

PŘESTUP POLYCYKlickÝCH AROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ Z PŮDY DO VYBRANÝCH ROSTLIN

RADIM VÁCHA, JARMILA ČECHMÁNKOVÁ,
MARKÉTA HAVELKOVÁ,
VIERA HORVÁTHOVÁ a JAN SKÁLA

*Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy Praha, Žabovřeská 250, 156 27 Praha 5
vacha@vumop.cz*

Došlo 12.7.07, přepracováno 21.2.08, přijato 20.3.08.

Klíčová slova: polycyklické aromatické uhlovodíky, zemědělská půda, zátěž rostlin

Úvod

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) jsou skupinou látek se dvěma a více aromatickými jádry, která se řadí mezi perzistentní organické polutanty (POP). Tato skupina kontaminantů je již dlouhodobě sledována v různých složkách prostředí, včetně půdy. Doba setrvání různých skupin POP v prostředí se může výrazně lišit, a to i v rámci PAHs. Mnohé sloučeniny se v půdě samovolně rozkládají v rámci několika roků (naftalen, antracen), jiné sloučeniny, jako je např. benzo(ghi)perylene, jsou i v půdě relativně špatně rozložitelné¹, a to navzdory procesům degradace v půdním prostředí (mikrobiální činnost, fotolýza, hydrolýza atd.).

Zvýšené obsahy PAHs v zemědělských půdách mohou být jen těžko příčinou akutní otravy lidského organismu. To by ovšem nemělo vést k bagatelizaci rizik, spojených s event. projevy chronické toxicity při jejich dlouhodobé expozici. K prokázaným zdravotním poruchám patří zvýšená karcinogenita, mutagenita, teratogenita, genotoxicita, poruchy krvetvorby, zvýšení hladiny cholesterolu v krvi, poruchy reprodukce (estrogenní efekt) a další.

Sledování závažných POP v našich zemědělských půdách bylo zahájeno na počátku 90. let 20. století. Na základě zahraničních zkušeností byl akceptován výčet zdravotně závažných sloučenin ze skupiny POP, uvedený v tzv. „Holandském seznamu“, zahrnujícím i skupinu 13 PAHs a byl vypracován návrh kritických obsahů těchto sloučenin pro legislativu².

Díky dlouhodobému sledování zátěže našich zemědělských půd POP (cit.^{3–5}) bylo zjištěno, že v podmínkách ČR jsou závažné vstupy PAHs do půdy prostřednictvím:

- imisních spadů v oblastech zvýšeného výskytu průmyslu,
- zátěže ze spalování tuhých paliv v intravilánech,

- kontaminované vody v inundačních pásmech některých řek,
- aplikací kalů z čistíren odpadních vod (ČOV) na zemědělskou půdu.

Hodnocení zátěže prostředí POP se provádí zpravidla posouzením koncentrační úrovně dané látky ve zkoumaném médiu. Při hodnocení sumárních koncentrací skupiny látek (polycyklické aromatické uhlovodíky, PCDD/F) nebyl tento postup sledován dostatečně, vzhledem k rozdílným úrovním toxicity jednotlivých sloučenin. Proto byl zaveden princip tzv. ekvivalentů toxicity, který přiřazuje toxický ekvivalent jednotlivým sloučeninám. Toxické ekvivalenty byly odvozeny z humanotoxikologických studií, zohledňujících karcinogenní riziko. Sčítáním součinnů těchto ekvivalentů a koncentrací jednotlivých sloučenin je získána výsledná sumární hodnota, u PCDD/F udávaná jako mezinárodní toxický ekvivalent (I-TEQ PCDD/F), popř. nověji uváděný WHO-TEQ PCDD/F (cit.^{6,7}). Obdobný přístup se v současné době praktikuje i v oblasti zátěže PAHs, kde nejtoxičtějšími sloučeninami (toxický ekvivalent = 1) jsou benzo(a)pyren a dibenzo(a,h)antracen. Toxicita směsi se pak vyjadřuje jako suma toxických ekvivalentových faktorů (suma TEF).

Legislativně je v České republice problematika perzistentních organických polutantů v zemědělských půdách zapracována do vyhlášky 13/1994 Sb. Protože hodnoty koncentrací POP ve vyhlášce nebyly odvozeny z hodnot relevantních pro půdy ČR, nýbrž vznikly korekcí převzatých zahraničních hodnot, neprokázaly aktuální limitní hodnoty využitelnost pro hodnocení zátěže našich zemědělských půd. Z tohoto důvodu byly předloženy vědecky zdůvodnitelné limitní hodnoty obsahů POP v podobě tzv. preventivního limitu, který byl odvozen z vrchní hranice požadovaných hodnot koncentrací POP v našich zemědělských půdách². Tento návrh byl předložen k účelu novelizace vyhlášky 13/1994 Sb. (cit.⁸). Vyšší úroveň limitních hodnot, zaměřená na přestup POP ze zemědělských půd do potravního řetězce, není v současné době obecně k dispozici. K hodnocení vysokých zátěží se přistupuje prostřednictvím analýzy rizik, která je však odborně, časově a finančně náročná.

Vývoj vyšších stupňů limitních hodnot komplikuje určení perzistence PAHs v půdním prostředí, jejich degradace a přeměna na jiné sloučeniny. Z degradačních procesů se jako nejvýznamnější udává mikrobiální rozklad organických sloučenin v půdě.

Welp a Brümmer⁹ se pokusili chemickou analýzou při použití různých extrakčních činidel (směs acetonu a toluenu, tenzidy) definovat mikrobiálně odbouratelný podíl PAHs v půdě. K tomuto účelu využili pětiletý polní pokus, ve kterém sledovali samovolný úbytek PAHs v půdě, který pak srovnávali s obsahem PAHs v různých extraktech.

