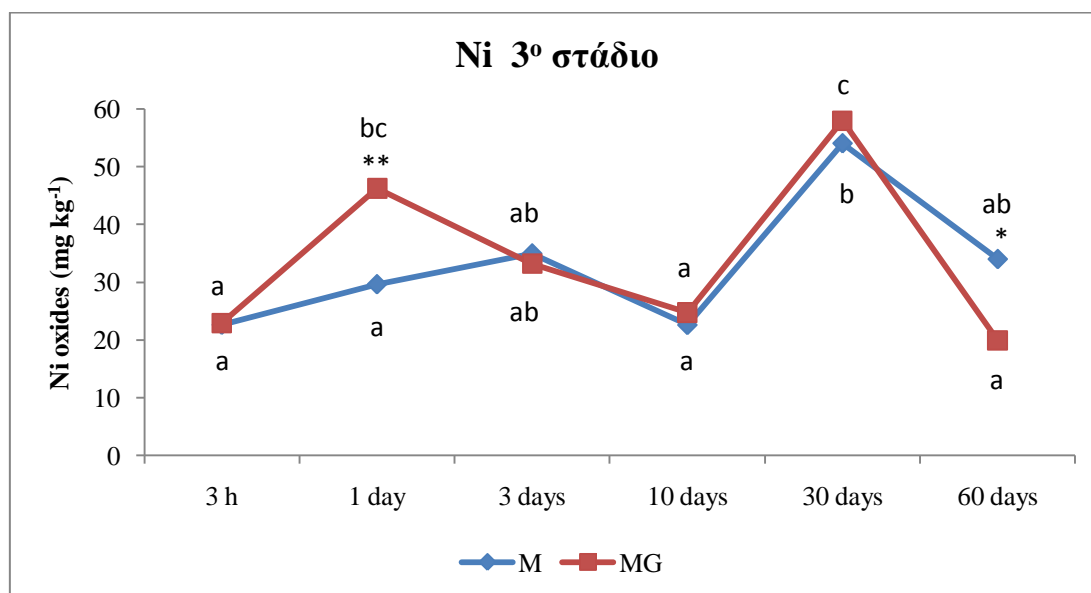
Με βάση την ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση του Ni στο αναγωγίμο κλάσμα (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) (Πίνακας 20) συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη). Αντιθέτως, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 20). Αναλυτικότερα από τα διαγράμματα 38 και 39 παρατηρούμε ότι σημειώνεται διακύμανση στη συγκέντρωση του Ni με την πάροδο του χρόνου και στις δυο μεταχειρίσεις M και MG. Η αύξηση αυτή, πιθανότατα συνδέεται με τη μείωση που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης και που είχε ως αποτέλεσμα τη σταδιακή μεταφορά ποσοτήτων του μετάλλου στα επόμενα στάδια. Επιπρόσθετα αυτό υποδηλώνει τη τάση που έχουν τα μέταλλα στο έδαφος να μετασχηματίζονται από τις ασθενώς δεσμευμένες μορφές σε πιο σταθερές. Στο διάγραμμα 39, αποτυπώνεται η μειωμένη συγκέντρωση Ni στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση, των σχετικά μικρών διαφοροποιήσεων στη συμπεριφορά του Ni στις δυο μεταχειρίσεις στα προηγούμενα στάδια κλασμάτωσης. Αξίζει να σημειωθεί πως η συγκέντρωση του Ni παρουσιάζει ίδια σχεδόν συμπεριφορά και στις δύο μεταχειρίσεις με την επίδραση του χρόνου και την παρουσία γλυκόζης.

Πίνακας 20: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	11,31	1	11,31	0,22	0,642
Χρόνος	4892,3	5	978,4	19,12	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	790,8	5	158,1	3,09	0,024
Σφάλμα	1381,0	27	51,1		



Διάγραμμα 38: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

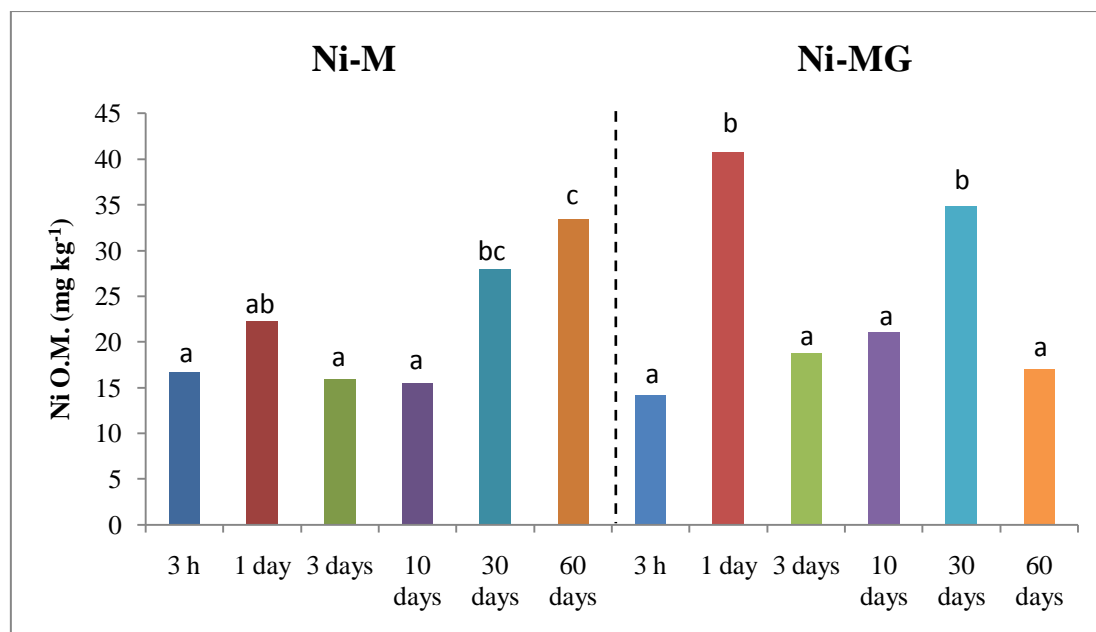


Διάγραμμα 39: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 3^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στα οξείδια Fe και Mn). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

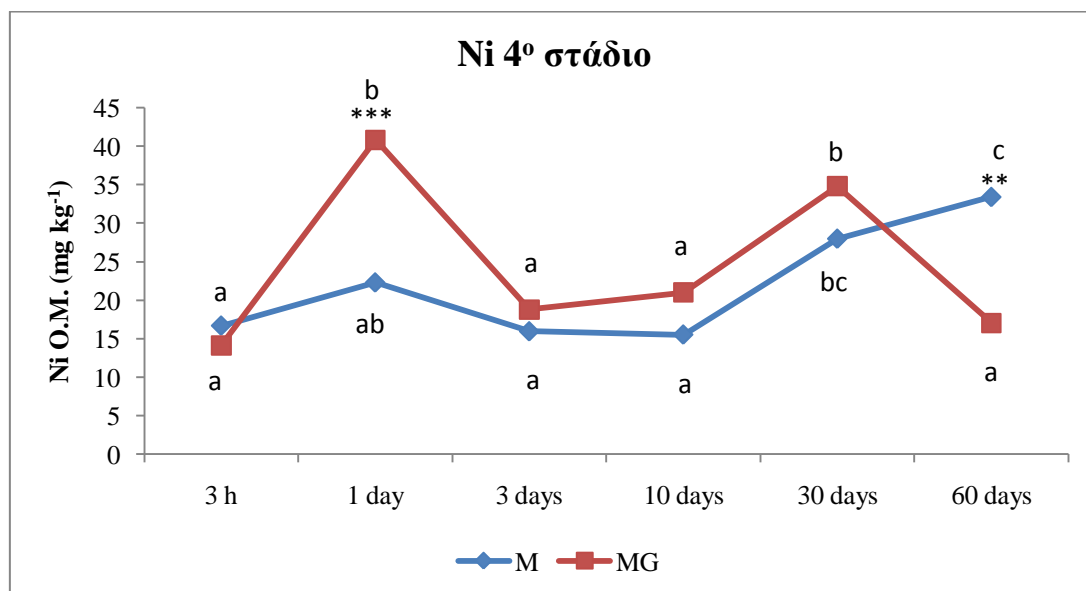
Από το πίνακα 21 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) στη συγκέντρωση του Ni στο οξειδώσιμο κλάσμα δηλαδή τις μορφές που είναι δεσμευμένες στην οργανική ουσία. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) (Πίνακας 21). Από τα διαγράμματα 40 και 41 παρατηρούμε ότι στη μεταχείριση M (χωρίς γλυκόζη) παρατηρείται μια αυξητική τάση μετά τις 10 ημέρες επώασης με αποτέλεσμα τη στατιστική σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στις 30 και 60 ημέρες αντίστοιχα. Αντιθέτως στη περίπτωση της MG μεταχείρισης (παρουσία γλυκόζης), παρατηρείται διακύμανση με αποτέλεσμα η συγκέντρωση του Ni στις 60 ημέρες να μη διαφέρει σημαντικά από αυτή στον αρχικό χρόνο επώασης. Στο διάγραμμα 41, αποτυπώνεται η μειωμένη συγκέντρωση Ni στις 60 ημέρες επώασης στην MG μεταχείριση σε σχέση με την M μεταχείριση. Η παρατηρούμενη σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των δεσμευμένων στην οργανική ουσία μορφών του Ni στις 60 ημέρες για τη MG μεταχείριση, υποδηλώνει ότι η μείωση που παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση του Ni στις 60 ημέρες επώασης δεν μεταφέρθηκε στο 4^ο στάδιο αλλά μόνο μέχρι το 2^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης.

Πίνακας 21: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	63,5	1	63,5	4,04	0,052
Χρόνος	1851,2	5	370,2	23,58	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	1147,6	5	229,5	14,61	0,000
Σφάλμα	486,7	31	15,7		



Διάγραμμα 40: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.

