

BIOGEOCHÉMIA ORTUTI V SYSTÉME PÔDA-RASTLINA V ANTROPOGÉNNE KONTAMINOVANEJ OBLASTI

MICHAL HLODÁK^a, PETER MATÚŠ^a,
MARTIN URÍK^a, LUCIA KOŘENKOVÁ^a,
PETRA MIKUŠOVÁ^{a,b}, MARIN SENILA^c
a PAVEL DIVIŠ^d

^a Ústav laboratorného výskumu geomateriálov, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, ^b Botanický ústav SAV, Oddelenie nižších rastlín, Dúbravská 9, 845 23 Bratislava, Slovenská republika, ^c Výskumný ústav analytický, Donath St. 67, Cluj-Napoca, 400293, Rumunsko, ^d Ústav chemie potravín a biotechnológií, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně, Purkyňova 118, Královo Pole, 61200, Brno, Česká republika
hlodak@fns.uniba.sk

Došlo 17.7.14, prijaté 3.9.14.

Kľúčové slová: Hg, pôda, rastliny, separačné techniky, separačná výťažnosť, koeficient transferu

Úvod

Hg je špecifický polutant životného prostredia, pedosféru a biosféru nevynímajúc, vyznačujúci sa oproti ostatným kovom kvapalným skupenstvom za normálnych podmienok a taktiež prchavosťou. Antropogénne podmienené zvýšené obsahy Hg v pôdach sú zapríčinené napr. spaľovaním fosílnych palív, banskou činnosťou, aplikáciou agrochemikálií (hnojivá, pesticídy a pod.) a i. Pôda je významnou geochemickou bariérou Hg, kde je Hg prednostne imobilizovaná väzbou na organickú hmotu, prípadne ílové minerály a iné pôdne zložky. Hg môže byť za určitých podmienok (napr. acidifikácia pôd) opätovne mobilizovaná a distribuovaná do ďalších zložiek životného prostredia (atmosféra, hydrosféra, biosféra), pričom sa stáva súčasťou trofického reťazca a takto predstavuje potenciálne riziko aj pre zdravie človeka.

Distribúcia Hg v systéme pôda-rastlina je predmetom záujmu tak pre biologické, ako aj chemické vedy. Biologické vedy sa sústreďujú predovšetkým na štúdium rastlinných druhov so zvýšenou schopnosťou akumulovať Hg v ich biomase (tzv. fytoakumulátory). Chemické vedy sa usilujú najmä o identifikáciu takých separačných techník, ktoré by umožňovali efektívnu kvantifikáciu fytopristupných frakcií Hg translokovaných z pôd do rastlín^{1–3}.

Cieľom predkladanej práce bolo vyhodnotenie správanie sa Hg v systéme pôda-rastlina v lokalite významne kontaminovanej týmto prvkom v dôsledku v minulosti

prebiehajúcej ťažby a spracovania rúd s obsahom Hg. Pri štúdiu frakcionácie Hg v pôdach sme sa sústredili predovšetkým na získanie potenciálne fytopristupných frakcií Hg v pôdach pomocou aplikácie viacerých separačných techník. Študovali sme taktiež transfer Hg do divorastúcich rastlín, jačmeňa siateho a vybraných druhov koreňovej zeleniny, ktoré sme získali z uvedenej lokality.

Experimentálna časť

Lokalizácia záujmového územia

Záujmové územie sa nachádza cca 10 km juhovýchodne od Spišskej Novej Vsi na východnom Slovensku. V minulosti tu fungovala pražiareň a úpravňa rúd obsahujúcich sulfidy Hg. Odberová lokalita 1 sa nachádzala v blízkosti pražiarene a úpravne rúd, lokality 2 a 3 boli situované v intraviláne obce Poráč.

