

Pilaantuneiden maa-alueiden puhdistus bioenergiakasvien avulla

Petra Manninen-Egilmez¹, Pirjo Mäkelä¹, Helinä Hartikainen², Arja Santanen¹, Mervi Seppänen¹, Frederick Stoddard¹, Markku Yli-Halla²

¹*Helsingin Yliopisto, Soveltavan biologian laitos, PL 27, 00014 Helsingin Yliopisto, petra.manninen@helsinki.fi, pirjo.makela@helsinki.fi, arja.santanen@helsinki.fi, mervi.seppanen@helsinki.fi, frederick.stoddard@helsinki.fi*

²*Helsingin Yliopisto, Soveltavan kemian ja mikrobiologian laitos, PL 27, 00014 Helsingin Yliopisto, helina.hartikainen@helsinki.fi, markku.yli-halla@helsinki.fi*

Tiivistelmä

Maaperän saastuminen raskasmetalleilla sekä metalleilla on kasvava ongelma, joka aiheuttaa uhkia sekä ihmisten että ekosysteemin toiminnalle. Tästä johtuen kiinnostus uusiin ympäristöystävällisempiin sekä taloudellisempiin maaperän puhdistusmenetelmiin on lisääntynyt. Kasvien käyttö saastuneiden alueiden puhdistamisessa eli fytoimediaatio on lupaava menetelmä, jonka avulla maaperän tai veden haitta-aineita voidaan poistaa, stabiloida, muuttaa haitattomampaan muotoon tai tuhota pilaantuneessa kohteessa. CCA (Chromated copper arsenate) on yksi eniten maailmassa käytetty puun kyllästysaine, joka on useiden vuosikymmenien ajan saastuttanut laajoja maa-alueita kuparilla, kromilla sekä arseenilla. Fytoimediaatiomenetelmät voisivat soveltua myös CCA:ta sisältävien maiden puhdistamiseen, sillä kromin, kuparin ja arseenin yhtäaikainen esiintyminen maassa vaikeuttaa puhdistamista kemiallisilla menetelmillä.

CCA:lla saastuneiden maa-alueiden fytoimediaatiota on tutkittu Helsingin Yliopistossa vuodesta 2007 lähtien lupiini- ja hamppukasvien avulla. Kasvihuonekokeiden avulla määritettiin raskasmetallien kertyminen eri kasvinosiin sekä biomassan muodostus. Kasveista havainnoitiin lisäksi lehtialan muodostus, vesisuhteet, yhteyttäminen, ravinnepitoisuus sekä juurinyströiden muodostus. Petri-maljakokeiden avulla tutkittiin itämistä, juurien rakennetta ja anatomiaa. Lisäksi kasveista tutkitaan antioksidanttiaktiivisuutta, raskasmetallien lokalisoitumista, fytokelatiinien muodostusta sekä määritetään kasvien tuhkapitoisuus ja koostumus.

Hamppu ja lupiini näyttäsivät soveltuvan fytoimediaatioon alueilla, joilla saastuneen maan konsentraatio on alle 200 mg kg⁻¹ maata. Tutkituista kasveista valkolupiini ja kuituhamppu tuottivat parhaimmat biomassat. Lisäksi ne olivat kestävämpiä kaikkia maahan lisättyjä raskasmetalleja kohtaan tuottaen parhaimman puhdistuspotentiaalin. Raskasmetallien kertyminen vaihteli kasvilajin sekä eri kasvinosien mukaan. Kasvien altistaminen raskasmetalleille laukaisee kasveissa erilaisia stressireaktioita, jotka ilmenevät morfologisina, anatomisina, fysiologisina ja biokemiallisina muutoksina maanpäällisissä ja maanalaisissa osissa.

Viljelemällä kasveja CCA-aineilla pilaantuneilla mailla voitaisiin puhdistaa maata sekä käyttää kasvimateriaali bioenergian lähteenä sekä lisäksi vähentää raskasmetallien ja metallidien huuhtoutumista estämällä eroosion muodostuminen.