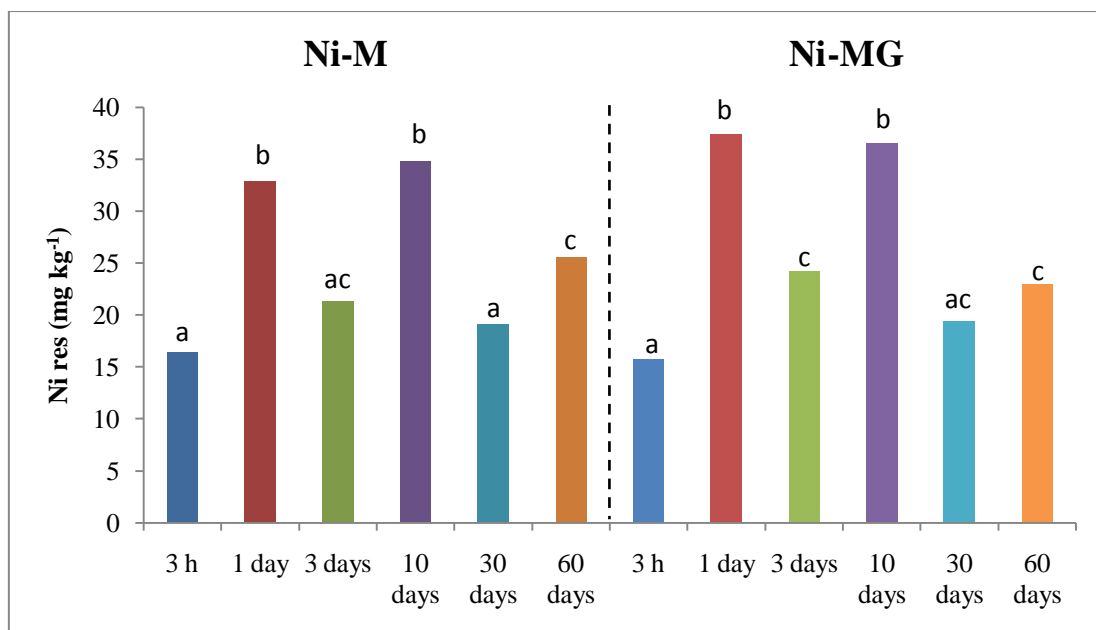


Διάγραμμα 41: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 4^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (μορφές δεσμευμένες στην οργανική ουσία). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

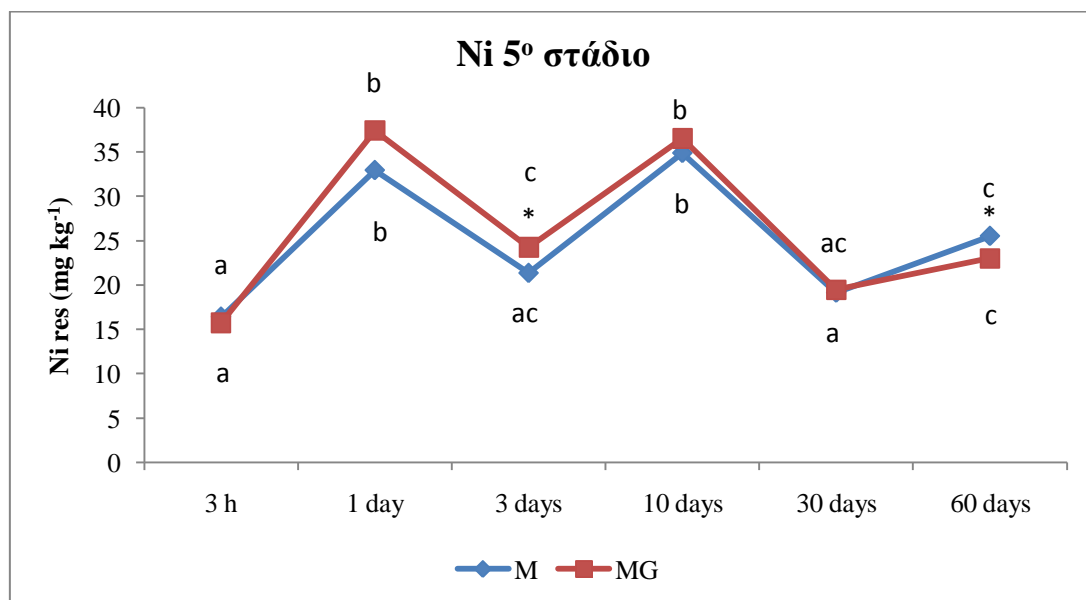
Από το πίνακα 22 συμπεραίνουμε ότι δεν υπάρχει σημαντική επίδραση της μεταχείρισης (γλυκόζη-μη γλυκόζη) και σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων (χρόνου και μεταχείρισης) στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών του Zn. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης (Πίνακας 22). Από τα διαγράμματα 42 και 43 παρατηρούμε έντονη διακύμανση στη συγκέντρωση του Ni και στις δυο μεταχειρίσεις M και MG (χωρίς γλυκόζη-παρουσία γλυκόζης), με την πάροδο του χρόνου, με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών, δηλαδή το υπολειμματικό κλάσμα του Ni αυξήθηκε στις 60 ημέρες, σε σχέση με τον αρχικό χρόνο επώασης, ανεξάρτητα από τη μεταχείριση. Στο παρακάτω διάγραμμα 43, αποτυπώνεται η επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση των υπολειμματικών μορφών Ni για τις M και MG μεταχειρίσεις, που παρουσιάζουν ίδια συμπεριφορά.

Πίνακας 22: Ανάλυση διασποράς για τη συγκέντρωση Ni στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Μεταχείριση	12,5	1	12,5	2,10	0,155
Χρόνος	2669,6	5	533,9	89,51	0,000
Μεταχείριση x Χρόνος	60,1	5	12,0	2,01	0,100
Σφάλμα	208,7	35	5,9		



Διάγραμμα 42: Επίδραση του χρόνου στη συγκέντρωση Ni στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές) για τις δυο μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για την κάθε μεταχείριση.



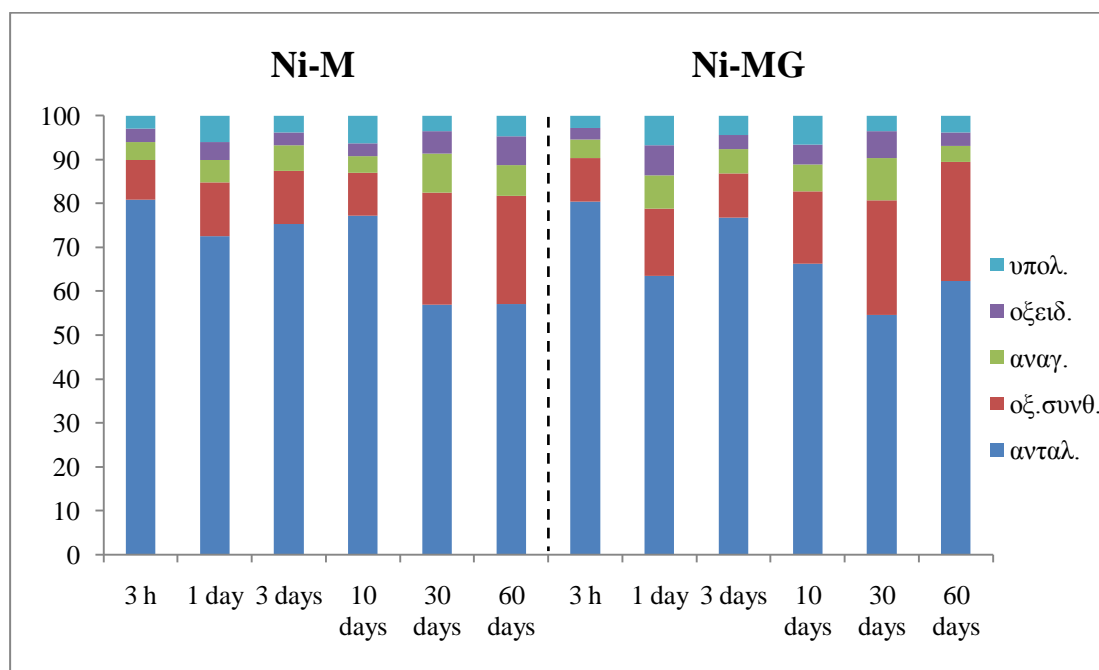
Διάγραμμα 43: Επίδραση του χρόνου και της μεταχείρισης στη συγκέντρωση Ni στο 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (υπολειμματικές μορφές). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey’s HSD test ($\alpha < 0,05$) και ισχύουν οριζόντια. Παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία στατιστικά σημαντικής διαφοράς. Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων (M και MG) για τον κάθε χρόνο επώασης ελέγχθηκαν με t-test (*: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$).

Στο διάγραμμα 44 αποτυπώνεται η κατανομή % των συγκεντρώσεων των διαφόρων κλασμάτων του Ni για τους διάφορους χρόνους επώασης, για τις μεταχειρίσεις M (απουσία γλυκόζης) και MG (παρουσία γλυκόζης). Η σειρά κατάταξης των κλασμάτων του Ni για την μεταχείριση M, για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 30 και 60 ημερών είναι η εξής: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni αναγ. > Ni οξειδ. > Ni υπολ., για το χρόνο της 1 ημέρας και 10 ημερών η σειρά είναι: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni υπολ. > Ni αναγ. > Ni οξειδ., ενώ για τις 3 ημέρες: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni αναγ. > Ni υπολ. > Ni οξειδ. Για την μεταχείριση MG και για τους χρόνους επώασης των 3 ωρών, 1 ημέρας και 3 ημερών η σειρά κατάταξης είναι η εξής: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni αναγ. > Ni υπολ. > Ni οξειδ., ενώ για την επώαση των 30 ημερών η σειρά είναι: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni αναγ. > Ni οξειδ. > Ni υπολ. και τέλος για την επώαση των 10 και 60 ημερών η σειρά είναι: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni υπολ. > Ni αναγ. > Ni οξειδ.