Odber a úprava rastlinných a pôdných vzoriek

Distribúciu Hg v divorastúcich druhoch rastlín sme študovali na 12 vybraných (bežne sa vyskytujúcich) taxónoch bylín a drevín z lokality 1. Rastliny sme odobrali koncom mája 2013, pričom v prípade bylín sme odobrali celú nadzemnú časť a v prípade drevín koncové vetvičky s listami (príp. s ihličím).

Distribúciu Hg v jačmeni siatom (*Hordeum vulgare* L.) sme študovali na lokalite 2 a 3 v intraviláne obce Poráč. Jačmeň sme zasiali koncom mája 2013 a vo fáze zrelosti sme ho odobrali (v polovici septembra 2013), pričom spodnú časť stebľa (cca 10 cm nad povrchom pôdy) sme neanalyzovali, keďže táto časť zostáva po žatve ako tzv. „strnisko“ na poliach.

V prípade študovaných druhov koreňovej zeleniny sme odobrali korene, ktoré sme dôkladne umyli v redestilovanej vode, odstránili sme ich povrchovú vrstvu a priečne sme ich rozdelili na cca 1 cm hrubé plátky.

Vzorky pôdy z lokality 1 (lesná pôda) sme odobrali z jej vrchnej časti (cca 5–10 cm), pri pôdach z lokality 2 a 3 (záhradné pôdy) sme odobrali vzorky z hĺbky 5–20 cm, následne sme z nich pre každú lokalitu zvlášť pripravili zmesnú vzorku.

Pôdne aj rastlinné vzorky sme nechali voľne sušiť v laboratórnych podmienkach na konštantnú hmotnosť. Pôdy sme pred ich analýzou na celkový obsah Hg a aplikáciou separačných techník (okrem techniky DGT) sitovali na frakciu pod 2 mm. V pôdach sme stanovili pH_{H_2O} , pH_{KCl} , C_{ox} , CO_3^{2-} a zrnitosť⁴.

Aplikácia separačných techník

Všetky extrakčné činidlá sme aplikovali na 1 g pôdy, ktorú sme navážili do 25ml polyetylénových nádobiek. Všetky extrakcie boli vykonávané v troch opakovaniach. Pôdy s extrakčnými činidlami sme nechali trepať na trepačke počas 16 hodín, následne sme ich počas 40 min cen-

trifugovali pri 3000 ot/min. Supernatant sme zliali a ihneď analyzovali.

Na získanie pseudototálneho obsahu Hg v pôdach sme využili extrakciu pôd 4 ml koncentrovanej HNO₃ a pomocou 5 ml nasýteného roztoku Na₂S sme extrahovali Hg viazanú v sulfidickej forme, ktorá je v HNO₃ len málo rozpustná^{5,6}.

Na extrakciu potenciálne fytopristupnej Hg v študovaných pôdach sme aplikovali 10 ml nasledovných jednoduchých extrakčných činidiel: 1) syntetická dažďová voda; 2) 1 M MgCl₂; 3) 0,1 M EDTA (cit.^{5,7}). Ako ďalšiu extrakčnú techniku sme použili extraktanty obsahujúce metabolity mikroskopických vláknitých húb (mikrobiálne metabolity), ktoré sme pripravili dynamickou kultiváciou vybraných mikrobiálnych druhov na živných médiách^{8,9}.

Na získanie potenciálne fytopristupnej Hg sme aplikovali aj metódu difúzneho gradientu v tenkom filme (DGT – Diffusive Gradients in Thin-films)^{10–13}.

