

# **E2240 Účinky stresorů v ekosystémech**

## **04 Multistresory v terestrickém prostředí**

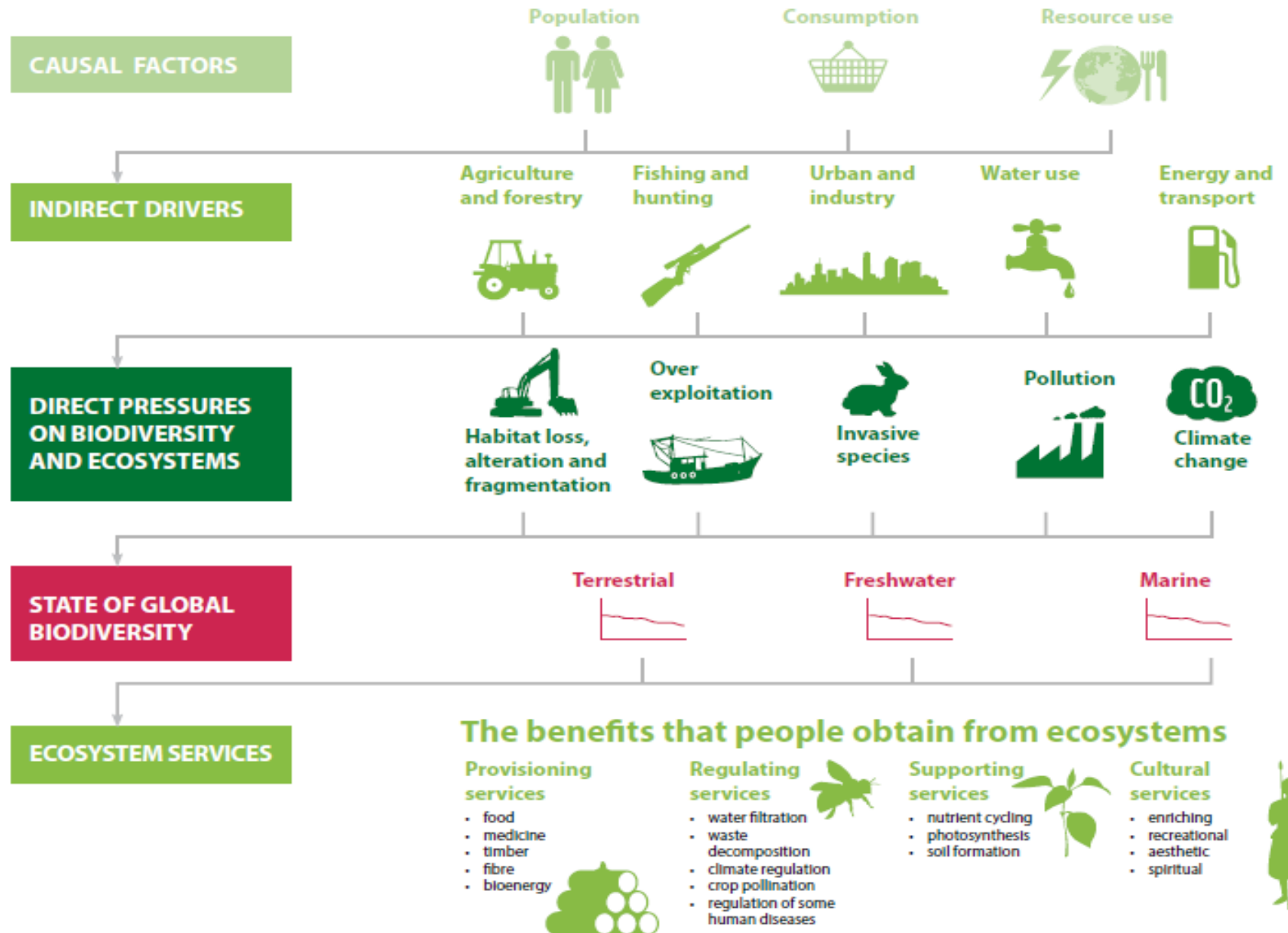
Jakub Hofman

**MUNI | RECETOX**

**Stresory**

# Stresory

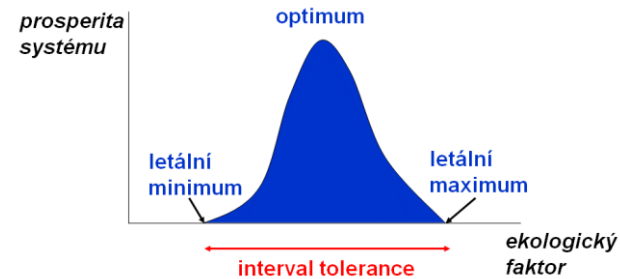
Figure 6.2: Interconnections between people, biodiversity, ecosystem health and provision of ecosystem services showing drivers and pressures



Source: World Wide Fund for Nature (WWF) et al. (2012).

# Stresory

- na biologický systém (organismus, populace, společenstvo, ekosystém ..) působí podněty
- připomínka: zákon tolerance



## PODŇETY, KTERÉ PŮSOBÍ NA ORGANISMUS

**BĚŽNÉHO ROZSAHU**  
v rámci normální udržování  
homeostáze

**MIMOŘÁDNÉHO ROZSAHU**  
přesahují velikostí možnosti  
normálních mechanismů

**stresory**

# Stresory

- AJ stress = tlak, důraz, tíseň, nesnáz
- ve vědě ale není stres daný podnět prostředí, ale spíše stav organismů (biosystému)
- **Míchal (1992): stres je stav, ve kterém se nachází živý systém při mobilizaci obranných nebo nápravných procesů vůči podnětům přesahujícím obvyklé rozpětí homeostázy**
- daný faktor tedy není „stres“ ale spíše „stresor“
- NAVÍC: označit nějaký faktor jako stresor nelze bez znalosti reakce, stavu organismu (biosystému), a ta je u každého jiná ...

# Stresory

**jakákoliv**

**látka, energie, informace, organismus, lidská činnost,**

**které svou velikostí nebo trváním**

**překročí**

**kapacitu homeostatických mechanismů**

**daného biosystému**

**a vedou k mobilizaci vnitřních rezerv a využívání**

**abnormální energie pro udržení systému**

# Stresory

- dle povahy
  - chemické (znečištění, pH, živiny, nedostatek kyslíku ...)
  - fyzické (teplota, hluk, sluneční záření, UV ...)
  - biologické (nepůvodní druhy, epidemie ...)
  - komplexní (souhrn více faktorů vzájemně provázaných, např. klimatická změna)
- dle původu
  - přírodní (určitá míra stresu je nutná pro evoluci; přirozené změny klimatu, počasí, sopečná činnost, přirozené cykly ...)
  - antropogenní (znečištění, změny krajiny, hluk ...)
- dle trvání
  - jednorázové
  - setrvalé

# Stresory

- **antropogenní fyzikální stresory - příklady:**
  - úpravy vodních toků, stavby vodních děl
  - stavby – železniční tratě, silnice, obytné a průmyslové objekty
  - změny užívání půdy – přírodní, zemědělská, průmyslová, obytná
  - eroze
  - hluk v okolí komunikací sídel
  - frakcionace krajiny
  - ...
- **antropogenní fyzikální stresory - příklady:**
  - introdukce nepůvodních druhů včetně GMO
  - i nepřímo: změny podmínek způsobující migrace druhů ..

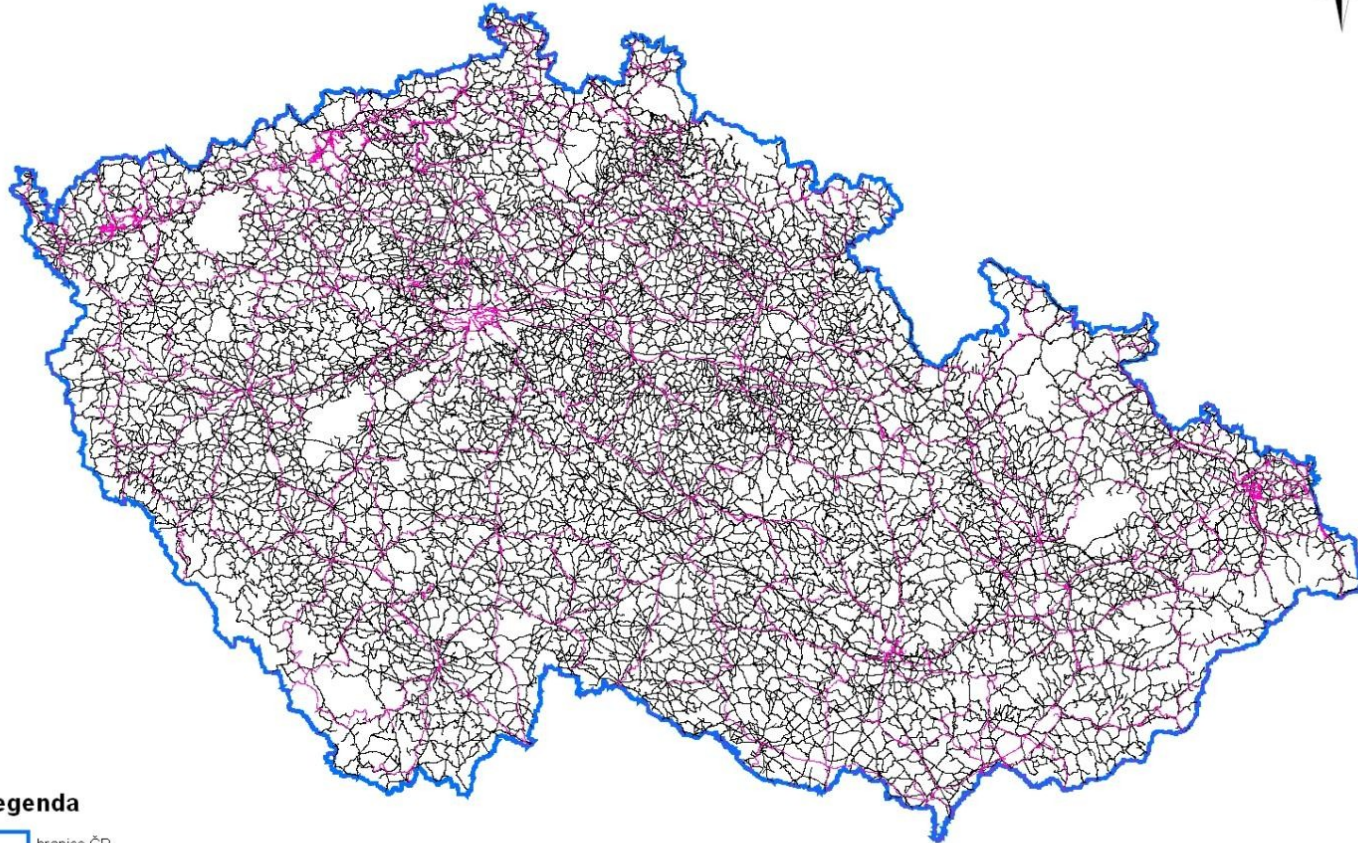


# Stresory

- **antropogenní chemické stresory:**
  - kapitola sama pro sebe – environmentální chemie ...
  - jednak vnášení cizorodých látek, jednak nepřírozené zvýšení koncentrací přírodních látek (eutrofizace)...
  - nespočetné důsledky:
    - globální změny (recyklace vody a hmoty, atmosféra), změny dopadajícího UV záření (ozonová díra - freony); skleníkový efekt (CO<sub>2</sub> a další), změny hydrologických poměrů ...
    - změny v přírodních ekosystémech + sekundární efekty (toxické produkty), eutrofizace (anorganické živiny, N + P)
    - přímá toxicita pro živé organismy a její důsledky
    - ...

# Příklad – fyzikální stresor – fragmentace krajiny

1. Silniční a železniční síť ČR



## Legenda

- hranice ČR
- síť železnic
- síť silnic

0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100  
kilometry



# Příklad – fyzikální stresor – fragmentace krajiny

- vliv na zejména velké savce



# **Stres a biologický systém**

# Stres a biologický systém

- „teorie stresu“ - zakladatel Hans Selye 1966, nositel Nobelovy ceny
  - vychází z jednotlivce (organismu) a je potom přenositelná na vyšší hierarchie (populace, společenstvo, ekosystém)
1. různé podněty vyvolávají stereotypní („nespecifické“) reakce
  2. průběh reakce určuje velikost, trvání a frekvence podnětu
  3. existují podstatné odlišnosti v reakcích jednotlivců stejného druhu
  4. odolnost je geneticky fixována, ale může být individuálně změněna



# Stres a biologický systém

Příklad: savec (člověk) reaguje na stresový podnět ...

## ■ Primární stresová reakce

- přípravou na obranu nebo útok - tzv. záchranná neboli poplachová reakce – základní fyziologické děje:
  - nadledvinky zvýší vylučování adrenalinu
  - dojde ke stažení cév – zvýšení krevního tlaku
  - zvýší se obsah cukru v krvi
  - zastaví se pohyb a vyměšování trávicího traktu
- celkově tedy adaptace na mimořádný svalový výkon

## ■ Sekundární (dočasné) přizpůsobení

- fyziologické změny (fyziologická adaptace ... ADME!) - změny metabolismu, zvýšení hladin detoxikačních enzymů apod.

## ■ Dlouhodobá adaptace = evoluce (evoluční adaptace)

■

BTW →

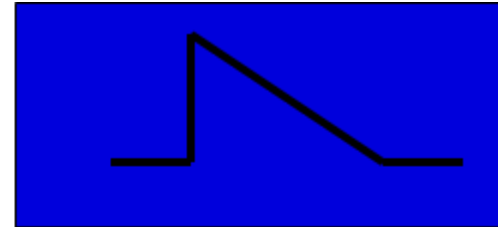
prof. Julie Dobrovolná, RECETOX  
výzkum stresu



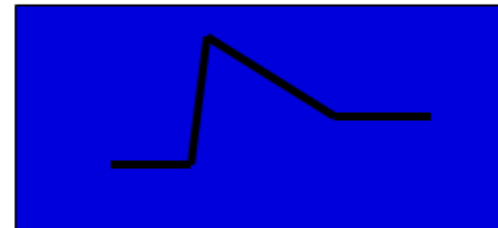
# Stres a biologický systém

- jednorázové působení stresoru - resistance či resilience (adaptace)

