



***VYUŽITIE RIAS NA HODNOTENIE
TOXICITY VZORIEK Z LOKALÍT
KONTAMINOVANÝCH KOVMI***

A. Fargašová, J. Pastierová, Z. Kramárová

Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava

Experimentálne ciele

ekotoxikologické hodnotenie kvality vody v **zemplínskej oblasti** – hlavné toky **rieka Ondava s prítokmi Laborec a Bodrog**. Kvalita vody v týchto tokoch v jednotlivých skupinách ukazovateľov je v rozmedzí II. – V. triedy.



Charakterizácia sledovanej lokality



chemko

Znečistenie povrchových vôd v tejto oblasti je spôsobené predovšetkým nevyhovujúcim čistením odpadových vôd z verejných kanalizácií a priemyselnej výroby



Celá lokalita je značne zat'azená priesakmi z odkaliska, ktorého zriad'ovateľom je CHEMKO, a.s. Strážske

Všeobecne – odkaliská, ktoré slúžia na uskladňovanie elektrárenských popolčiekov, sedimentov z chemických fabriek, kaly z úpravni rudných baní a iných materiálov
= **ohrozenie životného prostredia**



Kritická situácia je **v odkalisku Poša** pri Nižnom Hrabovci (okr. Vranov nad Topľou), ktoré vypĺňajú sedimenty z podniku CHEMKO Strážske

odkalisko sa používa od roku 1978 na skládkovanie popolovín a strusky;
prevádzka je postupne utlmovaná a v súčasnosti je nevyužívané;
postupne je vypúšťané pre možnosť opätovného prevádzkovania

PROBLÉM – vysoký obsah **As**
– povrchovej vode odkaliska
prekračuje limity **> 200x**, vo
vode z výpustu takmer **100x**

Povrchové vody:

Nariadenie vlády SR Z.z. č. 296/2005, ktorým sa ustanovujú požiadavky na kvalitu a kvalitatívne ciele povrchových vôd a limitné hodnoty ukazovateľov znečistenia odpadových vôd a osobitných vôd - 30 µg As/l