Sledování přestupu PAHs do rostlin je komplikováno dalšími faktory. Jiní autoři¹⁰ porovnávali atmosférické a biologické zdroje PAHs v rostlinách v tropickém prostředí a v případě naftalenu uvádějí výrazné rozdíly v obsahu ve vzduchu, půdě a rostlinách, kdy o několik řádů vyšší koncentrace byly nalezeny v rostlinných pletivech. Autoři

uvádějí hypotézu o biologických zdrojích PAHs v prostředí a přeměně složitějších sloučenin na jednodušší. Vznik PAHs v půdě při rozkladu fytohmoty dokládá také Thiele a Brümmer¹¹, zjištěn byl především vznik složitějších sloučenin se 4–6 aromatickými jádry.

Jednotlivé sloučeniny PAHs různých molekulových hmotností se podstatně liší ve svém chování a distribuci v prostředí. Nízkou přístupnost PAHs s vyšší hodnotou rozdělovacího koeficientu oktanol/voda (K_{ow}) pro rostliny uvádí dále např. Brandt a spol.¹², u těchto sloučenin ovšem výrazně roste hodnota bioakumulace v tkáních živočichů (tukové tkáni). Také schopnost vázat se na půdní organickou hmotu (rozdělovací koeficient K_{oc}) je až o tři řády vyšší u složitějších PAHs s vyšším počtem aromatických jader, ve srovnání s jednoduššími PAHs (cit.¹³). Přesto však někteří autoři zjistili, že zvýšená zátěž rostlin složitějšími PAHs může být způsobena aplikací zatížených kalů ČOV do půd, navzdory vyššímu obsahu organické hmoty v těchto materiálech¹⁴.

Organické polutanty mohou vstupovat do rostlin několika způsoby, uvádí se¹⁵, že v případě PCDD/F je významnější absorpce polutantů obsažených v depozici povrchem rostlin, ve srovnání s kořenovým příjmem. Při vývoji matematického modelu predikce zátěže rostlin a půdy PCDD/F (cit.¹⁵) byla zohledněna pozadová zátěž půdy, suchá a mokrá depozice a příjem kořeny. Uvedené transferové cesty je možno předpokládat i v případě PAHs. Holoubek¹³ specifikuje příjem PAHs vegetací následnými procesy:

- z půdního roztoku kořenem (závisí na vodním režimu rostliny a obsahu lipidických složek v kořenu, umožňujících snadnější sorpci do vnitřních pletiv),
- absorpci PAHs na povrch kořene,
- foliární příjem látek odpařených z půdního povrchu,
- absorpci PAHs na listovou plochu,
- některé PAHs jsou syntetizovány přímo rostlinami.

Hodnocení obsahu PAHs ve vzorcích plodin je vzhledem k hygienickým normám problematické, a to z důvodu absence limitních hodnot pro PAHs v naší legislativě. V rámci EU byl zaveden limit pro obsah benzo(a)pyrenu v některých potravinách (nařízení 208/2005/ES). Pro obsah této sloučeniny v tucích a olejích pro přímou spotřebu je stanoven limit 0,002 mg kg⁻¹, limit pro dětskou výživu

je 0,001 mg kg⁻¹. Vyhláška MZd ČR (cit.¹⁶) č. 305/2004 Sb., stanoví nejvýše přípustné koncentrace pro výčet 9 PAHs v jedlých olejích, kdy nejvýše přípustné množství pro jednotlivé sloučeniny je 0,002 mg kg⁻¹.

Účelem našeho sledování bylo posoudit, do jaké míry se zvýšená zátěž půd PAHs může projevit na zátěži pěstovaných rostlin. K tomuto účelu jsme vybrali půdy, kontaminované PAHs v terénních podmínkách, a to především z hlediska zachování reálných podmínek půdních vlastností a udržení rovnovážného stavu při dlouhodobé kontaminaci půd. Snahou bylo podchytit takovou úroveň zátěže zemědělských půd PAHs, kterou lze v podmínkách ČR považovat za výrazně zvýšenou. Protože setrvání a osud PAHs v prostředí je výrazně ovlivněn mikrobiální činností půd^{9,17}, věnovali jsme pozornost i těmto parametrům. Jejich hodnocení však není předmětem prezentovaného článku a této problematice bude věnována samostatná pozornost.

Experimentální část

Sledování PAHs v půdě a rostlinách bylo realizováno prostřednictvím tří experimentů, nádobového pokusu, polního mikroparcelkového pokusu a laboratorního extrakčního kolonového pokusu.

Nádobový pokus

Na základě šetření v terénu byla vybrána experimentální zemina (fluvizem modální – FLm) se zvýšenou zátěží PAHs, kontaminovaná prostřednictvím inundací (periodické záplavy, povodně). Jako další zdroj zvýšených obsahů PAHs byly použity kaly z čistíren odpadních vod (ČOV) se zvýšenou zátěží PAHs. Jejich smícháním se zeminou (kambizem modální – KAm) v hmotnostním poměru 1:1, byla simulována zvýšená zátěž zemědělské půdy POP, po aplikaci kalů ČOV. K zatíženým variantám byla vybrána jako kontrolní varianta nezatížená zemina (kambizem arenická – KAa), jejíž pedologické vlastnosti (pH, zrnitost, C_{org} , půdotvorný substrát) byly srovnatelné se zeminou kontaminovanou inundacemi (fluvizem modální – FLm). Charakteristiky uvedených zemín a obsahy PAHs jsou uvedeny v tabulce I.