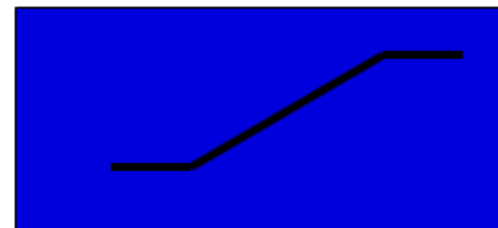
a) dokonalá – dočasná kompenzační změna s návratem k normálu



b) částečná – trvalejší přizpůsobení aktivity abnormálním podnětům



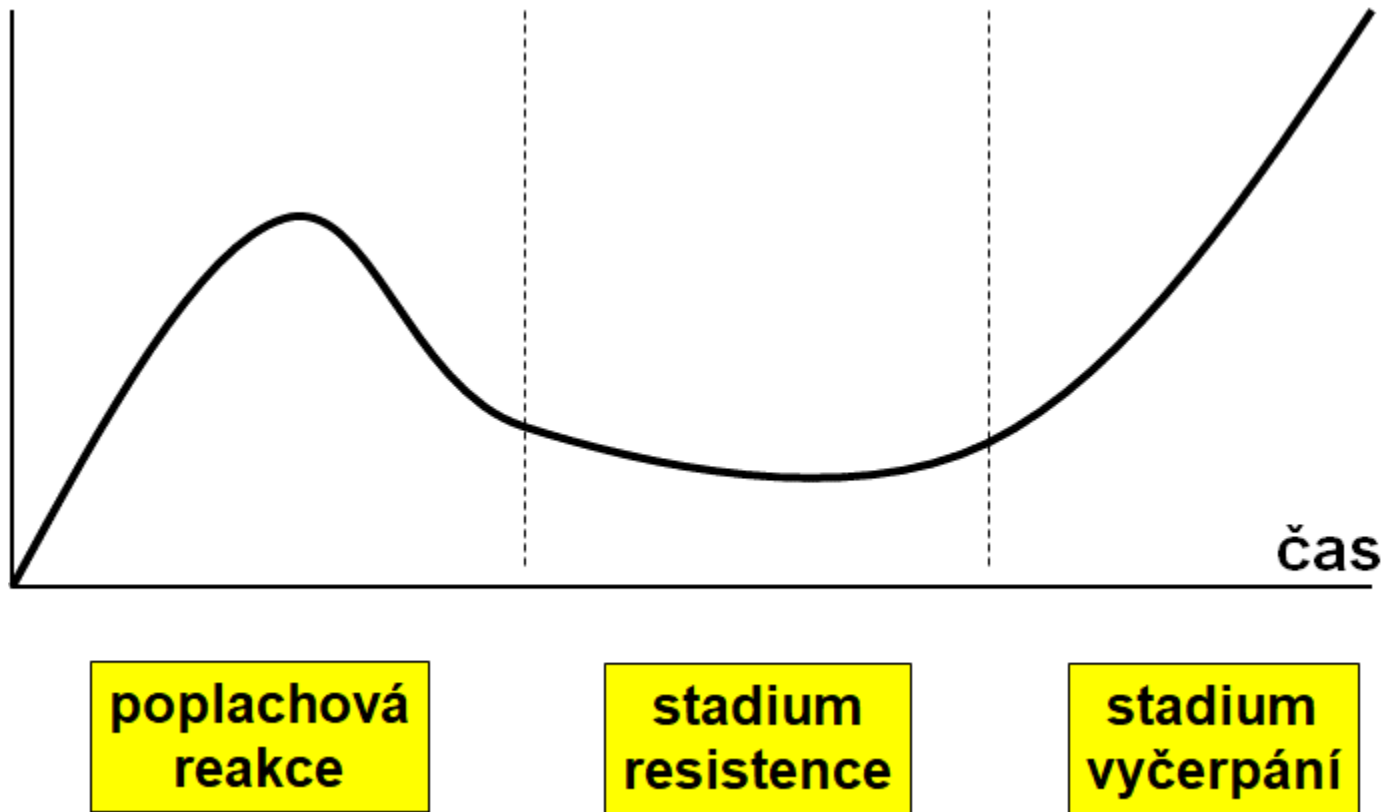
c) žádná – absence kompenzačních změn



- toto platí obecně
- tedy na úrovni
  - jedince
  - i populace
  - i společenstva
  - i celého ekosystému

# Stres a biologický systém

- setrvalé či opakované působení stresoru

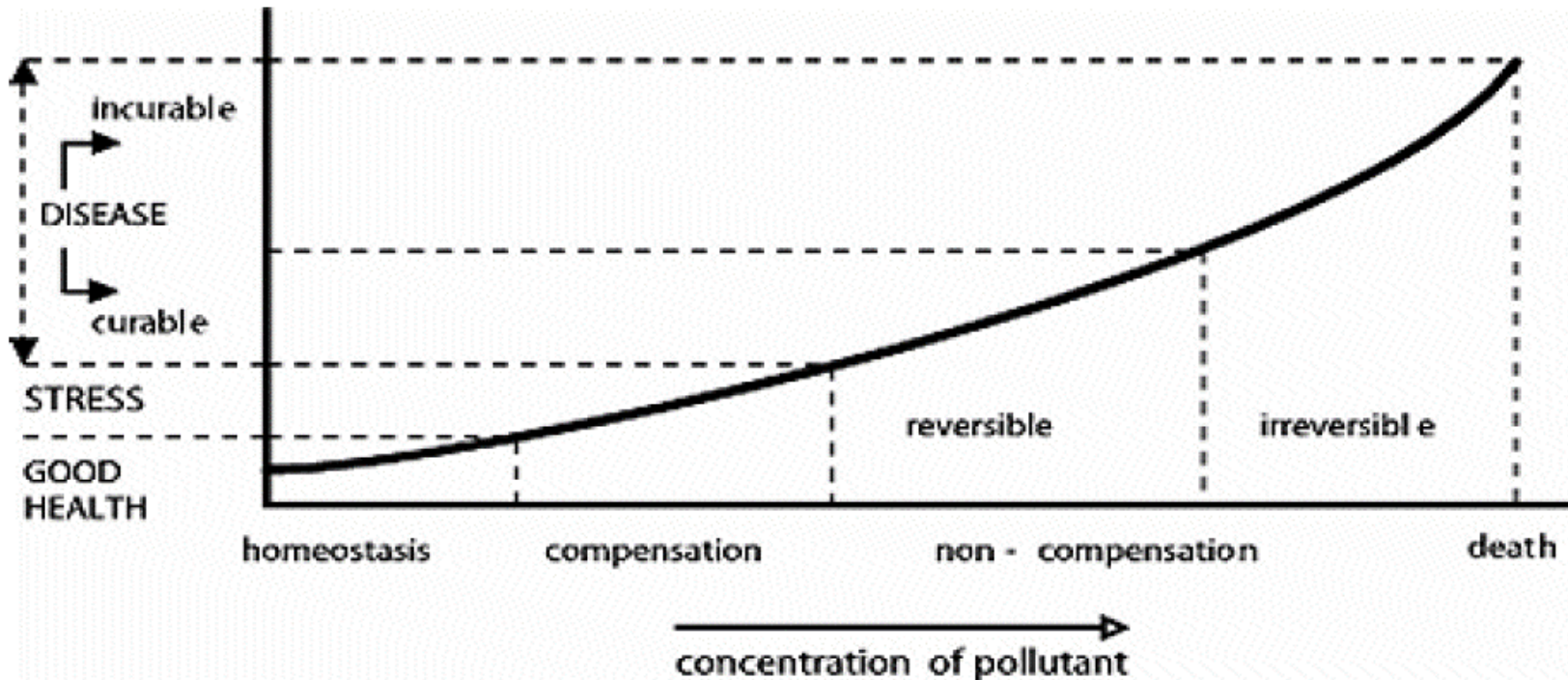


- toto platí obecně
- tedy na úrovni
  - jedince
  - i populace
  - i společenstva
  - i celého ekosystému

Míchal (1992)

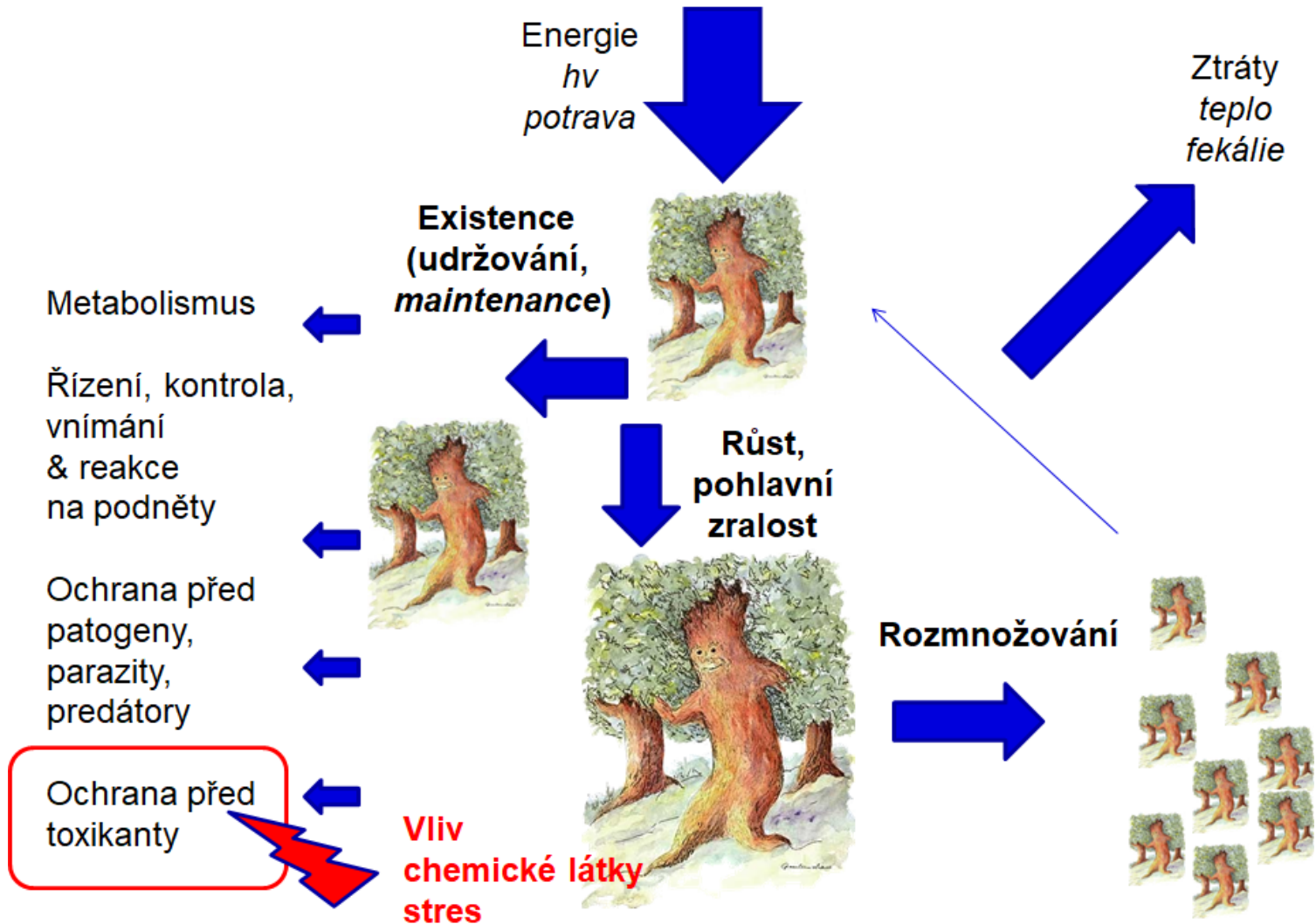


# Stres a biologický systém



- toto platí obecně
- tedy na úrovni
  - jedince
  - i populace
  - i společnosti
  - i celého ekosystému

# Stres a biologický systém

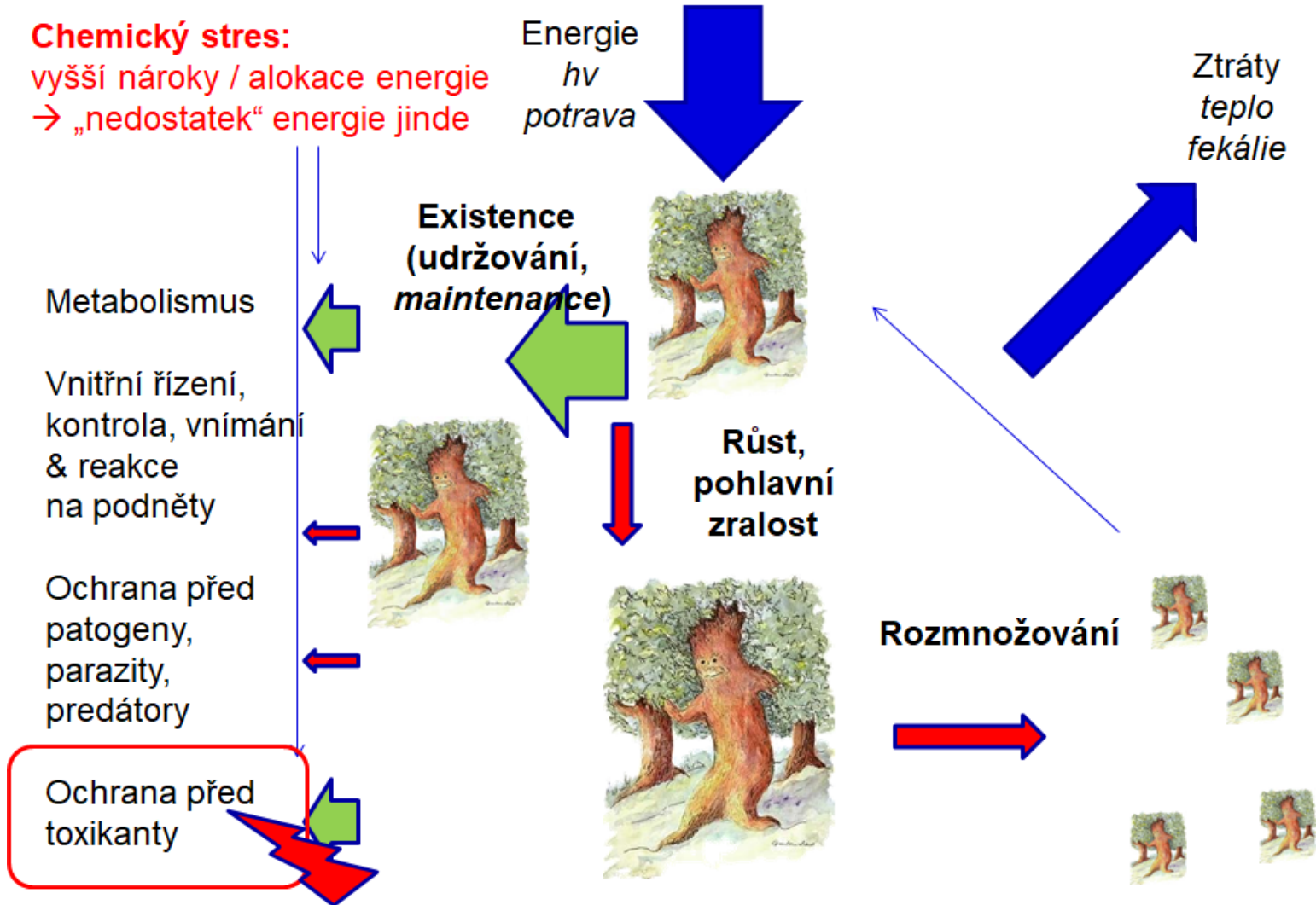


- toto platí obecně
- tedy na úrovni
  - jedince
  - i populace
  - i společenstva
  - i celého ekosystému

# Stres a biologický systém

## Chemický stres:

vyšší nároky / alokace energie  
→ „nedostatek“ energie jinde



- toto platí obecně
- tedy na úrovni
  - jedince
  - i populace
  - i společenstva
  - i celého ekosystému

# Stres a biologický systém

**Chemický stres**  
+ nedostatek  
„energetických vstupů“  
(např. potravy)

Energie  
*hv*  
*potrava*



Existence  
(udržování,  
*maintenance*)



Metabolismus



Vnitřní řízení,  
kontrola, vnímání  
& reakce  
na podněty



Ochrana před  
patogeny,  
parazity,  
predátory



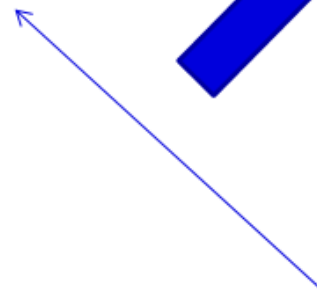
Ochrana před  
toxikanty



Růst,  
pohlavní  
zralost



Ztráty  
*teplo*  
*fekálie*



Rozmnožování



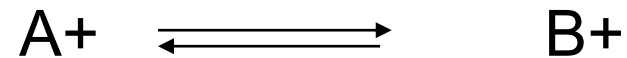
- toto platí obecně
- tedy na úrovni
  - jedince
  - i populace
  - i společenstva
  - i celého ekosystému



