

HODNOCENÍ MOŽNÉHO VLIVU RIZIKOVÝCH PRVKŮ OBSAŽENÝCH V PŮDĚ NA ORGANISMUS ČLOVĚKA

JANA TREMLOVÁ, JIŘINA SZÁKOVÁ
a PAVEL TLUSTOŠ

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6 – Suchbátka, jana.tremlova@af.czu.cz

Došlo 17.8.09, přijato 16.10.09.

Klíčová slova: As, Cd, Pb, biologická dostupnost, metoda postupné extrakce

Úvod

Definice biologické dostupnosti prvku vychází z faktu, že celkový obsah prvku v daném materiálu neposkytuje dostatek informací pro posouzení vlivu daného prvku na organismus a charakterizuje tedy ten podíl prvku, který je v daném systému biologicky aktivní¹. V případě suchozemských rostlin se např. jedná o takové formy prvku v půdě, které mohou být přijímány kořeny rostlin během vegetačního cyklu a mohou ovlivnit životní cyklus daných rostlin. Pro stanovení mobilních podílů prvků v půdě lze použít široké spektrum extrakčních činidel, kdy extrahovatelnost prvků závisí na použitém činidle, zdroji kontaminace půdy, a konkrétních půdních vlastnostech². Výsledky ukazují, že použití deionizované vody a neutrálních solí vede přes některé odlišnosti k vzájemně porovnatelným výsledkům jak ve vlastní extrahovatelnosti jednotlivých prvků, tak i při další interpretaci dat. Tato činidla jsou schopna z půdy uvolnit pouze slabě vázané, rostlinám snadno přístupné podíly prvků a jejich sloučenin^{3,4} a mohou sloužit k odhadu biologicky dostupného množství prvků pro rostliny.

Člověk přijímá toxické prvky zprostředkovaně prostřednictvím kontaminované zemědělské produkce, ale je třeba vzít v úvahu i přímý vstup půdy do trávicího traktu. Jak uvádí Státní zdravotní ústav (SZÚ) ve své odborné zprávě Zdravotní rizika kontaminace půdy městských aglomerací⁵, dospělý člověk přijme denně přibližně 60 mg půdy, u dětí je pak příjem vyšší a to zhruba 200–800 mg denně. V téže zprávě se např. uvádí, že v kontaminované oblasti Příbramska má problém s těžkými kovy (zvláště Cd, As, Pb) v půdě 100 % mateřských školek. Limitní hodnoty jsou zde překročeny několikanásobně (v případě kadmia 9×, u olova 6×, u arsenu 4,5×).

Vyvinutá metoda postupné extrakce (tzv. Physiologically Based Bioavailability Extraction Test, PBET)^{6,7} je

využívána k hodnocení negativního dopadu půd ve vysoce kontaminovaných oblastech, kdy se testuje možný vstup rizikových prvků do organismu člověka její neúmyslnou konzumací. Postup zařazuje pro extrakci vzorku půdy postupně činidla, která simulují procesy v ústní dutině, v žaludku, ve dvanácterníku a v tenkém střevě. Bylo zjištěno, že výsledky tohoto *in vitro* trávicího procesu velmi dobře korelují ($r = 0,93$) s *in vivo* experimenty s využitím laboratorních potkanů⁶. Zjednodušená metoda nazvaná „Simple Bioavailability Extraction Test“ (SBET)⁸ pak simuluje pouze činnost žaludku. Tyto postupy byly již testovány nejen v případě chemických prvků, ale i pro hodnocení biologické dostupnosti polychlorovaných bifenylů⁹. V poslední době je tato metoda rozšiřována i pro hodnocení dostupnosti prvků z potravin rostlinného původu, jak dokumentuje recentní práce, která hodnotí dostupnost prvků z různých druhů zelenin rostoucích na kontaminované půdě¹⁰, nebo např. z popela vzniklého spalováním komunálního odpadu¹¹.