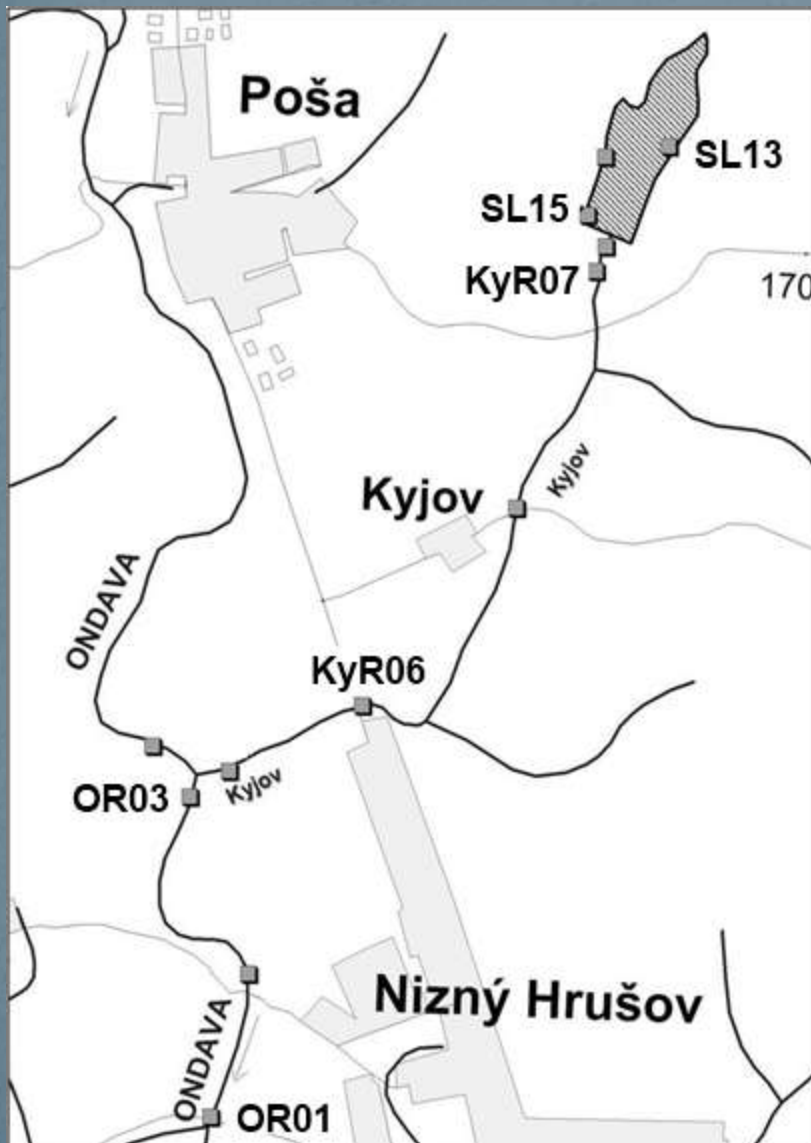


Alarmujúcim faktorom je aj množstvo vypúšťanej vody z odkaliska, keďže sa tak uvoľňuje As do prostredia rieky Ondavy, čo môže spôsobiť **kontamináciu prírodného prostredia**

DÔKAZ – vysoký obsah As v riečnych sedimentoch Kyjovského potoka ⇒ dvojnásobne prekročené hodnoty ⇒ aj nebezpečenstvo uvoľňovania sa As do povrchovej vody



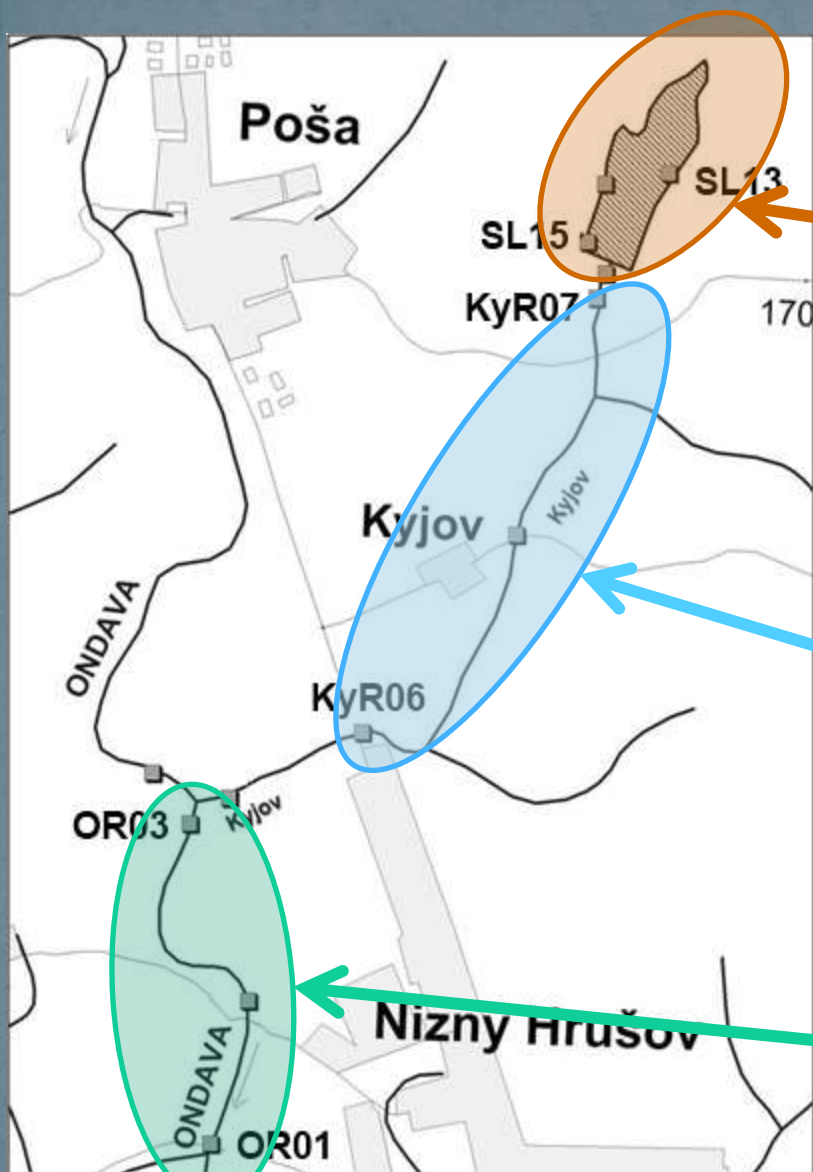
Charakterizácia sledovanej lokality



sútok Ondavy /vľavo/ a Latorice

Vzorky sedimentov
a povrchových vôd sa
odoberali na 6 miestach
povodia rieky Ondavy
a potoka Kyjov