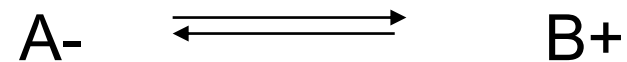
# Udržování rovnováhy ve stresu

- **zpětná vazba:** podnět „akce“ (stresor) vyvolá „reakci“

pozitivní = nárůst „B“ způsobuje nárůst „A“



negativní = nárůst „B“ způsobuje pokles „A“



# Kontaminanty v terestrickém ekosystému

# Znečišťující látky

- polutanty – prvky či látky přirozeného či antropogenního původu, jejichž koncentrace se stala přirozeně, či vlivem člověka zvýšenou natolik, že působí škodlivé účinky – poškození zdraví organismů či fungování společenstev a ekosystémů
- kontaminanty – zvýšená koncentrace nad přirozené hodnoty
- cizorodé látky (xenobiotika) – ty, které nemají přirozený původ
  
- **více o jednotlivých skupinách látek:**
  - **Environmental pollutants (Melymuk)**

# Znečišťující látky – možné dělení

- **záměrné vnášení toxických látek přímo do prostředí** - pesticidy (insekticidy, herbicidy, fungicidy, rodenticidy ...)
- **jiné vstupy čistých látek do prostředí** - léčiva humánní a veterinární (antibiotika – přímá toxicita pro mikroorganismy, další látky – toxické efekty podle typu účinku)
- **průmyslové výrobky, jejich součásti, vedlejší produkty výroby** - kovy, plasty, ropa, stavby, elektronika, barvení, bělení, průmyslové plyny ....
- **odpady** - průmyslové, komunální, speciální (nemocnice) odpadní vody, pevný odpad
- **produkty spalování** - spalování odpadů, doprava, výroba energie a tepla
- **zemědělská hnojiva** - zvyšování kvality půdy -> vedlejší efekty -> eutrofizace vod



# Znečišťující látky – možné dělení

- **dle úmyslnosti šíření látky do prostředí:**
  1. záměrné šíření v prostředí za určitým cílem - „APLIKACE“
    - a) kontaminant je látkou, kterou člověk šíří v prostředí za určitým cílem - příklady: pesticidy, hnojiva
    - b) kontaminant není cílovou, ale vedlejší součástí látky, kterou člověk úmyslně šíří v prostředí na určitým cílem - příklady: Cd, Ra ve fosforečnanových hnojivech
- pro tyto znečišťující látky existuje relativně snadná možnost regulace, ale musí být zhodnocen vztah mezi přínosem a rizikem aplikace

# Znečišťující látky – možné dělení

- **dle úmyslnosti šíření látky do prostředí:**

- 2. neúmyslné šíření do prostředí - „ÚNIK

- možné klasifikace podle různých hledisek:
    - podle skupenství: plynné - plynné emise, kapalně - odpadní vody, pevné - pevné odpady
    - podle hospodářských odvětví (energetika, průmysl /hutní, strojírenský, chemický, stavební atd./, zemědělství a lesnictví, aj.)
    - podle režimu uvolňování do prostředí:
      - havarijní: neplánované, nečekané úniky při selhání bezpečnostních opatření, tendence ke krátkodobé, ale extrémní zátěži
      - provozní: plánované, regulované, kontrolované úniky tendence k dlouhodobé, střední zátěži

# **Osud a biodostupnost v půdě**

## **- úvod, koncepce, definice**

## Důsledky expozice v pevné matici

- Velké odlišnosti od akvatického prostředí (podobnost se sedimenty)
- Pevné matrice jsou dosti **heterogenní**
- Obsahuje vždy všechny tři fáze **PEVNOU**, **KAPALNOU** (pórová voda) a **PLYN** (vzduch)
- Přítomnost pevné fáze zejména má významný vliv na **OSUD a CHOVÁNÍ** chemické látky
- V závislosti na vlastnostech látky, vlastnostech půdy a čase dojde k **DISTRIBUCI** látky v půdě, případně vzniku **SPECIÍ**
- Stěžejním procesem je **SORPCE** a důsledkem je klíčový faktor půdních testů (eko)toxicity – **BIODOSTUPNOST**
- To vše má fatální důsledky pro **výslednou toxicitu a riziko**
- Důsledkem je i **ztížená extrapolace** mezi půdami, z akvatických testů na půdní a z laboratorních testů na reálnou situaci

# Přítomnost kontaminantu ještě neznamená riziko !

## Současný přístup k hodnocení rizika

- Jaká je celková koncentrace v půdě?
- Kolik se vyplachuje do podzemní vody?
- Je celková koncentrace pod limitem X mg/kg?

**BIODOSTUPNOST je však pro finální riziko klíčovým faktorem!!!**

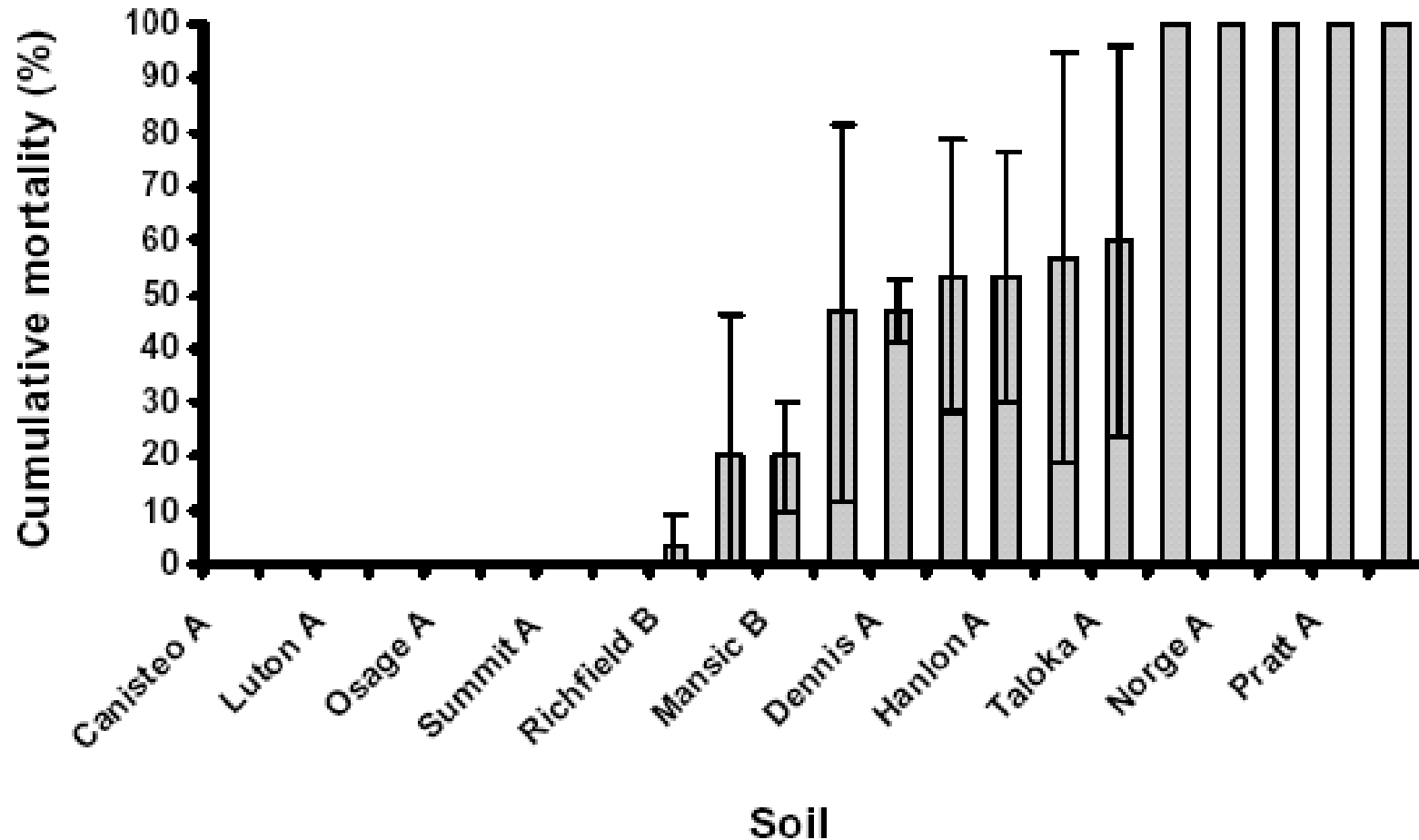
**Protože celkové koncentrace látek jsou zcela nerelevantní viz dva extrémní příklady:**

- Koncentrace PAHs v asfaltu je velmi vysoká, ale nejsou biodostupné
- Koncentrace ftalátů v plastech jsou až %, ale většinou nejsou biodostupné

Vazba kontaminantu na matrici (retence v půdě) většinou **snižuje** riziko (biodostupnost a mobilitu) a **zhoršuje** možnosti jak jej z matrice odstranit (remediaci)

## Celková koncentrace je nerelevantní pro riziko

### *Eisenia andrei* exponována olovu 2 g/kg (totalní koncentrace)

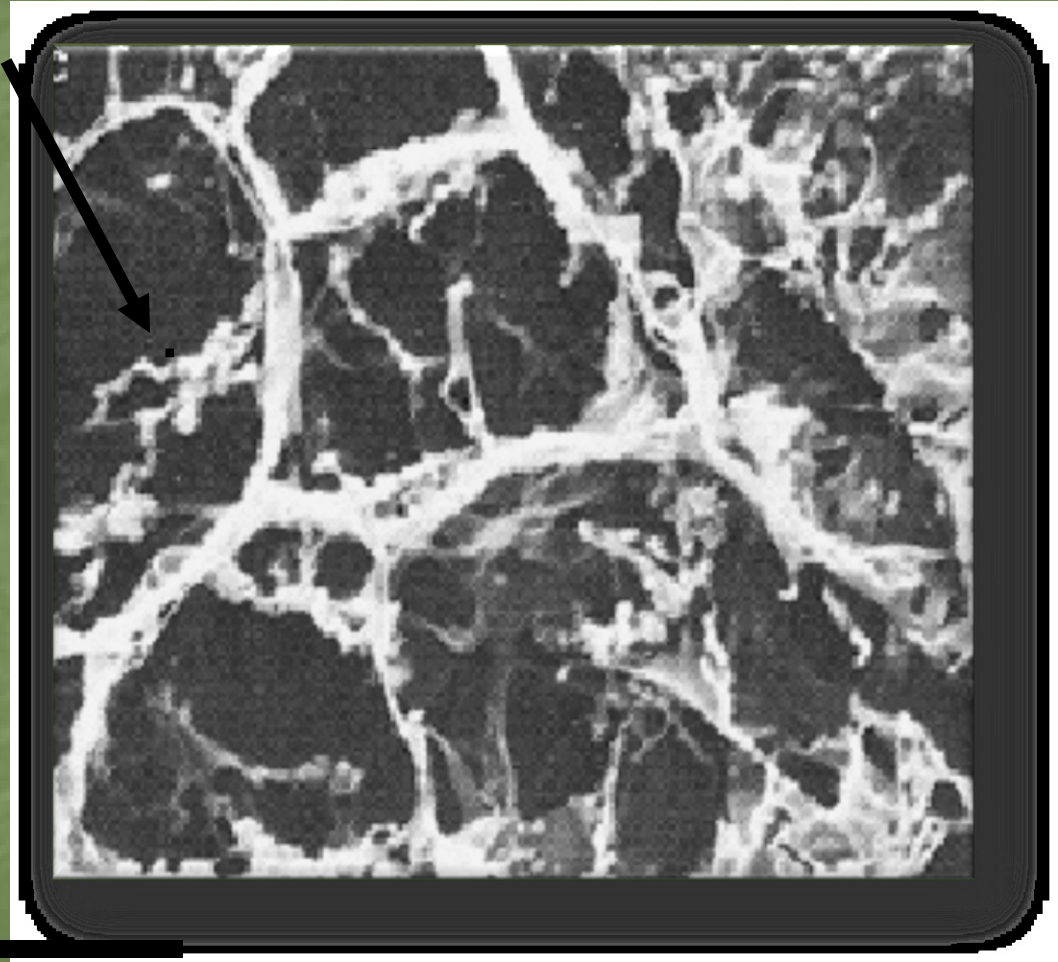
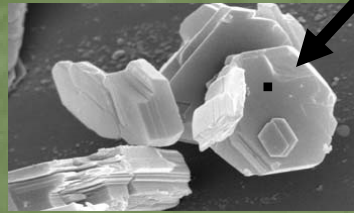


# Proč se zabývat osudem látek a biodostupností ?

- **Správné a nezkreslené hodnocení rizik pro:**
  - Půdní organismy (jedinci, společenstva)
  - Organismy pojídající půdu (např. děti)
  - Rostliny
- **Predikce biodegradací a účinnost bioremediací**
- **Legislativní rámec**
  - zatím se používají pouze totální koncentrace
- **Možnost extrapolace:**
  - mezi různými půdami
  - z akvatické ekotoxikologie na půdní ekosystém
  - z laboratorních výsledků na terénní studie

