

# Výzkum akumulace persistentních bioakumulativních toxických organických látek do vodních organismů

<sup>1</sup>**Branislav Vrana**, <sup>1</sup>**Foppe Smedes**, <sup>1</sup>**Tatsiana Rusina**, <sup>2</sup>**Radovan Kopp** a <sup>1</sup>**Pernilla Carlsson**

<sup>1</sup>Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí, Kamenice 753/5, pavilon A29625 00 Brno, <sup>2</sup>Mendelova univerzita, Agronomická fakulta, Ústav zoologie, rybářství, hydrobiologie a včelařství, Zemědělská 1, 61300 Brno, e-mail: vrana@recetox.muni.cz

## Souhrn

Pochopení kvantitativních vztahů mezi koncentracemi perzistentních bioakumulativních toxických (PBT) látek ve vodě a ve vodních organismech je předpokladem pro činnosti zaměřené na ochranu přírody a lidského zdraví. Cílem prezentovaného projektu bylo dokázat, že teorii rovnovážné distribuce lze použít k predikci průměrných koncentrací PBT látek v rybách z rozpuštěných koncentrací v povrchové vodě. Výsledky jsou vysoce relevantní pro pochopení osudu PBT v povrchových vodách, ale také pro zlepšení metodiky monitorování chemických látek.

**Klíčová slova:** bioakumulace, biomagnifikace, biomonitoring, normy environmentální kvality, persistentní organické látky, prioritní látky, pasivní vzorkování, ryby, Vodní rámcová směrnice

## Úvod

Znečištění povrchových vod persistentními bioakumulativními toxickými látkami (PBT) představuje významné riziko pro normální fungování vodních ekosystémů, zejména pro vodní organismy, které jsou vystaveny účinkům PBT. Cílem projektu bylo zjistit, zda bioakumulace PBT v několika druzích sladkovodních ryb z různých trofických úrovní v sledovaném vodním ekosystému je charakterizována koncentrací PBT v rybách pod, blízko, nebo nad úrovní odpovídající stavu termodynamické rovnováhy s vodou, v které ryby žijí. Druhým cílem bylo prozkoumat, zda koncentrace PBT naměřené v referenční fázi (polymer ze silikonové pryže) v termodynamické rovnováze se vzorkovaným médiem (voda, sediment nebo rybí tkáň) lze prakticky využít jako měřítko termodynamické hladiny PBT, reprezentující chemickou aktivitu látek, v sledovaném médiu.

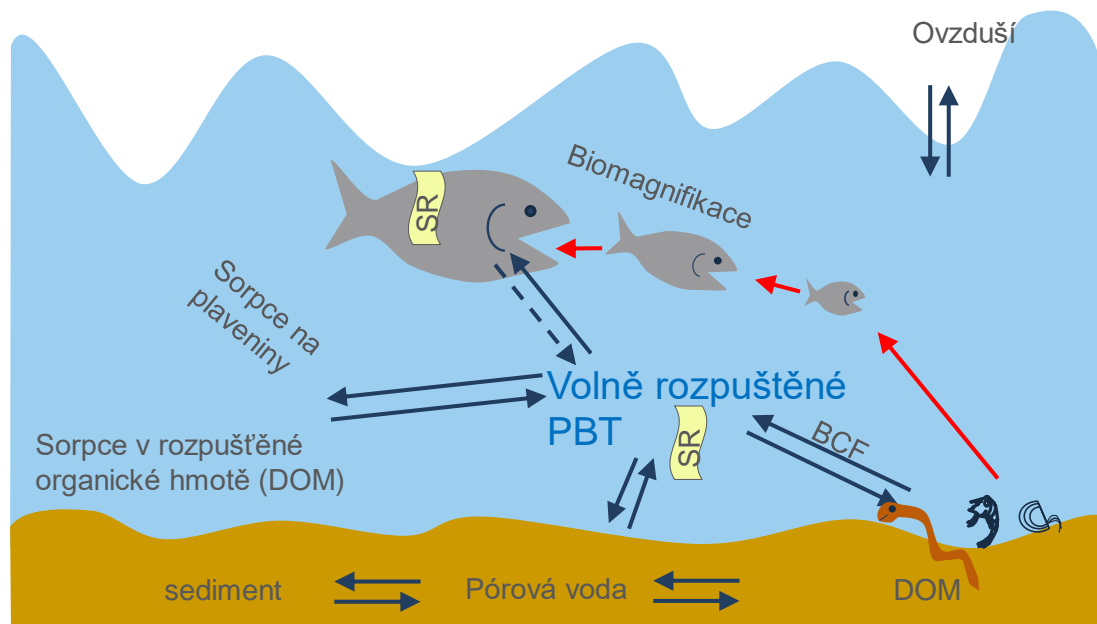
## Metodika

Metodika projektu byla založena na použití rozdělovacích pasivních vzorkovačů z polymeru na bázi silikonové pryže (Smedes and Booi, 2012). Silikon sloužil jako vynikající referenční fáze s definovanými a konstantními vlastnostmi (difúze a distribuce PBT). Koncentrace PBT naměřené v silikonové pryži ekvilibrované s různými složkami vodního prostředí umožňují přímé vzájemné porovnání hladin PBT v nich (Obr. 1).