Η συγκέντρωση του Ni στο ανταλλάξιμο κλάσμα για την μεταχείριση M, παρουσιάζει σχεδόν την ίδια συμπεριφορά με τα υπόλοιπα στοιχεία, όπου και σε αυτά παρατηρείται μείωση στην συγκέντρωση τους με την πάροδο του χρόνου. Πιο αναλυτικά από το διάγραμμα 44 παρατηρούμε ότι η συγκέντρωση του Ni στο ανταλλάξιμο κλάσμα μειώνεται από το 80,8% στις 3 ώρες στο 57,1% στις 60 ημέρες. Ενώ στη συγκέντρωση του Ni στο αναγώγιμο κλάσμα παρατηρείται αύξηση μέχρι τις 30 ημέρες, από 4,1% στις 3 ώρες στο 9%, τελικά στις 60 ημέρες σημειώνεται μείωση στη συγκέντρωση του (6,9%). Στα υπόλοιπα τρία κλάσματα, το εκχυλίσσιμο σε όξινες συνθήκες, το οξειδώσιμο και το υπολειμματικό η συγκέντρωση του Ni παρουσιάζει αυξητική τάση με την πάροδο του χρόνου με αποτέλεσμα την αύξηση που παρατηρείται στη συγκέντρωση του στις 60 ημέρες. Οι Ma et al. (1997) οι οποίοι μελέτησαν την κλασμάτωση του Ni σε επιβαρυμένα εδάφη με διάφορες τιμές pH βρήκαν ότι η συγκέντρωση του Ni μειώνεται στο ανταλλάξιμο κλάσμα και αυξάνεται στο αναγώγιμο και στο υπολειμματικό κλάσμα.

Στη μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης) η συγκέντρωση του Ni στο ανταλλάξιμο κλάσμα μειώνεται μέχρι τις 60 ημέρες (από 80,5% σε 62,2%), ωστόσο στο χρονικό διάστημα των 30 ημερών η μείωση που παρουσιάζεται στο ανταλλάξιμο κλάσμα του Ni είναι λίγο μεγαλύτερη (54,6%). Αντιθέτως το εκχυλίσσιμο σε όξινες συνθήκες κλάσμα του Ni παρουσιάζει σταδιακή αύξηση με το χρόνο επώασης (από 9,9% σε 27,2%) ενώ παρόμοια εικόνα παρουσιάζει και το υπολειμματικό κλάσμα του Ni (από 2,9% σε 3,9%). Στο αναγώγιμο κλάσμα η συγκέντρωση του Ni αυξάνεται από 4,2%

στις 3 ώρες στο 9,7% στις 30 ημέρες και στις 60 ημέρες παρουσιάζεται πτώση στη συγκέντρωση του (3,6%). Τέλος η συγκέντρωση του Ni στο οξειδώσιμο κλάσμα παρουσιάζει μικρή αύξηση από το 2,6% (3 ώρες) στο 6,3% (30 ημέρες) και τελικά στις 60 ημέρες σημειώνεται πτώση (3,1%). Επιπρόσθετα παρατηρούμε ότι και στις δύο μεταχειρίσεις με την πάροδο του χρόνου παρουσιάζεται αύξηση στη συγκέντρωση του Ni που είναι δεσμευμένο στα οξείδια Fe-Mn και την οργανική ουσία. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρουν και οι Achiba et al. (2009) οι οποίοι μελέτησαν την πενταετή επίδραση δημοτικών υγρών αποβλήτων στην κλασμάτωση και στην κινητικότητα των βαρέων μετάλλων σε ένα ασβεστούχο έδαφος της Τυνησίας και παρατήρησαν μια αύξηση στη συγκέντρωση του Ni στο οξειδώσιμο κλάσμα του.



Διάγραμμα 44: Κατανομή % ως προς το άθροισμα των συγκεντρώσεων Ni των πέντε κλασμάτων (ανταλ.: ανταλλάξιμο-υδατοδιαλυτό, οξ. συνθ.: εκχυλίσμο σε όξινες συνθήκες, αναγ.: εκχυλίσμο υπό αναγωγικές συνθήκες, οξειδ.: εκχυλίσμο υπό οξειδωτικές συνθήκες, υπολ.: υπολειμματικές μορφές) για τις μεταχειρίσεις M και MG.

Συγκρίνοντας στη συνέχεια τις συγκεντρώσεις του Ni στις δύο μεταχειρίσεις παρατηρούμε ότι παρουσιάζουν σχεδόν την ίδια εικόνα και ότι μόνο ο χρόνος επώασης επηρεάζει την διαθεσιμότητα του μετάλλου. Η προσθήκη γλυκόζης στη

μεταχείριση MG (παρουσία γλυκόζης), συμπεραίνουμε ότι δεν επηρεάζει την διαθεσιμότητα του Ni οπότε και την κατανομή του στα υπόλοιπα κλάσματα. Πιθανότατα αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί του εδάφους παρουσιάζουν μια ουδετερότητα για την προσρόφηση του Ni και γι αυτό δεν παρατηρήθηκε ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων του μετάλλου στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης.

Συνοψίζοντας τις παραπάνω παρατηρήσεις μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στη περίπτωση της M μεταχείρισης (χωρίς γλυκόζη) η μείωση στη συγκέντρωση του ανταλλάξιμου Ni στις 60 ημέρες μεταφέρθηκε σταδιακά στο 2^ο, 4^ο και 5^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης. Αποτέλεσμα ήταν η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Ni σ' αυτά τα στάδια. Στη περίπτωση της MG μεταχείρισης (παρουσία γλυκόζης) φαίνεται πως η προσθήκη της γλυκόζης δεν επέδρασε σημαντικά στη συγκέντρωση του Ni. Η παρατηρούμενη αύξηση στη συγκέντρωση του Ni στις 60 ημέρες στο 2^ο και 5^ο στάδιο μπορεί να συνδυαστεί με τη μείωση των ποσοτήτων του μετάλλου στο 1^ο στάδιο και την μεταφορά τους στα συγκεκριμένα στάδια κλασμάτωσης.

5.5 Διαθέσιμες μορφές βαρέων μετάλλων (DTPA)

Στις μεταχειρίσεις του DTPA μελετήσαμε μόνο τον παράγοντα χρόνο, περιλαμβάνοντας μόνο τα χρονικά διαστήματα επώασης των 3 ωρών και 60 ημερών αντίστοιχα.

Με βάση την ανάλυση διασποράς και της σύγκρισης των μέσων για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=5\%$ (Πίνακας 23), συμπεραίνουμε ότι υπάρχει σημαντική επίδραση του χρόνου επώασης στις συγκεντρώσεις των βιοδιαθέσιμων μορφών των τεσσάρων μετάλλων δηλαδή του Zn, Cu, Pb και Ni. Πιο αναλυτικά από το διάγραμμα 45 (α) που ακολουθεί, παρατηρούμε μια μείωση στις συγκεντρώσεις των τεσσάρων μετάλλων για το χρονικό διάστημα των 3 ωρών έως στις 60 ημέρες, με αποτέλεσμα τη στατιστικά σημαντική διαφορά που εμφανίζεται στο συγκεκριμένο χρονικό διάστημα επώασης. Επιπρόσθετα στην περίπτωση του Pb η μείωση στη συγκέντρωση του είναι πιο έντονη σε σχέση με τα υπόλοιπα μέταλλα. Συγκεκριμένα στο Zn, η μείωση στη συγκέντρωση του ανέρχεται στο 12,4%, αντίστοιχα η συγκέντρωση του Cu παρουσιάζει μια μείωση κατά 36,6%, ενώ στο Pb η μείωση είναι 87,5% και τέλος στο Ni είναι 12,3%. Επιπρόσθετα στις 3 ώρες επώασης εκχυλίζονται με DTPA 94,12

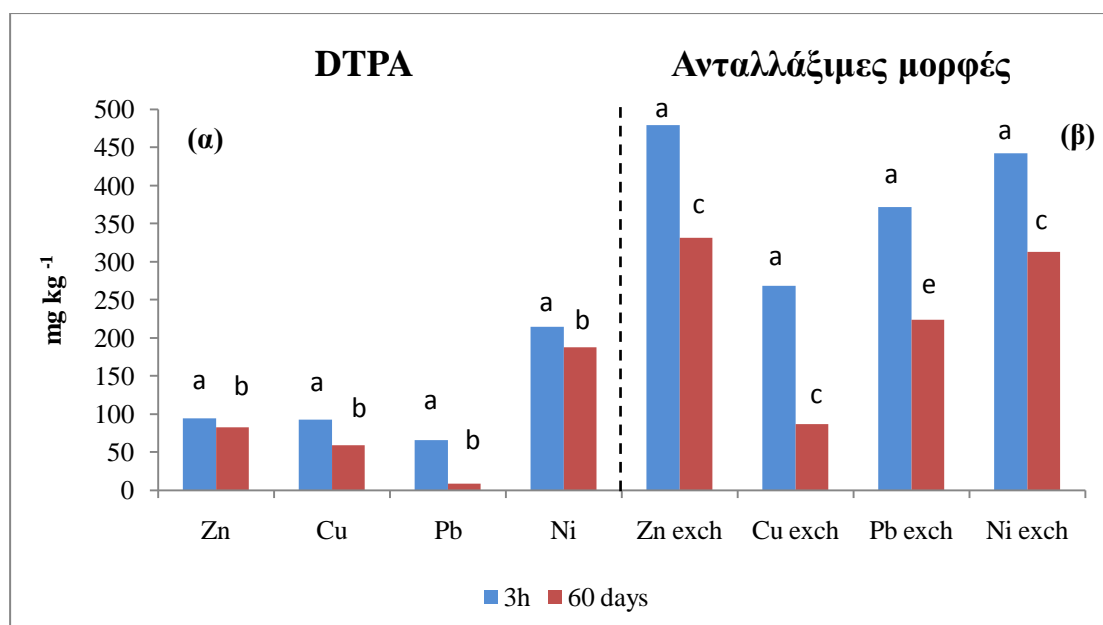
mg kg⁻¹ Zn σε σχέση με την αρχική ποσότητα βαρέων μετάλλων που προσθέσαμε στο έδαφος (επιμόλυνση), δηλαδή ποσοστό 18,8% ενώ για το χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών μειώνεται η ποσότητα που εκχυλίζεται με DTPA (82,49 mg kg⁻¹ Zn) που αντιστοιχεί σε ποσοστό 16,4%. Αντίστοιχα το ποσοστό του Cu που εκχυλίζεται με DTPA μετά από τις 3 ώρες επώασης ανέρχεται στο 18,4% (92,66 mg kg⁻¹) ενώ στις 60 ημέρες παρουσιάζει μείωση και φθάνει το 11,7% (58,72 mg kg⁻¹). Το ποσοστό του Pb που εκχυλίζεται με DTPA στις 3 ώρες είναι 13,1% (65,6 mg kg⁻¹) ενώ στις 60 ημέρες επώασης το ποσοστό φθάνει μόλις το 1,6% (8,21 mg kg⁻¹). Αυτό σημαίνει ότι ο Pb παύει να είναι βιοδιαθέσιμος (DTPA) παρά πολύ γρήγορα σε ποσοστό άνω του 98%. Τέλος το ποσοστό του Ni που είναι βιοδιαθέσιμο ύστερα από 3 ώρες επώασης είναι 42,8% (214,2 mg kg⁻¹) ενώ για το χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών το ποσοστό μειώνεται στο 37,5% (187,92 mg kg⁻¹). Παρατηρούμε λοιπόν, πως το εκχυλίσσιμο με DTPA κλάσμα και των τεσσάρων μετάλλων παρουσιάζει πολύ μεγάλη μείωση σε χρονικό διάστημα μόλις τριών ωρών από την προσθήκη τους στο έδαφος, μείωση που συνεχίζεται με την πάροδο του χρόνου.