## Představa situace v půdním prostředí

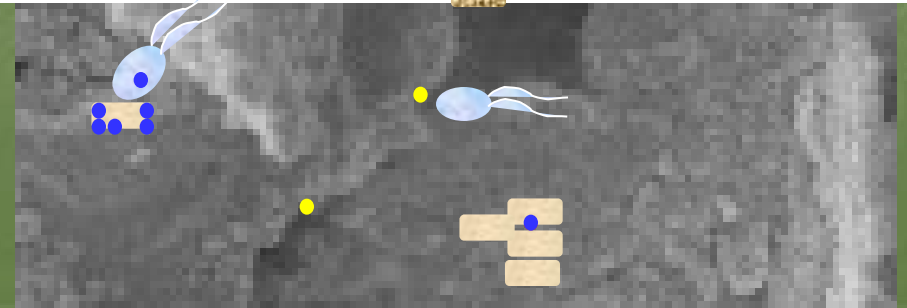
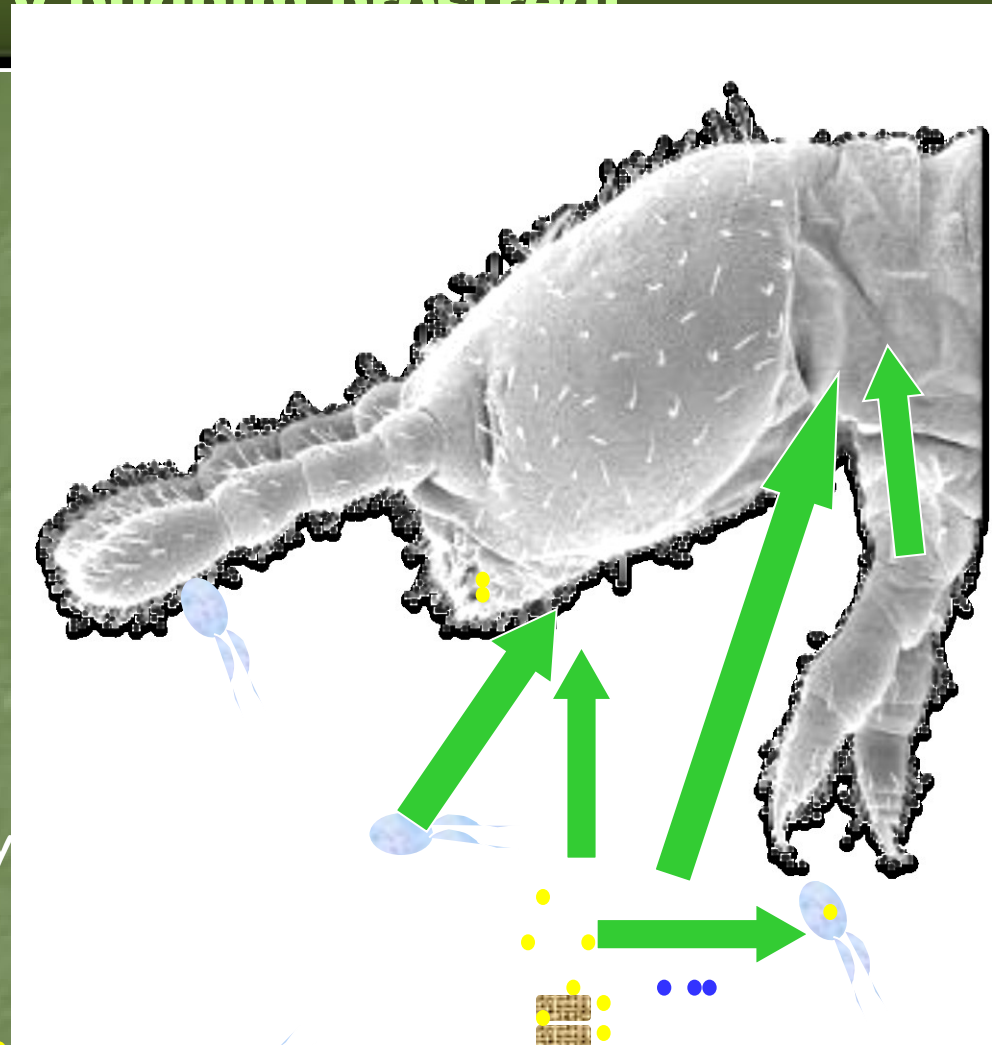
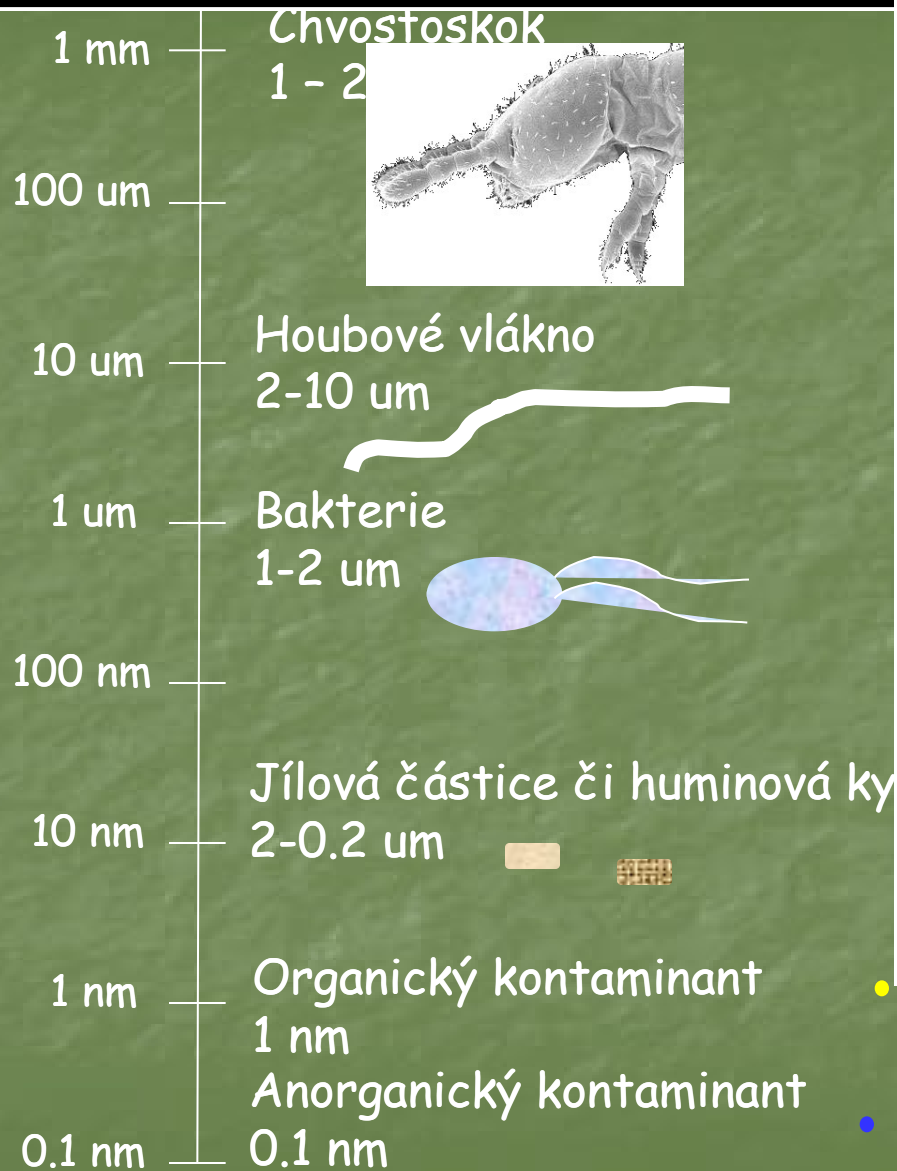
organický kontaminant 100 x zvětšený  
anorganický 100 x zvětšený



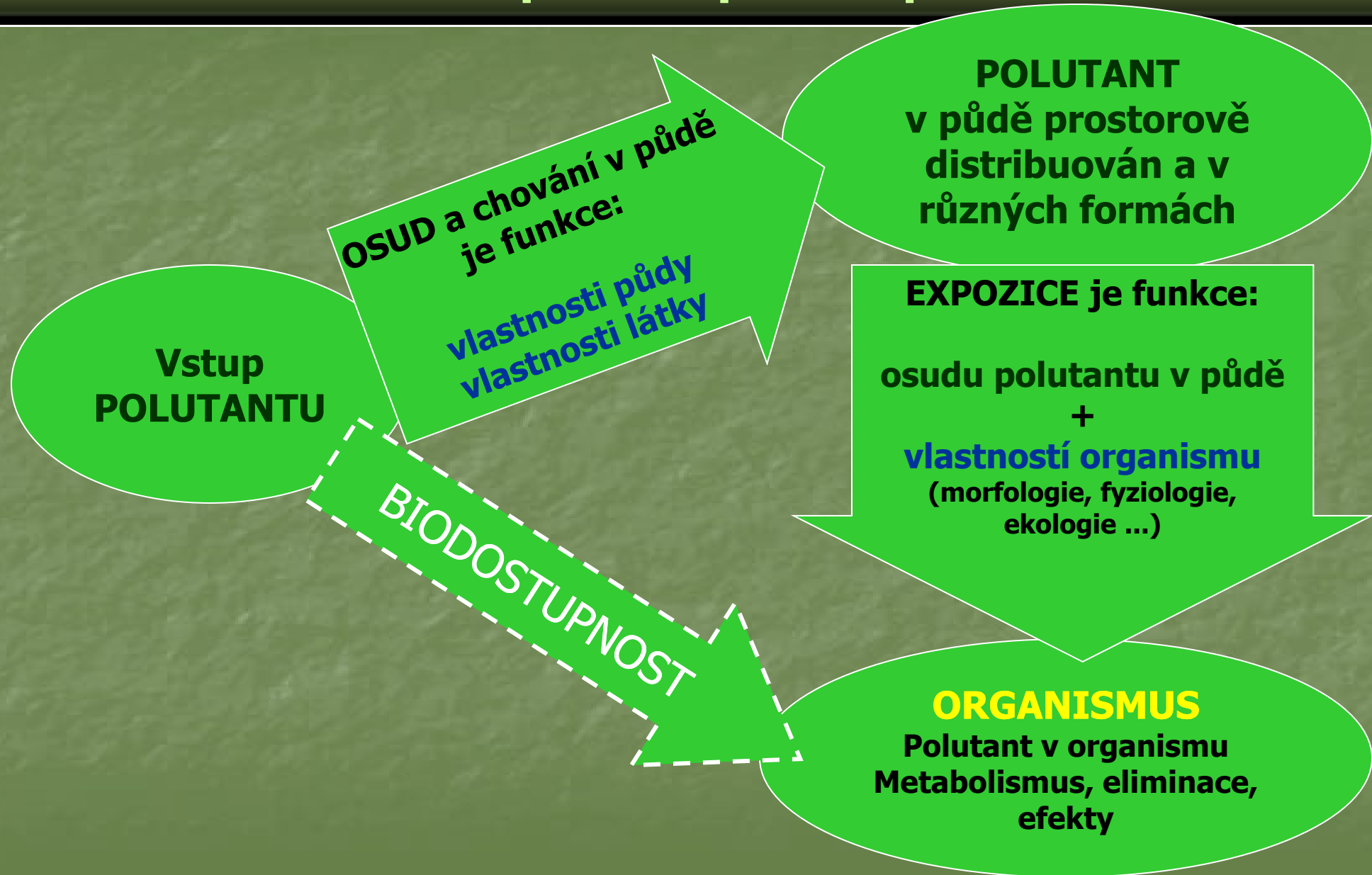
10  $\mu\text{m}$



# Představa situace v půdním prostředí



# Schéma expozice v půdním prostředí

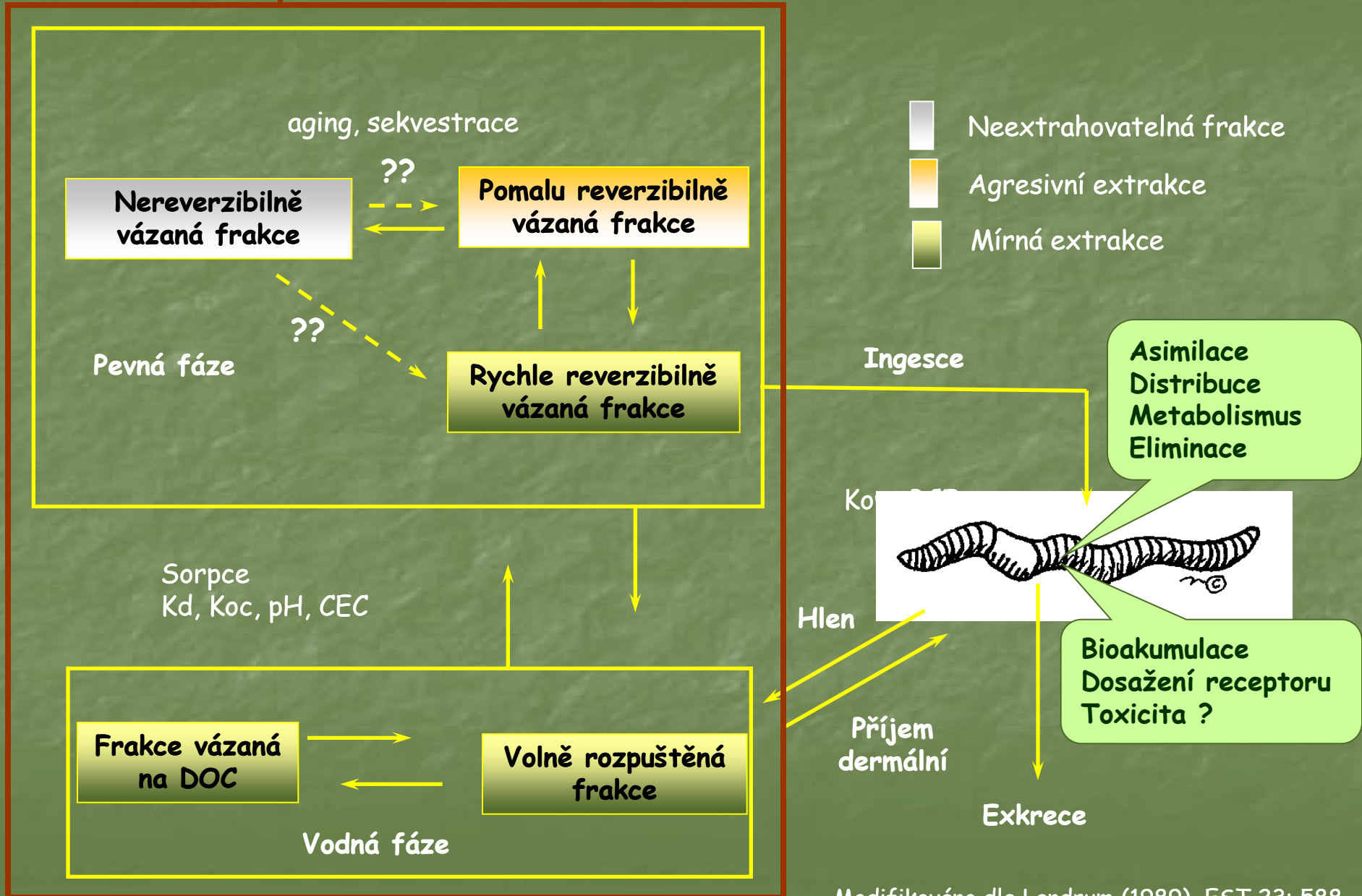


## Koncepce biodostupnosti

- **statická koncepce** - rovnováhy (equilibrium partitioning) – rozdělení celkové masy/koncentrace polutantu na frakce (pools) – důsledek procesů adsorpce, mobility, bioakumulace
- **dynamická koncepce** – zapojení času - aging, sequestration, transformace, degradace, kinetika příjmu a eliminace

