

Phytoscreening dřevin jako instrument pro indikaci šíření organochlorovaných pesticidů v podzemní vodě

Phytoscreening des Holzes als Methode der Anzeige der Verbreitung chlororganischer Pflanzenschutzmittel im Grundwasser

Pavel Hrabák, Vojtěch Antoš, Jiří Mikšíček, Klára Lísková, Stanisław Waclawek, Miroslav Černík¹

Abstrakt

Nezabezpečené historické skládky toxických odpadů představují značnou zátěž pro podzemní vody ve většině evropských zemí. Jedním z inovativních instrumentů, jejichž využitelnost je testována pro charakterizaci znečištění podzemní vody skládkovými výluhy, je phytoscreening pomocí dřevin. V příspěvku shrnujeme výstupy z phytoscreeningu dřevin jako indikátorů koncentrace izomerů hexachlorocyklohexanu (HCH) v podzemní vodě. HCH, resp. jeho γ izomer (triviální název lindan), byl podobně jako DDT masivně vyráběn v šedesátých letech 20. století a využíván jako insekticid. O čtyři desetiletí později se dostal mezi prvních 12 látek umístěných na seznam Stockholmské konvence o perzistentních polutantech (POPs). Jeho výroba ve středoevropských zemích byla většinou přerušena ještě před přijetím Stockholmské konvence (2001), protože již v sedmdesátých letech byly publikovány mechanismy vzniku chlorakné - onemocnění osob vystavených chronickým toxickým účinkům HCH a nečistot vznikajících při jejich výrobě. V době produkce γ -HCH bylo běžnou praxí ukládat ostatní balastní izomery HCH na nezabezpečené skládky, velmi často do povrchových dolů nebo jejich výsypek. To je i případ dvou studovaných lokalit, z nichž pocházejí prezentovaná data - výsypky lomu Hájek v Karlovarském kraji a skládky Rudna Gora v bývalé pískovně u polského Jaworzna. Navzdory doporučením existující příručky „Guide to Phytoscreening“ konstatujeme, že monitoring dřevin přináší na obou lokalitách relevantní výsledky pro indikaci přítomnosti HCH v podzemních vodách.

Kurzfassung

In den meisten europäischen Ländern stellen ungesicherte historische Deponien toxischer Abfälle eine große Belastung des Grundwassers dar. Eines der innovativen Instrumente, deren Anwendbarkeit für eine Charakterisierung der Verunreinigung des Grundwassers durch Deponiesickerwasser getestet wird, ist ein Phytoscreening mit Hilfe von Gehölzen. In dem Beitrag werden die Ergebnisse des Phytoscreenings der Gehölze als eines Indikators für die Konzentrationen der Isomere des Hexachlorocyclohexans (HCH) im Grundwasser zusammengefasst. HSH, bzw. sein γ Isomer (Handelsbezeichnung Lindan) wurde ähnlich wie DDT in den 1960er Jahren massiv produziert und als ein Insektizid genutzt. Vier Jahrzehnte später gelangte es unter die ersten 12 Stoffe des Stockholmer Übereinkommens. In den mitteleuropäischen Ländern wurde seine Produktion noch vor der Verabschiedung des Stockholmer Übereinkommens (2001) eingestellt, weil bereits in den 1970er Jahren Mechanismen der Entstehung von Chlorakne beschrieben wurden - Erkrankung von Personen, die toxischen Auswirkungen von HCH sowie der während seiner Produktion entstehenden Verunreinigung ausgesetzt waren. Während der Herstellung von γ -HCH gehörte es zur üblichen Praxis sonstige HCH - Balastisomere auf ungesicherten Deponien zu lagern, sehr oft in Tagebauen oder auf ihren Halden. Das ist auch ein Beispiel von zwei untersuchten Standorten, aus denen die vorgestellten Daten stammen - der Halde der Grube Hájek in dem Karlovarský kraj und der Deponie Rudna Gora in der ehemaligen Sandgrube beim polnischen Jaworzno. Trotz Empfehlungen in dem bestehenden Handbuch „Guide to Phytoscreening“ stellen wir fest, dass ein Monitoring von Gehölzen auf beiden Standorten relevante Ergebnisse für eine Indizierung des Vorkommens von HCH im Grundwasser liefert.