Asiasanat: fytoimediaatio, CCA, valkolupiini, kuituhamppu, raskasmetallit, bioenergia

Johdanto

Pilaantuneiden kohteiden puhdistaminen on yksi ajankohtaisista ympäristökysymyksistä. Perinteisten menetelmien rinnalle on noussut vaihtoehtoisia menetelmiä, joiden etuina on edullisuus sekä ympäristöystävällisyys (Raskin ym. 1997). Fytoremediaatio on yhteisnimi eri menetelmille, joissa kasveja voidaan hyödyntää puhdistettaessa saastuneita maa ja vesialueita, sedimenttejä sekä ilmaa (Cunningham ym. 1995). Yksi epäorgaanisten aineiden puhdistamiseen soveltuva menetelmä on fytoekstraktio. Fytoekstraktiossa haitta-aineet kulkeutuvat maaperästä kasviin juurien kautta ja poistuvat korjattavan kasvuston mukana (Cunningham ym. 1995). Ihanteellinen fytoekstraktiokasvi tuottaa runsaasti biomassaa myös saastuneilla alueilla keräten runsaasti raskasmetalleja ja metalleja maanpäällisiin kasvinosiin (Cunningham ym. 1995). Luonnossa esiintyvät raskasmetalleja tehokkaasti keräävät hyperakkumulaattorikasvit ovat usein hidaskasvuisia ja pieniä tuottaen alhaisen biomassan. (Khan ym. 2001). Tästä johtuen ne eivät sovi puhdistustarkoituksiin. Vaihtoehtoisesti voidaan harkita kasveja, jotka omaavat suuren biomassan sekä keräävät saasteita keskinkertaisesti (Ebbs ym. 1997), jolloin kyettäisiin poistamaan korkeampia haitta-ainepitoisuuksia.

CCA (Chromated copper arsenate) on maailmalla laajasti käytetty puun kyllästysaine. Nykyään CCA:n käyttö on erittäin rajoitettua, mutta se on ehtinyt 1930 luvulta asti saastuttaa maa-alueita kuparilla, kromilla sekä arseenilla (Aceto & Fedele, 1994). CCA-kyllästetystä puusta liukenee maaperään ja veteen käytön aikana arseenia, kromia ja kuparia. Nämä alkuaineet ovat ympäristöön jouduttuaan monille eliöille erittäin myrkyllisiä. Ne eivät hajoa vaan kertyvät ympäristöön ja eliöihin. Ongelma CCA:lla saastuneessa maassa on edellä mainittujen aineiden esiintyminen yhtäaikaaisesti, joka vaikeuttaa maan fysikaalis- kemiallista puhdistusta (Lombi ym. 2004). Tästä johtuen fytoremediaatiomenetelmät näyttäisivätkin olevan paras vaihtoehto CCA:lla saastuneiden maiden puhdistamiseksi.

Tutkimuksessa kehitetään mahdollisuutta hyödyntää viljelykasveja arseenin, kuparin ja kromin fytoremediaatioon selvittämällä hampun ja lupiinin puhdistamispotentiaalia sekä raskasmetallitoleranssia. Lisäksi tutkitaan mahdollisuutta käyttää kasvimateriaali bioenergian raaka-aineeksi.

Aineisto ja menetelmät

Tutkimuksessa tutkittiin valkolupiinin (*Lupinus albus* L.), kuituhampun (*Cannabis sativa* L.), öljyhampun (*Cannabis sativa* L.), keltalupiinin (*Lupinus luteus* L.) ja sinilupiinin (*Lupinus angustifolius*) soveltuvuutta kromilla, kuparilla ja arseenilla saastuneen maan fytoremediaatioon. Kuusi erillistä astiakoetta sekä kaksi Petri -maljakoetta järjestettiin Helsingin Yliopiston maataloustieteiden laitoksella vuosina 2007-2010.

Astiakokeet järjestettiin täydellisesti satunnaistettuna kasvihuoneessa ja toistojen määrä oli 4-8. Kasvit kylvettiin hiekkamaahan 7.5 (Cu-Cr-As koe) tai 1.0 (konsentraatiokoe) litran astioihin. Siemenet kylvettiin astioihin ja kasvit harvennettiin 4-5 kasvia/astia. Konsentraatiokokeissa astioissa kasvoi vain yksi kasvi. Peruslannoituksena annettiin tyypeä hampuille 150 mg kg⁻¹ ja lupiineille 70 mg kg⁻¹ sekä molemmille 40 mg P kg⁻¹ ja 100 mg K⁻¹ (KS and Puutarhan täyslannos, Kemira Grow-How Finland). Kasvihuoneolosuhteet vakioitiin PRIVA- säätöautomaattilla. Päivänpituus oli 16 h, PPFD noin 400 μm ja lämpötila säädetty noin 21 °C. Kahdessa kokeessa käytimme käsittelyinä erilaisia Cu-Cr-As sekoituksia: 50-50-15 mg kg⁻¹, 100-100-5 mg kg⁻¹, 300-150-50 mg kg⁻¹. Kahdessa muussa kokeessa kasveja kasvatettiin Cu-Cr-As sekoitusten lisäksi nousevina konsentraatioina Cu ja Cr; 50, 100, 200, 300, 400, 600, 800 ja 1000 mg kg⁻¹ ja As; 2, 15, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 300 ja 400 mg kg⁻¹. Raskasmetallit lisättiin astioihin seuraavina yhdisteinä Kupari CuSO₄, Kromi K₂Cr₂O₇ ja Arseni Na₂HasO₄. Kontrollit eivät sisältäneet lisättyjä raskasmetalleja tai metalleja.