V našem experimentu jsme se pokusili otestovat extrahovatelnost As, Cd a Pb ze souboru půd lišících se úrovní kontaminace i fyzikálně-chemickými vlastnostmi metodou PBET a výsledky porovnat s některou z extrakčních metod používaných k odhadu podílu prvků přístupného rostlinám, v našem případě jsme zvolili extrakci 0,01 mol l⁻¹ roztokem CaCl₂.

Materiál a metody

Osm půdních vzorků lišících se fyzikálně-chemickými vlastnostmi a celkovým obsahem prvků (tab. I) bylo odebráno v lokalitách, kde se nacházejí zvýšené obsahy sledovaných prvků v půdě. Zvláště vysoké koncentrace sledovaných prvků se nacházejí v naplaveninách v povodí Litavky, kde byly v dřívějších dobách soustředěny proplachovny rud. Vzorky byly extrahovány následujícími extrakčními metodami:

1. Metoda PBET v modifikaci, kterou použili Abrahams a spol.¹² následovně: Příprava žaludeční šťávy: 1,25 g pepsinu, 0,50 g kyseliny citronové, 0,50 g kyseliny jablečné, 0,84 ml kyseliny mléčné, 1 ml kyseliny octové do 1 l vody, pomocí HCl upravit pH na 2,5±0,05. Množství 0,5 g půdního vzorku se naváží do plastové reakční nádoby a zalije se 50 ml připravené žaludeční šťávy. Nádoba se vloží do vodní lázně o teplotě 37 °C, která se třepe po dobu 1 h. Poté je odebrána suspenze o objemu 5 ml, je centrifugována, supernatant je slit a je stanoven obsah prvků. Do zbytku vzorku se dolije 5 ml žaludeční šťávy a upraví se pH na 7 pomocí nasyceného roztoku NaHCO₃. Poté se přidá 25 mg pankreatinu a 87,5 mg žluči. Vzorek se třepe na vodní lázni po dobu 1 h, pak je centrifugován (Hettich Universal 30 RF) po dobu 10 min při 3000 otáčkách/min, supernatant je slit a analyzován.
2. Z metod používaných pro odhad rostlinami přijatelného podílu prvků byla vybrána extrakce 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ v poměru 1 : 10 (navážka/objem) při teplotě

Tabulka I

Základní fyzikálně-chemické charakteristiky experimentálních půd dle jednotlivých lokalit a celkové obsahy sledovaných prvků

Lokalita	TOC [%]	pH	KVK [mmol kg ⁻¹]	As [mg kg ⁻¹]	Cd [mg kg ⁻¹]	Pb [mg kg ⁻¹]	P ^a [mg kg ⁻¹]
Kbely	3,45	7,3	224	18,5±4,2	14,5±0,3	32,7±1,8	82
Píšťany	3,95	6,8	176	53,3±3,9	1,69±0,12	60,1±3,7	128
Mokrsko	2,20	5,5	105	1030±42	0,37±0,03	13,5±0,5	26
Mikulov	5,93	4,4	69,2	417±31	1,01±0,01	90±1	248
Litavka	2,31	5,8	54,5	611±20	27,4±0,6	2460±2	9,2
Příbram	3,88	6,3	165	69,7±3,9	3,62±0,47	559±19	81
Kutná Hora 1	6,05	7,2	346	1430±127	13,8±0,0	67,8±1,7	51
Kutná Hora 2	2,05	7,4	188	289±3	1,13±0,02	20,6±0,3	14

^a TOC – celkový obsah uhlíku, ^b KVK – kationtová výměnná kapacita, ^c mobilní obsah P stanovený metodou dle Mehlich III (cit.²¹)

místnosti¹³. Reakční směs byla mechanicky protřepávána po dobu 6 h a poté centrifugována (viz výše). Extrakty byly uloženy v chladničce ve zkumavkách při teplotě 6 °C až do doby měření.

Celkové obsahy prvků v půdách byly stanoveny z roztoků získaných po totálním rozkladu: 0,5 g suchého půdního vzorku bylo rozloženo na mokré cestě v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem v zařízení Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) po dobu 33 min při teplotě 210 °C ve směsi 8 ml HNO₃, 5 ml HCl a 2 ml HF. Po ochlazení byla reakční směs kvantitativně převedena do 50 ml Teflon[®] nádoby a odpařována do sucha při 160 °C. Odpařek byl poté rozpuštěn v 3 ml směsi HNO₃ a HCl (1+3), převeden do 25 ml skleněné zkumavky, doplněn deionizovanou vodou a uschován při laboratorní teplotě do doby měření.