¹Technická univerzita v Liberci, Studentská 1402/2, 461 17 Liberec; pavel.hrabak@tul.cz

1 Úvod

Myšlenka využít dřeviny jako svého druhu aktivní čerpadlo podzemních vod nad terén, které funguje bez nutnosti hloubení vrtů, pochází již z 90. let minulého století a objevovala se u prací směřujících nejen do phytoscreeningu (např. [1, 2]), ale také do phytoremediačního využití rostlin ([3, 4]). Výše uvedené práce směřovaly k indikaci chlorovaných ethylenů a látek ze skupiny BTEX, tedy polutantů s menší molekulovou hmotností, s vyšší rozpustností ve vodě a větší volatilitou, než mají izomery HCH. Studium chování chlorovaných ethylenů a BTEX v nenasaturované zóně a jejich příjem rostlinami byly intenzivně studovány i v dalších letech ([5, 6, 7, 8]). V případě HCH byl popsán příjem druhů bylin a keřů *Erica sp.*, *Solanum sp.* nebo *Cytisus sp.* ([9, 10, 11]), popis příjmu HCH u stromů ale dosud chybí [12]. Příručka [13] je k využití phytoscreeningu pro indikaci HCH skeptická, jako důvod uvádí omezenou rozpustnost HCH ve vodě. Naše práce na tématu příjmu HCH dřevinami je umožněna vstřícností společnosti Diamo s.p. (lokality Hájek) a městem Jaworzno, které v rámci projektu AMIIGA ([14]) umožnilo rozsáhlé vzorkování dřevin na lokalitě Rudna Gora. Přehled evropských lokalit se zátěží HCH přináší práce [15]. Zatímco Hájek je lokalitou se středně velkou zátěží (odhadem cca 5 tis. tun HCH), Rudna Gora patří s bilancí cca 100 tis. tun HCH jednoznačně k evropským „mega-sites“ s mezinárodním přesahem.

2 Metodika

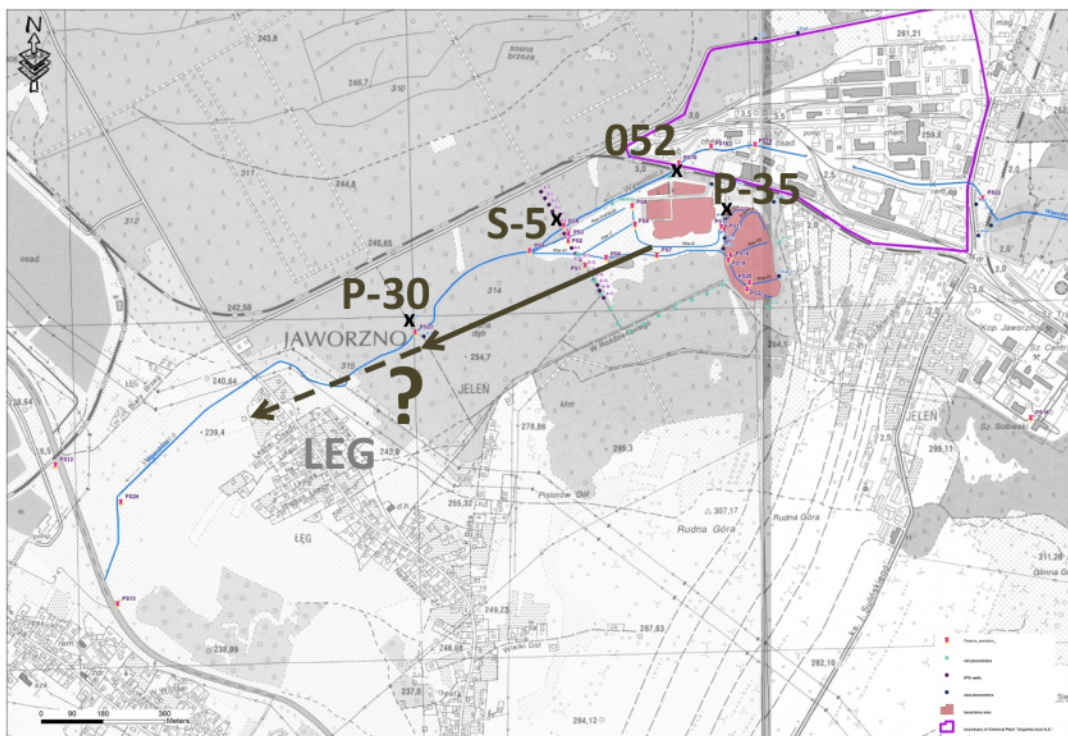
Předpokladem využití dřevin pro indikaci znečištění podzemní vody je jejich přítomnost na studované lokalitě. V tomto směru panují na odvalu lomu Hájek (N 50°17.44778', E 12°53.48923') jistá omezení, protože růst náletových dřevin zde byl historicky potírán jako prevence proti porušení izolačních překryvných vrstev kořeny stromů.



Obrázek 1: Situace na zájmové lokalitě Hájek. Výsypka je v místě dřívějšího prameniště Ostrovského potoka. Olše byly sklizeny u vyústění drenážních vod na terén (suma HCH 100 µg/l, suma ClB 400 µg/l).