Tabulka I
Charakteristika pokusných zemín

Zemina	Zrnitost	Půdotvorný substrát použité zeminy	Σ PAHs [mg kg ⁻¹]	Σ TEF PAHs [mg kg ⁻¹]
Fluvizem modální – Karviná, zátěž PAHs z inundací	3	aluviální bezkarbonátové říční sedimenty	21,05 (+/- 1,39)	2,462 (+/- 0,20)
Kambizem modální (+ kal ČOV Třinec), zátěž PAHs aplikací kalů ČOV	3	ruly a granulity	24,59 (+/- 1,21)	6,22 (+/- 0,51)
Kambizem arenická kontrola, bez zvýšené zátěže PAHs	2	štěrkopísky teras	0,45 (+/- 0,08)	0,06 (+/- 0,02)

K založení pokusu byly použity experimentální smaltované Mitscherlichovy nádoby, které byly naplněny 6 kg přesáté zeminy (síto 2 mm). Přesátá zemina byla před zapravením do jednotlivých nádob homogenizována v celém objemu důkladným promícháním. Nádoby byly umístěny na podstavci ve volném terénu bez zastřešení. Pokus byl založen ve čtyřech opakováních. Půdní reakce byla vápněním upravena na hodnotu pH 6,5 (dolomitický vápenec, Ca a Mg ve formě CaCO_3 a MgCO_3) a bylo provedeno základní hnojení makroprvky N, P a K. Po uplynutí 20 dnů od založení pokusu byla zemina v nádobách opět homogenizována promícháním a byly odebrány vzorky zemin k analýze PAHs. Z každé homogenizované nádoby byl odebrán jeden vzorek ze středu nádoby (cca 200 g zeminy). Následně byl pokus oset ředkvičkou setou (*Raphanus sativus* v. *radicula*), odrůda „Duo“.

Po sklizni rostlin (září 2005) byla zemina v nádobách opět homogenizována promícháním, byly odstraněny zbytky rostlin a odebrány vzorky zemin (z každé nádoby jeden vzorek ze středu nádoby). Popis analýzy vybraných půdních vlastností (obsah a kvalita organické hmoty) je uveden níže. Na jaře roku 2006 byl pokus oset mrkví setou (*Daucus carota*). Na podzim roku 2006 byly identickým způsobem odebrány vzorky rostlin a zemin k analýze PAHs.

Oseté nádoby byly pravidelně zalévány konstantním množstvím pitné vody (500 ml), a to v závislosti na klimatických podmínkách, zpravidla 1× za 48 hodin. Pokus byl pravidelně udržován (pletí, jednocení vysazených rostlin). Sklizené ředkvičky byly analyzovány ve formě hypokotyle myté („bulvy“ ředkviček), chrást mytý a chrást nemytý. Mytí rostlin bylo provedeno v laboratorních podmínkách za použití demineralizované vody. V případě mrkve byl použit k analýze očištěný a omytý kořen, ten byl rozdělen na dvě části, střední válec (obsahující svazky cévní) a primární kůru.

Polní mikroparcelkový pokus

Polní pokus se nachází v oblasti Českomoravské vysočiny (okres Jihlava), založen byl na pozemku s půdním typem kambizem modální (varieta kyselá, podloží ruly). Protože půda pokusu není sledovanými sloučeninami extrémně zatížena, byly použity testované kaly ČOV (Praha-Podbaba, Třinec), které byly zapraveny v množství 50 kg m^{-2} , a to dne 3.8.2005. Pokus byl založen formou mikroparcelek ($2 \times 1 \text{ m}$) ve čtyřech opakováních a oset byl v obou letech hořčicí bílou (*Sinapis alba*). Při sklizni pokusu byly odebrány vzorky zemin (z hloubky humusového horizontu 5–15 cm) a rostlin (směsný vzorek z 10 dílčích odběrů z každé mikroparcelky u zemin i rostlin) k analýze PAHs, rostliny byly analyzovány ve formě listy myté a nemyté v prvním roce pokusu a listy myté ve druhém roce pokusu.

Laboratorní kolonový extrakční pokus

V průběhu roku 2006 byl realizován laboratorní kolonový extrakční pokus, určený ke sledování přestupu poly-

cyklických aromatických uhlovodíků (PAHs) z půdy do roztoku. Pokus byl založen v novodurových kolonách s výpustním ventilem, dno kolony je opatřeno 0,2 mm sítkem. Kolony byly plněny 100 g pokusné přesáté zeminy, odebrané z nádobového pokusu. Zemina byla v kolonách nasycena demineralizovanou vodou na hodnotu plně vodní kapacity a následně byla vystavena po dobu 24 hodin působení 200 ml roztoku ve třech opakováních následovně:

- demineralizovaná H_2O ,
- demineralizovaná H_2O okyselená H_2SO_4 na hodnotu pH 3,
- 0,2% roztok tenzidu – laurylsíranu sodného ($\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$) rozpuštěného v demineralizované H_2O .

Tenzid byl použit na základě práce německých autorů¹⁸, kteří definovali množství PAHs extrahované z půdy 0,2% roztokem tenzidu jako část obsahu PAHs v půdě, biologicky dostupného půdním mikroorganismům. V laboratoři Aquatest Praha a.s. byl proveden srovnávací pokus s certifikovaným materiálem (sediment), výrazně zatíženým PAHs, kde byla sledována výtěžnost PAHs při extrakci vodou, 0,2% a 4% a roztokem uvedeného tenzidu. Na základě výsledků tohoto porovnávacího experimentu byl zvolen postup extrakce v kolonovém pokusu. Extrakce probíhala posloupně tak, že nejdříve bylo použito nejslabší extrakční činidlo (demineralizovaná voda), následovala extrakce stejného vzorku demineralizovanou vodou s upraveným pH a v konečné fázi byl vzorek podroben extrakci nejsilnějším činidlem (0,2% roztok tenzidu).

Získaný extrakt byl následně centrifugován při 2500 ot min^{-1} , z důvodu oddělení koloidní fáze od roztoku. Holoubek¹³ udává, že většinový podíl PAHs ve vodném prostředí je vázán na koloidní částice, pouze 33 % PAHs je rozpuštěno ve vodě. Získaný roztok byl použit k vlastní analýze PAHs.

Výsledky všech experimentů byly zpracovány při použití základních statistických metod v programu Excel (aritmetický průměr, geometrický průměr, medián, směrodatná odchylka, interval spolehlivosti, analýza rozptylu).

Analýza PAHs

Vlastní laboratorní stanovení obsahu PAHs v zeminách, rostlinách a roztoku byla provedena v akreditovaných laboratořích Aquatest a.s.