Obsah prvků v připravených mineralizátech a extraktech byl stanoven optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP OES) s axiální orientací plazmové hlavice na přístroji Varian VistaPro (Varian, Austrálie), vybavenou automatickým dávkovačem SPS-5. Intenzita signálu byla odečítána na následujících vlnových délkách: $\lambda = 193,7$ nm pro As, $\lambda = 214,4$ nm pro Cd a $\lambda = 220,4$ nm pro Pb.

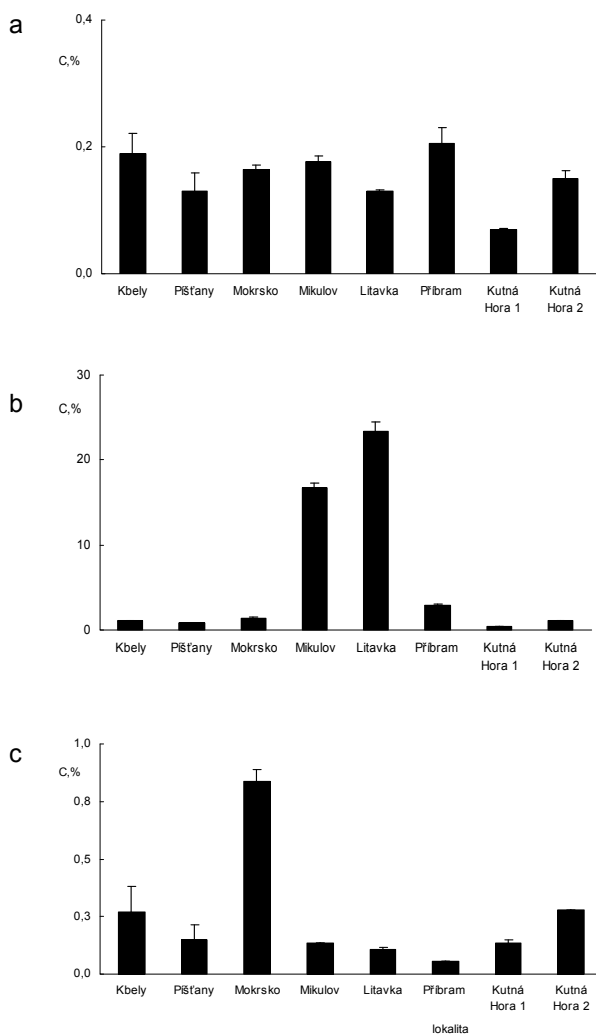
Výsledky a diskuse

Podíly prvků extrahovatelné 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ uvádí obr. 1. Jak již bylo řečeno, toto činidlo extrahuje takové podíly prvků, které korelují s podílem prvků přístupným rostlinám^{13,14} a bylo popsáno jako velmi efektivní zejména v případě Cd a Zn. Výsledky potvrdily vysokou mobilitu Cd v půdě, zejména u antropogenně kontaminované půdy v blízkosti Litavky. Nižší mobilita pak byla zaznamenána u půd z oblasti Kbel a Kutné Hory, které jsou rovněž kontaminovány antropogenní činností, ale vyznačují se vyso-

kou sorpční kapacitou, obsahem organické hmoty a především vysokou hodnotou pH, která je u mobility Cd rozhodující (tab. I). Rozdíl je také zřejmý při porovnání obou vzorků z lokality Kutná Hora, které se liší sorpční kapacitou i obsahem organické hmoty. V případě Pb byl podíl velmi nízký a nepřesáhl 1 % z celkového obsahu a to ani u půd s antropogenní kontaminací z lokalit Příbram a Litavka. U arsenu se potvrdila nízká extrahovatelnost tímto činidlem (nepřesáhla 0,2 %) přičemž nebyly zaznamenány rozdíly mezi půdami kontaminovanými důlní činností (Příbram, Kutná Hora) a půdami, kde je arsen pouze geogenního původu (Mikulov, Mokrsko).