Navzdory tomuto úsilí k infiltraci srážkových vod docházelo a výsypka prodělala sesuv, ve-

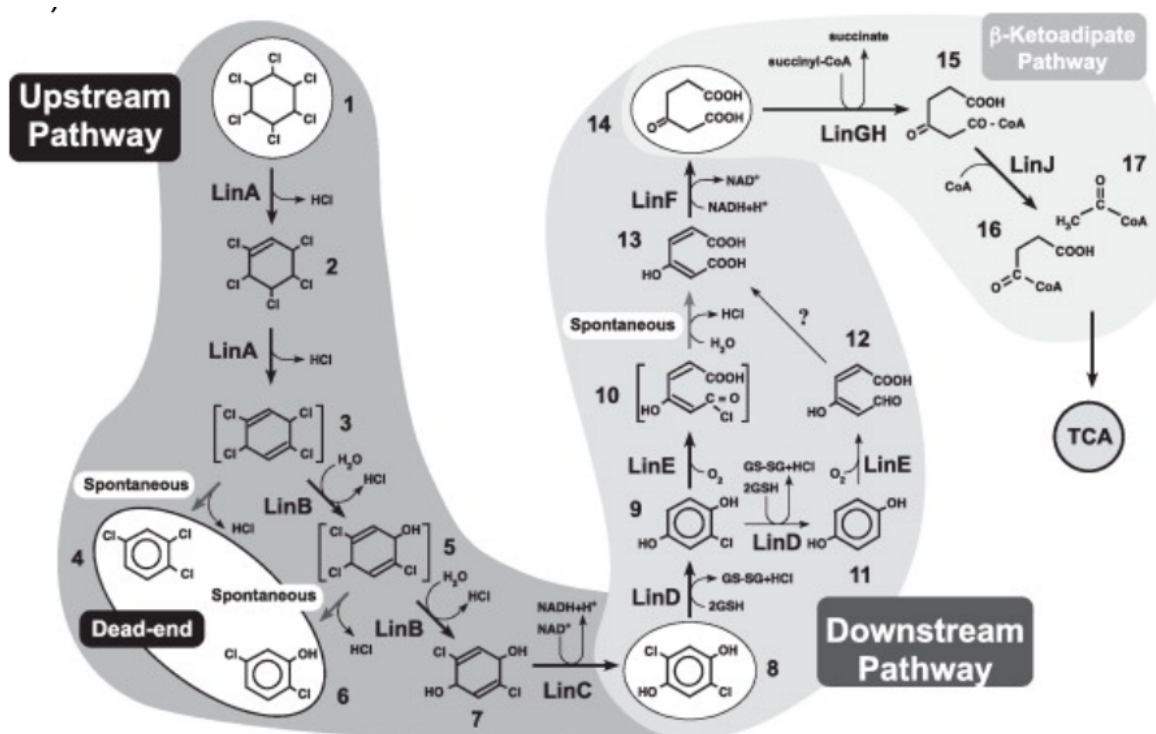
doucí k odhalení uloženého HCH-odpadu původem ze Spolany Neratovice. Na Hájků je tedy nedostatek dřevin nad kontaminovanou oblastí, která je ale poměrně dobře pokryta hydrogeologickými vrty. V Rudne Goře (N 50°11.28205', E 19°14.67368') je situace opačná: celé zájmové území je až na mýtiny zalesněno, pokrytí území hydrogeologickými vrty je ale nedostatečné (Obr. 1 a 2). Situace je zde také komplikovaná současným výskytem dalších polutantů (DDT, chlorovaná rozpouštědla, aldrin, endosulfan, heptachlor, kyanidy), zatímco Hájek je kontaminován uniformně jen HCH a jejich degradačními produkty (Obr. 3). Odběry dřevin pro dendrochronologické studie mají definovaný odběrový protokol (zaměření GPS pozice, fotodokumentace, změření výšky stromu a obvodu kmene ve 130 cm nad terénem, vlastní odběr pomocí přírůstkového vrtáku vedený od obvodu kolmo na střed, uložení vzorku do < -40 °C (přenosný box se suchým ledem), transport a laboratorní zpracování po letokruzích). Tento postup byl při studiu obou lokalit doplněn o tři prvky. Prvním je značení vzorkovaných stromů pro možnost opakování odběrů v jiném vegetačním období, druhým využití aku vrtaček pro rychlé ovzorkování velké plochy lesa a třetím využití celých pokácených kmenů pro detailní studium distribuce HCH v jednotlivých věkových a výškových kategoriích dřeva. Při využití aku vrtaček je ztracena věková struktura dřeva, ale kapacita vzorkovací skupiny je řádově větší. Tento způsob odběrů byl využit pro obě vzorkovací kola v Rudne Goře (červen 2017 a červen 2018). Detailní metodika k lokalitě Hájek je popsána v publikaci [16]. Na rozdíl od Rudne Gory zde byly vzorkovány mladé stromy (cca 20 leté).



Obrázek 2: Situace na zájmové lokalitě Rudna Gora s vyznačením zdrojové zóny. Plná šipka ukazuje prokázané a přerušovaná potenciální šíření kontaminace HCH v podzemní vodě. P-35 – nejkontaminovanější vrt, 052 – nejkontaminovanější dřevina 2017. Výluhy ze zdrojové zóny jsou drénovány tokem Wawolnica. Suma HCH dosahuje desítek až tisíců µg/l v podzemní vodě na úrovni vrtů řady S, jednotek ve vrtu P-30.