Analýza pevných vzorků (zemina, rostlina) zahrnuje jejich vysušení bezvodým síranem sodným, následuje extrakce v roztoku acetonu. Extrakt je následně bez čištění analyzován. PAHs jsou stanoveny vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC) s fluorescenční detekcí (mobilní fáze – acetonitril/voda) a to tak, že část PAHs je stanovena za isokratické eluce při neměnných vlnových délkách na jednom přístroji, zbývající podíl PAHs je stanoven opět za isokratické eluce při neměnných vlnových délkách na druhém přístroji. Přitom součástí jedné přístrojové sestavy jsou dva detektory v sérii, takže k detekci jsou použity dvě rozdílné vlnové délky (změna jejich nastavení

Tabulka II
Přehled sloučenin k výpočtu sumy toxických ekvivalentových faktorů PAHs

Sloučenina	Hodnota toxického ekvivalentu
Benzo(a)pyren	1
Benzo(a)antracen	0,1
Benzo(b)fluoranten	0,1
Benzo(k)fluoranten	0,01
Dibenzo(a,h)antracen	1
Indeno(1,2,3-cd)pyren	0,1

tak neprobíhá během analýzy). Tento postup zajišťuje minimalizaci obtíží s gradientovou elucí a se změnami nastavení vlnových délek během analýzy při dělení nečistých vzorků.

Ke sledování zátěže půd a rostlin PAHs byly použity hodnoty koncentrací jednotlivých sloučenin, dále hodnoty sumy všech sloučenin (suma PAHs), hodnoty sumy sloučenin PAHs se 2–3 aromatickými jádry a 4–6 aromatickými jádry. Z důvodu rozdílných toxikologických vlastností jednotlivých sloučenin PAHs¹³, pak také hodnoty sumy toxických ekvivalentových faktorů (suma TEF PAHs), počítaných jako součet násobků koncentrací s hodnotou toxického ekvivalentu karcinogenních sloučenin. Jejich seznam a hodnoty toxických ekvivalentů jsou uvedeny v tab. II.

Analýza obsahu a kvality půdní organické hmoty

Uvádíme popis stanovených půdních vlastností v centrálních laboratořích VÚMOP v.v.i.

C_{org} – organický (oxidovatelný) uhlík. Udává obsah uhlíku v primární organické půdní hmotě. Může být využit k výpočtu obsahu humusu ($1,72 \times C_{org}$). Metoda stanovení je založena na principu oxidace organického uhlíku kyselinou chromovou za nadbytku kyseliny sírové (kyselinou chromsírovou) při zvýšené teplotě. Nespotebovaná kyselina chromová se stanoví jodometricky. Akreditovaná metoda (SOP 4/02) je modifikovanou normou ISO 14235.

Stanovení silně a slabě poutaných humusových látek, zahrnuje stanovení uhlíku huminových kyselin (C-HK), stanovení uhlíku fulvokyselin (C-HF), stanovení uhlíku humusových látek (C-HK + C-HF) a stanovení barevného kvocientu Q4/6, indikujícího kvalitu humusu. Metoda stanovení¹⁹ je založena na extrakci vzorku směsným roztokem, obsahujícím pyrofosforečnan sodný a hydroxid sodný, obsahy uhlíku uvedených látek se stanoví titračně, hodnota Q4/6 fotometricky.

C_{ws} – vodorozpustný uhlík, indikující kvalitu primární organické hmoty (biopřístupný uhlík pro půdní mikroorganismy) je laboratorně stanoven²⁰ po hodinové extrakci vzorku 0,01 M roztokem $CaCl_2$ (1:5 w/V), vlastní stanovení oxidovatelného uhlíku v odparku filtrátu prostřednictvím zahřívání s chromsírovou kyselinou a titrací Mohrovou soli.

C_{hws} – uhlík rozpustný v horké vodě, účel stanovení obdobný jako v případě vodorozpustného uhlíku. Stanoví se²¹ po 1 hodinovém varu půdního vzorku 0,01 M $CaCl_2$ (1:5 w/V), vlastní stanovení oxidovatelného uhlíku v odparku filtrátu prostřednictvím zahřívání s chromsírovou kyselinou a titrací Mohrovou soli.

Výsledky a diskuse

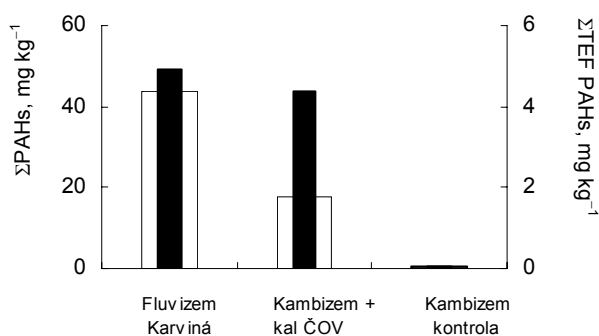
V tabulce III jsou uvedeny pro zeminy nádobového pokusu hodnoty obsahu huminových kyselin (C-HK), fulvokyselin (C-FK), jejich vzájemný poměr (HK:FK), celkový obsah humusových látek (C-HL), hodnoty barevného kvocientu Q4/6 a obsah uhlíku, stanovený jako uhlík organický (C_{org}), uhlík rozpustný ve vodě (C_{ws}) a uhlík rozpustný v horké vodě (C_{hws}).

Nejvyšší hodnoty obsahu C_{org} byly detegovány v zemině, smíchané s kalem Třinec, zatížená varianta Karviná dosahuje téměř stejné hodnoty obsahu C_{org} jako kontrolní varianta Mělník.