Použitie prístroje a zariadenia

Celkový obsah Hg v rastlinách, pôdach, v ich extraktach a v sorpčnom géle pri DGT sme stanovili priamo pomocou atómovej absorpčnej spektrometrie s generovaním studených pár Hg CV AAS (AMA-254, Altec, Česká republika, medza stanovenia 0,05 ng Hg). Správnosť stanovenia celkového obsahu Hg v pôdach a rastlinách sme overili analýzou certifikovaného referenčného materiálu (CRM) GBW07604 (listy topoľa) s certifikovanou hodnotou Hg 0,026 ± 0,003 mg kg⁻¹ (nami stanovená hodnota 0,026 ± 0,001 mg kg⁻¹), CRM P-ACHK (zelená riasa – *Chlorella kessleri*) s informatívnou hodnotou Hg 0,024 ± 0,006 mg kg⁻¹ (nami stanovená hodnota 0,027 ± 0,003 mg kg⁻¹) a CRM SO-4 (A-horizont černoze) s certifikovanou hodnotou Hg 0,030 ± 0,006 mg kg⁻¹ (nami stanovená hodnota 0,027 ± 0,001 mg kg⁻¹).

Výsledky a diskusia

Uvedené pôdy môžeme charakterizovať ako neutrálne, zrnitostne stredne ťažké, s veľmi vysokým obsahom organického uhlíka, nekarbonátové (lokalita 2) až slabo

karbonátové. Obsah Hg vo všetkých pôdach výrazne prekračuje limitnú hodnotu Hg pre stredne ťažké poľnohospodárske pôdy (0,5 mg kg⁻¹) v zmysle platnej legislatívy Slovenskej republiky¹⁴. Zistené hodnoty pseudototálnej koncentrácie Hg v pôdach boli 97,65 % (lokalita 1), 88,08 % (lokalita 2) a 86,78 % (lokalita 3) z celkového obsahu Hg v týchto pôdach (tab. I). Porovnaním hodnôt C_{ox} a pseudototálnej koncentrácie Hg v pôdach môžeme konštatovať, že totálne obsahy Hg vyjadrené v jednotkách mg kg⁻¹ s C_{ox} nekorelujú. Naopak, relatívne hodnoty pseudototálnej koncentrácie Hg, vzťahnuté na totálne obsahy Hg v pôdach reflektujú obsahy oxidovateľnej frakcie uhlíka, čo naznačuje, že Hg je v pôdnych vzorkách viazaná prevažne na organickú hmotu. Obsah Hg viazanej v sulfidickej forme predstavoval 2,28 % (lokalita 1), 8,28 % (lokalita 2) a 1 % (lokalita 3) z celkovej Hg v pôdach (tab. I). Uvedené hodnoty sú v porovnaní s hodnotami sulfidickej Hg z lokality Almadén v Španielsku, najväčšieho zdroja HgS na svete (geogénneho pôvodu), relatívne nízke a indikujú pôvod Hg v nami študovaných pôdach z atmosférickej depozície, pochádzajúcej predovšetkým z procesu praženia a úpravy rúd s obsahom Hg, ktorý tu v minulosti prebiehal¹⁵.