V laboratoři byly vzorky rozmrazeny a zpracovány extrakcí do směsi aceton:hexan 1:1 a po přidavku interních deuterovaných standardů a vysušení žíhaným síranem sodným nastříkány do GC-MS/MS. Pro kalibraci přístrojů byla použita rozpouštědla po kontaktu s biomasou referenčních exemplářů (tzv. matrix-matched kalibrace). Vyhodnocené koncentrace byly posléze

korigovány na sušinu dřevní biomasy, která byla stanovena paralelně (~ 80 - 90 %). Sledovány byly HCH a CIB. Co se týče taxonomie, na Hájku byly vzorkovány téměř výhradně exempláře olší (*Alnus glutinosa*), v Rudne Goře nejdříve v roce 2017 směs druhů (47 ks bříz, *Betula sp.*, 26 ks borovic, *Pinus sp.*, 18 ks osik, *Populus sp.*, 12 ks olší a 11 ks dubů, *Quercus sp.*). V roce 2018 bylo vzorkováno 198 ks bříz a zařazen byl i bývalý výrobní areál Organika Azot v bezprostředním sousedství zdrojové deponie. Odběry dřevin probíhaly od míst s jejich předpokládanou nejnižší kontaminací, zdrojová zóna byla vzorkována nakonec. Referenční (čistě) stromy byly vzorkovány ve vzdálenosti 3, resp. 15 km od lokalit (Hájek, resp. Rudna Gora). O zpracování celých kmenů z lokality Hájek podrobně referujeme v práci [16]. Potenciální mechanismus příjmu vzduchem byl podchycen vzorkováním kůry všech stromů v Rudne Goře v červnu roku 2017. Odběry podzemní vody byly realizovány jako dynamické, do ustálení fyzikálně chemických parametrů. Stanovení HCH, CIB a CIF (chlorfenolů) probíhalo automatizovanou metodou mikroextrakce na tuhou fázi po přidavku interních standardů a acetylace chlorfenolů, s GC-MS/MS koncovkou. Odběry vody a sedimentů z povrchových vodotečí (Ostrovský potok, Wawolnica) byly provedeny prostým naplněním vzorkovnic, resp. odběrovou lopatkou z hloubky cca 10 cm pode dnem. Povrchová voda byla zpracována jako podzemní voda, sediment jako biomasa dřevin (viz výše).



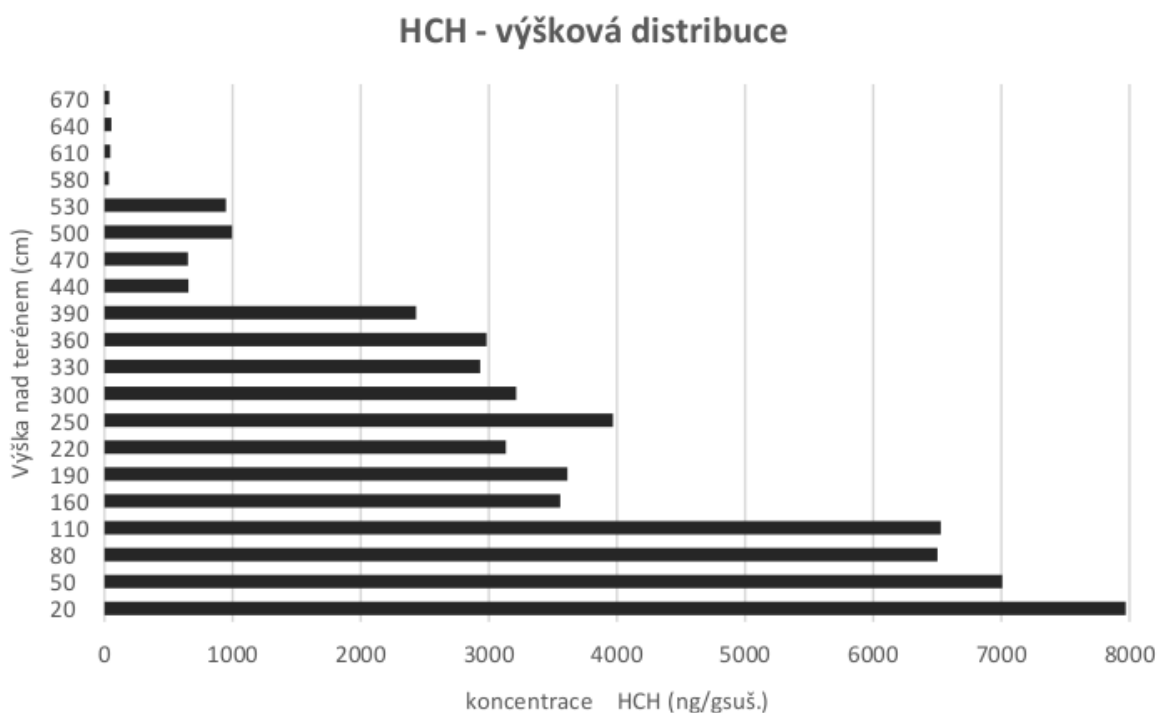
Obrázek 3: Aerobní transformační cesta γ -HCH popsaná pro *Spingobium japonicum* UT26. Transformační produkty: **1**: γ -hexachlorcyklohexan (γ -HCH); **2**: γ -pentachlorocyclohexene; **3**: 1,3,4,6-tetrachloro-1,4-cyklohexadiene; **4**: 1,2,4-trichlorbenzen; **5**: 2,4,5-trichlor-2,5-cyklohexadiene-1-ol; **6**: 2,5-dichlorphenol; **7**: 2,5-dichloro-2,5-cyklohexadiene-1,4-diol; **8**: 2,5-dichlorhydroquinone; **9**: chlorhydrochinone; **10**: acylchlorid; **11**: hydrochinone; **12**: γ -semialdehyde k. hydroxymukonové; **13**: maleylacetát; **14**: β -ketoadipát; **15**: 3-oxoadipyl-CoA; **16**: succinyl-CoA; **17**: acetyl-CoA. TCA: citrátový cyklus. Převzato z [17].