Obsahy uhlíku rozpustného v horké vodě (C_{hws}) vyjadřují aktivní organický uhlík v rozložitelné primární organické hmotě. Jeho nejvyšší hodnota byla zjištěna na variantě s kalem Třinec (1944 mg kg^{-1}), řádově nižší hodnotu vykazuje kontrolní varianta Mělník, nejnižší pak Karviná. Podobné poměry hodnot nalézáme i v případě uhlíku vodorozpustného (C_{ws}). Obsah celkových humusových látek

Tabulka III
Ukazatele obsahu a kvality organické hmoty v pokusných zeminách

Zemina	C-HK [pyro %]	C-FK [pyro %]	HK : FK	C-HL [pyro %]	Q4/6 [pyro]	C_{org} [%]	C_{ws} [mg kg ⁻¹]	C_{hws} [mg kg ⁻¹]
FLm – Karviná	0,06	0,07	1:1	0,13	4,3	1,6	34	175
KAm (+ kal ČOV Třinec)	0,83	0,5	1:0,6	1,33	2,7	5,23	204	1944
KAa – Mělník (kontrola)	0,33	0,2	1:0,6	0,53	2,3	1,66	89	489



Obr. 1. Obsahy sumy PAHs a sumy toxických ekvivalentových faktorů PAHs v zeminách nádobového pokusu; □ ΣPAHs, ■ ΣTEF

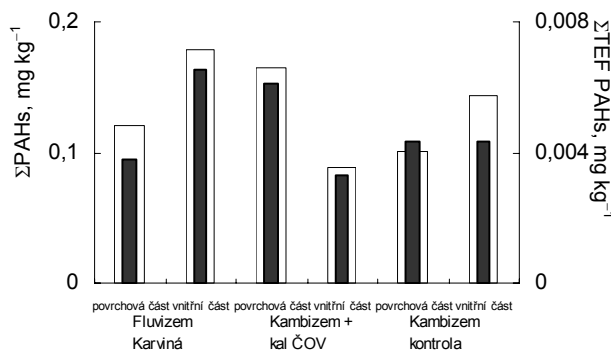
je pak opět nejvyšší na variantě s kalem Třinec, nejnižší ve fluvizemi Karviná. Kvalita humusových látek, odvozená z poměru huminových kyselin a fulvokyselin, je stejná na variantě s kalem Třinec a kontrolní variantě Mělník, kde byla zjištěna převaha huminových kyselin, ve fluvizemi Karviná je poměr těchto látek vyrovnaný. Hodnoty barevného koeficientu Q4/6 potvrzují nejnižší kvalitu humusu ve fluvizemi Karviná a srovnatelnou kvalitu humusu na variantě s kalem Třinec a kontrolní variantě Mělník.

Obsahy sumy PAHs v zatížených zeminách nádobového pokusu v prvním roce se pohybovaly v koncentracích od 21 do 24,6 mg kg⁻¹ s tím, že obsahy byly na zatížených variantách Karviná a Třinec srovnatelné, byly však zjištěny statisticky významné rozdíly v obsahu před zahájením a po ukončení vegetace. V zrnitostně lehké fluvizemi s nízkým obsahem organické hmoty byly zjištěny vyšší obsahy PAHs, v rámci uvedeného intervalu hodnot, po ukončení vegetace, což může souviset s uváděným vznikem PAHs při rozkladu fytomasy¹¹. V zemině s kalem Třinec byly naopak po ukončení vegetace celkové obsahy PAHs nižší. Zde je ovšem třeba brát v úvahu i existující heterogenitu, dokonale rovnoměrné promíchání kalu se zeminou není reálné. Odpovídající trend vykázaly i hodnoty sumy TEF PAHs, blíže vztažené k míře karcinogenního rizika. V následujícím roce byly odebrány vzorky zemin pouze po ukončení vegetace a byl zjištěn opět nárůst obsahu sumy PAHs na variantě Karviná na hodnotu více než 40 mg kg⁻¹, zatímco na variantě s kalem Třinec mírně poklesly obsahy sumy PAHs na hodnotu 18 mg kg⁻¹. Srovnatelné hodnoty TEF PAHs na těchto variantách dávají předpoklad rychlejšího poklesu obsahů jednodušších a méně karcinogenních PAHs na variantě s kalem Třinec a potvrzují vyšší perzistenci složitějších, tedy vícejaderných PAHs v půdě. Obsahy PAHs v zemině kontrolní varianty Mělník se pohybovaly pod svrchní hranicí požadových hodnot (1 mg kg⁻¹) v intervalu hodnot 0,4–0,6 mg kg⁻¹, byl zjištěn trend mírného nárůstu hodnot PAHs po ukonče-

ní vegetace.

Na obr. 1 jsou uvedeny obsahy sumy PAHs a sumy TEF PAHs (suma toxických ekvivalentových faktorů) v zeminách nádobového pokusu po ukončení druhého vegetačního období (aritmetický průměr ze čtyř opakování). Při srovnání sumy TEF PAHs v zeminách je zřetelný výrazně nižší rozdíl mezi hodnotami na variantě Karviná a Třinec ve srovnání se sumou PAHs, z toho vyplývá vyšší zastoupení karcinogenních sloučenin PAHs na variantě s kalem Třinec.

Při srovnání obsahu sumy PAHs v rostlinách ředkvičky, pěstované v prvním roce, byl zjištěn nárůst koncentrace PAHs v nemytém chrástu zatížené fluvizemí Karviná, ve srovnání s kambizemí s kalem Třinec a především ve srovnání s nezatíženou kontrolní variantou. Po omytí chrástu dochází ke zřetelnému poklesu obsahu PAHs a jejich koncentrace jsou na všech variantách pokusu na stejné úrovni. Výsledky potvrzují, že povrchová kontaminace rostlin, v tomto případě kontaminace znečištěnou zeminou (prašnost, rozstřík při zalévání) výrazně převládá nad vstupem PAHs do rostliny přes jejich kořenový systém. Přesto i zde byl zaznamenán trend nárůstu PAHs v hypokotylu ředkviček v pořadí kambizem kontrola, kambizem s kalem ČOV, fluvizem Karviná. Podobný trend byl zaznamenán i při srovnání sumy toxických ekvivalentových faktorů. Zátěž nadzemní části ředkviček v neomytém stavu z varianty fluvizem Karviná (0,49 mg kg⁻¹) a varianty s kalem Třinec (0,13 mg kg⁻¹) byla zhodnocena jako výrazně zvýšená, vzhledem k limitní hodnotě benzo(a)pyrenu v potravinách, určených k přímé spotřebě (nařízení 208/2005/ES, limit 0,002 mg kg⁻¹). Po omytí nadzemní části rostlin (chrást ředkviček), poklesly hodnoty benzo(a)pyrenu pod detekční limit (0,01 mg kg⁻¹) na všech variantách. Zvýšené hodnoty benzo(a)pyrenu byly detegovány také v hypokotylech ředkviček na variantě se zatíženou fluvizemí Karviná (0,042 mg kg⁻¹). Na variantě se zapraveným kalem z ČOV Třinec dosáhl obsah