Schematická mapa odberových
miest vzoriek



vzorky **SL13** a **SL15** – **odbery z odkaliska**, SL13 – breh odkaliska bez akéhokoľvek porastu a SL15 – lagúna s organickým sedimentom

potok Kyjov – vzorky **KyR06** (blízko miesta, kde ústi výpust z Chemko, a.s., Strážske) a **KyR07** (pod odkaliskom)

rieka Ondava – vzorky **OR01** (monitorovací bod SHMÚ) a **OR03**



rok 2005



rok 2007

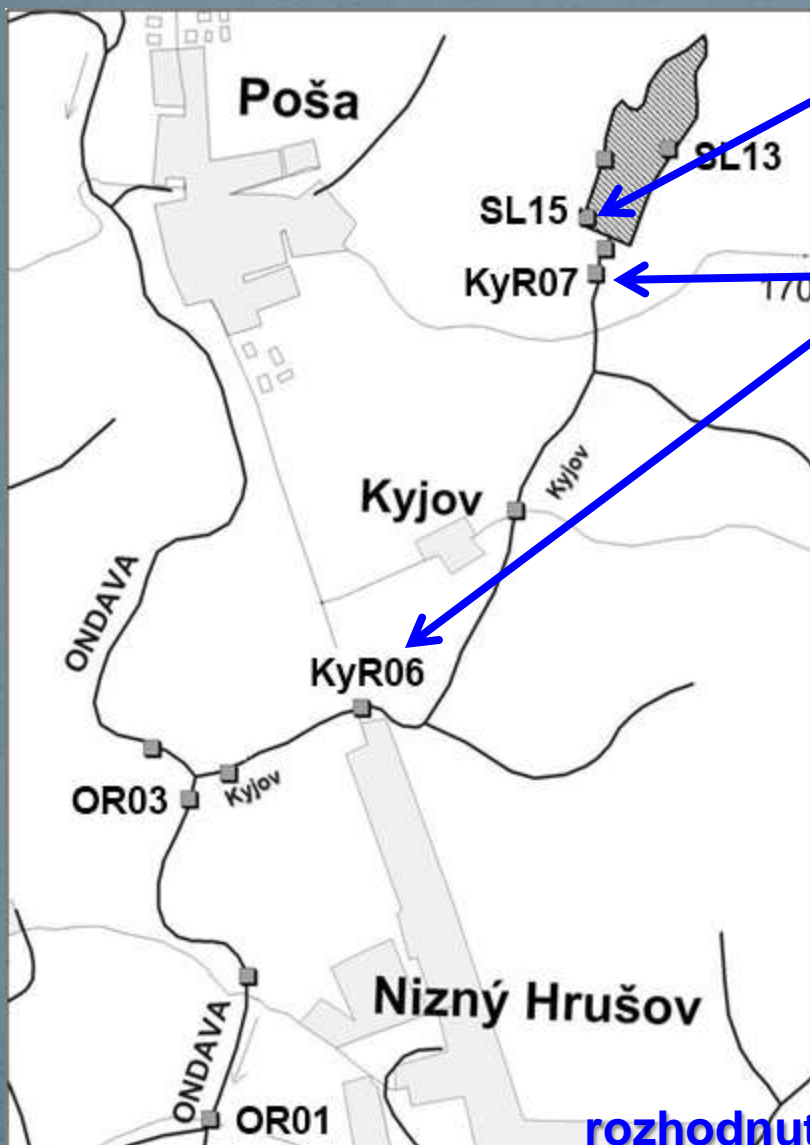


OBJEKT CHEMNO, s.p.
NIEKTYRY OBJEKT
WYJOSKOWY POTOK

PROBLÉM

- 90-te roky – **znečistenie povrchových vôd** toku Kyjov a časti rieky Ondava **arzénom** (Kyjov – **maximum As 11,39 mg/l**)
- ďalšie **významné polutanty** v povrchových vodách tejto lokality - **NH_4^+ , Cl^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-}**
- As a iné kontaminanty (Zn, Pb, Cu, Cr) sú vyplavované z odkaliska situovaného v závere doliny potoka Kyjov
- **významné znečistenie riečnych sedimentov tokov Kyjov a Ondava arzénom (max. 3256 mg/kg)** + ďalšie kovy Zn, Sb
- **vysoké hodnoty TOC** (total organic carbon) indikujú organické znečistenie lokality (PCB, AOX – absorbovatel'né organické halogény) – **? pôvod**