Podíly prvků extrahovaných žaludeční šťávou, která simuluje chemické pochody probíhající v žaludku po požití půdy člověkem, se od předchozího extraktu významně liší (obr. 2). Rozdílné chování bylo zaznamenáno zejména u arsenu. As se ukázal jako prvek teoreticky více přístupný pro člověka než pro rostliny, tzn. že požití kontaminované půdy je pro člověka větší riziko než konzumace plodin pěstovaných na této půdě, protože přijatelnost arsenu rostlinami je zpravidla velmi nízká a to i na vysoce kontaminovaných půdách¹⁵. Pro kadmium se ukazuje vyšší extrahovatelnost u půdy z okolí Litavky, pro arsen u půd z lokalit Kbely a Píšťany. Výsledky jsou vyrovnanější než u extrakce 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂, pravděpodobně z důvodu jednotného pH extrakční směsi u jednotlivých půd. Vyšší relativní mobilita se vyskytuje na nekontaminovaných půdách, což platí i v případě olova. Zejména na půdách z Příbramska, kde je právě olovo nejzávažnějším kontaminantem, je jeho mobilní podíl relativně nízký a nepřekračuje hodnotu 1,5 %.

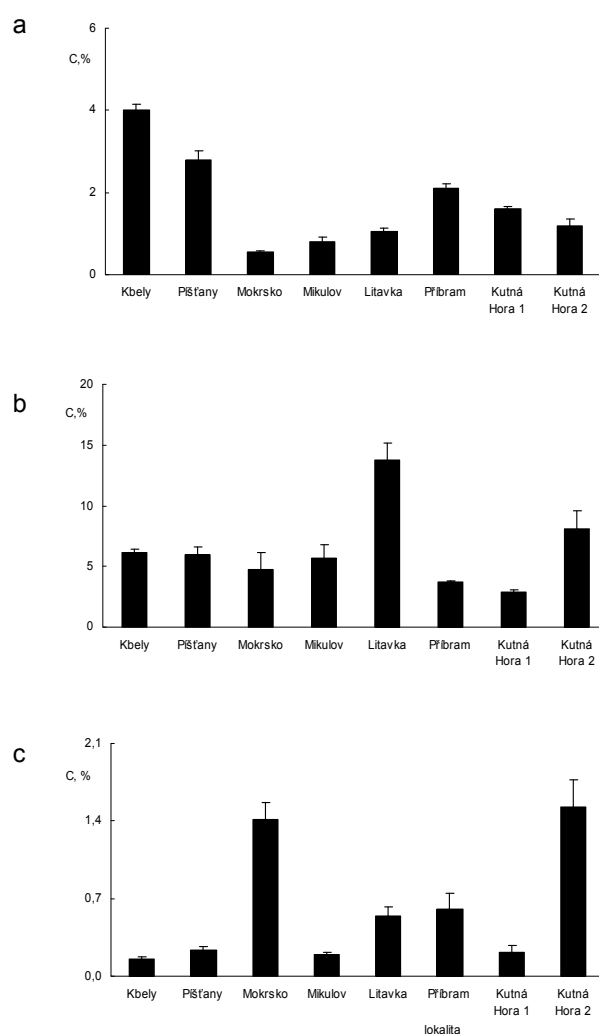
Extrahovatelné obsahy arsenu dosahují až k hodnotě 5 % celkového obsahu, což je srovnatelné s výsledky jiných studií^{16,17}. Ruby a spol.⁶ uvádějí, že při extrakci rizikových prvků z půdy může být výsledek ovlivněn nastavením hodnoty pH simulované žaludeční šťávy. Při zvýšení pH z 1,3 na 2,5 dochází ke snížení přístupnosti arsenu



Obr. 1. Podíly prvků extrahovatelné 0,01 mol l⁻¹ CaCl₂ (% z celkového obsahu); a) arsen, b) kadmium, c) olovo

o 16 % a olova dokonce o 65 %. V souvislosti s olovem upozorňují Tang a spol.¹⁸ a Furman a spol.¹⁹, že přístupnost tohoto prvku může být značně snížena vyšším obsahem fosforu v půdě. V našem případě se mobilní obsahy fosforu v půdě pohybovaly v rozmezí 9,2 mg kg⁻¹ (Litavka) – 248 mg kg⁻¹ (Mikulov) a významná závislost extrahovatelných obsahů olova na těchto hodnotách nebyla pozorována.