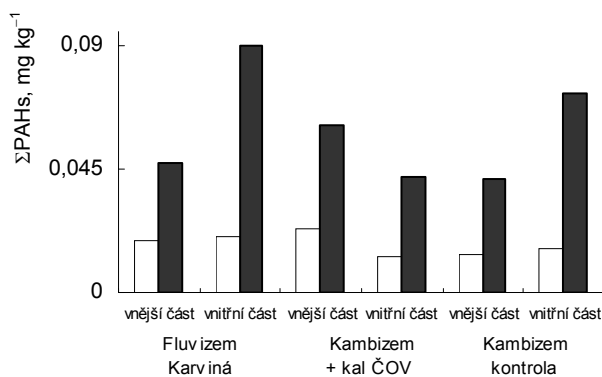


Obr. 2. Obsahy sumy PAHs a sumy toxických ekvivalentových faktorů PAHs v povrchové a vnitřní části kořene mrkve, nádobový pokus, □ ΣPAHs, ■ ΣTEF

této sloučeniny v hypokotylech ředkviček $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$. Na kontrolní variantě se koncentrace pohybovaly pod mezí detekce.

Z obr. 2 je patrná výrazná diferenciacie obsahů sumy PAHs a TEF PAHs v povrchové a vnitřní části kořene mrkve (2. rok trvání pokusu) na variantě Třinec, kde byl zjištěn vyšší obsah sumy PAHs v povrchové části rostliny, ve srovnání s vnitřní částí, na rozdíl od varianty kontrolní a především varianty Karviná. Na variantě Karviná se sorpčně chudou fluvizemí byla výrazně více zatížena vnitřní část kořene mrkve, dá se tedy uvažovat o vyšší mobilitě některých sloučenin PAHs v této půdě, s jejich pronikáním do cévních svazků kořene mrkve. Ve srovnání s kontrolní variantou dosahují koncentrace sumy PAHs i TEF PAHs ve středním válci kořene mrkve výrazně zvýšených hodnot, obsahy v primární kůře kořene mrkve jsou však s kontrolní variantou srovnatelné. Na variantě s kalem Třinec byly zjištěny mírně zvýšené koncentrace ve středovém válci kořene mrkve, avšak výrazně zvýšené obsahy v primární kůře, oproti kontrole. Z výsledků se dá předpokládat, že na variantě s kalem Třinec, kde jsou PAHs pevněji vázány na půdní organickou hmotu, dochází k narušení této vazby v rhizosférní oblasti kořene a k následné vazbě PAHs na lipidické a další organické sloučeniny (především rostlinná barviva) v povrchových vrstvách kořene. Bobovnikova a spol.²² uvádí karoten v kořeni mrkve jako sloučeninu, která vázala vysoké koncentrace PCB.

Srovnáme-li obsahy sumy PAHs se 2–3 aromatickými jádry a 4–6 aromatickými jádry v kořenech mrkve (obr. 3), je zřejmé, že vyšší přestup sloučenin PAHs transferovou cestou půda-rostlina se týká především jednodušších sloučenin. U sloučenin se 4–6 aromatickými jádry dosáhly vyšší koncentrace obsahy v primární kůře kořene na všech variantách pokusu a lze tedy odvodit výrazně nižší pronikání těchto sloučenin přes primární kůru do cévních svazků kořene. Výsledky odpovídají obecně známému faktu o mobilitě PAHs, kdy se uvádí¹³, že sloučeniny s vyšší molekulovou hmotností jsou relativně nepohyb-

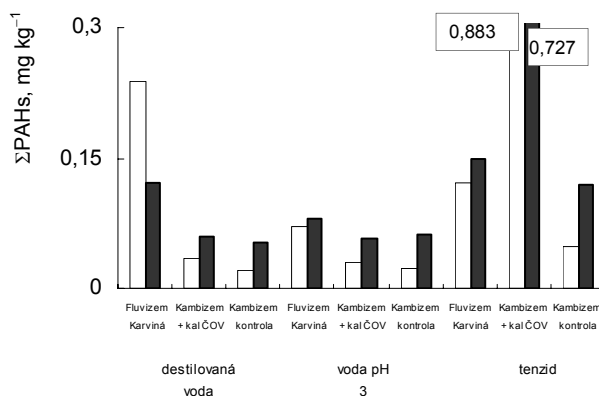


Obr. 3. Obsahy sumy PAHs se 2-3 a 4-6 aromatickými jádry v kořenech mrkve, nádobový pokus; □ Σ4–6 jader, ■ Σ2–3 jader