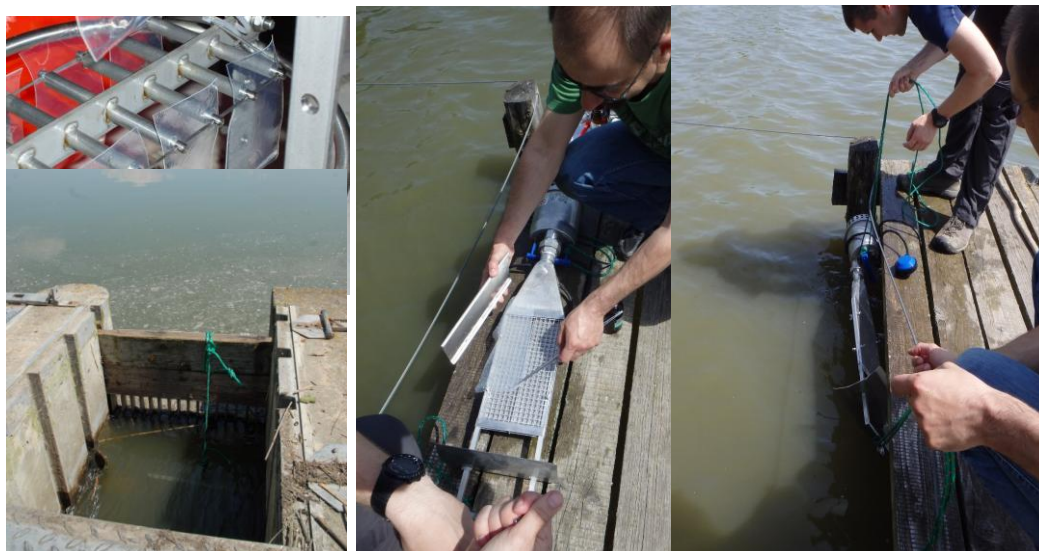
## Výsledky

Testovali jsme metody pasivního odběru, které umožňují přesný odhad hladin PBT v abiotickém prostředí, včetně vody a sedimentů. Ukázali jsme, že ekvilibrace pasivních vzorkovačů se vzorky sedimentu může být výrazně urychlena přidáním polárního organického rozpouštědla k sedimentu (Belháčová-Minaříková et al., 2017). Také jsme zkoumali různé přístupy k ekvilibraci pasivních vzorkovačů ve vodě (Obr. 2) a ukázali jsme, že kombinací různých podmínek expozice, které podporují rychlejší ekvilibraci vzorkovače (například použitím tenkých vzorkovačů exponovaných v rychle proudící vodě po dobu několika měsíců) je možné dosáhnout rovnováhy pro hydrofobní sloučeniny až do hodnoty  $\log K_{ow} = 6$ . Nicméně pro extrémně hydrofobní chemické látky jsme ukázali, že je obtížné dosáhnout rovnováhy PBTs mezi vzorkovačem a vodou v otevřeném systému. Proto pro tyto látky jsme doporučili v

současnosti již používanou kinetickou metodu pasivního vzorkování s využitím tzv. performančních referenčních látek jako vhodnou pro odhad volně rozpuštěné koncentrace ve vodě, t.j. jako kvantitativního měřítka termodynamické hladiny PBT látek ve vodě.



**Obr. 1. PBT látky ve vodním ekosystému se samovolně distribuují do všech složek prostředí podle principu rovnovážní distribuce (Di Toro et al., 1991). I po dosažení termodynamické rovnováhy PBT v sledovaném ekosystému se koncentrace látek v různých složkách prostředí navzájem liší. Je to způsobeno odlišnou akumulací kapacitou různých složek prostředí pro PBT látky (látky se samovolně hromadí např. v sedimentu a tkáni ryb). To komplikuje vzájemné srovnání hladiny znečištění v různých složkách. Pasivní vzorkovače (v obrázku označeny SR) ekvilibrovány s těmito složkami představují referenční fázi (tzv. chemometr), která umožňuje přímé srovnání kontaminace složek prostředí.**