Ke zpracování dat byl využit software Excel a Surfer.

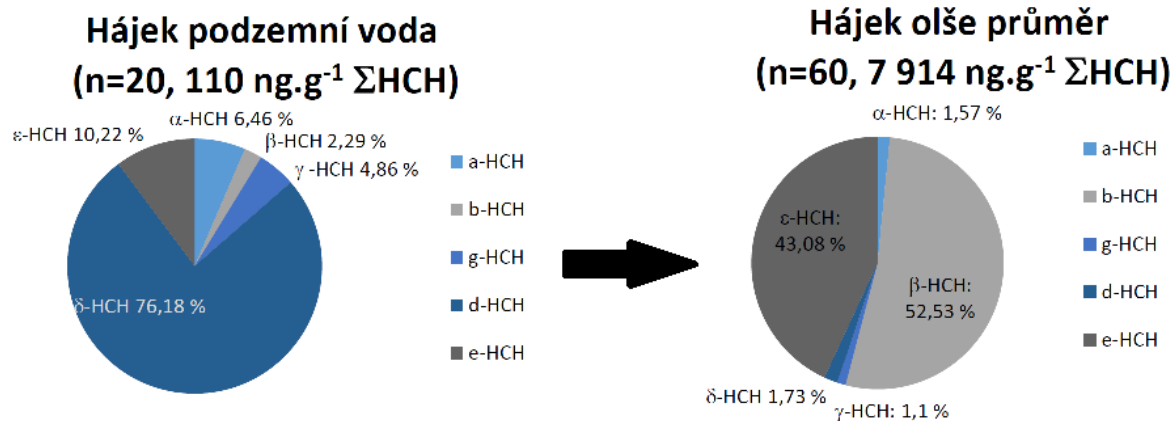
3 Výsledky

Na obou lokalitách byly v biomase dřevin nalezeny vysoké koncentrace HCH (jednotky až desítky $\mu\text{g}/\text{g}_{\text{suš.}}$), dochází tedy k bioakumulaci HCH v dřevinách s níže uvedenými detaily:

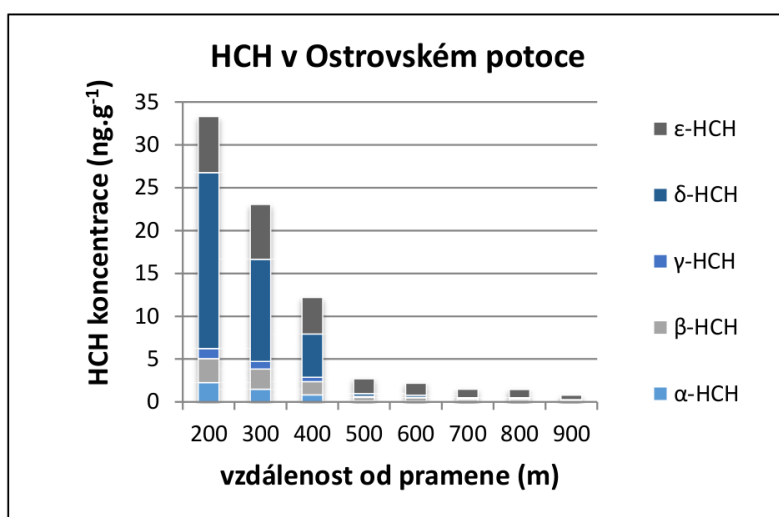
- Bioakumulace probíhá pouze v xylému (ne v kůře ani v lýku). Lze tak konstatovat, že transportní mechanismus do dřevní biomasy vede přes kořenový systém, ne přes kůru nebo listovou plochu.
- V dřevní hmotě bylo nalezeno minimum CIB jako transformačních produktů HCH, které jsou pravděpodobně metabolizovány jinou cestou nebo jsou perzistentní.
- Bioakumulační faktor (podíl mezi koncentrací v dřevině a v podzemní vodě) dosahuje maximální hodnoty cca 500. Uvedená hodnota platí pro kmeney *Alnus glutinosa*, na lokalitě Hájek, u terénu.
- Suma HCH je nepřímě úměrná výšce vzorků nad terénem (Obr. 4).
- Současně s akumulací HCH dochází ke změně izomerního profilu HCH (Obr. 5).
- Izomer δ -HCH byl na Hájku nalezen jen v nízkých koncentracích ve vzorcích při terénu, v Rudne Goře byly koncentrace ve výšce 130 cm nad zemí vyšší (pro jiné části kmene nejsou data).
- V Rudne Goře byla zjištěna řádově nižší akumulace HCH borovicemi oproti listnáčům (bříza, osika, olše). Tento nález přispěl k úpravě metodiky plošného vzorkování v roce 2018, kdy byly vzorkovány pouze břízy.
- Na obou lokalitách jsou místní vodoteče hlavním zdrojem šíření kontaminace HCH, v jejich sedimentech jsou ale (na rozdíl od dřevin) HCH rychle transformovány na chlorbenzeny (data nejsou zobrazena).