Kasveista määritettiin biomassan muodostuminen eri kasvinosista sekä lehtiala (LI-3000-A Licor. Inc. USA) viisi kertaa kasvukauden aikana. Intensiivisen kasvun aikana mitattiin kolme kertaa fotosynteesi (LI-6400, LI-COR Inc., Nebraska, USA) sekä vesipotentiaali (Model 3000, Soil Moisture Equipment corp, Santa-Barbara, California, USA). Konsentraatiokokeessa määritettiin ainoastaan biomassa ja raskasmetallipitoisuus kokeen lopussa. Kuivatut näytteet jauhettiin ja niistä määritettiin raskasmetallipitoisuus ICP:lla (Thermo Jarrel Ash, IRIS Advantage). Kromin ja kuparin määrittämiseen käytettiin ICP-OES. Arseenin määrittämiseen käytettiin (ICP-MS, 2007) and (ICP-OES, 2008-2010). Jauhetuista näytteistä määritettiin lisäksi kloridipitoisuus, tuhkapitoisuus sekä C/N suhde.

Petri-maljakokeet itämisen ja juuren anatomian tutkimusta varten tehtiin kasvatushuoneessa käyttäen 2 % agaria. Kymmenen siementä kylvettiin Petri-maljalle (Ø 140 mm) kymmeneen kerranteeseen. Käytettävät raskasmetallikonsentraatiot olivat samat kuin konsentraatiokokeessa. Juurista ja versoista mitattiin itämisen lisäksi pituus ja biomassa sekä lateraalisten juurien lukumäärä. Juurista tehtiin lisäksi anatomisia leikkeitä.

Tulokset ja tulosten tarkastelu

Paras kromin ja arseenin fytoimediaatiopotentialiaali oli valkolupiinilla ja kuituhampulla (Taulukko 1). Keltalupiinin versoon kertyi korkein kuparipitoisuus, mutta keltalupiini ei sietänyt kromia. Sinilupiinilla oli sekä alhaisin biomassa että raskasmetallipitoisuus. Valkolupiini ja keltalupiini tuottivat kasvihuoneolosuhteissa 66 % enemmän biomassaa kuin hamput. Kontrolleissa tuotetut biomassat / kasvi olivat noin 15 g valkolupiinin ja keltalupiinin osalta, 9 g kuituhampun osalta sekä 4 g öljyhampun ja sinilupiinin osalta. Alhaiset raskasmetallipitoisuudet stimuloivat biomassan muodostusta sekä fotosynteesiä ja vesipotentiaalia.

Valkolupiini ja kuituhamppu näyttäsivät sietävän paremmin kaikkia lisättyjä raskasmetalleja. Raskasmetalleista kasvien arseenipitoisuus lisääntyi selvästi maan arseenipitoisuuden kasvaessa. Varsinkin valkolupiinit keräsivät versoihinsa paljon arseenia. Kasveilla näyttäisi sen sijaan olevan yläraja kuparinoton suhteen. Kromia kasvit ottivat vähiten ja se haittasi eniten niiden kasvua.