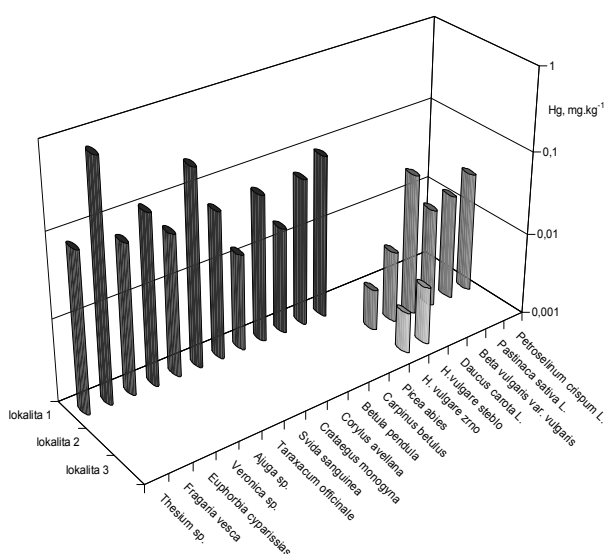
Celkové obsahy Hg vo vybraných divorastúcich rastlinách, jačmeni siatom a vybraných druhoch koreňovej zeleniny z oblasti znázorňuje obr. 1. Obsah Hg v nadzemných častiach študovaných divorastúcich rastlín bol prevažne pod 0,1 mg kg⁻¹. Významne vyšší obsah Hg sme zaznamenali v nadzemných častiach *Fragaria vesca* (0,73 mg kg⁻¹) a *Taraxacum officinale* (0,24 mg kg⁻¹), čo indikuje ich hyperakumulačné schopnosti¹⁶. Obsah Hg v zrne a stebľe *Hordeum vulgare* L. z lokality 2 a 3 neprevyšoval 0,01 mg kg⁻¹, pričom v zrne boli pozorované nižšie hodnoty Hg (0,003 mg kg⁻¹ na oboch lokalitách) ako v stebľe (0,007 mg kg⁻¹ pre lokalitu 2 a 0,005 mg kg⁻¹ pre lokalitu 3). Relatívne nízke hodnoty Hg boli zistené aj v koreňoch *Daucus carota* L. (0,052 mg kg⁻¹), *Beta vulgaris* var. *vulgaris* (0,016 mg kg⁻¹), *Pastinaca sativa* L. (0,019 mg kg⁻¹) a *Petroselinum crispum* L. (0,029 mg kg⁻¹) z lokality 2. Výrazne vyšší obsah Hg v koreni *Daucus carota* L. oproti zvyšným analyzovaným druhom koreňovej zeleniny, presahujúci limity podľa platnej Slovenskej legislatívy pre koreňovú zeleninu¹⁷, potvrdzuje schopnosť tohto druhu vo zvýšenej miere akumulovať Hg vo svojich

Tabuľka I

Vybrané pedogeochemické parametre študovaných pôd

Lokalita	pH _{H2O}	pH _{KCl}	Zrnitosť	C _{ox} ^a [%]	Obsah CO ₃ ²⁻ [%]	Hg _{total} ^b [mg kg ⁻¹]	Hg _{pseudototal} ^c [mg kg ⁻¹]	Hg _{sulf} ^d [mg kg ⁻¹]
Lokalita 1	6,59	6,14	hlinitá	8,24	0,85	20,18	19,71	0,46
Lokalita 2	6,7	6,13	prachovito-hlinitá	3,05	0,04	6,88	6,06	0,57
Lokalita 3	7,27	7,1	hlinitá	4,48	2,36	30,86	26,78	0,31

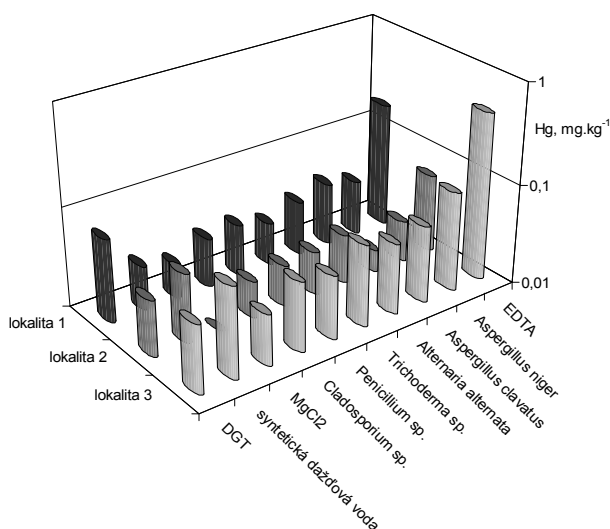
^a Obsah organického uhlíka; ^b celkový obsah Hg v pôde; ^c obsah Hg v pôde extrahovanej koncentrovanou HNO₃; ^d obsah Hg v pôde extrahovanej nasýteným roztokom Na₂S



Obr. 1. Celkový obsah Hg vo vybraných divorastúcich rastlinách, jačmeni siatom a vybraných druhoch koreňovej zeleniny zo záujmovej oblasti

častiach, predovšetkým v koreňoch^{18,19}.