Analýza vzoriek z odberových miest



sedimenty: Cd, Cr, Cu, Pb, Zn, Se, Hg !!

sedimenty: Mg, Co, Ni, As, Sb

voda: TOC(celkový org. uhlík), Na, Ca, Mg, Cu, Zn, Pb, Cl⁻, NO₃⁻, PO₄³⁻, SO₄²⁻ a NH₄⁺

Hlavný kontaminant – As

Povrchové vody

Ondava: 2,2 – 4,3 µg/l

Kyjov: 393,5 – 466,6 µg/l

Odkalisko: 612,8 – 826,1 µg/l

Riečne a dnové sedimenty

Ondava: 10,8 – 68,0 mg/kg

Kyjov: 159,7 – 237,3 mg/kg

Odkalisko: 611,4 – 1497,0 mg/kg

rozhodnutie MP SR 531/1994-540 a zákon č. 220/2004
– 29 mg/kg suchej hmoty vo výluhu 2 M HNO₃

Obsahy As vo vzorkách bioty

- dominantný výskyt dvoch rastlinných druhov - *Typha latifolia* (pálka širokolistá) a *Phragmites australis*



- stanovené vysoké obsahy As, Zn, Cr a Pb v nadzemných a koreňových orgánoch pálky širokolistej

Vzorka	Pálka (listy)	Pálka (koreň)	Rožkatec	Rožkatec
	pod odkaliskom			odkalisko
As [mg/kg]	635	976	1,14	254

Obsah As v listoch druhu *Typha latifolia* sa pohyboval v intervale 0,88-635 mg.kg⁻¹, ktorý je takmer 1000-krát vyšší v porovnaní s referenčnými vzorkami odobratých z prostredia bez kontaminácie arzénom a v koreni od 34,03 - 976 mg.kg⁻¹, čo je 10- až 300-krát viac ako v rovnakých referenčných vzorkách.



As a Zn vo vzorkách bioty



- o dominantné druhy **pálka širokolistá** (*Typha latifolia*) a **trst' obyčajná** (*Phragmites australis*)
- o analýzy vzoriek listovej a koreňovej časti (očistenej) bioty ukazujú vysoké koncentrácie najmä As a Zn

Vzorka	Pálka (listy)	Pálka (koreň)	Trst' (listy)	Trst' (koreň)
	pod odkaliskom			
As [mg.kg ⁻¹]	10,06	-	3,8	546,36
Zn [mg.kg ⁻¹]	24,4	-	25,8	35,5
odkalisko				
As [mg.kg ⁻¹]	3,61	198,14	5,54	35,08
Zn [mg.kg ⁻¹]	24,3	32,2	16,7	35,5

Ekotoxikologické testy

Testy využívajúce riasy majú v ekotoxikologickom testovaní nezastupiteľné miesto

Špecifičnosť – počas doby expozície (3-4 dni) je toxickému vplyvu vystavených 4-5 generácií ⇒ testy sú často označované ako testy subchronickej a nie akútnej toxicity





Pre **testy na riasach** sú normami predpísané **štandardné** kultivačné médiá, v ktorých je podstatná koncentrácia dusíka, fosforu, mikroelementov, koncentrácia chelatačných látok (EDTA) a forma podaného dusíka (STN EN 8692, 1997)

Najväčšia variabilita je pri riasových testoch v ich dizajne a spôsobe vyhodnocovania.

Kým klasický riasový test sa robí v Erlenmeyerových bankách, známe sú aj normované verzie s použitím skúmaviek, kyvet, kadičiek, scintilačných epruet, sérologických doštičiek, a pod. V testoch sa dá použiť ako pevné agarové médium tak aj tekuté médium pre kultiváciu suspenzií



Najčastejšie vyhodnocovaným parametrom pri riasových testoch je **EC₅₀ hodnota**, ktorá sa môže vypočítať dvomi spôsobmi:

- (1) podľa integrálu biomasy A – stanovenie inhibície (stimulácie) rastu je založené na porovnaní plôch pod rastovými krivkami riasovej kultúry v testovaných koncentráciách a v kontrole;
- (2) pomocou rastových rýchlostí μ

Hodnoty EC₅₀ sa počítajú pomocou **probitovej analýzy**



Použitie riasových testov



mali by sa používať predovšetkým na testovanie látok, ktoré sa dostávajú do vody, monitoring povrchových, podzemných a odpadových vôd a vodných ekosystémov

nemali by sa používať na testovanie vzoriek pôdy, pre ktoré je vyvinutých viacero testov toxicity s terestrickými producentmi

Sladkovodné riasy odporúčané pre testy

Raphidocelis subcapitata (Selenastrum capricornutum), Desmodesmus subcapitatus, D. quadricauda, Chlorella vulgaris, C. kessleri, Chlamydomonas reinhardtii.