Πίνακας 23: Ανάλυση διασποράς για τις βιοδιαθέσιμες μορφές (DTPA) των 4 βαρέων μετάλλων Zn, Cu, Pb, Ni για επίπεδο σημαντικότητας α=5% (οι έντονοι αριθμοί δείχνουν στατιστικά σημαντική επίδραση).

Zn-DTPA					
	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Χρόνος	202,8	1	202,81	44,64	0,002
Σφάλμα	18,1	4	4,54		
Cu-DTPA					
	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Χρόνος	1727,7	1	1727,77	370,19	0,000
Σφάλμα	18,6	4	4,67		
Pb-DTPA					
	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Χρόνος	4946,9	1	4946,924	109,03	0,000
Σφάλμα	181,4	4	45,370		
Ni-DTPA					
	A.T.	B.E.	M.T.	F	p
Χρόνος	1036,2	1	1036,2	13,82	0,020
Σφάλμα	299,8	4	75,0		

Στο διάγραμμα 45 αποτυπώνεται η σύγκριση των ποσοτήτων των βαρέων μετάλλων που εκχυλίζονται με DTPA, καθώς και των ποσοτήτων που εκχυλίζονται με $MgCl_2$ που αντιστοιχεί στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης (ανταλλάξιμες μορφές), για την M μεταχείριση. Οι συγκεντρώσεις των ανταλλάξιμων μορφών των μετάλλων όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 45(β) παρουσιάζουν σημαντική μείωση στο χρονικό διάστημα επώασης μεταξύ 3 ωρών και 60 ημερών, με αποτέλεσμα τη σημαντική διαφορά που εμφανίζεται. Πιο αναλυτικά η ποσότητα ανταλλάξιμου Zn που εκχυλίζεται με $MgCl_2$ στο χρονικό διάστημα επώασης των 3 ημερών επώασης είναι 95% ενώ στις 60 ημέρες παρουσιάζει μείωση και φθάνει το 65,5%. Αντίστοιχα για τον Cu στις 3 ώρες επώασης το ποσοστό αυτό ανέρχεται στο 53,5% και στις 60 ημέρες είναι 17,2% ενώ για το Pb στο χρονικό διάστημα επώασης των 3 ωρών το ποσοστό ανέρχεται στο 72,8% και στις 60 ημέρες το ποσοστό είναι 43,1%. Τέλος το ποσοστό του Ni που εκχυλίζεται με $MgCl_2$ ύστερα από 3 ώρες επώασης είναι 87,5% ενώ για το χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών το ποσοστό μειώνεται στο 61,4%.

Από τη σύγκριση των δυο αντιδραστηρίων παρατηρούμε ότι το $MgCl_2$ είναι πιο ισχυρό αφού εκχυλίζει μεγαλύτερες ποσότητες βαρέων μετάλλων σε σχέση με το DTPA. Αναλυτικότερα για τον Zn η ποσότητα που εκχυλίζεται με DTPA σε σχέση με το ανταλλάξιμο κλάσμα (1^ο στάδιο κλασμάτωσης) στις 3 ώρες επώασης είναι 19,6% ενώ στις 60 ημέρες είναι 24,9%. Αντίστοιχα για τα υπόλοιπα στοιχεία έχουμε: για τον Cu στις 3 ώρες το ποσοστό αυτό ανέρχεται στο 34,5%, και στις 60 ημέρες είναι 64,9%, για τον Pb στις 3 ώρες το ποσοστό είναι 17,6%, στις 60 ημέρες είναι 3,6% και τέλος στο Ni το ποσοστό ανέρχεται στο 48,4% στις 3 ώρες επώασης και στις 60 ημέρες στο 60,1%. Βασιζόμενοι σε αυτές τις τάσεις θα μπορούσαμε να υποθέσουμε πως με την πάροδο του χρόνου όσο το εδαφικό σύστημα έρχεται σε ισορροπία τα δύο εκχυλιστικά τείνουν στο να εκχυλίσουν παρόμοιες ποσότητες μετάλλων, όπως φαίνεται κυρίως από τις περιπτώσεις των Cu και Ni, αλλά σίγουρα για να επιβεβαιωθεί αυτή η υπόθεση χρειάζεται περαιτέρω έρευνα και μεγαλύτερα χρονικά διαστήματα επώασης



Διάγραμμα 45: Επίδραση του χρόνου στις συγκεντρώσεις (α) των βιοδιαθέσιμων (DTPA) και (β) των ανταλλάξιμων ($MgCl_2$) μορφών των 4 μετάλλων Zn, Cu, Pb και Ni για την μεταχείριση M (απουσία γλυκόζης). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το Tukey's HSD test ($\alpha \leq 0,05$). Η παρουσία κοινού γράμματος υποδηλώνει απουσία σημαντικής διαφοράς και οι συγκρίσεις ισχύουν ξεχωριστά για το (α) και (β).

Συνοψίζοντας τα παραπάνω μπορούμε να συμπεράνουμε ότι όταν η ρύπανση των εδαφών είναι σχετικά πρόσφατη το $MgCl_2$ εκχυλίζει μεγαλύτερες ποσότητες βαρέων μετάλλων σε σχέση με το DTPA. Επιπρόσθετα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι όταν παρατηρούμε αυξημένες τιμές στις συγκεντρώσεις των βιοδιαθέσιμων μορφών (DTPA) των βαρέων μετάλλων, πιθανότατα αποτελούν μια ένδειξη ότι η ρύπανση-επιβάρυνση των εδαφών είναι σχετικά πρόσφατη. Σε παρόμοια συμπεράσματα κατέληξαν και οι Massas et al. (2010) που παρατήρησαν ότι σε εδάφη προερχόμενα από παιδικές χαρές της Αθήνας η συγκέντρωση των βιοδιαθέσιμων μορφών ήταν αυξημένη και ότι πιθανά αυτό αποτελεί ένδειξη πρόσφατης ρύπανσης-επιβάρυνσης των εδαφών με βαρέα μέταλλα.

Στη συνέχεια αναφέρονται μερικές πληροφορίες από τη βιβλιογραφία για την διαθεσιμότητα των τεσσάρων μετάλλων στα εδάφη.

➤ **Διαθεσιμότητα του ψευδαργύρου στο έδαφος:** Η συμπεριφορά του ψευδαργύρου, αναφορικά με τη βιοδιαθεσιμότητά του στο έδαφος, εμφανίζεται

παρόμοια μ' αυτή του χαλκού και του μολύβδου και έχει παρατηρηθεί ισχυρή συσχέτιση μεταξύ του διαθέσιμου ψευδαργύρου και του οργανικού άνθρακα (McGrath, 1996; Leita et al., 1999; Ge et al., 2000). Αντίθετα, οι Filipek & Pawlowski (1990), αναφέρουν ότι η σχέση αυτή είναι ασθενής ή δεν υφίσταται. Αποτελέσματα διαδοχικών εκχυλίσεων δείχνουν ότι ο ψευδάργυρος δεν εμφανίζει την ίδια ισχυρή τάση για το σχηματισμό οργανικών συμπλόκων, όπως ο χαλκός, και το μεγαλύτερο ποσοστό του εμφανίζεται δεσμευμένο είτε στα οξείδια σιδήρου - μαγγανίου, είτε στα πυριτικά ορυκτά (Wilckle et al., 1998; Maiz et al., 2000; Thuy et al., 2000).

- **Διαθεσιμότητα του χαλκού στο έδαφος:** Το κύριο χαρακτηριστικό που εμφανίζει ο χαλκός στο έδαφος είναι η ισχυρή συγκράτηση του από την οργανική ουσία (de Matos, 2001). Σε πολλές ερευνητικές εργασίες το γεγονός αυτό έχει αποδειχθεί με τη διαδικασία των διαδοχικών εκχυλίσεων. Οι Wilke et al. (1998), βρήκαν ότι ο χαλκός συνδέεται με το οργανικό κλάσμα σε ένα ποσοστό περίπου 35% του ολικού, ενώ παρόμοια αποτελέσματα παρουσίασαν και οι Thuy et al. (2000), οι οποίοι ανέφεραν ότι σε αμμώδη εδάφη του Vietnam, το 39,3% του ολικού χαλκού βρίσκεται προσροφημένο στο οργανικό κλάσμα. Οι Leita et al. (1999), βρήκαν πολύ ισχυρή θετική συσχέτιση ($r=0,98$ - $p<0,001$) μεταξύ του βιοδιαθέσιμου χαλκού (εκχυλιζόμενου με DTPA) και του ολικού οργανικού άνθρακα. Από τα παραπάνω, γίνεται φανερό ότι ένας από τους κύριους παράγοντες που ελέγχουν τη διαθεσιμότητα του χαλκού είναι η περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία.
- **Διαθεσιμότητα του μολύβδου στο έδαφος:** Στις περισσότερες αναφορές, η βιοδιαθεσιμότητά του μολύβδου εμφανίζεται χαμηλή (Mellor, 2001; Pichtel et al., 2000; Li & Shuman, 1996), εξαρτώμενη ισχυρά από το pH του εδάφους (Ullrich et al., 1999). Στις διαδοχικές εκχυλίσεις, ο μολύβδος, σε πολλές περιπτώσεις, εμφανίζει μια ομοιόμορφη κατανομή ανάμεσα στο οργανικό, ανθρακικό και υπολειμματικό κλάσμα (Steele & Pichtel, 1998; Chen et al., 1995), ενώ σε άλλες, το οργανικό κλάσμα κυριαρχεί (Wilcke et al., 1998), ιδιαίτερα σε εδάφη με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ουσία (Pichtel et al., 2000) και υψηλό φορτίο ρύπανσης (Chlopecka et al., 1996).