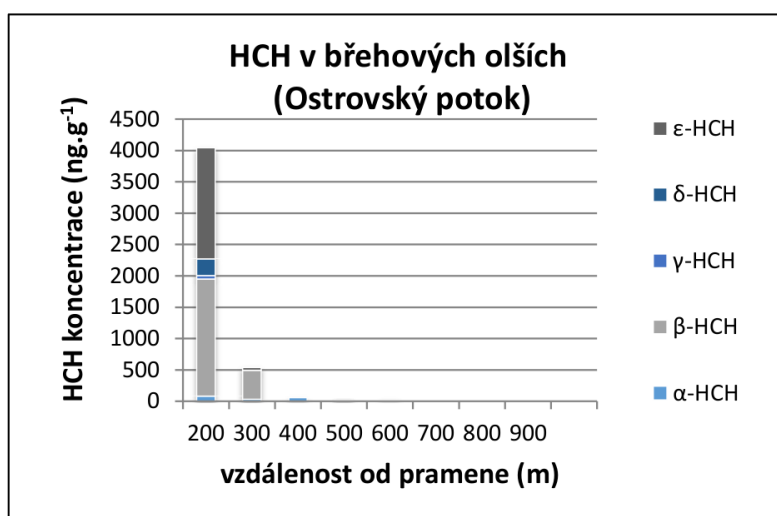
Obrázek 4: Výšková distribuce sumy HCH. *Alnus glutinosa*, stáří 20 let, lokalita Hájek.



Obrázek 5: Průměrné zastoupení jednotlivých izomerů HCH na jejich sumě: podzemní voda (vlevo) a biomasa dřevin (vpravo, průměr pouze z pozitivních vzorků, data: červen 2017).