Odber, príprava a charakterizácia vzoriek



Vzorky povrchových vôd sa odoberali do PVC fľaš a stabilizovali sa 5 ml konc. HNO_3 . Vzorky riečnych a dnových sedimentov odkaliska sa odoberali pomocou vzorkovača do igelitových vriec

Zo sedimentov sa pripravovali po vysušení výluhy, ktorých pH bolo v rozmedzí 6,88-7,68



Testy na riasach



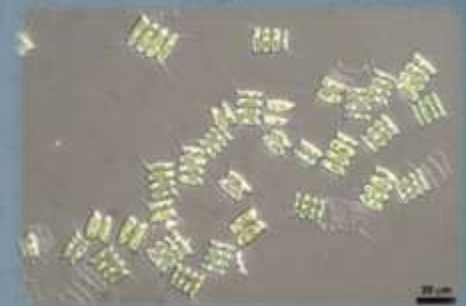
Chlorella vulgaris BEIJ.

$2,6 \cdot 10^6$ buniek/ml



Desmodesmus quadricauda
(TURP.) BRÉB. kmeň Greifswald 15

$2,1 \cdot 10^5$ coenóbií/ml



Doba testov: 14 dni

Teplota: 22 ± 2 °C

Osvetlenie: permanentné $70 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$

Sledované parametre

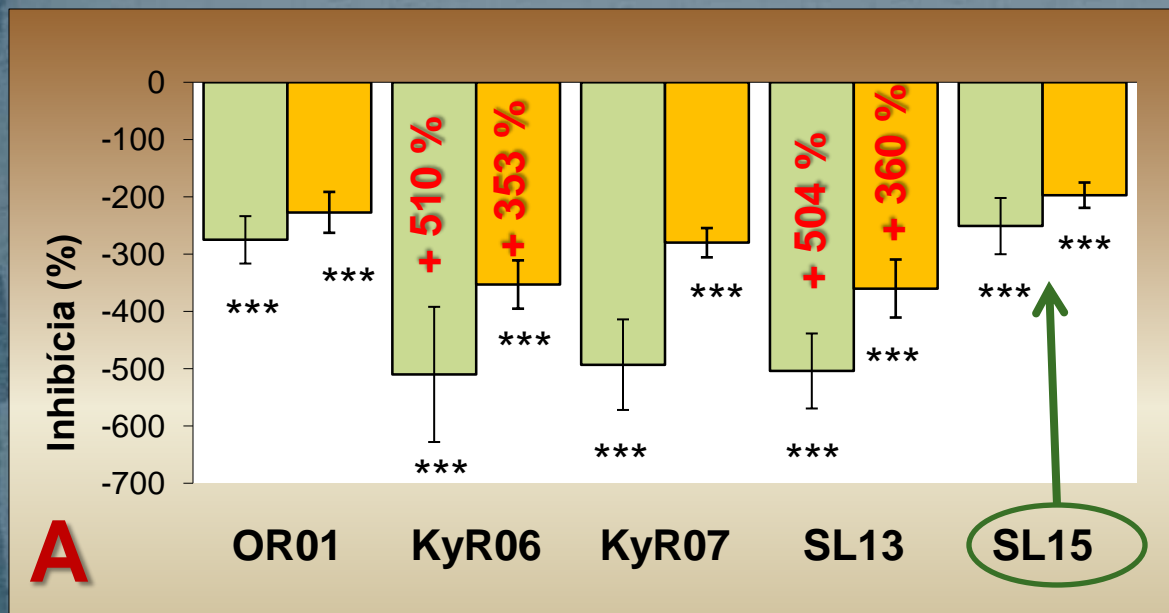
Inhibícia rastu sa porovnávala s rastom kontroly a stanovovala sa každé dva dni spektrofotometricky pri $\lambda = 750 \text{ nm}$

Obsah chlorofylu a (Chla) **a b** (Chlb) sa stanovoval po extrakcii do 95 % etanolu spektrofotometricky