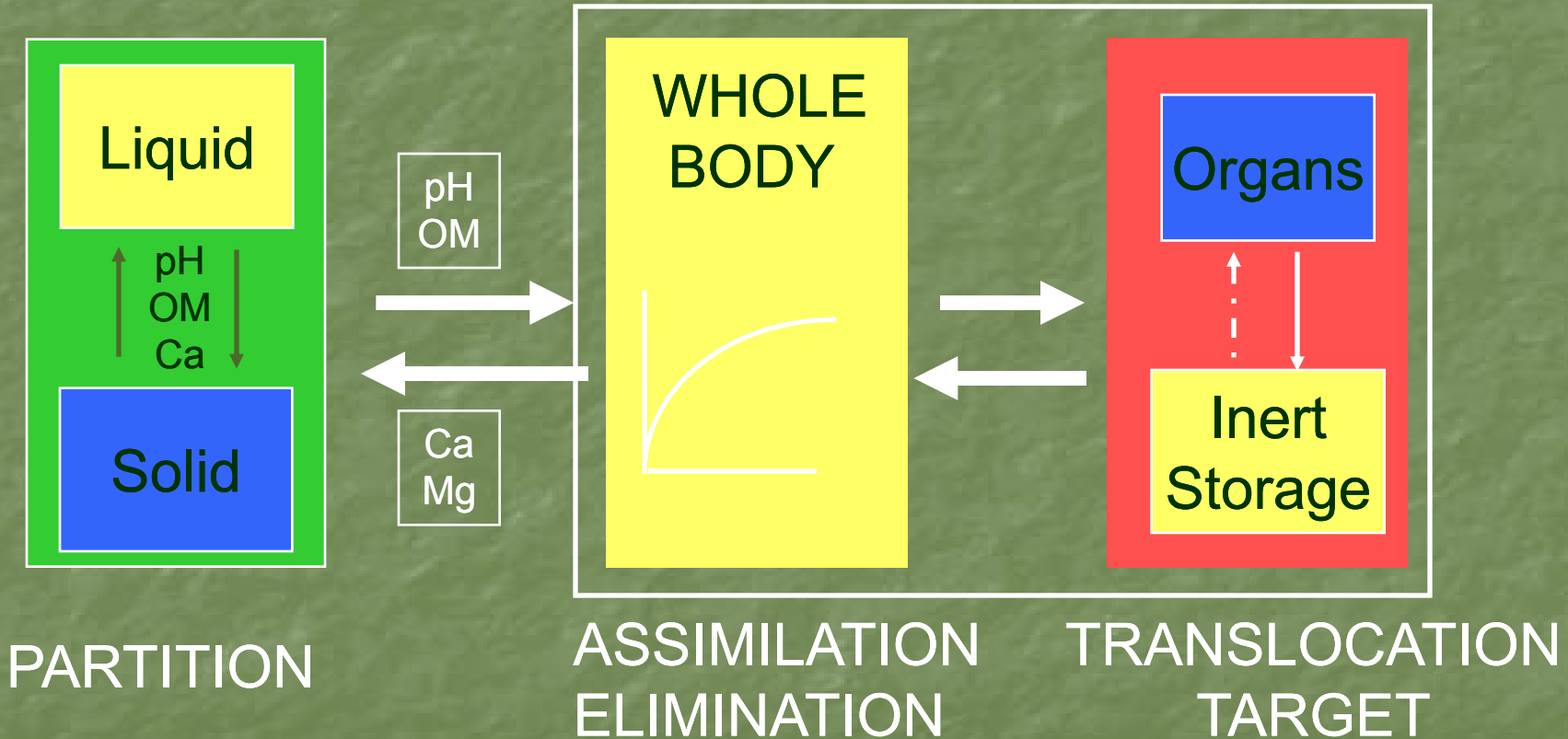
# Koncepce biodostupnosti - statická

Celkový obsah



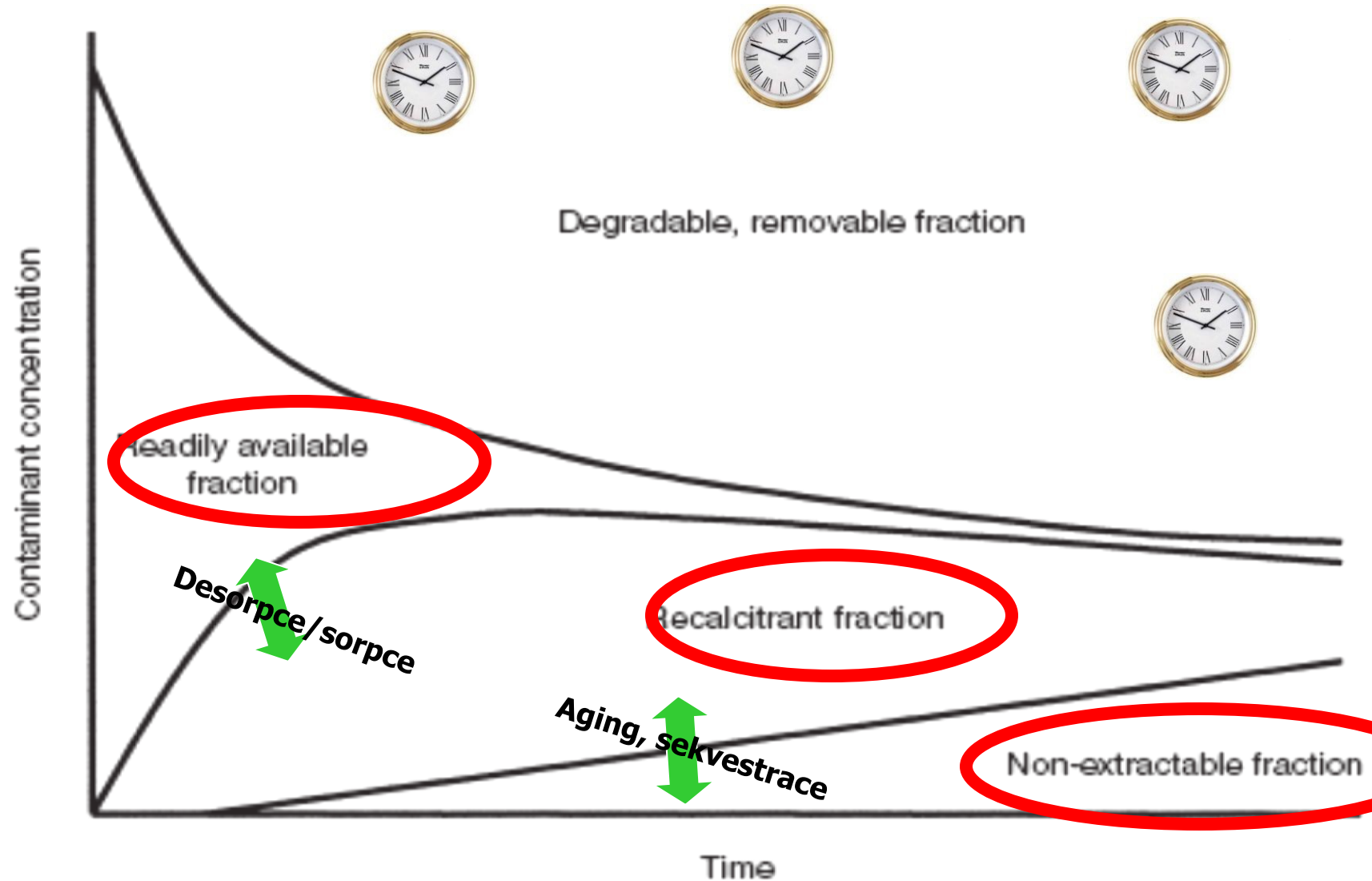
# Koncepce biodostupnosti - dynamická

## The dynamic approach of bioavailability



three principal processes (Dickson, 1994)

# Koncepce biodostupnosti - dynamická



## Co to je biodostupnost ?

- **Biodostupnost (bioavailability)** – dostupnost látky v okolním prostředí (voda, sediment, půda, vzduch ...) pro příjem organismem

- BIODOSTUPNOST pro biodegradace
- BIODOSTUPNOST pro akumulaci v těle
- BIODOSTUPNOST pro toxický účinek



- realizuje se či ne ? jde o potenciální frakci či frakci skutečně ve styku s biotou ?

## Definice biodostupnosti

- Mnoho definic díky různým pohledům (toxikologické, ekotoxikologické, farmakologické, toxokinetické ...)
- **frakce chemické látky dostupná pro absorpci živými organismy**  
(National Research Council, U.S. (2002): Bioavailability of Contaminants in Soils and Sediments: Processes, Tools and Applications)
- **Biodostupnost je míra jakou chemikálie v půdě může být absorbována, metabolizována či vůbec být v interakci s živým organismem**  
(ISO 11074 Soil Quality – Vocabulary)
- **Biodostupná (bioavailable) a biodosažitelná (bioaccessible) složka** (Semple et al., 2004)
- **dosažitelnost a chemická aktivita**  
(Reichenberg and Mayer 2006)



# Definice biodostupnosti

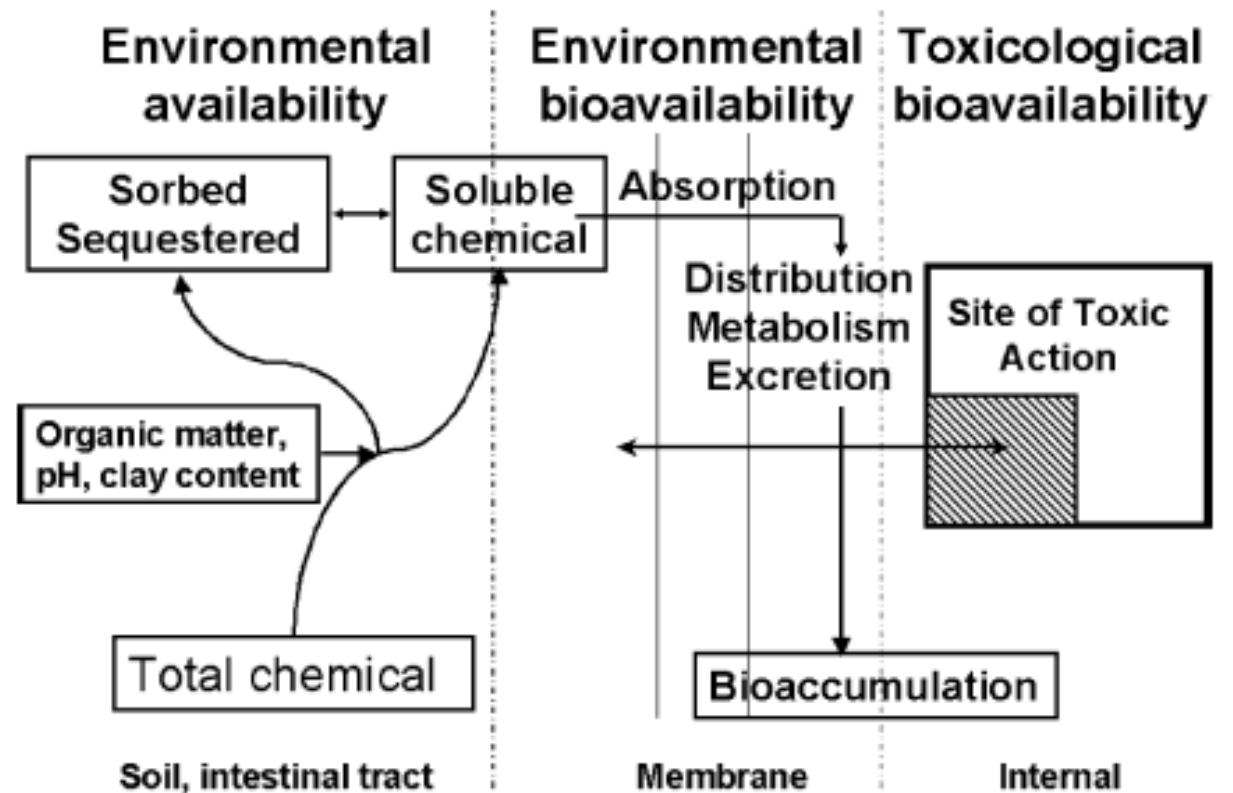
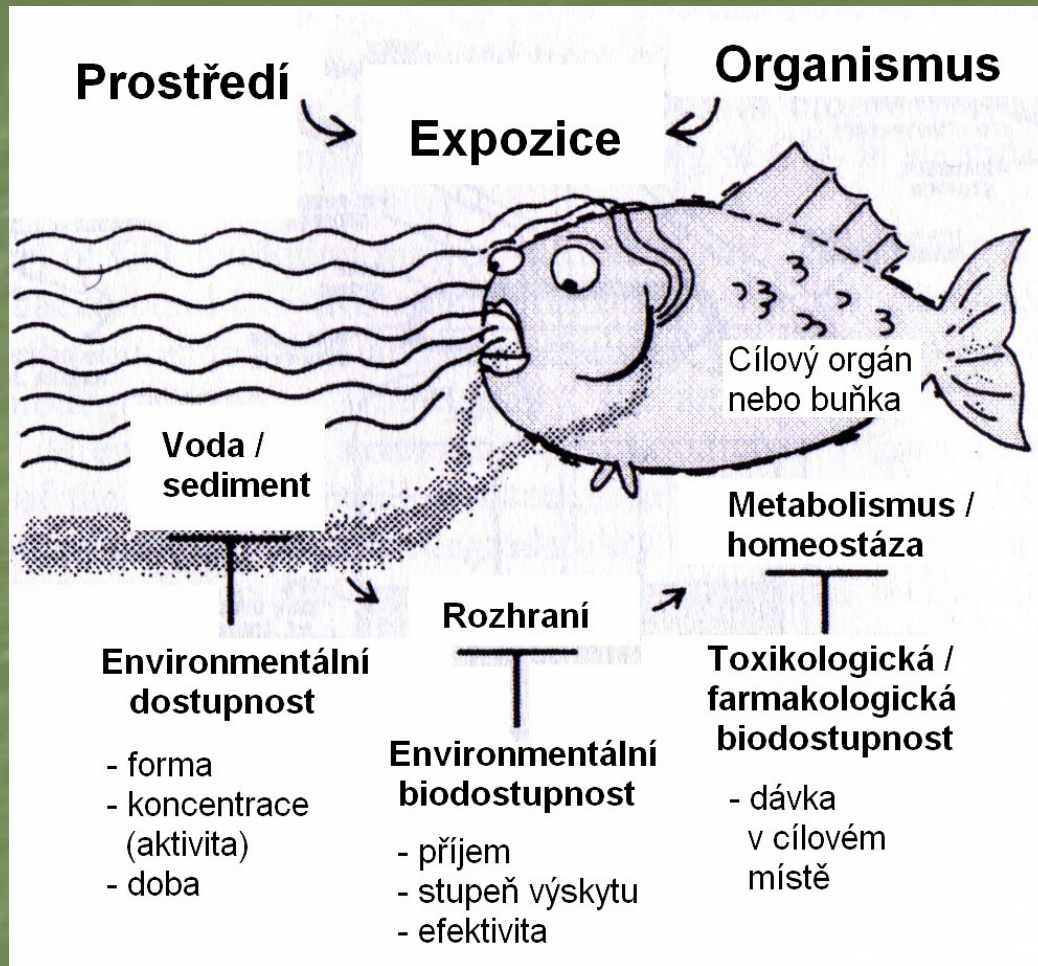


Fig. 2. Schematic model of bioavailability (with permission from Lanno, 2003).