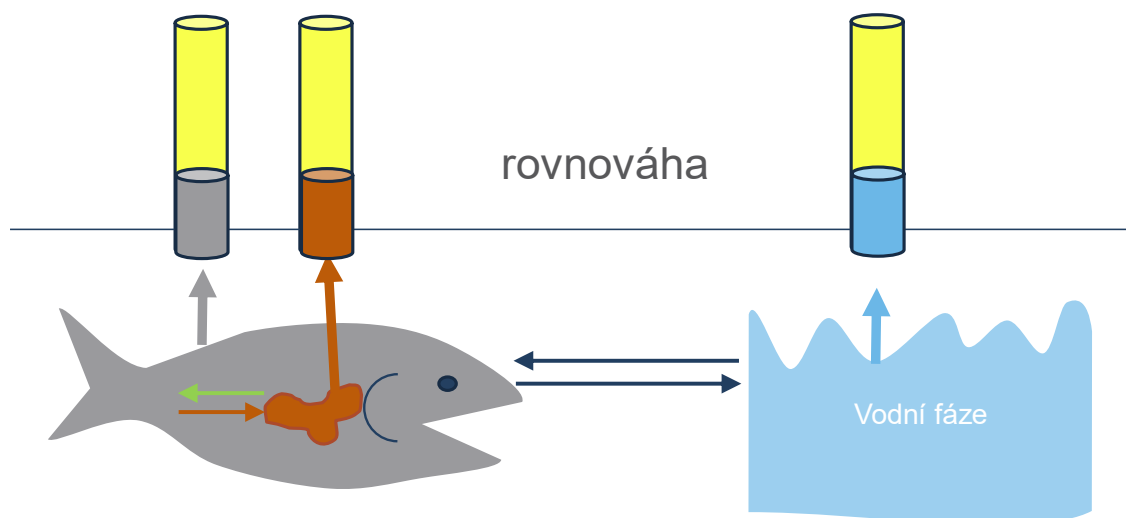
**Obr. 2. Pasivní vzorkování PBT látek z vody pomocí vzorkovačů na bázi tenkých plátů silikonové pryže (vlevo nahoře). V středu a vpravo je zobrazeno zařízení pro tzv. dynamické pasivní vzorkování. Pasivní vzorkovače jsou umístěny v průtokové komoře v silném proudu vody za pomoci čerpadla.**

Dále jsme vyvinuli robustnou metodiku pro měření vnitřní expozice vodních živočichů PBT pomocí rozdělovacího pasivního vzorkování v tkáni ryb (Obr. 3). Ukázali jsme, že výměna PBT mezi vzorkovačem a tkání ryb je izotropní a performanční referenční látky jsou dobrými indikátory dosažení rovnovážného stavu a též indikátorem odčerpání sledovaných látek z tkáně vlivem vzorkování. Naše experimenty ukázali, že vzájemným promícháváním silikonové pryže a rybí tkáně může být dosaženo rovnováhy PBT u vzorků s širokým rozsahem hodnot obsahu lipidů v tkáni, a to za dobu kratší než dva dni (Rusina et al., 2017). Vyvinutá metoda byla následně použita v terénních studiích. Prokázali jsme dále, že intaktní, na kousky nařezaná nebo homogenizovaná tkáň s různým obsahem lipidů významně nemění své rozdělovací vlastnosti a související akumulaci PBT do rozdělovacích pasivních vzorkovačů. Nakonec jsme ukázali, že koncentrace PBT vztažené na obsah lipidů, odvozené z pasivního odběru v rovnovážném stavu, byly v dobré shodě s koncentracemi normalizovanými na obsah lipidů, získanými extrakcí PBT z rybí tkáně rozpouštědlem. Vyvinutá metoda pasivního odběru PBT z rybí tkáně je robustní a byla použita v projektu v následných terénních studiích k studiu bioakumulace PBT do ryb.



**Obr. 3. Vzorkování PBT látek v tkáni ryb pomocí rozdělovacího pasivního vzorkování do tenkých plátů silikonové pryže. V statické metodě (vlevo) jsou platy vloženy do řezu ve filetu a inkubovány cca. 2 dni. V dynamické metodě je vzorkování PBT látek urychleno vzájemným promícháváním silikonové pryže a kousků rybí tkáně.**