- **Διαθεσιμότητα του νικελίου στο έδαφος:** Είναι γνωστή η αρνητική σχέση του νικελίου με άλλα στοιχεία όπως, ιόντα χαλκού, ψευδαργύρου και σιδήρου (Cataldo et al., 1978). Η κινητικότητα του νικελίου αυξάνει με τη μείωση του pH και της ΙΑΚ. Ακόμη σημαντικό ρόλο στη βιοδιαθεσιμότητα του μετάλλου παίζει η προέλευση του μετάλλου (Alloway, 1995).

Ο Hooda (2010), αναφέρει ότι γενικά τα μέταλλα που εκχυλίζονται με μη ρυθμιστικά ουδέτερα αλατούχα διαλύματα όπως είναι τα CaCl_2 , NH_4NO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, NaNO_3 , KNO_3 , MgCl_2 μπορούν να παρέχουν μια ρεαλιστικότερη εκτίμηση της πιθανής βιοδιαθεσιμότητας των μετάλλων σε επιβαρυσμένα εδάφη και εμφανίζουν καλύτερες συσχετίσεις με την περιεχόμενη ποσότητα μετάλλων στα φυτά σε σχέση με αυτά που εκχυλίζονται με DTPA ή EDTA. Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν και οι Meers et al. (2007), οι οποίοι αξιολόγησαν τη φυτοδιαθεσιμότητα των βαρέων μετάλλων σε εδάφη με την χρήση διαφόρων εκχυλιστικών και την συσσώρευση τους στη φασολιά και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι καλύτερες συσχετίσεις μεταξύ των ποσοτήτων των μετάλλων που είναι στο έδαφος και αυτών που περιέχονται στα φυτά εμφανίζουν τα μη ρυθμιστικά ουδέτερα αλατούχα διαλύματα. Ακόμη σύμφωνα με αυτά που έχουμε ήδη αναφέρει σχετικά με τη διαθεσιμότητα του Cu στα εδάφη ότι δηλαδή ένα ποσοστό περίπου 35% του ολικού Cu συνδέεται με το οργανικό κλάσμα, στη μελέτη μας παρατηρήσαμε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό εντοπίζεται στα οξειδία Fe-Mn και στο διαθέσιμο κλάσμα. Στη περίπτωση του Zn το μεγαλύτερο ποσοστό εντοπίζεται στο ανταλλάξιμο και διαθέσιμο κλάσμα που έρχεται σε αντίθεση με αυτά που έχουμε ήδη αναφέρει σχετικά με τη διαθεσιμότητα του Zn στα εδάφη ότι δηλαδή εμφανίζεται δεσμευμένο στα οξειδία Fe-Mn. Στο Pb παρατηρούμε ότι υπάρχει μια ομοιόμορφη κατανομή ανάμεσα στο οργανικό και υπολειμματικό κλάσμα που συμφωνεί με τα όσα έχουν αναφερθεί παραπάνω για τη διαθεσιμότητα του. Τέλος το Ni παρουσιάζει μια ομοιόμορφη κατανομή ανάμεσα στα οξειδία Fe-Mn, το οργανικό και υπολειμματικό κλάσμα.

Κεφάλαιο 6. Συμπεράσματα

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας τα κυριότερα συμπεράσματα που προκύπτουν είναι τα εξής:

1. Η διαθεσιμότητα των μελετηθέντων μετάλλων μειώνεται μετά από την πάροδο 60 ημερών.
2. Η προσθήκη γλυκόζης ενισχύει τη μείωση της διαθεσιμότητας των μετάλλων μέχρι τις 30 ημέρες.
3. Μετά από 60 ημέρες επώασης, το μεγαλύτερο μέρος από την ποσότητα των μετάλλων που προστέθηκε στο έδαφος παραμένει σε ανταλλάξιμη μορφή ή/και εκχυλίζεται υπό όξινες συνθήκες.

Πιο συγκεκριμένα από την διεξοδική ανάλυση των αποτελεσμάτων προκύπτουν και τα ακόλουθα συμπεράσματα (υπενθυμίζεται πως ως M αναφέρεται η μεταχείριση μόνο με την προσθήκη μετάλλων και ως MG η μεταχείριση με την προσθήκη μετάλλων και γλυκόζης):

- Και στις δύο μεταχειρίσεις M και MG, οι συγκεντρώσεις των ανταλλάξιμων μορφών των μελετηθέντων μετάλλων εμφανίζουν σημαντική μείωση με την πάροδο των 60 ημερών, εκτός από τη συγκέντρωση του Zn στην μεταχείριση MG που δεν παρουσιάζει σημαντική διαφοροποίηση.
- Στη μεταχείριση M, στις 60 ημέρες επώασης, η μείωση που παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις των ανταλλάξιμων μορφών Zn, Cu και Pb στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης συνοδεύεται με αύξηση στις συγκεντρώσεις των μετάλλων στα υπόλοιπα τέσσερα στάδια, ενώ το ίδιο ισχύει και για το Ni με τη διαφορά ότι δεν παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση του αναγώγιμου κλάσματος (3^ο στάδιο).
- Στη μεταχείριση MG, στις 60 ημέρες επώασης, η μείωση που παρατηρήθηκε στις συγκεντρώσεις των ανταλλάξιμων μορφών Cu, Pb και Ni στο 1^ο στάδιο της διαδικασίας κλασμάτωσης, συνοδεύτηκε από αύξηση κυρίως των συγκεντρώσεων των μορφών αυτών των μετάλλων που εκχυλίζονται υπό όξινες συνθήκες (2^ο στάδιο κλασμάτωσης).

- Η προσθήκη γλυκόζης (MG μεταχείριση), αποτέλεσε μια σημαντική πηγή ενέργειας για την μικροβιακή κοινότητα του εδάφους που είχε ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητάς της και την επακόλουθη ακινητοποίηση σημαντικών ποσοτήτων των Zn και Cu, και σε μικρότερο βαθμό του Ni, μέχρι το χρονικό διάστημα επώασης των 30 ημερών. Δεν παρατηρήθηκε κάτι αντίστοιχο για τον Pb, πιθανά γιατί δεν αποτελεί θρεπτικό στοιχείο απαραίτητο για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του εδάφους. Φαίνεται λοιπόν, πως η προσθήκη γλυκόζης μέσω της αύξησης της μικροβιακής δραστηριότητας συνέβαλλε στην ακινητοποίηση κυρίως των Zn και Cu αλλά για περιορισμένο χρονικό διάστημα, δηλαδή μέχρι εξάντλησής της, όπως προκύπτει από τη σημαντική αύξηση στη συγκέντρωση των ανταλλάξιμων μορφών των Zn, και Cu, αλλά και από την αύξηση της συγκέντρωσης του Ni (μη σημαντική) στη μεταχείριση MG, στο χρονικό διάστημα επώασης των 60 ημερών, που υποδηλώνουν πιθανή απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού με αποτέλεσμα την αποδέσμευση ποσοτήτων βαρέων μετάλλων και την αύξηση της κινητικότητάς τους στο εδαφικό περιβάλλον.
- Για όλα τα μέταλλα, εκτός του Cu στην M μεταχείριση, παρατηρήθηκε πως στον τελικό χρόνο επώασης το άθροισμα των ανταλλάξιμων μορφών και αυτών που εκχυλίστηκαν υπό όξινες συνθήκες (στάδια 1 και 2 της κλασμάτωσης) είναι μεγαλύτερο για την MG μεταχείριση, λόγω της απελευθέρωσης σημαντικών ποσοτήτων των μετάλλων στις 30 ημέρες (με την εξάντληση της γλυκόζης και την απότομη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού), που είχε σαν αποτέλεσμα, για τις συγκεκριμένες ποσότητες, μικρότερο χρονικό διάστημα επώασης για μετασχηματισμό τους σε περισσότερο σταθερές μορφές σε σχέση με την M μεταχείριση (30 ημέρες).
- Στον τελικό χρόνο επώασης, η συγκέντρωση του Zn και για τις δυο μεταχειρίσεις στα διαφορετικά κλάσματα ακολουθεί την σειρά: Zn ανταλ. >> Zn οξ. συνθ. > Zn υπολ. > Zn αναγ. > Zn οξειδ. Το άθροισμα των συγκεντρώσεων των δυο πρώτων κλασμάτων είναι 75 (M μεταχείριση) και 85 % (MG μεταχείριση) της συνολικής συγκέντρωσης του Zn στο έδαφος.
- Στον τελικό χρόνο επώασης, η συγκέντρωση του Cu για την M μεταχείριση στα διαφορετικά κλάσματα ακολουθεί την σειρά: Cu αναγ. > Cu οξ. συνθ. > Cu ανταλ. > Cu υπολ. > Cu οξειδ., ενώ στην MG μεταχείριση η αντίστοιχη σειρά είναι: Cu οξ. συνθ. > Cu ανταλ. > Cu αναγ. > Cu υπολ. > Cu οξειδ. Το άθροισμα

των συγκεντρώσεων των δυο πρώτων κλασμάτων είναι 45 (M μεταχείριση) και 60 % (MG μεταχείριση) της συνολικής συγκέντρωσης του Cu στο έδαφος.