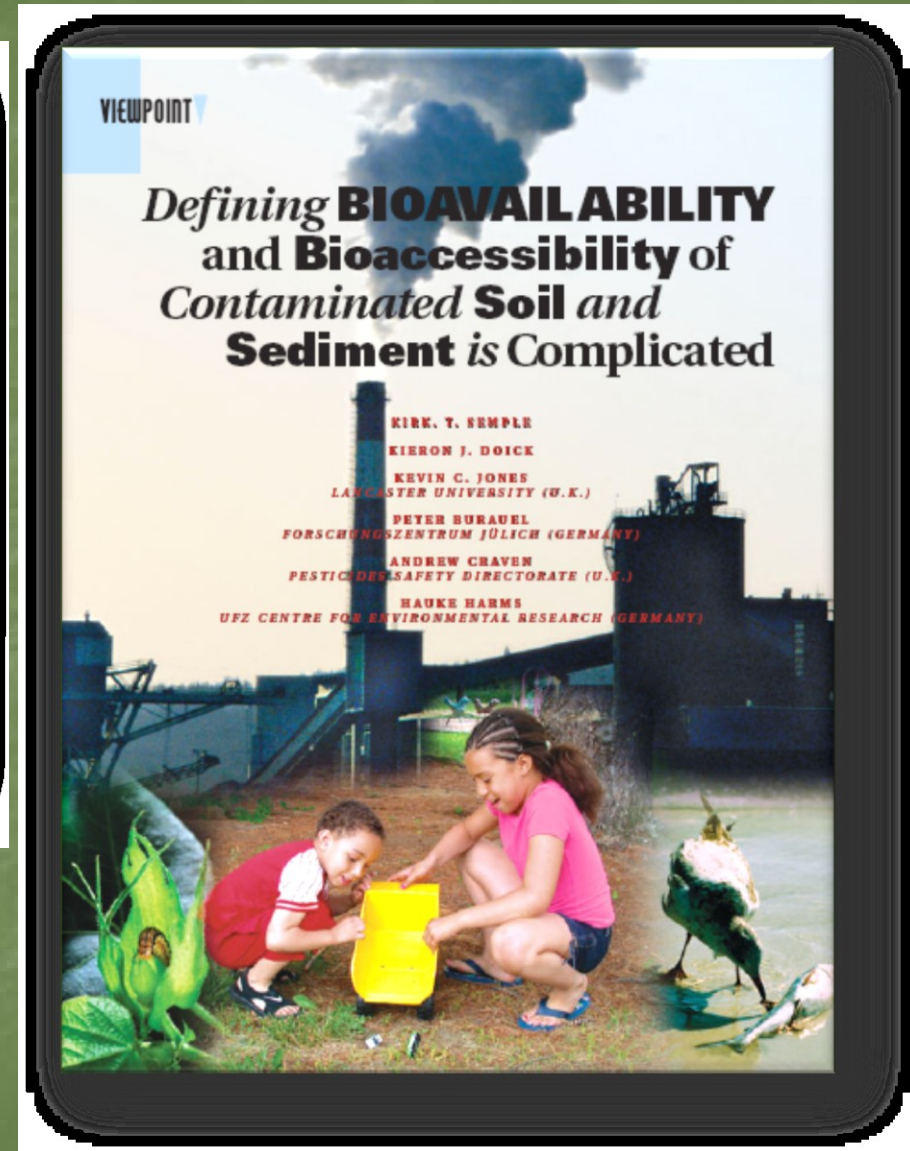
# Zpřesnění definice I

Je biodostupná frakce jen  
ta, co se opravdu dostává  
do organismu,

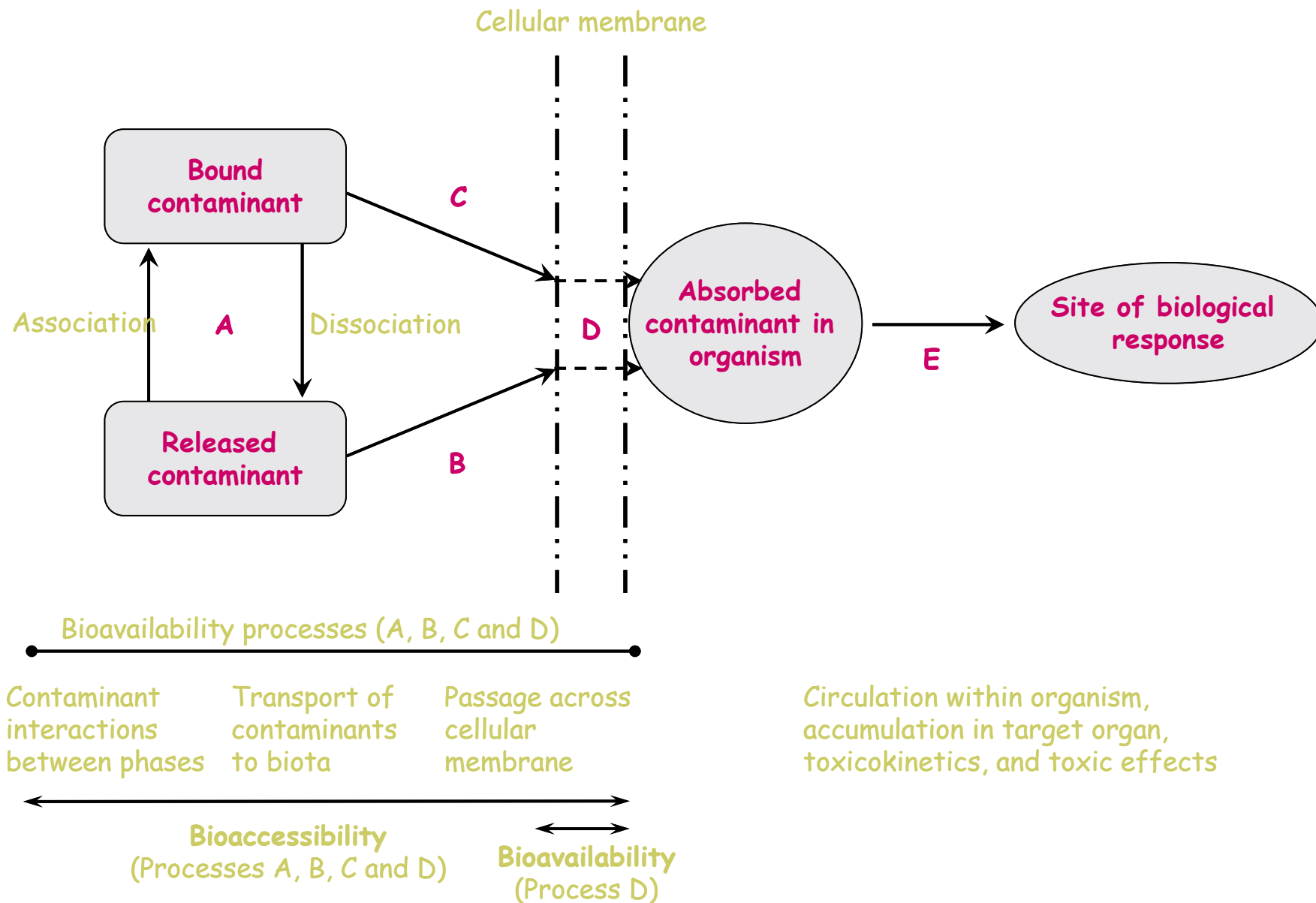
či

ta, které se teoreticky může  
do organismu dostat

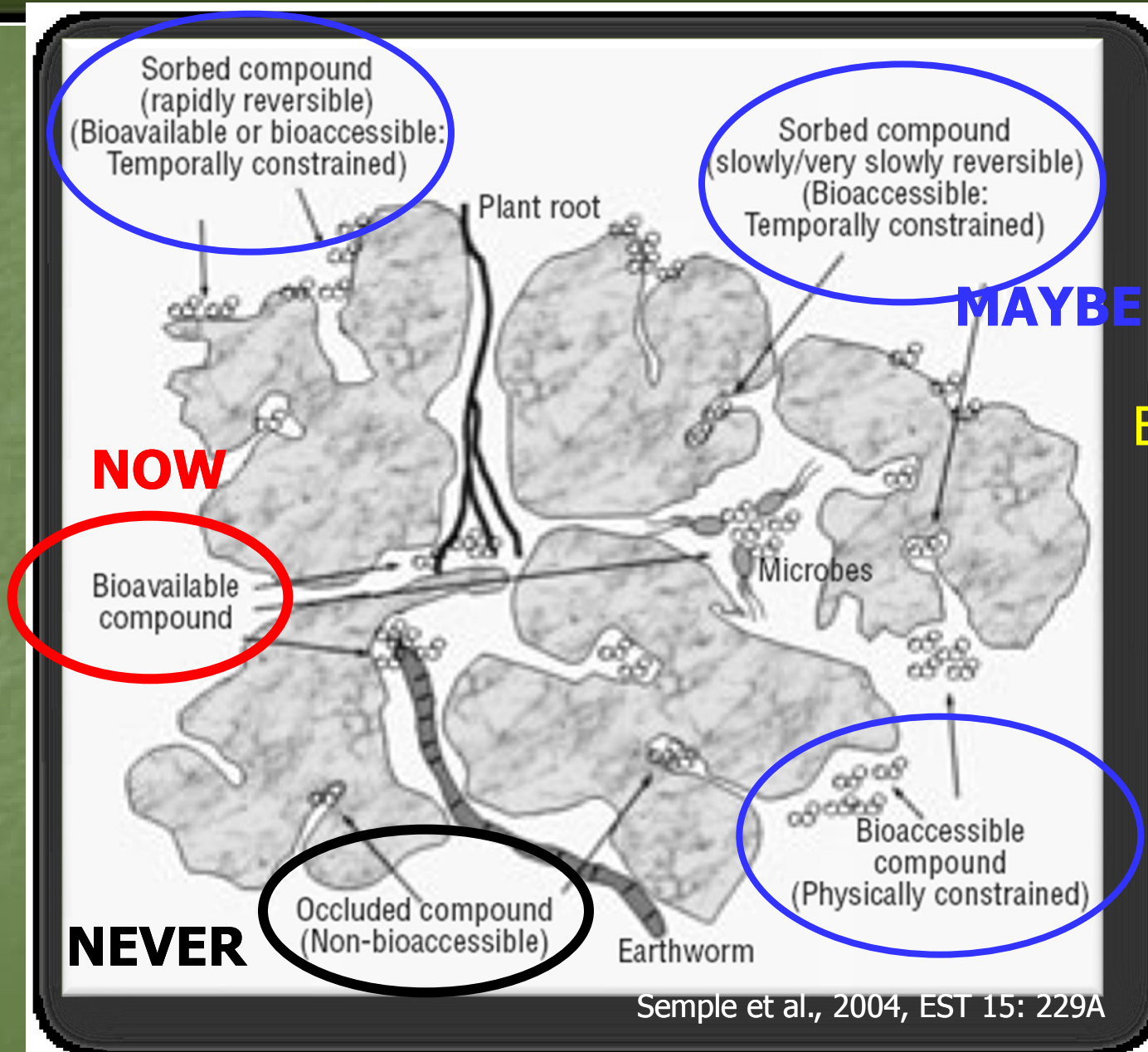
????????????????



# Zpřesnění definice I

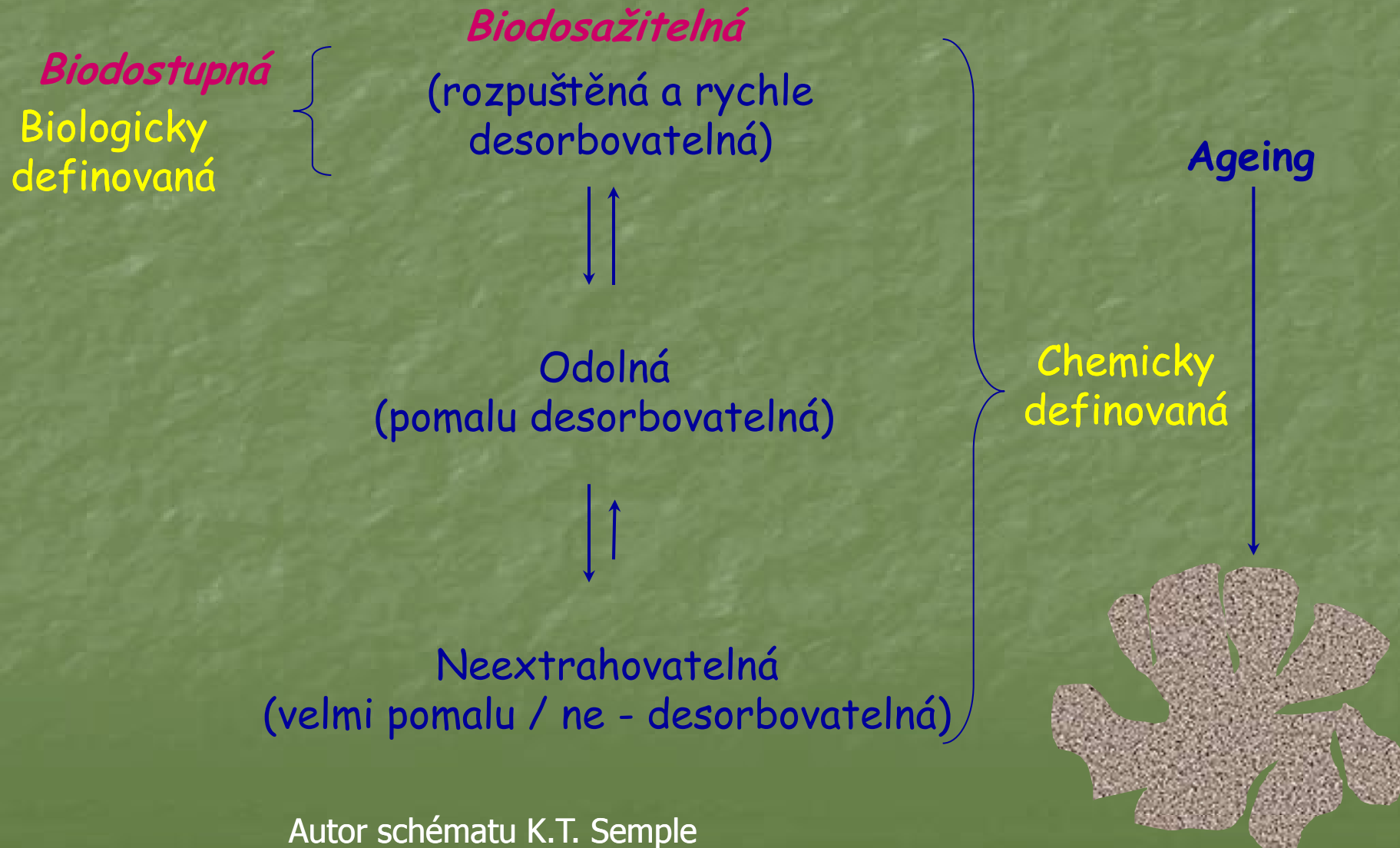


# Dostupnost a dosažitelnost kontaminantů



Biodosažitelná  
=  
Biodostupná  
+  
Potenciálně  
biodostupná

# Jak je to z metodického pohledu



## Zpřesnění definice II

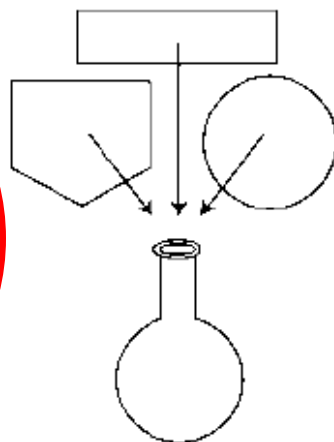
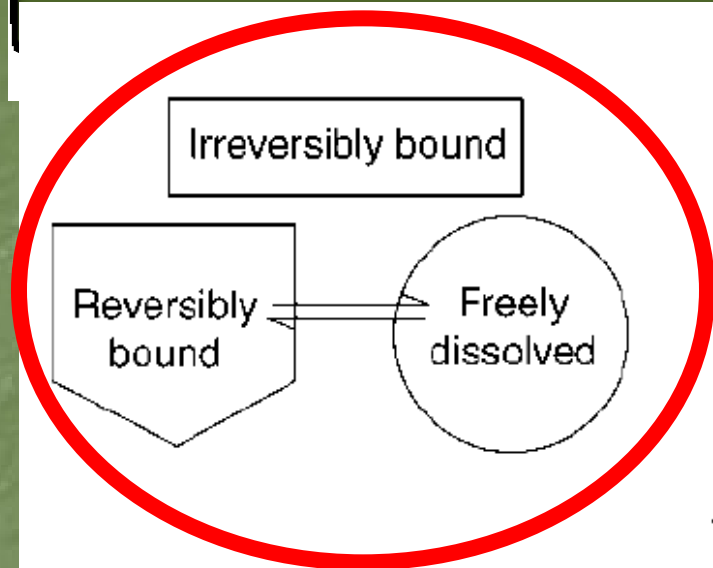
Zajímá nás z pohledu biodostupnosti frakce chemické látky, která vstoupí či může vstoupit do organismu

či

potenciál/tendence chemické látky vstupovat do živých organismů

??????????

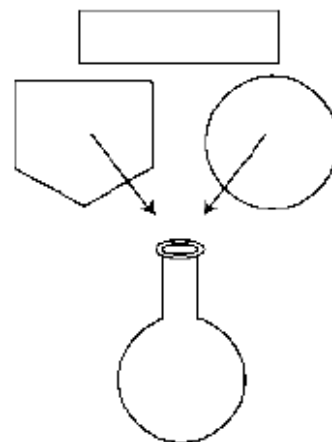
# Frakce či rovnovážné rozdělování ?



Total concentration

Kolik je celkem

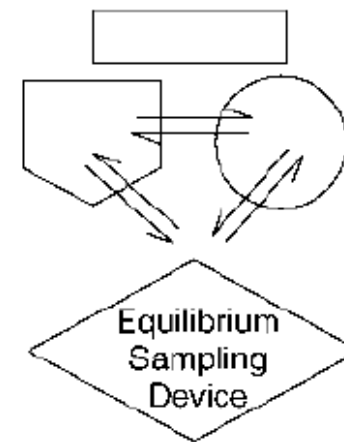
Totální  
extrakce



Accessible portion

Kolik se může  
uvolnit PRO ..

Slabá  
rozpuštědla,  
desorpční  
extrakce ...

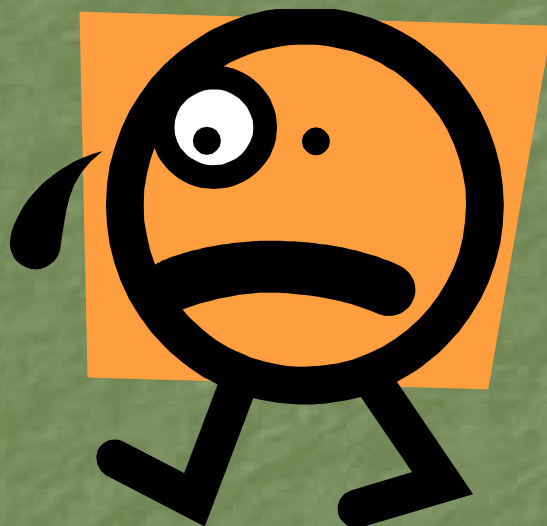


Chemical activity

Jaký je difúzní  
tlak pro vstup  
do ...

Rovnovážné  
vzorkování

## Definice biodostupnosti



- někdy se zdá jakoby biodostupnou frakcí byla chápána pouze např. mobilní frakce
- evidentní diskrepance v definicích a nedostatek dalších termínů jako biodegradovatelnost, bioakumulovatelnost, biopřijímatelnost atd.
- s ohledem na akvatické prostředí převládá definice biodostupné frakce jako té, která je skutečně bioakumulována organismem, biodegradována atd.