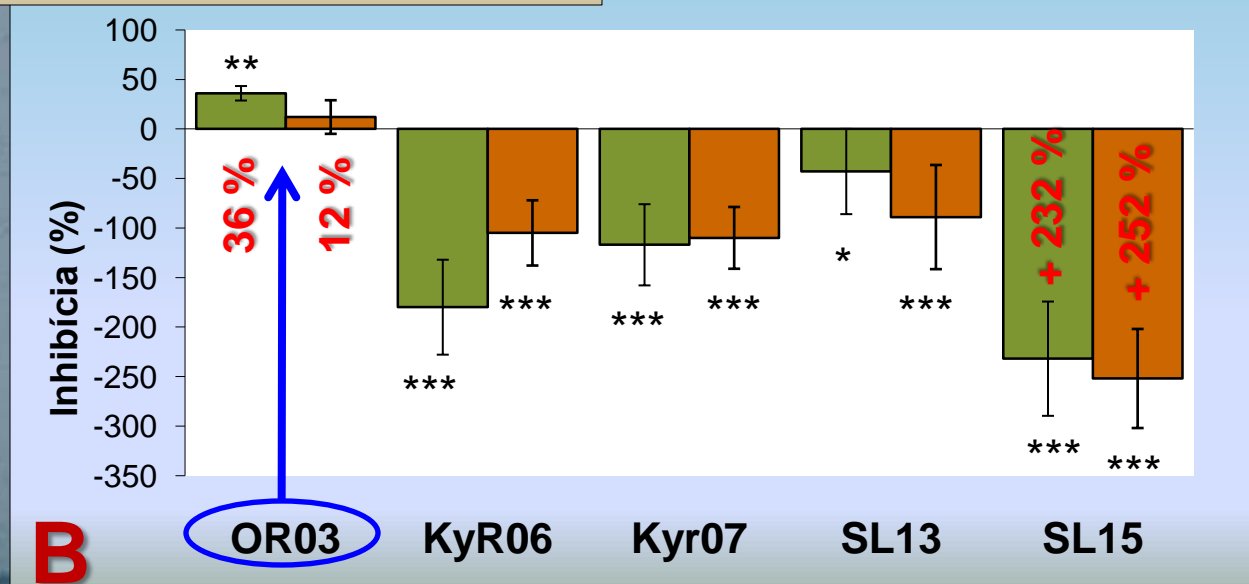
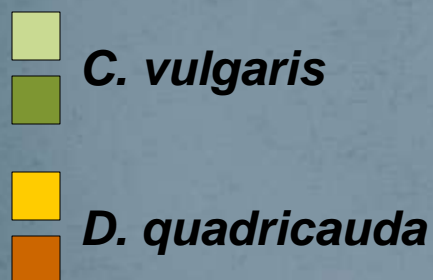
Získané výsledky sa hodnotili nepárovým obojstranným Studentovým *t*-testom

Všetky testy so vzorkami odobratých vôd a výluhov zo sedimentov sa robili v šiestich opakovaníach, kontrolné vzorky sa robili vo vysterilizovanej vodovodnej vode v troch opakovaníach