- Στον τελικό χρόνο επώασης, η συγκέντρωση του Pb για την M μεταχείριση στα διαφορετικά κλάσματα ακολουθεί την σειρά: Pb ανταλ. >> Pb οξ. συνθ. > Pb αναγ. > Pb οξειδ. > Pb υπολ., ενώ στην MG μεταχείριση η αντίστοιχη σειρά είναι: Pb ανταλ. >> Pb οξ. συνθ. > Pb υπολ. > Pb αναγ. > Pb οξειδ. Το άθροισμα των συγκεντρώσεων των δυο πρώτων κλασμάτων είναι 60 (M μεταχείριση) και 70 % (MG μεταχείριση) της συνολικής συγκέντρωσης του Pb στο έδαφος.
- Στον τελικό χρόνο επώασης, η συγκέντρωση του Ni για την M μεταχείριση στα διαφορετικά κλάσματα ακολουθεί την σειρά: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni αναγ. > Ni οξειδ. > Ni υπολ., ενώ στην MG μεταχείριση η αντίστοιχη σειρά είναι: Ni ανταλ. >> Ni οξ. συνθ. > Ni υπολ. > Ni αναγ. > Ni οξειδ. Το άθροισμα των συγκεντρώσεων των δυο πρώτων κλασμάτων είναι 80 (M μεταχείριση) και 90 % (MG μεταχείριση) της συνολικής συγκέντρωσης του Ni στο έδαφος.
- Οι συγκεντρώσεις των βιοδιαθέσιμων μορφών (εκχύλιση με DTPA) των Zn, Cu, Pb και Ni παρουσίασαν σημαντική μείωση σε σχέση με την αρχική συγκέντρωση των μετάλλων ακόμη και στις 3 ώρες που ήταν ακόμη πιο έντονη στις 60 ημέρες. Η εντονότερη μείωση παρατηρήθηκε για τον Pb.
- Όταν η ρύπανση των εδαφών είναι πρόσφατη το MgCl₂ εκχυλίζει πολύ μεγαλύτερες ποσότητες μετάλλων από ότι το DTPA, αλλά με την πάροδο του χρόνου φαίνεται πως όσο το εδαφικό σύστημα τείνει σε ισορροπία τα δύο εκχυλιστικά τείνουν προς την εκχύλιση παρόμοιων ποσοτήτων, όπως παρατηρήθηκε κυρίως στην περίπτωση των Cu και του Ni. Βέβαια, για την επιβεβαίωση της τάσης αυτής είναι φανερό πως απαιτείται πολύ μεγαλύτερο διάστημα επώασης.
- Αυξημένες τιμές στις συγκεντρώσεις των βιοδιαθέσιμων μορφών (DTPA) των βαρέων μετάλλων και αυτών που εκχυλίζονται με MgCl₂ σε σχέση με τις ολικές συγκεντρώσεις τους, πιθανότατα αποτελούν μια ένδειξη ότι η ρύπανση-επιβάρυνση των εδαφών είναι σχετικά πρόσφατη.

I. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση

1. **Abollino, O., A. Giacomino, M. Malandrino, E. Mentasti, M. Aceto, and R. Barberis, (2006).** Assessment of metal availability in a contaminated soil by sequential extraction. *Water, Air, and Soil Pollution* 137: 315-338.
2. **Adriano, D.C. (1986).** Trace Elements in the terrestrial, Springer-Verlag, New York.
3. **Achiba W., Gabteni N., Lakhdar A., Laing G., Verloo M., Jedidi N., Gallali T. (2009).** Effects of 5-year application of municipal solid waste compost on the distribution and mobility of heavy metals in a Tunisian calcareous soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 130:156–163.
4. **Alloway, B.J. (1995).** Heavy metals in Soils. Blackie Academic Professional, Second Edition.
5. **Andersson, A. (1977).** Heavy metals in Swedish soils; on their retention, distribution and amounts, *Swed. J. Agric. Res.*, 7, pp.7.
6. **Bouyoukos, G.H. (1951).** A recalibration of the hydrometer method for making mechanical analysis of soil, *Agron. Journal*, 43, pp.434-438.
7. **Bussler, W. (1981).** Physiological functions and utilization of copper, *Copper in Soils and Plants*, Loneragan, J.F., Robson, A.D., and Graham, R.D., Eds., Academic Press, Sydney, pp.213.
8. **Butter T.J. (1998).** The use of biosorption, elution and electrolysis for the removal and recovery of heavy metals from aqueous solutions. Ph.D. Thesis, Civil Engineering Dept., Univ. Newcastle, U.K.
9. **Cavallaro, N. and McBride, M.B. (1984).** Zinc and Copper Sorption and Fixation by an Acid Soil Clay; Effect of Selective Dissolutions, *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 48, pp.1050.
10. **Chen, T.C., Macauley, E., Hong, A. (1995).** Selection and test of effective chelators for removal of heavy metals from contaminated soils. *Canadian Journal of Civil Engineering*, 22, pp.1185-1197.
11. **Clemente R., Escolar A., Bernal M., (2006).** Heavy metals fractionation and organic mineralization in contaminated calcareous soil amended with organic materials. *Bioresource technology* 97, 1894-1901.

12. **Cox, D. P. (1979).** In *Copper in the Environment, Part I: Ecological Cycling*. Ed. Nriagu, J.O., Wiley, New York, pp.19-42.
13. **Couturas, S., Bourgeois, S. and Bermond, A. (2000).** A critical study of the use of hydrogen peroxide to determine trace metals bound to soil organic matter. *Environ. Technol.* 21 :77-86.
14. **Davis, R.D., Carlton-Smith, C.H., Stark, J.H. & Cambell, J.A. (1998).** *Environmental pollution*, pp. 99-115.
15. **de Matos, A.T., Fontes, M.P.F., da Costa, L.M., Martinez, M.A. (2001).** Mobility of heavy metals as related to soil chemical and mineralogical characteristics of Brazilian soils. *Environ. Pollut. Ill*, pp.429-435.
16. **Erel, Y., Veron A., and Halicz, L. (1997).** Tracing the transport of anthropogenic lead in the atmosphere and in soils using isotopic ratios, *Geochim. Cosmochim. Acta* 61, pp.4495-4505.
17. **Electric Power Research Institute (EPRI), (1984).** “Chemical Attenuation Rates, Coefficients, and Constants in Leachate Migration, Volume 1: A critical Review”, EA-3356, Volume 1, Research Project 2198-1.
18. **Gasparatos, D., Papafilippaki A., Haidouti C. and Massas I. (2001).** Evaluation of Pb, Cu and Zn bioavailability in contaminated soils from an urban - industrial area in Greece. *European Society for new Methods in Agricultural Research*, Maich, Hania, Greece, September 8-12. XXXI Annual Meeting. Abstract.
19. **Gomez-Ariza, J.L., Giraldez, I., Sanchez-Rodas, D. and Morales, E. (2000).** Comparison of the feasibility of three extraction procedures for trace metal partitioning in sediments from southwest Spain. *Sci. Total Environ.* 246 :271-283.
20. **Holmgren G. G. S., Meyer M. W., Chaney R. L., Daniels R. B., (1993).** “Cadmium, lead, zinc, copper and nickel in agricultural soils of the USA”, *J Environ Qual* 22: 335-348.
21. **Hooda Peter (2010).** *Trace Elements in Soils*, A John Wiley and Sons, Ltd., Publication.
22. **Hong, C.O., J. Gutierrez, S.W. Yun, Y.B. Lee, C. Yu, and P.J. Kim. (2009).** Heavy metal contamination of arable soil and corn plant in the vicinity of a zinc smelting factory and stabilization by liming. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 56: 190-200.

23. **Jalali M., Khanlari Z.V. (2007).** Effect of aging process on the fractionation of heavy metals in some calcareous soils of Iran. *Geoderma* 143 (2008) 26–40.
24. **Jonopy, M., Young, S.D. (1994).** The solid-solution equilibria of lead and cadmium in polluted soils. *Europ. J. Soil Sci.* 45, pp.59-70.
25. **Kabata-Pendias, A. (1979).** Effects of inorganic air pollutants on the chemical balance of agricultural ecosystems, paper presented at United Nations - ECE Symp. on Effects of Air-borne Pollution on vegetation, Warsaw, August 20, pp.134.
26. **Kabata-Pendias, A. and Pendias, H. (2001).** Trace Elements in Soils and Plants, CRS Press, Boca Raton, Fl.
27. **Kelly, J., Thornton, I. and Simpson, P. R. (1996).** Urban Geochemistry: A study of the influence of anthropogenic activity on the heavy metal content of soils in traditionally industrial and non-industrial areas of Britain. *Appl. Geochem* 11, pp.363-370.
28. **Lackovic J. A., Nikolaidis N. P., Chheda P., and Carley R., (1996).** “An evaluation of batch leaching procedures for heavy metal mobility estimates from soils”, Technical Report ERI-96.04, Environmental Research Institute, Environmental Engineering Program, The University of Connecticut, Storrs, CT 06269-2037.
29. **Lim, T.T., Tay, J.H., The, C.I., (2002).** Contamination time effect on lead and cadmium fractionation in a tropical coastal clay. *J. Environ.Qual.* 31, 806–812.
30. **Lindsay, W.L., and W.A. Norvell. (1978).** Development of a DTPA test for zinc, iron, manganese and copper. *Soil Science Society of America Journal* 42: 421-428.
31. **Liu, Y., L. Ma, Y. Li, and L. Zheng. (2007).** Evolution of heavy metal speciation during the aerobic composting process of sewage sludge. *Chemosphere* 67: 1025-1032.
32. **Lopez-Sanchez, J.F., Rubio, R. and Rauret, G. (1993).** Comparison of two sequential extraction procedures for trace metal partitioning in sediments. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51:113-121
33. **Lu, Y., Gong, Z., Zhang, G. and Burghardt, W. (2003).** Concentrations and chemical speciations of Cu, Zn, Pb and Cr of urban soils in Nanjing, China. *Geoderma* 115:101-111