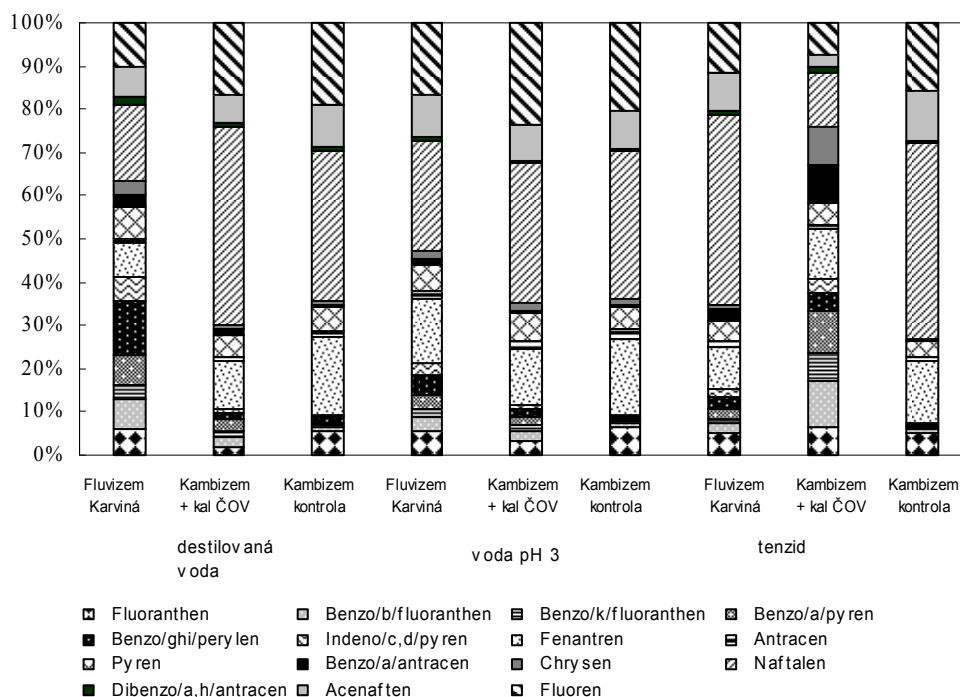
livé, vzhledem k vyšším molekulovým objemům a extrémně nízké těkavosti a rozpustnosti. Fyzikální a chemické vlastnosti PAHs se mění s molekulovou hmotností s tím, že s jejím růstem klesá rozpustnost ve vodě, roste bod tání, bod varu a rozdělovací koeficient oktanol/voda (K_{ow}).

Výsledky extrakčního kolonového pokusu jsou v souladu se závěry nádobových experimentů. Na obr. 4 je znázorněn obsah sumy PAHs se 2–3 a 4–6 aromatickými jádry v extraktech ($\mu\text{g l}^{-1}$). Při první extrakci destilovanou vodou došlo k vymytí především jednodušších PAHs z půdy do roztoku na variantě Karviná, zatímco na variantě kal Třinec nebyly PAHs z organických vazeb vytěsněny. Při opakované extrakci okyselenou vodou došlo k poklesu obsahů PAHs v extraktu z varianty Karviná s tím, že relativně nižší pokles byl zjištěn PAHs se 4–6 aromatickými jádry, které jsou v půdě silněji poutány na organickou hmotu a nebyly vyplaveny již při první extrakci. Na vyluhovatelnost PAHs z půdy s kalem Třinec neměla změna acidity rozpouštědla výraznější vliv. Použití tenzidu při následné třetí extrakci však vedlo k narušení vazeb PAHs na půdní organickou hmotu a na variantě Třinec došlo k masivnímu přechodu PAHs se 2–3 > 4–6 aromatickými jádry z půdy do roztoku. Oproti druhé extrakci byly zjištěny vyšší hodnoty PAHs v extraktu tenzidu i na variantě Karviná, ty však byly již výrazně nižší, než při první extrakci a převaha PAHs se 4–6 aromatickými jádry oproti PAHs se 2–3 aromatickými jádry potvrzuje, že jednodušší sloučeniny s nižší afinitou k půdní organické hmotě byly z půdy masivněji vytěsněny již při první extrakci.

Z obr. 5, který porovnává procentické zastoupení jednotlivých sloučenin PAHs na celkové zátěži extraktů, lze odvodit některé další zákonitosti. Je patrné, že nejvíce přechází do roztoku skutečně nejednodušší naftalen se dvěma aromatickými jádry, jeho podíl vůči ostatním sloučeninám je nejvyšší v extraktu destilovanou vodou z varianty kal Třinec, tedy v případě vysokého obsahu organické hmoty v půdě a slabého extrakčního činidla. Při následné extrakci okyselenou destilovanou vodou (pH 3)



Obr. 4. Obsah sumy PAHs se 2-3 a 4-6 aromatickými jádry v extraktech kolonového pokusu; □ Σ4–6 jader, ■ Σ2–3 jader



Obr. 5. Procentuální zastoupení jednotlivých sloučenin PAHs v extraktech kolonového pokusu

jeho podíl klesá, především na úkor fluorenu s nepatrně složitější molekulou. Zachycen byl i mírný pokles fenanthrenu se třemi aromatickými jádry ve prospěch složitějších sloučenin. Z toho je patrné, že použití kyselého extrakčního činidla mělo vliv na poměr jednotlivých sloučenin v extraktu, přestože změna zdaleka nedosahuje účinnosti použití roztoku tenzidu, kdy je dobře patrný nárůst podílu složitějších PAHs, se zvýšeným karcinogenním rizikem. Použití roztoku tenzidu vedlo k mobilizačnímu efektu PAHs a poměr jednotlivých sloučenin je porovnatelný s jejich poměrem v první extrakci na variantě fluvizem Karviná, kdy došlo k vymytí kontaminovanou vodou naplavených PAHs, které nebyly vázány v sorpčně chudém půdním prostředí. V případě varianty kal Třinec však pozorujeme ještě vyšší zastoupení nejtoxičtějších sloučenin, což souvisí s jejich celkovými obsahy v půdě dané varianty (jejich vyšší zastoupení v kalu ČOV). Z obrázku je dále patrné, že v kontrolní variantě s nízkými obsahy PAHs nedošlo k podstatným změnám poměru jednotlivých sloučenin v roztoku v posloupném průběhu tří extrakcí a obecně zde platí, že vyluhovány byly především nejjednodušší sloučeniny PAHs.