Extrakce simulovaným obsahem dvanácterníku vedla k velmi nejednoznačným výsledkům. Vlivem změny pH reakční směsi došlo k tomu, že se Cd a v některých případech i As zpět sorbovaly na půdu (Kbely, Příbram, Kutná Hora), takže nejen že nedošlo k dalšímu uvolňování prvků, ale ve srovnání se simulovanou žaludeční šťávou extrahovatelné podíly prvků poklesly. Vyšší přístupnost byla u arsenu v půdách z lokalit Kutná Hora a Mikulov (1,5 %), u kadmia na půdách z lokalit Mokrsko (22 %) a Píšťany



Obr. 2. Podíly prvků extrahovatelné simulovanou žaludeční šťávou (% z celkového obsahu); a) arsen, b) kadmium, c) olovo

(9,6 %), tedy v případě kadmia u půd s nízkou sorpční kapacitou. U olova se podíly tohoto prvku extrahovatelné simulovaným obsahem dvanácterníku pohybovaly u většiny experimentálních půd v rozmezí 1–4 %. U extrémně kontaminované půdy z okolí Litavky nedocházelo již dále k dalšímu uvolňování prvků. Uvolňování pokračovalo spíše u méně kontaminovaných půd z oblastí Mikulov, Mokrsko a Píšťany, kde můžeme předpokládat pevnější vazbu prvků na jednotlivé složky půdy ve srovnání s půdou kontaminovanou antropogenním působením a na které je třeba působit intenzivněji a po delší dobu.

Několik dřívějších studií však poukazuje na nízkou nebo limitovanou reprodukovatelnost testu v prostředí simulovaného obsahu dvanácterníku. Proto se data z této fáze v některých studiích nepoužívají pro vyhodnocování výsledků^{6,20}. Náš jednoduchý test ukazuje, že interpretace výsledků z použití extrakce simulovaným obsahem dva-

nácterníku je obtížnější než v případě simulované žaludeční šťávy. Hodnocení spolehlivosti a reprodukovatelnosti výsledků však ještě vyžaduje další intenzivní výzkum. Rozdíly ve srovnání s citovanými studiemi jsou také ovlivněny jiným původem a odlišnými vlastnostmi půd, které byly použity v jednotlivých experimentech.

Lze shrnout, že simulovaný trávicí trakt člověka je schopen extrahovat relativně velké množství těžkých kovů obsažených v půdní matrici. Vyskytují se značné rozdíly v extrahovatelnosti mezi fází simulující procesy v žaludku a fází simulující procesy v tenkém střevě, resp. dvanácterníku. Zatímco kyselé prostředí v žaludku ve většině případů pomáhá prvky uvolňovat, tak po změně pH z kyselého na zásadité, které probíhá při vstupu do tenkého střeva, se nejen snižuje extrahovatelnost prvků, ale dochází i ke zpětné sorpci na půdu.

V některých případech jsou obsahy extrahovatelné pomoci PBET vyšší než u běžných metod extrakce, které se používají pro určení odhadu možné přijatelnosti těchto prvků rostlinami. Například u arsenu, kde je přijatelnost tohoto prvku rostlinami velmi nízká (extrahovatelnost $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ roztokem CaCl_2 nepřesahuje 1 % celkového obsahu), ale extrakce simulovanou žaludeční šťávou v některých případech dosahovala až 4 % celkového obsahu tohoto prvku. Bilance prvků přijatých trávicím traktem člověka přímo z půdy ve srovnání s množstvím daného prvku přijatého prostřednictvím kontaminované potravy ještě vyžaduje detailní výzkum, ale předložené výsledky potvrzují, že nechtěná konzumace půdy v kontaminovaných oblastech může přinášet určité zdravotní riziko.