Hodnoty extrahovanej (potenciálne fytopristupnej) Hg v pôdach pre jednotlivé jednoduché extrakčné techniky a metódu DGT sú uvedené na obr. 2. Spomedzi všetkých aplikovaných separačných techník bol zistený najvyšší obsah Hg pre extrakciu s 0,1 M EDTA (0,18 mg kg⁻¹, 0,06 mg kg⁻¹ a 0,47 mg kg⁻¹ pre lokalitu 1, 2 a 3). Zistené koncentrácie Hg extrahovanej jednotlivými mikrobiálnymi metabolitmi sú navzájom relatívne málo odlišné. Najvyšší



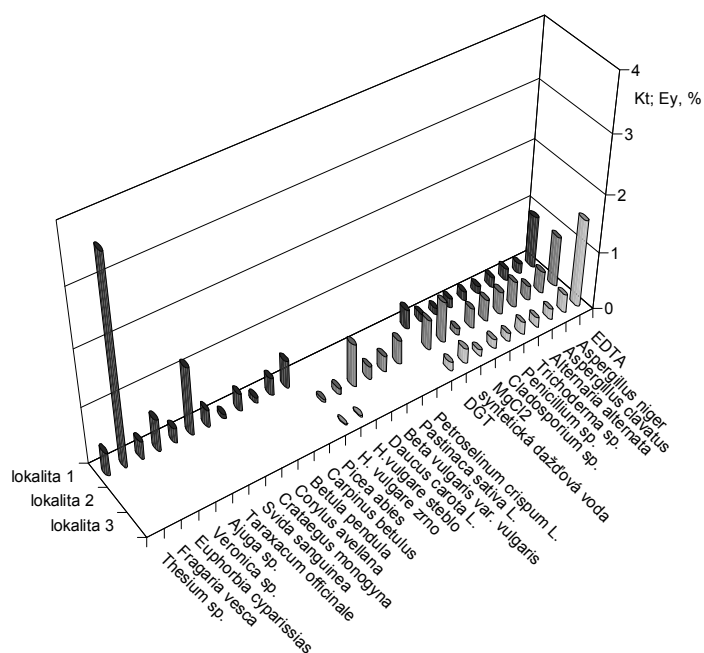
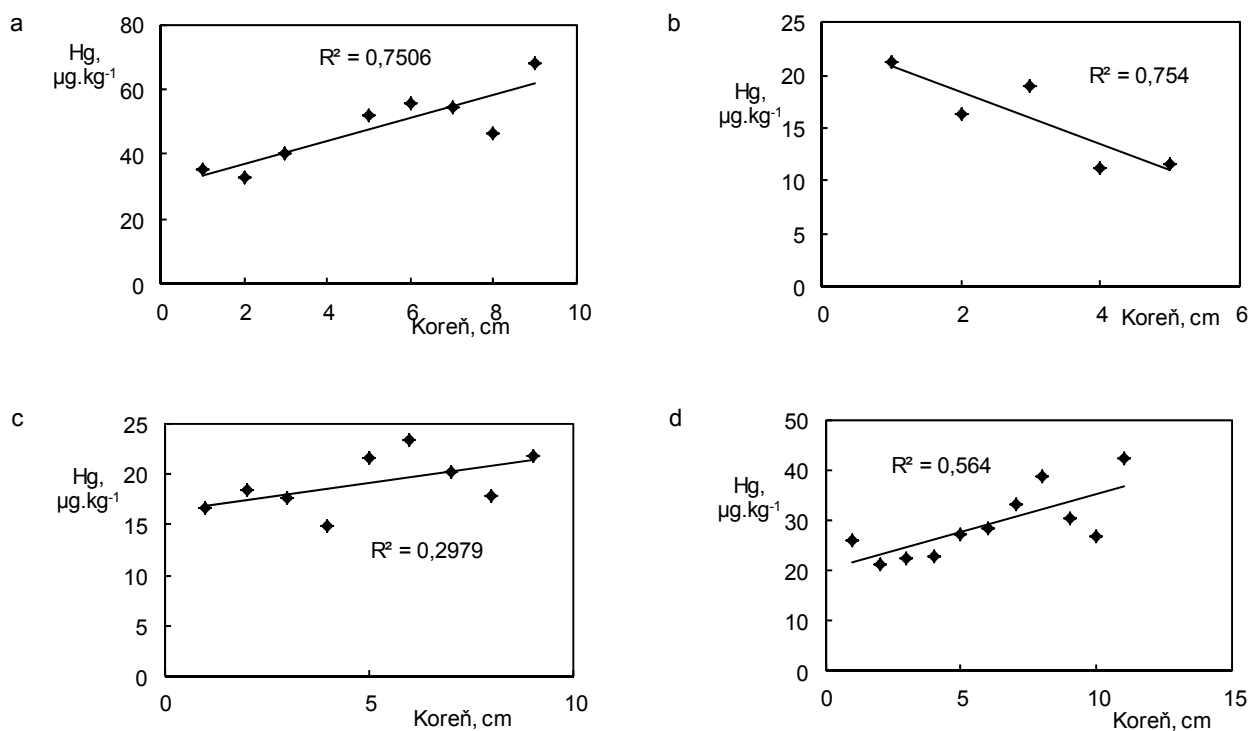
Obr. 2. Celkový obsah extrahovanej frakcie Hg v študovaných pôdach pre aplikované jednoduché extrakčné techniky a metódu DGT