Závěr

Závěrem je možné konstatovat, že výrazná zátěž půdy PAHs vedla ke kontaminaci podzemních orgánů rostlin, ta byla způsobena, v závislosti na půdních vlastnostech, pronikáním (především jednodušších PAHs) půdním roztokem do cévních svazků nebo vazbou (především složitějších PAHs) v povrchových částech kořene na jeho organické složky. Je tedy zřejmé, že kontaminace rostlin může být způsobena různým typem zátěže půdy PAHs, včetně aplikace kalů ČOV, jak udávají i jiní autoři^{14,23}. Nadzemní část rostlin byla mnohem výrazněji zatížena mimokořenovou cestou, což se potvrdilo nejenom v nádobovém, ale i mikroparcelkovém polním pokusu. Na zatížených lokalitách může být problematické dodržení limitních obsahů PAHs v komoditách, určených k přímé spotřebě, jak se prokázalo v případě benzo(a)pyrenu.

Příspěvek vznikl v rámci projektu MZe ČR a NAZV č. QF 4063.

LITERATURA

1. Starke U., Herbert M., Einsele G.: Bodenschutz 1680, 1 (1991).
2. Němeček J., Podlešáková E., Pastuszková M.: Rostl. Vyr. 42, 49 (1996).

3. Holoubek I., Adamec V., Bartoš M., Černá M., Čupr P., Bláha K., Demnerová K., Drápal J., Hajšlová J., Holoubková I., Jech L., Klánová J., Kocourek V., Kohoutek J., Kužilek V., Machálek P., Matějů V., Matoušek J., Matoušek M., Mejstřík V., Novák J., Ocelka T., Pekárek V., Petrá K., Provazník O., Punčochář M., Reider M., Ruprich J., Sánka M., Tomani-
ová M., Vácha R., Volka K., Zbiral J.: Národní inven-
tura Persistentních organických polutantů v České
republice (NPOPsINV), 2. verze – NPOPsINV 2003,
TOCOEN REPORT No. 249. (2003).
4. Podlešáková E., Němeček J., Vácha R., Pastuszková
M.: Toxicol. Environ. Chem. 66, 91 (1998).
5. Vácha R., Podlešáková E., Němeček J., Poláček O.:
Chem. Listy 95, 590 (2001).
6. Eljarrat E., Caixach J., Rivera J.: Chemosphere 51,
595 (2003).
7. Van den Berg M., Birnbaum L. S., Denison M., De
Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H.,
Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe
S., Schrenk D., Tohyama C., Tritscher A., Tuomisto
J., Tysklind J., Walker N., Peterson R. E.: Toxicol. Sci.
93, 223 (2006).
8. Sánka M., Němeček J., Podlešáková E., Vácha R.,
Beneš S.: *Vypracování kritických hodnot obsahů rizi-
kových prvků a organických cizorodých látek v půdě a
jejich příjem rostlinami z hlediska ochrany kvality a
kvantity zemědělské produkce*. Zpráva MŽP 2002.
9. Welp G., Brümmer G. W.: Ecotoxicol. Environ. Saf.
43, 83 (1999).
10. Krauss M., Wilcke W., Martius C., Banderia A. G.,
Garcia M. V. B., Amelung W.: Environ. Pollut. 135,
143 (2005).
11. Thiele S., Brümmer G. W.: Soil Biol. Biochem. 34,
733 (2002).
12. Brandt C. A., Becker J. M., Porta A.: Environ. Toxi-
col. Chem. 21, 1638 (2002).
13. Holoubek I.: *Chemie životního prostředí IV. Polycyk-
lické aromatické uhlovodíky (PAHs)*. Brno, 2005.
<http://recetox.muni.cz/index.php?id=23>, staženo 20.4.
2007.
14. Oleszczuk P., Baran S. J.: Environ. Sci. Health, Part A
40, 2085 (2005).
15. Meneses M., Schuhmacher M., Domingo J. L.: Che-
mosphere 46, 1393 (2002).
16. MZd ČR: *Vyhlaška MZd ČR č. 305/2004 Sb., kterou
se stanoví druhy kontaminujících a toxikologicky vý-
znamných látek a jejich přípustné množství v potravi-
nách*. Sbírka zákonů 2004.
17. Johnsen A. R., Karlson U.: Microb. Ecol. 50, 488
(2005).
18. Thiele S., Brümmer G. W.: Chemische Extraktionver-
fahren zur Abschätzung des mikrobiell abbaubaren
PAK-Anteils kontaminierten Böden. Mitteilgn. Dtsch.
Bodenkundl. Gesellsch. 91/I, 522 (1999).
19. Hraško J., Červenka L., Facek Z., Komár J., Němeček
J., Pospíšil F., Sirový V.: *Rozbory půd*. SVPL, Brati-
slava 1962.
20. Houba V. G. J.: *Soil and Plant Analysis*, part 5A.
Wageningen University 1994.
21. Körchens M., Schulz E., Behm R.: Zbl. Microbiol.
145, 305 (1990).
22. Bobovnikova T. I., Alekseeva L. B., Dibtseva A. V.,
Chernik G. V., Orlinsky D. B., Pripulina I. V., Ples-
kachevskaya G. A.: Sci. Total. Environ. 246, 51
(2000).
23. Zohair A., Salim A.-B., Soyibo A. A., Beck A. J.:
Chemosphere 63, 541 (2005).

**R. Vácha, J. Čechmánková, M. Havelková,
and V. Horváthová** (Research Institute for Soil and Water
Conservation Prague, Czech Republic): **Transfer of Poly-
cyclic Aromatic Hydrocarbons from Soil into Selected
Plants**

The influence of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in soil on plant production quality was investigated. A series of pot, field, and laboratory tests were performed. The results showed that the transfer of PAHs into plants is influenced mainly by chemical characteristics of aromatics, by soil characteristics (the content and quality of organic matter) and by plant characteristics (plant species and bodies). The pot and field tests confirmed the prevailing influence of emissions on the PAH load of mustard shoots compared with PAH transfer from the soil. Nevertheless, an increased transfer of PAHs containing less aromatic rings into the middle parts of carrot roots was confirmed for sandy soils. Increased contents of PAHs were also detected in primary bark of carrot roots in sludge application. These findings were confirmed by laboratory extraction tests.