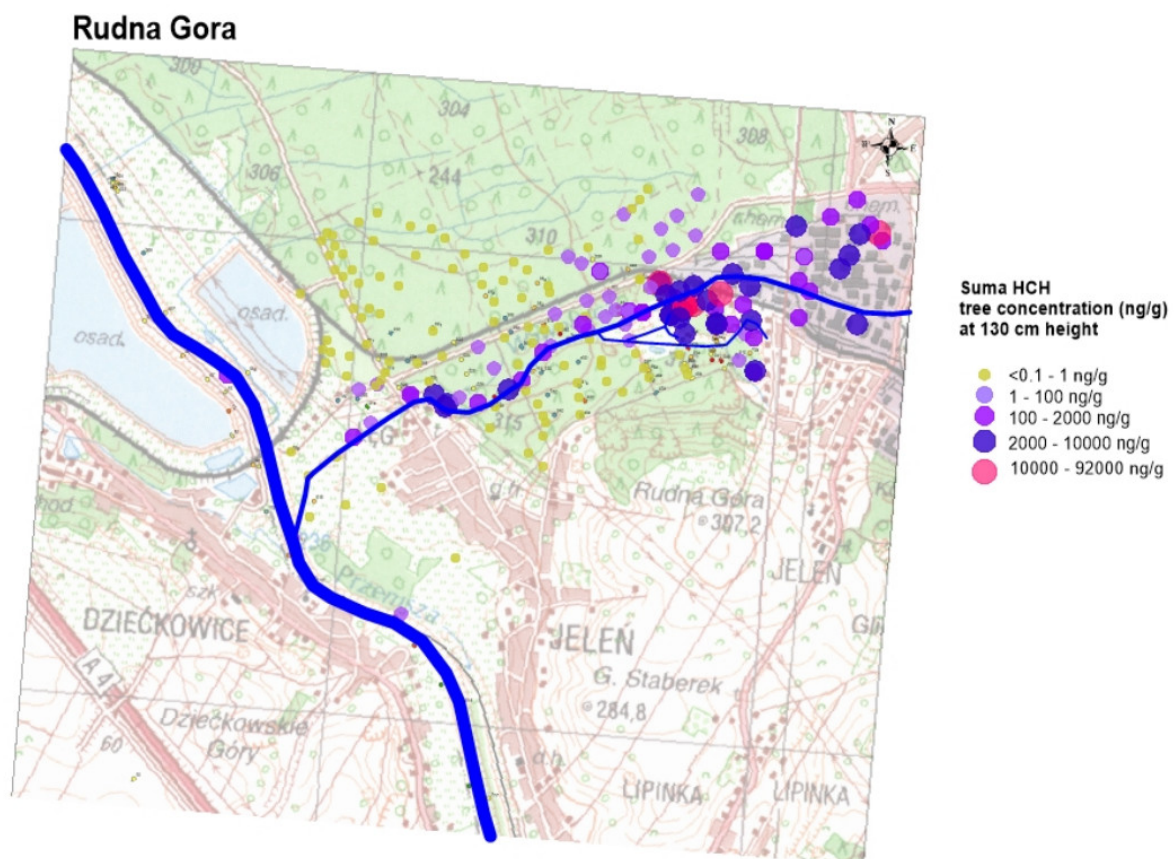


Obrázek 6: Koncentrace HCH v Ostrovském potoce - voda.



Obrázek 7: Koncentrace HCH v Ostrovském potoce – břehové olše.

- Data z lokality Rudna Gora jsou dosud ve zpracování (interpolace, korelace). Na místě je ale opatrný optimismus ohledně vypovídací schopnosti phytoscreeningu, protože výsledky phytoscreeningu prostorově odpovídají kontaminaci podzemní vody tam, kde je známa.
- Výsledky phytoscreeningu přepokládají existenci dalších zdrojových zón (např. v bývalém výrobním areálu), kde bude kontaminace ověřena vyhloubením hydrogeologických vrtů.
- Z výsledků phytoscreeningu nevyplývá bezprostřední nebezpečí ohrožení domovních studní v části obce Jeleň-Leg migrující kontaminací HCH v podzemní vodě, kontaminace se zdá být vázána na místní tok Wawolnica.



Obrázek 8: Výsledky phytoscreeningu pomocí bříz na lokalitě Rudna Gora.

Pro absolutní korelaci mezi koncentrací HCH v podzemní vodě a ve kmenu dřeviny v prostoru nad šířícím se kontaminačním mrakem HCH by musely dřeviny splňovat následující podmínku: Musel by existovat konstantní poměr mezi objemem přijímané podzemní vody a nadzemní biomasou kmene, ve kterém by přijímaná voda musela být rovnoměrně distribuována. To vše při zanedbatelné nebo konstantní transformaci HCH ve kmenu dřeviny. Ve skutečnosti dřeviny přijímají podzemní vodu a půdní vlhkost v různé míře podle druhu dřeviny, podle jejího stáří, podle pozice konkrétního jedince v rámci celého lesního porostu (zastínění, expozice svahu atd.), podle mocnosti nesaturované zóny, resp. hloubky kořenového systému konkrétního jedince. Rychlost transformace může být různá nejen mezi druhy, ale i mezi jedinci stejného druhu, např. v závislosti na míře napadení endoparazitickými houbami. Nejpravděpodobnější je, že intenzita transformace je variabilní i u téhož jedince v průběhu vegetačních period (den/noc, roční období, stáří). Nízká intenzita transformace HCH v dřevině by teoreticky mohla vést k po-

zitivnímu nálezu v dřevině v situaci, kdy kontaminovaná podzemní voda již otekla a byla nahrazena vodou čistou. Je tedy zřejmé, že reálně existuje celá řada překážek pro to, aby dřeviny poskytovaly objektivní obraz kontaminace podzemní vody. Přesto jsou i dosud nezpracované výsledky plošného monitoringu na lokalitě Rudna Gora vnímány polskými partnery projektu Amiiga jako přínosné pro plánování dalšího postupu prací na rekultivaci pohřbené skládky toxických pesticidů. Do značné míry je to dáno masivností vzorkovací kampaně (198 vzorků) a posunem k jednodruhovému phytoscreeningu v červnu roku 2018 (vyloučením borovic byl vyřazen druh s výrazně nižší odezvou na kontaminaci podzemní vody, než zbytek vzorků).

4 Závěr

Bioakumulace HCH listnatými dřevinami, kterou jsme dříve popsali pro lokalitu Hájek, byla potvrzena na druhé lokalitě s pohřbenou skládkou těchto pesticidů, v Rudne Goře. Listnaté dřeviny lze u mělce uložených zvodní poměrně spolehlivě využít jako indikátory šíření HCH podzemní vodou, i když dosud není detailně objasněn mechanismus příjmu HCH a jeho variabilita druhová, věková nebo stanovištní. Autoři připravují aktualizaci příručky pro phytoscreening [13], protože její stávající znění je ve značném rozporu se skutečností. Problematice sezonality příjmu HCH, její druhové variabilitě a objasnění změn izomerního profilu bude věnováno další monitorovací úsilí v Rudne Goře, která je z pohledu příjmu HCH listnatými dřevinami ideální studijní lokalitou.