Když je dosaženo rovnovážného stavu při pasivním odběru vzorků, koncentrace v pasivním vzorkovači  $C_{P \rightleftharpoons media}$  může být přímo použita pro srovnání termodynamických hladin PBT v různých vzorkovaných maticích (Obr. 4). Protože však tyto koncentrace závisí na druhu zvoleného polymeru, je vhodnější tyto koncentrace konvertovat na ekvivalentní koncentrací PBT v modelovém lipidu na  $C_{L \rightleftharpoons media}$ . Tato veličina je i lépe porovnatelná s normami environmentální kvality (NEK) pro matici biota za účelem hodnocení stavu vod podle Evropské směrnice 2013/39/EU (Evropská unie, 2013). Za účelem této konverze jsme změřili přesné hodnoty rozdělovacích koeficientů PBT mezi polymerem a modelovým lipidem, trioleinem ( $K_{PL}$ ) (Smedes et al., 2017). Protože pasivní vzorkovače často nedosáhnou rovnováhy s vzorkovanou vodou (zejména pro velmi hydrofobní látky), navrhli jsme, aby volně rozpuštěné koncentrace látek ve vodě  $C_w$ , odvozeny z kinetického pasivního vzorkování, byly použity k výpočtu  $C_{P, \infty} = C_w K_{pw}$ , kde  $K_{pw}$  je rozdělovací koeficient PBT v systému polymer-voda. V rámci projektu jsme přehodnotili velkou sadu  $K_{pw}$  hodnot a podrobili jí analýze nejistoty.



**Obr. 4. Rozdělovací pasivní vzorkování PBT látek v tkáni ryb a vodě pomocí tenkých plátů silikonové pryže, znázorněnými sloupci v horní části obrázku. Koncentrace PBT v silikonu je znázorněna hladinou uvnitř sloupců. V případě, že hladina PBT látek v rybí tkáni je v rovnováze s prostředím, kde ryba žije, koncentrace v pasivních vzorkovačích ekvilibrováných s rybí tkání a vodní fází jsou stejné.**

Provedli jsme několik terénních studií ve vodních ekosystémech s různými úrovněmi znečištění PBT látkami (polychlorované bifenyly, polybromované difenyletery, organochlorované pesticidy). Pomocí rozdělovacího pasivního odběru byla hodnocena kontaminace vody a ryb z několik trofických úrovní. Všechny studie potvrdily, že  $C_{L=biota} \leq C_{L=voda}$  ve všech zkoumaných potravních sítích. Studie ukázaly, že výsledky z pasivních odběrů vzorků ve vodě, vyjádřené jako ekvivalentní koncentrace vztažené na obsah lipidů  $C_{L=voda}$  představují konzervativní (nejvyšší) odhad expozice ryb PBT látkám.

## Závěr

Na základě výsledků projektu navrhuje, aby se  $C_{L=voda}$  mohla aplikovat pro přesné určení termodynamického potenciálu pro bioakumulaci v časovém a prostorovém monitorování životního prostředí a také v hodnocení rizik. Příkladem praktického uplatnění bude posouzení chemického stavu evropských vodních útvarů podle Vodní rámcové směrnice 2000/60/ES. Výsledky projektu naznačují, že pokud se naše navrhovaná metodika monitorování stane všeobecně uznávanou, pasivní vzorkování vody může následně nahradit chemické monitorování v biotě, které se aplikuje při hodnocení kvality vody. To umožní ušetřit náklady na monitorování a zabránit zbytečnému zabíjení ryb pro účely biomonitoringu.

## Literatura

- Belháčová-Minaříková, M., Rusina, T., Smedes, F., Vrana, B., 2017. Investigation of cosolvent application to enhance POPs' mass transfer in partitioning passive sampling in sediment. Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 27334–27344. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0223-8>
- Di Toro, D.M., Zarba, C.S., Hansen, D.J., Berry, W.J., Swartz, R.C., Cowan, C.E., Pavlou, S.P., Allen, H.E., Thomas, N. a., Paquin, P.R., 1991. Technical basis for establishing sediment quality criteria for nonionic organic chemicals using equilibrium partitioning. Environ. Toxicol. Chem. 10, 1541–1583. <https://doi.org/10.1002/etc.5620101203>
- Evropská unie, 2013. SMĚRNICE EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY 2013/39/EU ze dne 12. srpna 2013, kterou se mění směrnice 2000/60/ES a 2008/105/ES, pokud jde o prioritní látky v oblasti vodní politiky. Úřední věstník Evr. unie L226, 1–17.

Rusina, T.P., Carlsson, P., Vrana, B., Smedes, F., 2017. Equilibrium Passive Sampling of POP in Lipid-Rich and Lean Fish Tissue: Quality Control Using Performance Reference Compounds. *Environ. Sci. Technol.* *acs.est.7b03113*. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03113>

Smedes, F., Booij, K., 2012. Guidelines for passive sampling of hydrophobic contaminants in water using silicone rubber samplers [WWW Document]. URL <http://www.rs.passivesampling.net/PSguidanceTimes52.pdf>

Smedes, F., Rusina, T.P., Beeltje, H., Mayer, P., 2017. Partitioning of hydrophobic organic contaminants between polymer and lipids for two silicones and low density polyethylene. *Chemosphere* *186*, 948–957. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.044>

## **Poděkování**

Projekt byl finančně podpořen Grantovou agenturou České republiky, grant GACR 15-16512S “Investigation of accumulation of persistent bioaccumulative toxic organic substances into aquatic organisms”.