# **Faktory a procesy biodostupnosti**

# Faktory ovlivňující biodostupnost

- **Vlastnosti půdy**
  - složení půdy, organická hmota, zrnitost, pH, CEC, vlhkost, teplota, struktura půdy - velikost pórů
- **Vlastnosti látek**
  - Chemická struktura, Kow, Sw, Koc, pKa, MW, H, pv
- **Vlastnosti organismů**
  - Fyziologie (příjem, metabolismus, eliminace), morfologie, ekologie (chování)
- **Vliv času**
  - Aging, sekvestrace
- **Přítomnost jiných chemikálií** (např. NAPL) a interakce

Výsledkem jsou **PROCESY**, které mění biodostupnost

## Faktory ovlivňující biodostupnost

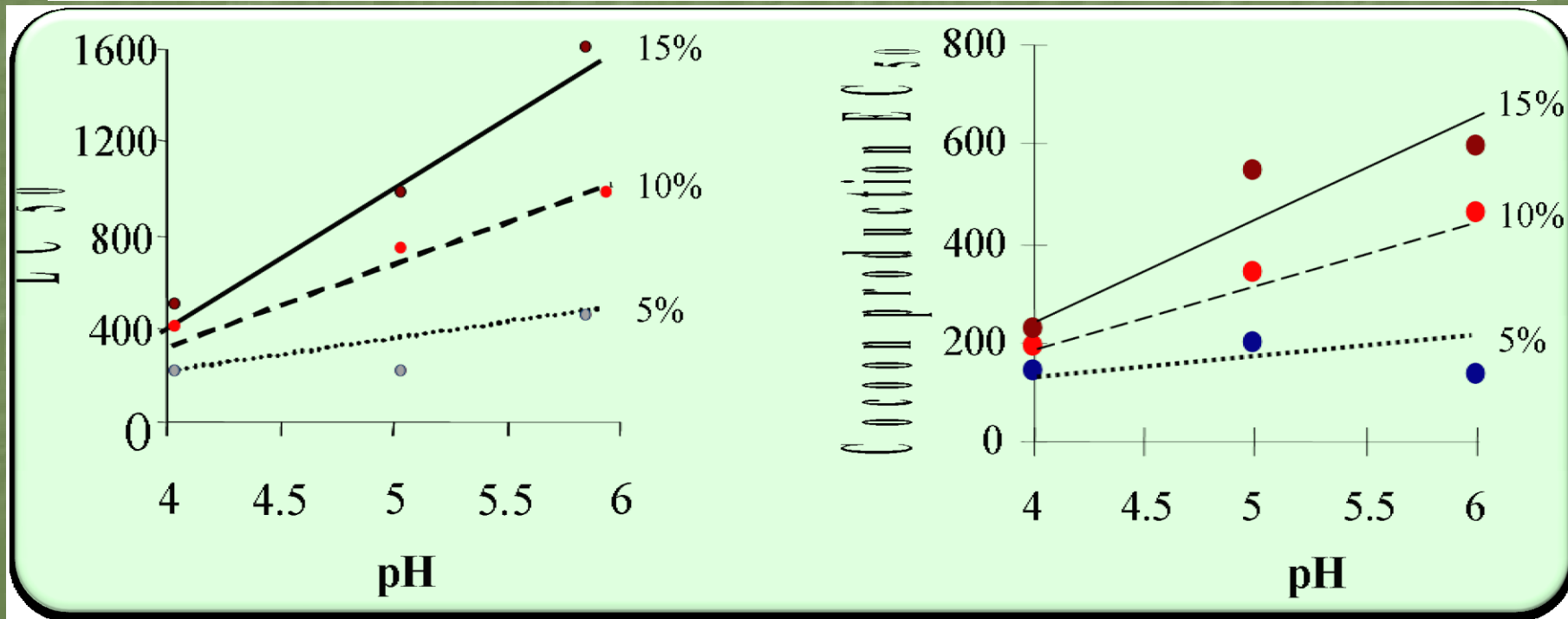
- **U vlastností látek je třeba si uvědomit, že:**
  - jsou definovány za určitých podmínek
  - např. Kow by mělo být pro každou látku jedno číslo
  - ALE Koc určitě není jedno číslo pro jednu látku a BCF také ne – **závisí na podmínkách, při kterých jsou měřeny**

## Osud těžkých kovů v půdě

- je velmi složitý, liší se u jednotlivých prvků a zahrnuje celou řadu velmi komplikovaných fyzikálních a chemických procesů
- chemické formy prvků v půdě = **speciace kovů**; ovlivňuje sorpční a desorpční charakteristiky, změny při různém pH či redoxním potenciálu, biologická, biochemická a chemická dostupnost kovů
- osud zcela stěžejní pro dostupnost prvků organismům a tedy pro projevy jejich toxicity
- ovlivňován řadou půdních vlastností jako pH, CEC, obsahem organického materiálu, redoxním potenciálem, obsahem oxidů železa, obsahem jílu, aktivitou půdních mikroorganismů, zrnitostí a strukturou půdy, mateřskou horninou a dalšími faktory

## Příklad - Efekt pH a OM na toxicitu Zn pro *Eisenia fetida*

- pH 4, 5 a 6 a OM 5, 10 a 15 %
- Toxicita vyšší při nižším pH a nižším % OM



# Osud POPs v půdě

Chování POPs v prostředí tím i jejich nebezpečnost lze charakterizovat zejména pěti environmentálně-chemickými parametry:

1. Rozpustnost ve vodě WS (mg.l<sup>-1</sup>). Čím je její hodnota nižší, tím je látka hydrofobnější a lipofilnější, tím má větší tendenci kumulovat se v půdním prostředí a v živých organismech.
2. Těkání vyjádřené hodnotou Henryho konstanty (H v Pa.m<sup>3</sup>.mol<sup>-1</sup>). Čím je hodnota H vyšší, tím je látka těkavější, má vyšší tendenci přejít z půdního prostředí do atmosféry.
3. Rozdělovací koeficient n-oktanol-voda K<sub>ow</sub> představující míru tendence látky kumulovat se v živých organismech. Hodnota logK<sub>ow</sub> v rozmezí 3-6 představuje látky s vysokou tendencí k bioakumulaci.
4. Sorpce na organický uhlík (půdní organickou hmotu) vyjádřená pomocí rozdělovacího koeficientu organický uhlík (v tuhé fázi) – voda K<sub>oc</sub>. Hodnoty logK<sub>oc</sub> vyšší než 3 charakterizují látky silně se sorbující v půdním prostředí, dlouhodobě v něm přítomné, ovšem také méně biodostupné.
5. Environmentální persistence vyjádřená pomocí poločasu života (t<sub>1/2</sub>). V případě půdního prostředí se používá například označení t<sub>1/2</sub>(S) (poločas života polutantu v půdním prostředí).

# Vlastnosti látky, které zejména ovlivňují osud v půdě

## Kontaminant bude v půdě perzistentní jestli

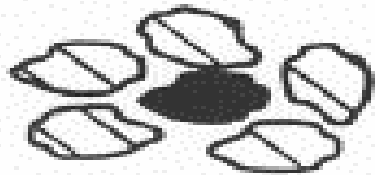
Polarita	Nízká
Rozpustnost ve vodě	Nízká
Hydrofobicita	Vysoká
Lipofilicita	Vysoká
Tlak par	Nízká
Molekulární struktura	Odolná degradaci

### **Dá se zhruba shrnout:**

pokud  $\log K_{oc} > 3$ , látka bude významně sorbována na půdní organickou hmotu a pokud  $\log K_{ow} > 5$ , látka bude vykazovat významnou bioakumulaci

# Různé formy výskytu organického polutantu v půdě

## Fyzikální formy



Pevná částice polutantu



Kapalný film  
NAPL – Non-aqueous phase  
liquid



Povrchová **adsorpce** na půdu  
**adsorpce**



**Absorpce** do půdy

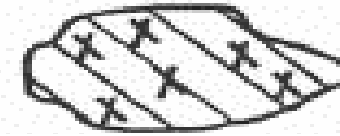


Difúze do vodní fáze v  
půdních pórech

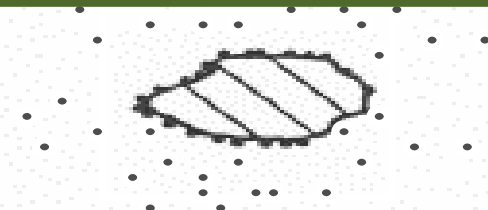


Zaplnění mikro- či nano-pórů  
pevným či kapalným  
polutantem

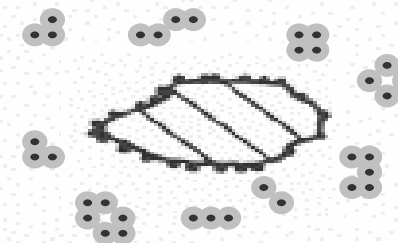
## Chemická forma



Chemická vazba na  
půdu



Rozpuštění v půdní vodě



Komplexy v půdní vodě



# Hlavní procesy v půdě ovlivňující osud látky

- Lze rozdělit na procesy, které
  1. snižují celkovou koncentraci látky v půdě
  2. nemění celkovou koncentraci, ale mění distribuci
  3. mění formy látky, způsob výskytu, speciaci
  
- Hlavní roli hrají **fázové procesy, difúzní přechody**:
  1. **solubilizace** - transport mezi čistým kontaminantem a kapalnou fází (u kapalných kontaminantů mísitelnost)
  2. **volatilizace** - transport mezi kapalnou a plynou fází (Henryho zákon)
  3. **sorpce** - transport mezi kapalnou a pevnou fází

# Různé mechanismy retence v půdě

## kationtová výměna

- parametr CEC (kationtová výměnná kapacita)
- negativně nabitě povrchy jsou schopny vázat kationty
- významný mechanismus zejména u těžkých kovů
- ionizovatelné organické látky často spíše negativní náboje - např. fenoly, chlorfenoly

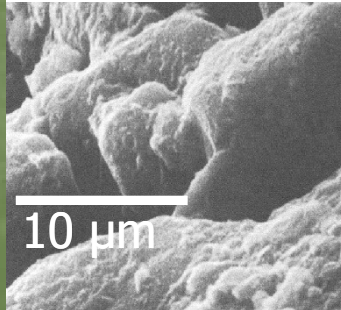
## sorpce na půdní organický materiál

- zejména pro nepolární, hydrofóbní organické kontaminanty
- částečně může být nahrazena sorpcí na minerální složku půdy, zejména u půd s nízkým obsahem  $C_{org}$

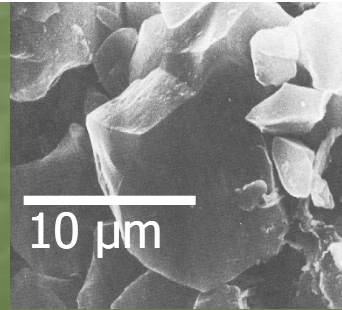
# Sorpce

- Sorpce chemických látek z kapalná fáze (vody, půdní pórové vody, půdního roztoku) na půdní částice
- **sorpce = adsorpce + absorpce**
- **nejdůležitější proces ovlivňující transport, degradaci a biodostupnost**
- několik mechanismů – závisí na podstatě látky (sorbátu) a sorbentu:
  - ionty – iontová výměna
  - organické látky – hydrofóbní vazba
  - fyzikální či chemické vazby

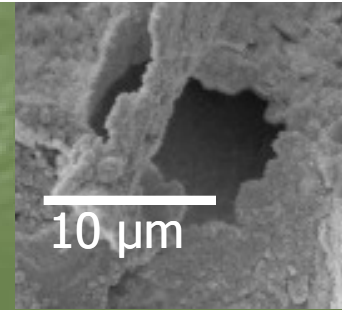
## Kontinuum vazebných míst v půdě



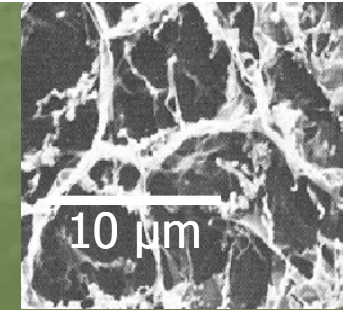
**Písek**  
(2000 µm - 50 µm)



**Prach**  
(50 µm - 2 µm)



**Jíl**  
(2 µm - 0,2 µm)



**Organická hmota**  
(N/A)

## Rozdělování půda – voda: $K_d$ a $K_{OC}$

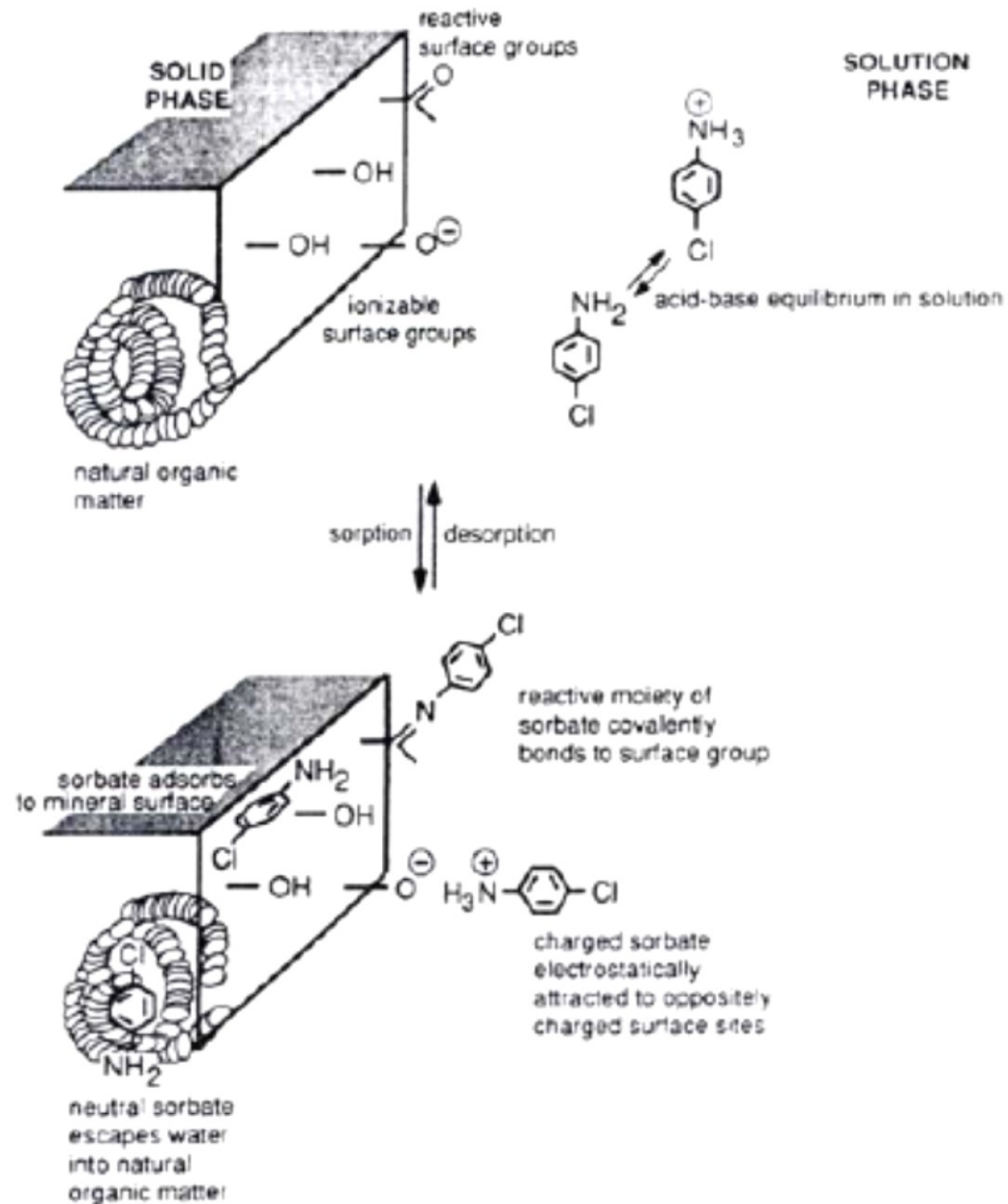
- $K_d$  hodnoty pro látky mají poměrně výrazný rozptyl, protože různé půdy mají různý obsah OM, který je zejména zodpovědný za sorpci → rozdělovací koeficient se normalizuje na OC:

$$K_{OC} = K_d \times f_{OC}$$

- opět ale poměrně velká variabilita v dostupných hodnotách, protože závisí na povaze organické hmoty a dalších faktorech