Taulukko 1. Kuparilla, kromilla ja arseenilla saastuneessa maassa kasvaneiden lupiinien ja hampujen fytoimediaatiopotentialiaali. Tulokset ovat vuosina 2007 ja 2009 järjestettyjen astiakokeiden keskiarvoja \pm SE, n =6-8

<i>Fytoimediaatiopotentialiaali μg / kasvi</i>						
<i>Käsittely</i>		<i>Valkolupiini</i>	<i>Keltalupiini</i>	<i>Sinilupiini</i>	<i>Kuituhamppu</i>	<i>Öljyhamppu</i>
	Kupari					
Kontrolli		104,1	169,7	31,9	82,2	54,2
Cu 50:Cr 50: As 15		125,1	196,5	33,7	167,3	77,3
Cu 100:Cr 100:As 5		99,8	no data	no data	96,7	71,8
Cu 300:Cr 150:As 50		108,3	no data	no data	105,7	no data
	Kromi					
Kontrolli		2,6	3,4	0,2	4,3	1,2
Cu 50:Cr 50: As 15		7,0	5,9	2,6	21,7	6,5
Cu 100:Cr 100:As 5		21,3	no data	no data	25,4	11,7
Cu 300:Cr 150:As 50		31,4	no data	no data	23,3	no data
	Arseeni					
Kontrolli		0,8	0,6	0,3	0,5	0,3
Cu 50:Cr 50: As 15		21,3	14,4	2,3	19,6	17,0
Cu 100:Cr 100:As 5		4,4	no data	no data	3,4	1,3
Cu 300:Cr 150:As 50		38,8	no data	no data	9,1	no data

Raskasmetallien esiintyminen kasvualustassa ei merkittävästi vaikuttanut Itämiseen. Sen sijaan juurien jatkokehitys häiriintyi (Kuva 1). Raskasmetallien aiheuttamat suurimmat morfologiset ja rakenteelliset erot olivat: juuren lyheneminen, juuren kärkisolukon vahingoittuminen, sivujuurien määän nousu/lasku, juuren biomassan väheneminen, lignifikaation lisääntyminen sekä rakenteelliset muutokset juuren hypo- ja endodermisissä. Kasvihuoneessa raskasmetallit vähensivät lupiinien juurinystyröiden muodostumista, mutta eivät estäneet niiden muodostumista täysin.



Kuva 1. Valkolupiinin juuria A) Cu 100, Cr 100 and As 5 mg kg⁻¹ saastuneessa maassa sekä B) kontrollimaassa .

Johtopäätökset

Valkolupiini ja kuituhamppu osoittivat hyvää sietokykyä raskasmetalleja kohtaan. Suuri biomassa tekee niistä mielenkiintoisia kandidaatteja tulevaisuuden fytoremediaatitarkoituksiin. Kuituhampun biomassassa väheni raskasmetallien vaikutuksesta vähemmän kuin valkolupiinin. Toisaalta, valkolupiinit keräsivät korkeimpia pitoisuuksia haitta-aineita versoihinsa,

Fytoekstarktiomenetelmät näyttäisivät soveltuvan suurille alueille, jotka ovat saastuneet lievästi tai keskinkertaisesti. Astiakokeiden perusteella kuituhamppu ja valkolupiini näyttäisivät soveltuvan fytoremediaatioon alueilla, joilla saastuneen maan raskasmetallipitoisuudet ovat alle 200 mg kg⁻¹ maata. Tuloksien perusteella voitaisiin harkita myös eri kasvien viljelemistä seoksina. Eri kasveilla on erilaisia kykyjä ottaa ja sietää saasteita, joten monien kasvien käyttöä voidaan harkita. Tämä on tärkeää etenkin kohteissa, jotka ovat saastuneet useammalla kuin yhdellä haitta-aineella. Sopivan alueen löydyttyä hampun ja lupiinin puhdistamiskykyä tullaan tutkimaan myös kenttäkokeiden avulla. Mikä on välttämätöntä käytännön soveltuvuuden arvioimiseksi.

Kirjallisuus

Aceto M, Fedele A. (1994). Rain water effect on the release of arsenic chromium and copper from treated wood. *Fresenius Environ. Bull.* 3:389-394.

Cunningham SC, Berti WR, Huang JW. (1995). Phytoremediation of contaminated soils. *TIBTECH* 13:393-397.

Khan AG, Kuek C, Chaudry TM, Khoo CS & Hayes WJ. 2000. The role of plants, mycorrhizae, and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation *Chemosphere* 41, 197-207.

Lombi E, Hamon RE, Wieshammer G, McLaughlin MJ & McGrath SP. 2004. Assessment of the use of industrial by-products to remediate a copper/arsenic contaminated soil. *Journal of Environmental Quality* 33, 902-910.

Raskin, I., Smih, R.RD., Salt, D. 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. *Current opinion in Biotechnology* 8:221-226.