Poděkování

Autoři děkují za podporu Výzkumnou infrastrukturou NanoEnviCz (č. projektu LM2015073), poskytnoutou Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky, za podporu projektu Pro-NanoEnviCz (č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001821) poskytnutou Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy České republiky a Evropské uní – Evropským strukturálním fondům v rámci Operačního programu Výzkum, vývoj, vzdělávání. Autoři dále děkují projektu CJ32 Amiiga, Interreg Central Europe.

Literatura

- [1] BURKEN, J. G.; SCHNOOR, J. L.: Predictive Relationships for Uptake of Organic Contaminants by Hybrid Poplar Trees. *Environ. Sci. Technol.*, ročník 32, č. 21, 11 1998: s. 3379–3385.
- [2] VROBLESKY, D. A.; NIETCH, C. T.; a J. T. MORRIS: Chlorinated Ethenes from Groundwater in Tree Trunks. *Environ. Sci. Technol.*, ročník 33, č. 3, 02 1999: s. 510–515.
- [3] COLLINS, C.; LATURNUS, F.; NEPOVIM, A.: Remediation of BTEX and trichloroethene. Current knowledge with special emphasis on phytoremediation. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, ročník 9, č. 1, 2002: s. 86–94.
- [4] NEWMAN, L. A.; aj.: Phytoremediation of Organic Contaminants: A Review of Phytoremediation Research at the University of Washington. *J. Soil Contam.*, ročník 7, č. 4, 07 1998: s. 531–542.
- [5] SOREK, A.; aj.: “Phytoscreening”: The Use of Trees for Discovering Subsurface Contamination by VOCs. *Environ. Sci. Technol.*, ročník 42, č. 2, 01 2008: s. 536–542.
- [6] LIMMER, M. A.; BURKEN, J. G.: Plant Translocation of Organic Compounds: Molecular and Physicochemical Predictors. *Environ. Sci. Technol. Lett.*, ročník 1, č. 2, 2014: s. 156–161.
- [7] WAHYUDI, A.; BOGAERT, P.; TRAPP, S.; aj.: Pollutant plume delineation from tree core sampling using standardized ranks. *Environ. Pollut.*, ročník 162, 03 2012: s. 120–128.
- [8] LIMMER, M. A.; BALOUET, J.-C.; KARG, F.; aj.: Phytoscreening for Chlorinated Solvents Using Rapid in Vitro SPME Sampling: Application to Urban Plume in Verl, Germany. *Environ. Sci. Technol.*, ročník 45, č. 19, 01 2011: s. 8276–8282.
- [9] CALVELO PEREIRA, R.; CAMPS-ARBESTAIN, M.; Rodríguez Garrido, B.; aj.: Behaviour of α -, β -, γ -, and δ -hexachlorocyclohexane in the soil–plant system of a contaminated site. *Environ. Pollut.*, ročník 144, č. 1, 11 2006: s. 210–217.
- [10] BECERRA-CASTRO, C.; KIDD, P. S.; Rodríguez-Garrido, B.; aj.: Phytoremediation of hexachlorocyclohexane (HCH)-contaminated soils using *Cytisus striatus* and bacterial inoculants in soils with distinct organic matter content. *Environ. Pollut.*, ročník 178, 07 2013: s. 202–210.
- [11] CALVELO PEREIRA, R.; MONTERROSO, C.; MACÍAS, F.; aj.: Distribution pathways of hexachlorocyclohexane isomers in a soil–plant–air system. A case study with *Cynara scolymus* L. and *Erica* sp. plants grown in a contaminated site. *Environ. Pollut.*, ročník 155, č. 2, 09 2008: s. 350–358.
- [12] KARTHIKEYAN, R.; aj.: Potential for Plant-Based Remediation of Pesticide-Contaminated Soil and Water using Nontarget Plants such as Trees, Shrubs, and Grasses. *Crit. Rev. Plant Sci.*, ročník 23, č. 1, 01 2004: s. 91–101.

- [13] HOLM, O.; TRAPP, S.; DESI, R.: Using tree core sampling and chemical analysis to investigate contamination in the groundwater and soil. Federal Ministry of Education and Research, Leipzig, Germany.
- [14] AMIIGA.
URL <https://www.interreg-central.eu/Content.Node/AMIIGA.html>
- [15] SCHONARD, M.: Lindane (persistent organic pollutant) in the EU. 2016.
- [16] ANTOŠ, V.; aj.: Akumulace hexachlorocyklohexanů v biomase *Alnus glutinosa*. 2015, eko-monitor Chrudim.
- [17] NAGATA, Y.; aj.: Genomic organization and genomic structural rearrangements of *Sphingobium japonicum* UT26, an archetypal γ -hexachlorocyclohexane-degrading bacterium. *Microb. Technol.*, ročník 49, č. 6, 12 2011: s. 499–508.