obsah Hg v pôdach bol zistený na lokalite 1 a 3 pre mikrobiálne metabolity *Aspergillus niger* (0,035 mg kg⁻¹ a 0,099 mg kg⁻¹) a na lokalite 2 pre mikrobiálne metabolity *Alternaria alternata* (0,031 mg kg⁻¹). Porovnateľné hodnoty separovanej Hg v pôdach na lokalite 2 a 3 môžeme pozorovať pri DGT a viacerých mikrobiálnych metabolitoch.

Hodnoty koeficientu transferu (*Kt*) Hg do rastlín a separačnej výtťažnosti (Extraction yield – *Ey*) Hg pre aplikované jednoduché extrakčné techniky a metódu DGT ilustruje obr. 3. Hodnoty *Kt* sme vypočítali ako podiel celkového obsahu Hg v biomase a celkového obsahu Hg v pôde. Pri výpočte *Ey* sme postupovali analogicky, pričom v čitateli sme použili celkový obsah extrahovanej Hg v pôde. Vypočítané hodnoty *Kt* pre študované rastlinné druhy boli prevažne do 1 % a to najmä pre dreviny, iba pri bylenných druhoch *Taraxacum officinale* (1,2 %) a *Fragaria vesca* (3,59 %) presiahli 1 %. Pri hodnotách *Ey* pre aplikované extrakčné techniky a metódu DGT môžeme pozorovať podobný trend (hodnoty prevažne do 1 %) ako pri *Kt*, pričom najvyššie hodnoty *Ey* boli zistené pre 0,1 M EDTA (0,9 %, 0,88 % a 1,53 % pre lokalitu 1, 2 a 3). Porovnaním hodnôt *Ey* jednotlivých separačných techník môžeme konštatovať porovnateľnú účinnosť extrakcie syntetickou dažďovou vodou a viacerými mikrobiálnymi metabolitmi s metódu DGT.