Problematika byla řešena v rámci výzkumných projektů GA ČR 521/09/1150 a MSM 6046070901.

LITERATURA

- Nolan A. L., Lombi E., McLaughlin M. J.: *Austr. J. Chem.* 56, 77 (2003).
- Moral R., Gilkes R. J., Moreno-Caselles J.: *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33, 2781 (2002).
- Beckett P. H. T.: *Adv. Soil Sci.* 9, 143 (1989).
- Ure A. M., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51, 135 (1993).
- Státní zdravotní ústav, Zdravotní rizika kontaminace půdy městských aglomerací, 2007, www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/OZ_07/puda_07.pdf, staženo 9.1.2009.
- Ruby M. V., Davis A., Schoof R., Berle S., Sellstone C. M.: *Environ. Sci. Technol.* 30, 422 (1996).
- Oomen A. G., Rompelberg C. J. M., Van de Kamp E., Pereboom D. P. K. H., De Zwart L. L., Sips A. J. A. M.: *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 46, 13 (2004).
- Lee S. W., Lee B. T., Kim J. Y., Kim K. W., Lee J. S.: *Environ. Monitor. Assess.* 119, 233 (2006).
- Pu X. Z., Lee L. S., Galinsky R. E., Carlson, G. P.: *Toxicology* 217, 14 (2006).

- Intawongse M., Dean J. R.: *Environ. Pollut.* 152, 60 (2008).
- Chou J. D., Wey M. Y., Liang H. H., Chang S. H.: *J. Haz. Mat.* 168, 197 (2009).
- Abrahams P. W., Follansbee M. H., Hunt A., Smith B., Wragg J.: *Appl. Geochem.* 21, 100 (2006).
- Novozamsky J., Lexmond T. M., Houba V. J. G.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 51, 47 (1993).
- Száková J., Tlustoš P., Balík J., Pavlíková D., Balíková M.: *Chem. Listy* 95, 179 (2001).
- Baroni F., Boscagli A., DiLella L. A., Protano G., Riccobono F.: *J. Geochem Explor* 81, 1 (2004).
- Devesa-Rey R., Paradelo R., Díaz-Fierros F., Barral M. T.: *Water Air Soil Pollut.* 195, 189 (2008).
- Lombi E., Hamon R. E., Wieshammer G., McLaughlin M. J., McGrath S. P.: *J. Environ. Qual.* 33, 908 (2004).
- Tang X. Y., Zhu Y. G., Chen S. B., Tang L. L., Chen X. P.: *Environ. Int.* 30, 536 (2004).
- Furman O., Strawn D. G., Heinz G. H., Williams B.: *J. Environ. Qual.* 35, 450 (2006).
- Sonmez O., Pierzynski G. M.: *Water Air Soil Pollut.* 166, 3 (2005).
- Mehlich A.: *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15, 1409 (1984).

J. Tremlová, J. Száková, and P. Tlustoš
(*Department of Agroenvironmental Chemistry and Plant Nutrition, Czech University of Life Sciences, Prague*): **An Assessment of Possible Effect of Risk Elements Contained in Soil on Human Organism**

Physiological Based Bioavailability Extraction Test (PBET) was tested at eight soils differing in their physico-chemical properties to assess the potential bioavailability of risk elements (As, Cd, Pb) via ingestion of the soil. The results showed that the simulated human gastrointestinal tract fluid is able to extract heavy metals fixed in soil matrix in considerable portion of the total element content. Significant differences were observed between the extractable element contents with simulated gastric fluid and simulated duodenal fluid. Comparison of PBET method and soil extraction with $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ solution of CaCl_2 , the extraction method simulating approximately the plant-available portions of risk elements showed higher mobility of soil elements by using the PBET test, especially in the case of As and Pb. For instance, arsenic belongs to the elements characterized by limited plant-availability and its extractability with $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ solution of CaCl_2 did not exceed 1 % of total content whereas the soil extraction with simulated gastric solution reached up to 4 % of total arsenic content. Therefore, potential risk of direct soil ingestion in contaminated areas should be taken into account and investigated in further research.