34. **Lu, A., Zhang, S., Shan, X.Q., (2005).** Time effect on the fractionation of heavy metals in soils. *Geoderma*. 125, 225–234.
35. **Ma L., Rao G. (1997).** Chemical Fractionation of Cadmium, Copper, Nickel, and Zinc in Contaminated Soils. *Journal of Environmental Quality* Volume 26.
36. **Massas I., Ehaliotis C., Kalivas D. and Panagopoulou G. (2010).** Concentrations and Availability Indicators of Soil Heavy Metals; the Case of Children’s Playgrounds in the City of Athens (Greece). *Water Air Soil Pollution* 212:51–63.
37. **Meers E., Samsonb R., Tack F.M.G., Ruttens A., Vandegheuchte M., Vangronsveld J., Verloo M.G. (2007).** Phytoavailability assessment of heavy metals in soils by single extractions and accumulation by *Phaseolus vulgaris*. *Environmental and Experimental Botany* 60: 385–396.
38. **McBride M. B., (1994).** *Environmental Chemistry of Soils*, Oxford University Press.
39. **McLaren, R.G., Crawford, D.V., (1973).** Studies of soil Cu: I. The fractionation of Cu in soils. *J. Soil Sci.* 24, 172–181.
40. **McLaughlin, M.J., (2001).** Ageing of metals in soils changes bioavailability. *Environ. Risk Assess.* 4, 1–6.
41. **Nriagu, J.O. (1978).** In *The Biogeochemistry of Lead*, Ed. Nriagu, J.O. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, pp.18-88.
42. **Nicholas, D. J. D., (1975).** The functions in Trace Elements in Soil-Plant-Animal systems, Nicholas, D, J. D. and Egan, A. R., Eds., Academic Press, New York.
43. **Shacklette, H. T., Erdman, J. A., and Harms, T. F., (1978).** Trace elements in plant foodstuffs, in *Toxicity of Heavy Metals in the Environments*, Part I, Oehme, F.W., Ed., Marcel Dekker, New York.
44. **Sposito, G., Lund, J., Chang, A.C., (1983).** Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd, and Pb in soil phases. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 260–264.
45. **Tessier, A., P.G.C. Campell, and M. Bisson. (1979).** Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry* 51: 844-851.
46. **Trivedi, P., Axe, L., (2000).** Modeling Cd and Zn sorption to hydrous metal oxides. *Environ. Sci. Technol.* 34, 2215–2223.

47. **Ullrich S.M., Ramsey M.H., Helios-Rybicka E. (1999).** Total and exchangeable concentrations of heavy metals in soils near Bytom, an area of Pb/Zn mining and smelting in Upper Silesia, Poland. *Appl Geochem*, 14, pp. 187-196.
48. **Xian, X., (1987).** Chemical partitioning of cadmium, zinc, lead, and copper in soils near smelter. *Environ. Sci. Heal.* 22, 527–5541.
49. **Xiao - Quan, S. and Bin, C. (1993).** Evaluation of sequential extraction for speciation of trace metals in model soil containing natural minerals and humic acid. *Anal. Chem.* 65:802-807.

Ελληνική

1. **Ασκήσεις Γενικής Εδαφολογίας (2004).** Πανεπιστημιακές εκδόσεις ΓΠΑ, Αθήνα.
2. **Γασπαράτος Διον. (2009).** Εργαστηριακές ασκήσεις στο μάθημα Περιβαλλοντική Εδαφολογία. Πανεπιστημιακές εκδόσεις ΓΠΑ, Αθήνα.
3. **Καλλιάνου Χ. (2002).** Σημειώσεις Εδαφοχημείας και Περιβαλλοντικής Εδαφολογίας, Πανεπιστημιακές εκδόσεις ΓΠΑ, Αθήνα.
4. **Λουκίδου Μ. (2003).** Απομάκρυνση τοξικών μετάλλων από αραιά διαλύματα με την εφαρμογή της βιορρόφησης. Διδακτορική διατριβή: Τμήμα Χημείας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης
5. **Μήτσιος Ι. (2004).** Γονιμότητα εδαφών. Θρεπτικά στοιχεία φυτών και Βαρέα μέταλλα. Μέθοδοι και εφαρμογές. Εκδόσεις Zymel, Αθήνα.
6. **Παναγιωτόπουλος, Κ., (2008).** Εδαφολογία. Εκδόσεις Γαρταγάνη. Θεσσαλονίκη.
7. **Σακελλαριάδης, Σ.Α. (1989).** Φυσικό-χημικά χαρακτηριστικά της γονιμότητας του εδάφους. Γονιμότητα εδάφους-θρέψη φυτών.
8. **Χαιντούτη Κων. (2002).** Σημειώσεις Περιβαλλοντικής Εδαφολογίας, Πανεπιστημιακές εκδόσεις ΓΠΑ, Αθήνα.

II. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Αποτελέσματα των αναλύσεων

Πίνακας 24: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Zn για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 3 ωρών, 1 ημέρας και 3 ημερών.

Zn					
Επώαση 3 ωρών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	512,27	48,40	9,39	5,21	40,74
M2	430,12	86,23	30,22	17,04	52,39
M3	459,93	66,07	24,34	13,85	51,81
M4	516,07	37,60	11,64	6,85	43,84
Average	479,60	59,57	18,90	10,74	47,20
MG1	454,86	62,20	26,89	11,83	60,22
MG2	486,73	56,24	10,98	7,74	54,31
MG3	457,63	73,24	15,14	10,72	59,27
MG4	416,18	93,50	32,90	13,32	60,11
Average	453,85	71,29	21,48	10,90	58,48
Επώαση 1 ημέρας					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	387,88	101,76	16,75	8,50	101,12
M2	399,27	86,76	22,15	10,46	97,35
M3	398,40	83,16	24,91	13,47	96,06
M4	392,11	91,65	27,02	11,35	93,87
Average	394,41	90,83	22,71	10,95	97,10
MG1	298,41	130,81	33,68	22,97	130,13
MG2	327,59	124,64	33,00	19,77	111,00
MG3	312,19	124,19	41,71	20,17	117,73
MG4	401,51	87,74	21,80	12,27	92,68
Average	334,92	116,85	32,55	18,79	112,89
Επώαση 3 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	473,95	56,07	18,50	8,05	59,43
M2	445,13	71,38	28,84	9,55	61,09
M3	404,85	104,88	29,45	9,99	66,83
M4	432,76	73,88	35,78	9,31	64,27
Average	439,17	76,55	28,14	9,22	62,91
MG1	424,51	73,11	33,90	10,23	74,25
MG2	453,62	59,29	22,95	8,99	71,15
MG3	430,75	69,22	33,90	9,14	72,99
MG4	440,84	57,53	27,00	13,54	77,09
Average	437,43	64,79	29,44	10,47	73,87

Πίνακας 25: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Zn για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 10, 30 και 60 ημερών.

Zn					
Επώαση 10 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	471,61	50,28	19,56	10,80	63,75
M2	451,90	58,43	24,98	12,84	67,85
M3	455,39	60,75	24,87	11,92	63,07
M4	465,59	56,44	21,66	10,99	61,31
Average	461,12	56,47	22,77	11,64	64,00
MG1	348,70	119,38	55,60	20,41	71,92
MG2	439,77	72,45	24,63	12,52	66,63
MG3	405,44	89,11	29,33	14,67	77,46
MG4	412,63	88,62	20,16	15,33	79,26
Average	401,63	92,39	32,43	15,73	73,82
Επώαση 30 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	379,16	108,36	57,62	16,61	54,25
M2	338,24	94,25	109,95	19,24	54,32
M3	364,39	126,84	52,23	18,74	53,80
M4	317,80	112,78	113,10	19,85	52,46
Average	349,90	110,56	83,23	18,61	53,71
MG1	351,65	66,23	118,15	22,80	57,18
MG2	288,59	99,59	138,18	26,53	63,10
MG3	265,69	136,68	111,90	33,53	68,19
MG4	246,91	129,09	145,69	27,70	66,61
Average	288,21	107,90	128,48	27,64	63,77
Επώαση 60 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	296,82	150,19	62,94	38,96	67,09
M2	354,62	124,60	43,24	28,31	65,23
M3	338,02	117,21	50,34	35,45	74,99
M4	334,41	123,77	60,48	28,34	68,99
Average	330,97	128,94	54,25	32,76	69,07
MG1	470,10	50,94	20,09	13,84	61,02
MG2	348,92	154,66	25,30	17,64	69,48
MG3	412,04	101,47	22,18	15,22	65,09
MG4	413,15	80,18	38,92	18,67	65,08
Average	411,05	96,81	26,62	16,34	65,17

Πίνακας 26: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Cu για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 3 ωρών, 1 ημέρας και 3 ημερών.

Cu					
Επώαση 3 ωρών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	270,51	126,51	61,58	22,04	53,87
M2	248,82	94,15	98,24	39,39	53,92
M3	276,36	93,06	80,28	36,60	48,22
M4	278,79	78,62	78,08	38,04	60,99
Average	268,62	98,08	79,54	34,02	54,25
MG1	258,23	88,97	95,56	33,57	58,19
MG2	297,99	101,23	50,62	30,19	54,48
MG3	271,25	106,24	56,40	38,05	62,57
MG4	244,31	96,19	103,01	34,44	56,57
Average	267,95	98,16	76,40	34,06	57,95
Επώαση 1 ημέρας					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	154,96	159,25	77,43	35,12	107,76
M2	186,22	112,44	96,82	38,36	100,67
M3	182,98	120,26	91,75	37,26	102,28
M4	160,04	118,40	122,98	34,92	98,19
Average	171,05	127,59	97,24	36,42	102,22
MG1	133,50	117,13	99,51	63,55	120,84
MG2	148,00	108,43	101,67	57,44	118,98
MG3	111,86	105,57	137,55	53,77	125,77
MG4	174,92	122,73	100,61	36,84	99,42
Average	142,07	113,46	109,84	52,90	116,25
Επώαση 3 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	201,08	152,27	101,18	30,74	49,25
M2	174,99	147,74	134,02	31,02	46,75
M3	149,55	185,65	105,17	35,29	58,85
M4	164,93	154,43	134,74	30,69	49,72
Average	172,64	160,02	118,78	31,94	51,14
MG1	177,94	140,51	125,90	33,56	56,61
MG2	184,04	133,50	114,02	42,30	60,66
MG3	182,44	132,48	131,59	34,09	53,92
MG4	165,96	117,45	107,54	71,62	71,96
Average	177,59	130,99	119,76	45,39	60,79

Πίνακας 27: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Cu για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 10, 30 και 60 ημερών.