Rastliny možno považovať za určitú formu *in situ* bioextraktantov (pôsobiacich v dlhšom časovom horizonte), v našom prípade fytopristupnej Hg, pričom vypočítané hodnoty *Kt* reprezentujú výtťažnosť takejto bioseparácie. Z uvedených dôvodov môžeme porovnávať hodnoty *Kt* pre rastliny s hodnotami *Ey* pre separačné techniky². Porovnaním hodnôt *Kt* a *Ey* môžeme pozorovať analógiu medzi viacerými druhmi bylín (*Euphorbia cyparissias* a *Ajuga* sp.), drevín (*Sida sanguinea*, *Corylus avellana* a *Carpinus betulus*) z lokality 1 a metódu DGT. Vypočítaná hodnota *Kt* pre steblo *Hordeum vulgare* L. z lokality 2 je porovnateľná s hodnotou *Ey* pre 1 M MgCl₂. Hodnoty *Kt* študovanej koreňovej zeleniny (okrem *Daucus carota* L.) sú porovnateľné s *Ey* pre mikrobiálne metabolity a DGT a hodnota *Kt* pre *Daucus carota* L. je takmer identická s hodnotou *Ey* pre syntetickú dažďovú vodu. Z uvedeného vyplýva, že použité separačné metódy môžu byť dostatočne selektívne pre separáciu fytopristupnej Hg v pôdach.

Je známe, že Hg vo viacerých rastlinných druhoch sa prednostne akumuluje v ich koreňovej zóne^{20,21}. Predovšetkým pri tých druhoch, ktorých koreňová časť je jedlá, môže táto skutočnosť predstavovať určité riziko pre zdravie konzumentov. Tento prípad predstavujú aj bežne konzumované druhy koreňovej zeleniny. Menej známa je však distribúcia Hg v rámci koreňa. Distribúcia Hg v koreňoch nami študovaných druhov koreňovej zeleniny je znázornená na obr. 4. Pri koreňoch všetkých skúmaných druhov okrem koreňa *Beta vulgaris* var. *vulgaris* bol zistený trend zvyšovania koncentrácie Hg v smere zdola nahor (od bazálnej k terminálnej časti koreňa), najvýznamnejší pri *Daucus carota* L. a *Petroselinum crispum* L.

Obr. 3. Koeficient transferu (K_t) a separačná výťažnosť (E_y) Hg pre vybrané rastlinné druhy a separačné technikyObr. 4. Distribúcia Hg v koreňoch (v smere zdola nahor) vybraných druhov koreňovej zeleniny zo záujmovej oblasti; a) *Daucus carota* L., b) *Beta vulgaris* var. *vulgaris*, c) *Pastinaca sativa* L., d) *Petroselinum crispum* L.

Záver

Napriek vysokým celkovým obsahom Hg v pôdach záujmovej lokality, jej transfer do študovaných rastlín je relatívne nízky. Výnimku predstavovali divorastúce byliny *Fragaria vesca* a *Taraxacum officinale*, ktoré sú považované za hyperakumulátory viacerých potenciálne toxických stopových prvkov. Aplikácia koncentrovanej HNO₃ a nasýteného roztoku Na₂S na skúmané pôdy potvrdila, že prevažná časť Hg v týchto pôdach je pevne viazaná na organickú hmotu a v sulfidickej forme. Hodnoty extrakčnej výťažnosti pre ďalšie použité extrakčné techniky, ako aj pre metódu DGT, sú vo viacerých prípadoch porovnateľné s hodnotami koeficientu transferu pre študované rastlinné druhy, čo indikuje potenciál týchto techník separovať fytopristupnú frakciu Hg v pôdach. Štúdium distribúcie Hg v koreňoch vybraných druhov koreňovej zeleniny preukázalo trend zvyšujúcej sa koncentrácie Hg od bazálnej časti ku terminálnej časti koreňa, s výnimkou koreňa *Beta vulgaris* var. *vulgaris*, kde bol pozorovaný opačný trend.

Táto práca bola podporená grantom Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva SR a Slovenskej akadémie vied VEGA 1/0203/14.