Inhibícia rastu



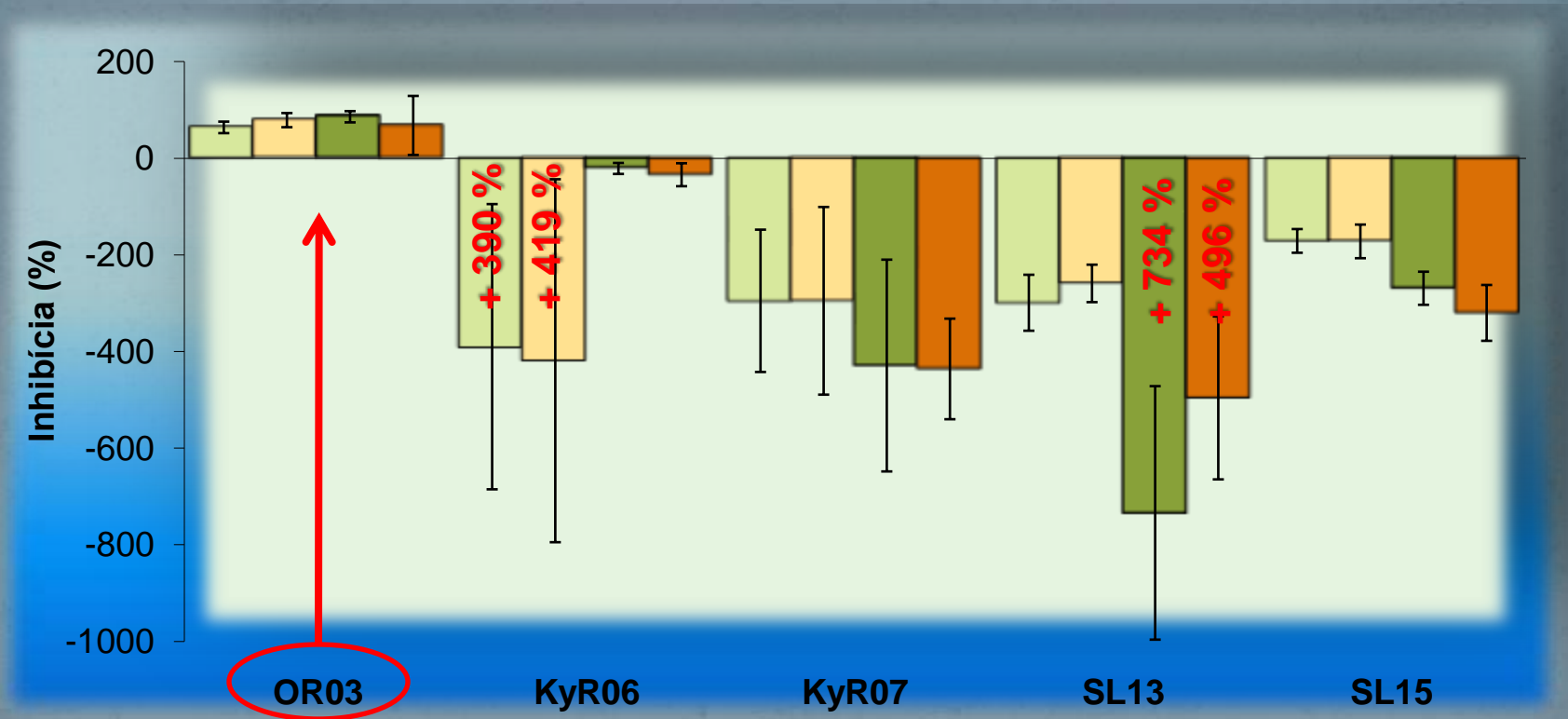
A – vzorky sedimentov
B – vzorky vôd



(v grafe sú uvedené SD)