Cu					
Επώαση 10 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	170,30	151,57	121,44	40,04	51,16
M2	160,73	135,94	137,21	46,12	54,53
M3	166,63	138,01	140,50	40,26	49,12
M4	185,70	140,34	121,23	36,05	51,20
Average	170,84	141,46	130,10	40,62	51,50
MG1	156,95	157,01	134,28	35,51	50,77
MG2	194,77	125,57	119,81	40,85	53,52
MG3	163,92	143,85	126,05	42,39	58,31
MG4	175,47	153,48	81,64	54,83	69,09
Average	172,78	144,98	115,45	43,40	57,92
Επώαση 30 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	118,83	135,71	183,64	41,52	54,82
M2	123,76	122,36	193,71	40,28	54,41
M3	106,16	178,64	143,18	44,86	61,68
M4	95,29	126,59	213,24	44,08	55,33
Average	111,01	140,82	183,44	42,68	56,56
MG1	110,28	91,59	215,47	53,76	63,41
MG2	83,55	110,81	222,56	51,12	66,48
MG3	78,67	174,21	159,50	57,39	64,74
MG4	83,22	154,76	191,48	43,69	61,38
Average	88,93	132,84	197,25	51,49	64,01
Επώαση 60 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	59,94	147,68	174,58	71,82	80,50
M2	101,38	167,92	124,78	63,22	77,22
M3	95,45	138,24	143,55	73,24	84,04
M4	88,93	141,44	177,06	53,63	73,45
Average	86,42	148,82	155,00	65,48	78,80
MG1	173,01	164,93	107,17	34,28	55,14
MG2	118,08	227,38	87,70	34,26	67,10
MG3	149,55	202,39	81,92	35,80	64,85
MG4	162,01	116,52	145,25	44,97	65,78
Average	150,66	177,80	105,51	37,33	63,22

Πίνακας 28: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Pb για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 3 ωρών, 1 ημέρας και 3 ημερών.

Pb					
Επώαση 3 ωρών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	376,07	69,39	59,87	38,07	29,47
M2	358,19	54,94	77,12	55,03	27,59
M3	373,48	51,04	65,04	48,78	34,53
M4	380,69	46,13	63,76	42,39	39,91
Average	372,11	55,37	66,45	46,07	32,88
MG1	378,93	48,32	74,68	42,78	28,15
MG2	406,51	49,75	49,28	40,10	27,24
MG3	390,04	52,46	50,13	42,87	37,37
MG4	392,58	45,55	64,81	37,70	32,22
Average	392,02	49,02	59,73	40,86	31,25
Επώαση 1 ημέρας					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	287,91	90,66	77,79	42,43	74,08
M2	305,77	67,08	82,29	48,75	68,97
M3	330,49	64,79	77,36	38,97	61,25
M4	290,13	71,33	99,55	39,60	72,27
Average	303,57	73,47	84,25	42,44	69,14
MG1	262,37	73,13	90,44	59,33	87,60
MG2	282,65	71,32	81,92	61,61	75,37
MG3	249,08	72,50	119,48	55,03	76,77
MG4	307,77	65,56	82,24	51,62	65,68
Average	275,47	70,63	93,52	56,90	76,35
Επώαση 3 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	359,42	66,01	73,53	49,02	24,88
M2	332,05	70,99	91,18	48,62	30,03
M3	292,53	101,10	86,32	49,11	43,82
M4	340,31	75,25	87,47	37,09	32,74
Average	331,08	78,34	84,63	45,96	32,87
MG1	349,99	67,62	84,70	38,47	32,09
MG2	330,14	67,89	84,75	56,01	34,08
MG3	360,04	57,52	78,89	43,59	32,82
MG4	338,61	57,23	78,64	51,65	46,74
Average	344,70	62,57	81,75	47,43	36,43

Πίνακας 29: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Pb για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 10, 30 και 60 ημερών.

Pb					
Επώαση 10 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	319,10	80,34	73,57	50,66	49,21
M2	296,50	77,86	75,66	59,64	63,21
M3	286,48	84,67	83,25	57,99	60,49
M4	319,09	80,45	66,78	48,98	57,57
<i>Average</i>	305,29	80,83	74,81	54,32	57,62
MG1	290,59	98,46	76,21	51,77	55,83
MG2	314,06	81,24	64,78	50,28	62,51
MG3	298,88	83,37	69,42	58,09	63,12
MG4	313,05	86,71	46,41	54,23	72,47
<i>Average</i>	304,15	87,44	64,21	53,59	63,48
Επώαση 30 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	266,30	79,23	122,65	52,29	52,41
M2	303,55	69,57	116,71	42,99	40,06
M3	273,81	104,94	106,97	47,86	39,29
M4	244,80	82,44	137,03	59,80	48,81
	272,11	84,04	120,84	50,73	45,14
MG1	308,52	56,36	105,96	52,59	49,44
MG2	297,20	66,86	116,44	49,20	43,17
MG3	261,90	99,90	99,96	68,24	42,87
MG4	285,36	84,72	111,39	43,82	47,59
<i>Average</i>	288,24	76,96	108,44	53,46	45,77
Επώαση 60 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	168,41	127,79	101,60	98,71	76,35
M2	227,54	121,81	77,05	70,01	76,46
M3	268,98	94,84	82,79	72,18	54,08
M4	230,34	103,01	89,16	77,99	72,37
<i>Average</i>	223,82	111,86	87,65	79,72	69,82
MG1	322,68	82,49	56,80	49,95	60,94
MG2	274,69	137,41	50,10	54,29	56,38
MG3	275,74	125,04	55,65	55,71	60,73
MG4	313,10	67,59	70,62	63,23	58,33
<i>Average</i>	296,55	103,13	58,29	55,80	59,10

Πίνακας 30: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Ni για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 3 ωρών, 1 ημέρας και 3 ημερών.

Ni					
Επώαση 3 ωρών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	460,91	49,71	10,88	9,54	16,60
M2	409,33	63,27	35,31	24,37	15,35
M3	436,15	46,37	27,80	21,35	15,96
M4	463,15	38,47	16,77	11,51	17,73
Average	442,39	49,46	22,69	16,69	16,41
MG1	435,90	51,66	29,94	14,77	15,35
MG2	466,69	41,11	14,10	9,23	16,51
MG3	448,18	56,87	14,74	13,48	14,36
MG4	411,50	67,30	33,04	19,06	16,72
Average	440,57	54,24	22,95	14,14	15,73
Επώαση 1 ημέρας					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	388,15	81,86	25,11	19,59	32,92
M2	403,68	60,88	29,42	21,59	32,06
M3	406,95	54,78	30,01	23,52	32,37
M4	388,35	70,80	29,62	24,50	34,37
Average	396,78	67,08	28,54	22,30	32,93
MG1	324,76	97,52	43,21	41,92	40,22
MG2	339,71	86,43	42,66	39,04	39,80
MG3	326,21	89,85	52,87	41,48	37,21
MG4	401,31	60,69	27,75	25,39	32,48
Average	348,00	83,62	41,62	36,96	37,43
Επώαση 3 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	442,66	49,80	21,02	14,11	20,04
M2	416,90	61,21	32,62	16,90	20,00
M3	388,83	87,68	32,56	17,09	21,46
M4	402,42	65,85	39,80	15,70	23,86
Average	412,70	66,14	31,50	15,95	21,34
MG1	409,30	58,27	35,98	19,48	24,61
MG2	437,48	53,04	21,49	13,23	22,39
MG3	416,37	55,53	35,47	16,18	24,08
MG4	418,89	53,88	28,24	20,69	25,94
Average	420,51	55,18	30,29	17,39	24,25

Πίνακας 31: Συγκεντρώσεις σε mg kg⁻¹ των κλασμάτων του Ni για τις δύο μεταχειρίσεις (M-MG) για τα 5 στάδια της διαδικασίας κλασμάτωσης για τις επώσεις των 10, 30 και 60 ημερών.

Ni					
Επώαση 10 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	439,81	46,65	15,80	10,48	34,89
M2	410,88	55,98	22,94	19,88	37,95
M3	417,31	56,25	23,95	16,89	33,22
M4	423,77	54,53	21,09	14,86	33,38
Average	422,94	53,35	20,94	15,53	34,86
MG1	313,60	105,73	60,50	34,92	32,89
MG2	390,47	75,63	28,67	21,13	31,73
MG3	370,51	88,24	27,21	21,64	40,03
MG4	375,76	91,75	18,39	20,27	41,45
Average	362,59	90,34	33,69	24,49	36,52
Επώαση 30 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	332,88	126,72	45,64	26,95	15,44
M2	315,97	124,70	56,14	28,45	22,38
M3	302,96	170,01	34,66	22,63	17,37
M4	294,48	137,69	60,24	33,93	21,29
Average	311,57	139,78	49,17	27,99	19,12
MG1	368,12	85,81	46,59	29,43	17,69
MG2	312,51	116,74	63,78	33,32	21,27
MG3	271,14	184,13	39,44	36,26	16,67
MG4	243,75	184,13	62,71	34,85	22,20
Average	298,88	142,70	53,13	33,46	19,46
Επώαση 60 ημερών					
	1^ο Στάδιο	2^ο Στάδιο	3^ο Στάδιο	4^ο Στάδιο	5^ο Στάδιο
M1	266,70	161,86	48,56	46,53	23,97
M2	337,33	123,82	28,69	31,84	25,95
M3	334,07	115,74	36,18	35,98	25,66
M4	313,24	138,30	37,21	32,41	26,47
Average	312,84	134,93	37,66	36,69	25,51
MG1	424,48	72,51	16,39	11,46	22,79
MG2	317,56	163,28	22,21	21,04	23,54
MG3	274,33	234,47	11,14	12,04	15,66
MG4	347,11	125,16	29,04	23,65	22,67
Average	340,87	148,86	19,69	17,05	21,16

Πίνακας 32: Μέσες συγκεντρώσεις σε (mg kg^{-1}) των βιοδιαθέσιμων μορφών των τεσσάρων βαρέων μετάλλων για τα χρονικά διαστήματα των 3 ωρών και 60 ημερών.

DTPA				
Επώαση 3 ωρών				
	Zn	Cu	Pb	Ni
M1	91,65	92,95	73,45	213,45
M2	94,40	91,00	68,25	203,90
M3	96,30	94,03	55,20	225,25
<i>Average</i>	94,12	92,66	65,63	214,20
Επώαση 60 ημερών				
	Zn	Cu	Pb	Ni
M1	81,90	57,80	6,54	191,75
M2	80,95	61,70	8,52	190,95
M3	84,62	56,67	9,55	181,05
<i>Average</i>	82,49	58,72	8,21	187,92