LITERATÚRA

- Higuera P., Molina J. A., Oyarzún R., Lillo J., Esbrí J. M.: *Mater. Geoenviron.* 51, 103 (2004).
- Kubová J., Matúš P., Bujdoš M., Hagarová I., Medved' J.: *Talanta* 75, 1110 (2008).
- Millán R., Gamarra R., Schmid T., Sierra M. J., Quejido A. J., Sánchez D. M., Cardona A. I., Fernández M., Vera R.: *Sci. Total Environ.* 368, 79 (2006).
- Fiala K.: *Závazné metódy rozborov pôd*. Výskumný ústav pôdoznaectva a ochrany pôdy, Bratislava 1999.
- Wang Y., Stauffer C., Keller C., Greger M.: *Plant Soil* 275, 67 (2005).
- Revis N. W., Osborne T. R., Sedgley D., King A.: *Analyst* 114, 823 (1989).
- Zhang X., Vu T. N., Volovitch P., Leygraf C., Ogle K., Odnevall Wallinder I.: *Appl. Surf. Sci.* 258, 4351 (2012).
- Burgstaller W., Schinner F.: *J. Biotechnol.* 27, 91 (1993).
- Santhiya D., Ting Y.-P.: *J. Biotechnol.* 116, 171 (2005).
- Senila M., Senila L., Urík M., Matúš P.: *Miner. Slov.* 45, 121 (2013).
- Diviš P., Dočekalová H., Smetková V.: *Chem. Listy* 97, 1184 (2003).
- Diviš P., Dočekalová H., Řezáčová V.: *Chem. Listy* 99, 640 (2005).
- Dočekalová H., Škarpa P., Dočekal B.: *Miner. Slov.* 45, 137 (2013).
- Zákon č. 220/2004 Z.z. o ochrane a využívaní poľnohospodárskej pôdy. Zbierka zákonov 2004, čiastka 96, str. 2290.
- Fernández-Martínez R., Rucandio M. I.: *Anal. Bioanal. Chem.* 375, 1089 (2003).
- Vaculík M., Jurkovič L., Matejkovič P., Molnárová M., Lux A.: *Water Air Soil Pollut.* 224, 1546 (2013).
- Výnos MP SR a MZ SR č. 18558/2006-SL, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu SR upravujúca kontaminanty v potravinách.
- John M. K.: *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 8, 77 (1972).
- Miklavčič V., v knihe: *Mercury Contaminated Sites* (Ebinghaus R., Turner R. R., Lacerda L. D., Vasiliev O., Salomons W, ed.), kap. 15. Springer, Berlin Heidelberg 1999.
- Sierra M. J., Millán R., Esteban E., Cardona A. I., Schmid T.: *J. Geochem. Explor.* 96, 203 (2008).
- Zornoza P., Millán R., Sierra M. J., Seco A., Esteban E.: *J. Environ. Sci.* 22, 421 (2010).

M. Hlodák^a, P. Matúš^a, M. Urík^a, L. Kořenková^a, P. Mikušová^{a,b}, M. Senila^c, and P. Diviš^d (^a Institute of Laboratory Research on Geomaterials, Faculty of Natural Sciences, Comenius University, Bratislava, Slovakia, ^b Department of Non-vascular Plants, Institute of Botany, Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia, ^c Research Institute for Analytical Instrumentation, Cluj-Napoca, Romania, ^d Institute of Food Science and Biotechnology, Faculty of Chemistry, University of Technology, Brno, Czech Republic): **Biogeochemistry of Hg in Soil-Plant System in Regions with Anthropogenic Contamination**

Application of selected separation techniques and obtained total Hg concentrations in studied plant species indicate relatively low Hg phytoavailability in studied soils. Calculated separation yields for applied separation techniques were in many cases comparable with soil-plant transfer recovery values for studied plant species. Distribution of Hg in roots of studied root vegetables showed the tendency of increasing amount of Hg from basal towards terminal part of root.