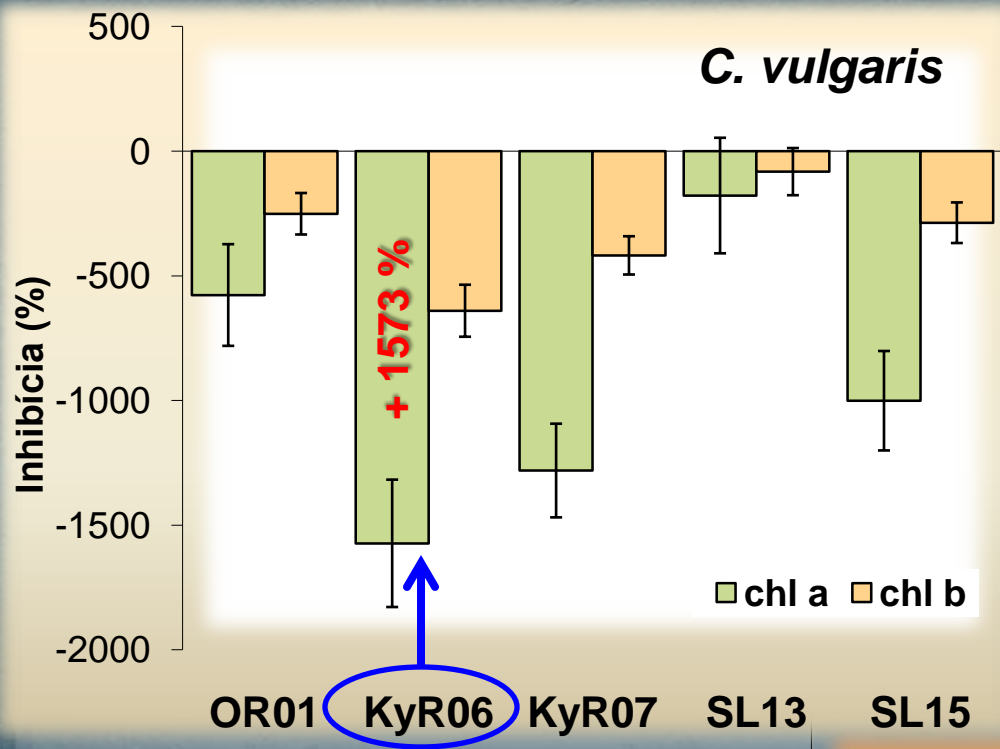
Produkcia chlorofylov

Vzorky vôd



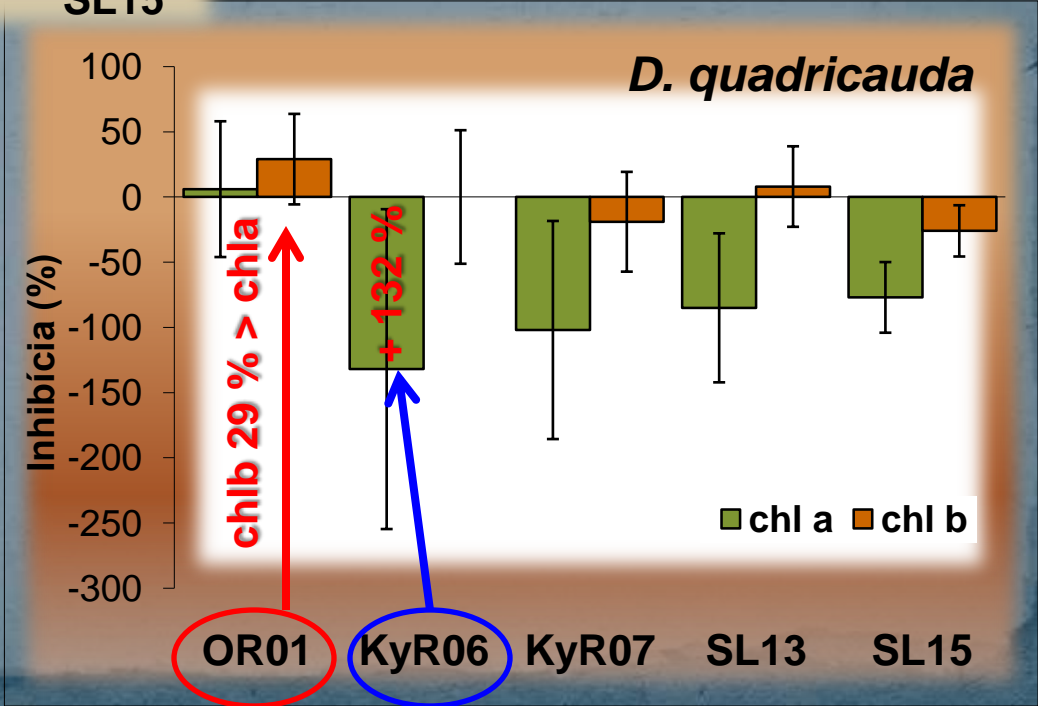
C. vulgaris Chl a Chl b

D. quadricauda Chl a Chl b



Vzorky sedimentov

Stimulácia: chl a > chl b



OR01

KyR06

KyR07

SL13

SL15

ZÁVERY

Výsledky ekotoxikologických testov poukazujú na **schopnosť adaptácie rias na extrémne podmienky a zaťaženie arzénom**

Väčšina testovaných vzoriek stimulovala rast rias aj tvorbu chlorofylov, čo sa dá vysvetliť prítomnosťou mnohých biogénnych prvkov v testovaných vzorkách ako aj značnou odolnosťou rias na zvýšené koncentrácie kovov vo vodnom prostredí



Aj keď sa v súčasnosti na sledovaných lokalitách neprejavili na biote účinky poukazujúce na vážnejšie poškodenie vitality jednotlivých zložiek ekosystémov, čas a zmeny vonkajších faktorov môžu mať v blízkej alebo vzdialenejšej budúcnosti za následok vážne poškodenie a čiastočnú nefunkčnosť ekosystémov v danej oblasti



Zaťaženie sledovanej oblasti ťažkými kovmi predstavuje „časovanú bombu“, ktorej spúšťacie mechanizmy sa dajú len ťažko odhadnúť ⇒ potreba dlhodobého monitorovania zmien v abiotickom aj biotickom prostredí



Monitoring danej oblasti



Jano Hudák

„Vode bola daná čarovná moc, byť miazgou života na Zemi.“
Leonardo da Vinci