# Sorpce disociovatelných látek

- **NAVÍC** pro ionizovatelné látky (např. fenoly) je nejprve nutné stanovit distribuci mezi neutrální a ionizovanou frakci, až poté stanovení  $K_{OC}$  pro obě tyto frakce → slábné úloha OC a narůstá role CEC a jílu



# Příjem látky organismem

- Biokoncentrační faktor
  - poměr koncentrací chemické látky nalezených v biotě ku koncentraci v zevním prostředí (voda..), ve kterém daný organismus žije
- **BCF(BAF) =  $C_B / C_W$** 
  - $C_B$  – koncentrace v organismu např. mg/kg (živé váhy, sušiny, lipidů ...)
  - $C_W$  – koncentrace v okolní kapalině mg/L
- Pro půdu se často koncentrace v organismu standardizuje na frakci lipidů a koncentrace v půdě na frakci OC → **BSAF** – biota – soil accumulation factor
  - nezávislý na  $K_{OW}$  !!!!!
  - $f_{lipids}$  např. u žížal bývá uvažováno 0,01

# Vliv vlastností organismu a jeho ekologie

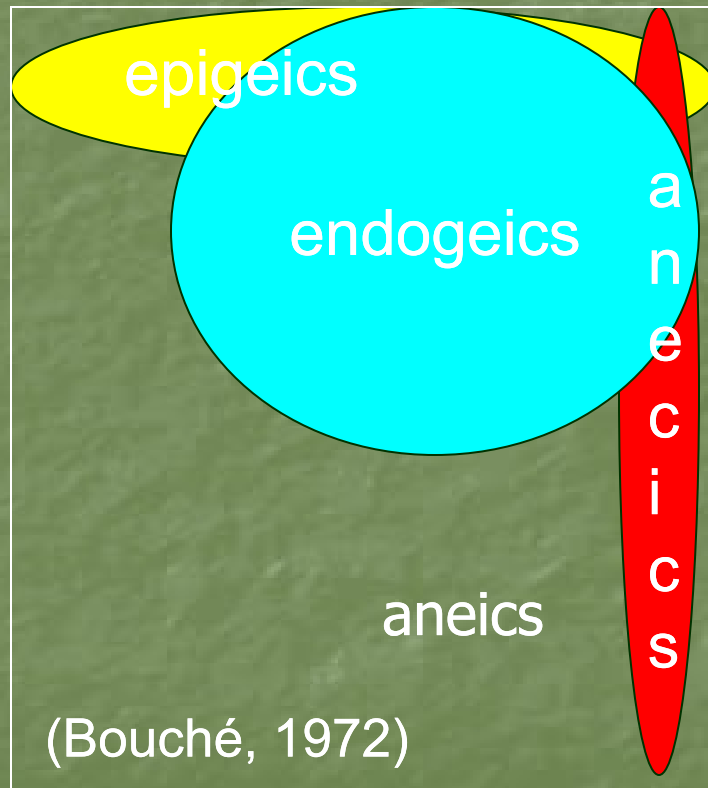
## ■ Vlastnosti organismu

- u bezobratlých rozdíl mezi měkkými a tvrdými tělními pokrivy
- tracheata mohou být exponovány při dýchání volatilním polutantům
- délka života vs časový osud kontaminantu
- metabolismus (toxokinetika)

## ■ Ekologie organismu:

- distribuce kontaminantu je heterogenní → organismy, které jsou toho schopné, mohou uniknout
- potravní preference a chování při hledání potravy (žížaly endogeické vs epigeické; žížaly vs hlístice vs chvostoskoci)
- chování - žížaly preferují vlhké prostředí a v suchu se stahují do nižší, čistší vrstvy půdy

# Ekologie organismů



*Lumbricus rubellus*



*Aporrectodea caliginosa*



*Lumbricus terrestris*





# Příjem látek živými organismy

- jednobuněčné organismy
  - pasivní difuze přes membránu
  - „selektivní“ vstup přes existující transportní systémy
- vícebuněčné organismy / řasy
  - difuze toxikantu přes membránu a mezi buňkami
- terestrické rostliny
  - rozpuštěné ve vodě/půdě - vstup kořeny/listy
  - plynné toxikanty - vstup přes stomata na listech
  - lipofilní látky (některé herbicidy) - penetrace voskové kutikuly



# Expoziční cesty bezobratlých

## 1. **ingesce a orální vstup** - potrava a půdní částice

- organismy konzumují minerální a organickou hmotu
- významná expoziční cesta pro sorbované chemikálie
- bioobohacování - např. houby, které konzumují chvostoskoci
- významná cesta pro **členovce**

## 2. **dermální vstup** - z půdy, z půdního roztoku

- zejména organismy, které mají tenkou kutikulu a jsou v kontaktu s půdou a pórovou vodou (**žížaly, roupice a hlístice**)
- lze modelovat výsledky i z testů v akvatickém prostředí při doplnění modelu distribuce látky mezi půdní roztok a sorpci na částice = **Equilibrium Partitioning theory (EqP)**

## 3. **dýcháním**

- nejsou téměř žádná data

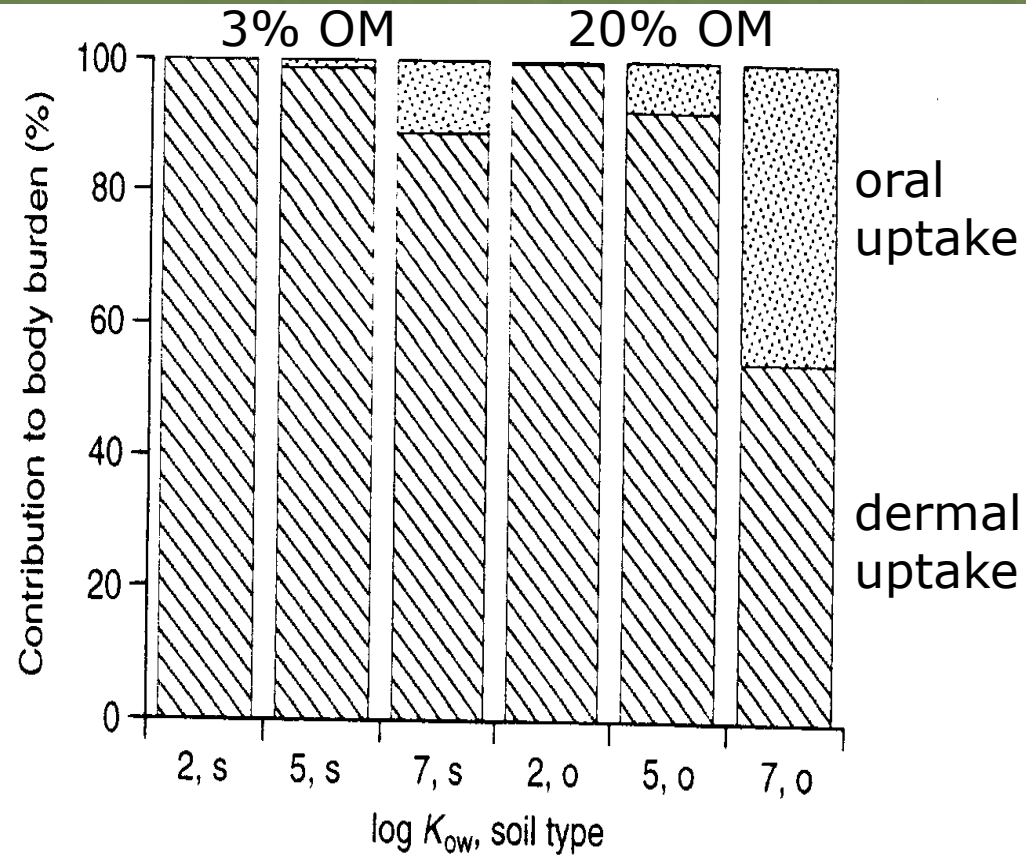
# Jsou metody jak zkoumat převládající expoziční cestu

- Lumbricus rubellus s ústy zalepenými chirurgickým lepidlem



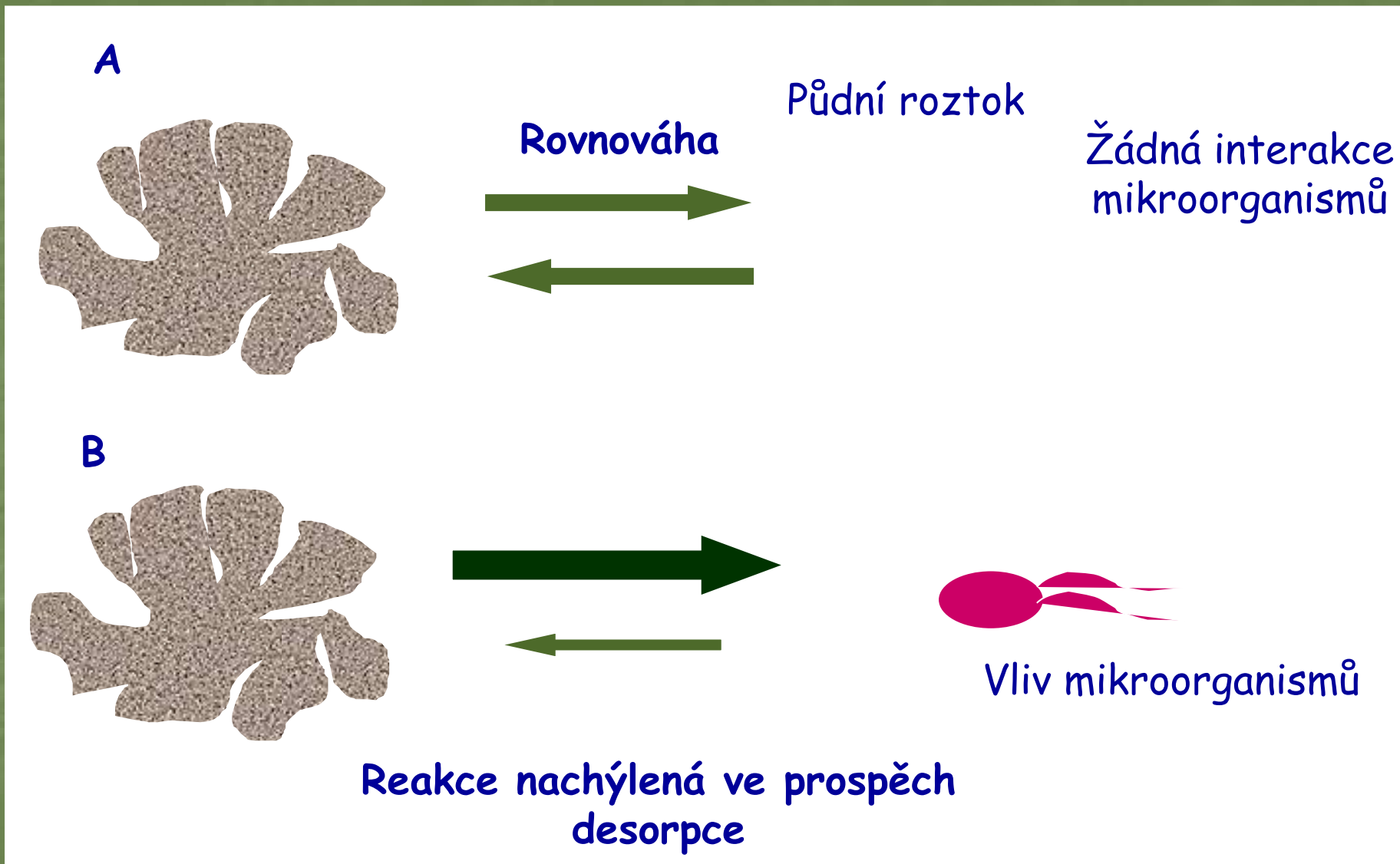
Převzato z Vijver et al. (2003)

# Příklad vlivu vlastností látky, půdy a expoziční cesty



**Figure 1.2** Contribution of pore water (shaded area) and oral uptake of soil particles (dotted area) to the total body burden of organic chemicals in earthworms exposed in soils with 3% organic matter (s) or 20% organic matter (o) in relation to lipophilicity ( $\log K_{ow}$ ). Adapted from Belfroid *et al.* (1995).

# Princip „mass transfer“ (přesunu polutantu) ?



## Příklad fungování „mass transfer“

Jestliže biota nemůže jít ke kontaminantu .....,  
..... tak kontaminant musí jít k biotě !!!!!



# Metody hodnocení biodostupnosti



## Chemická extrakce vs biologická interakce

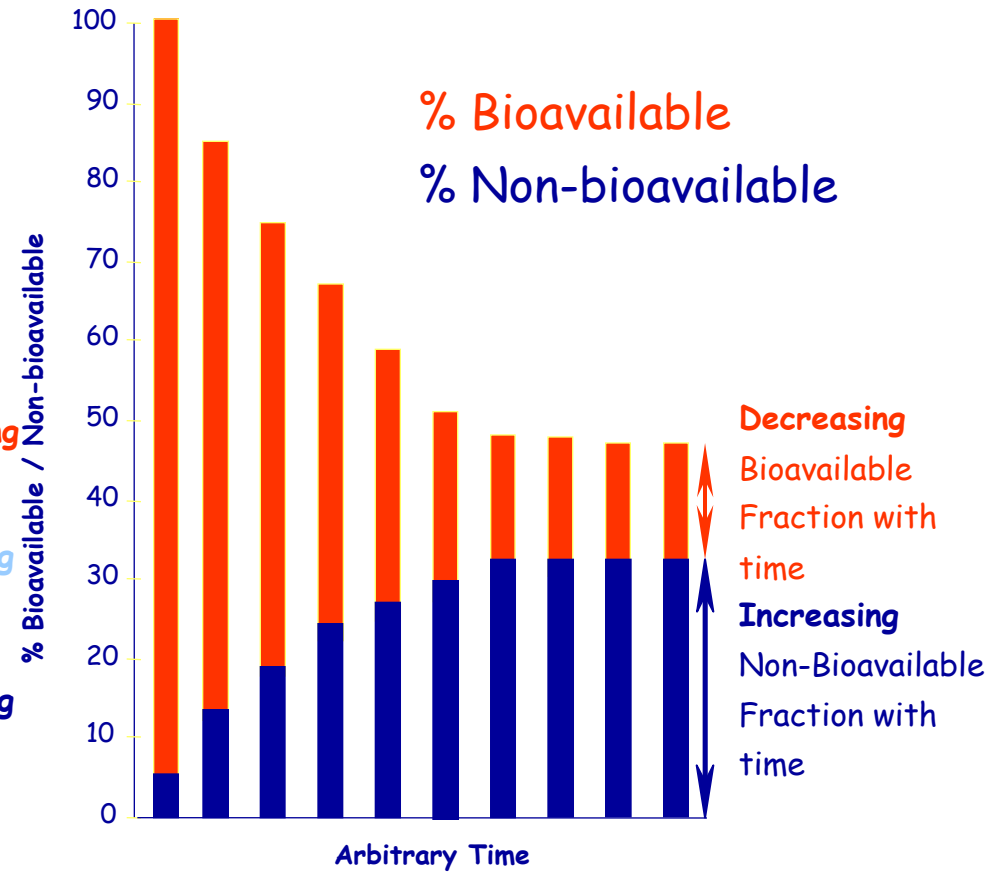
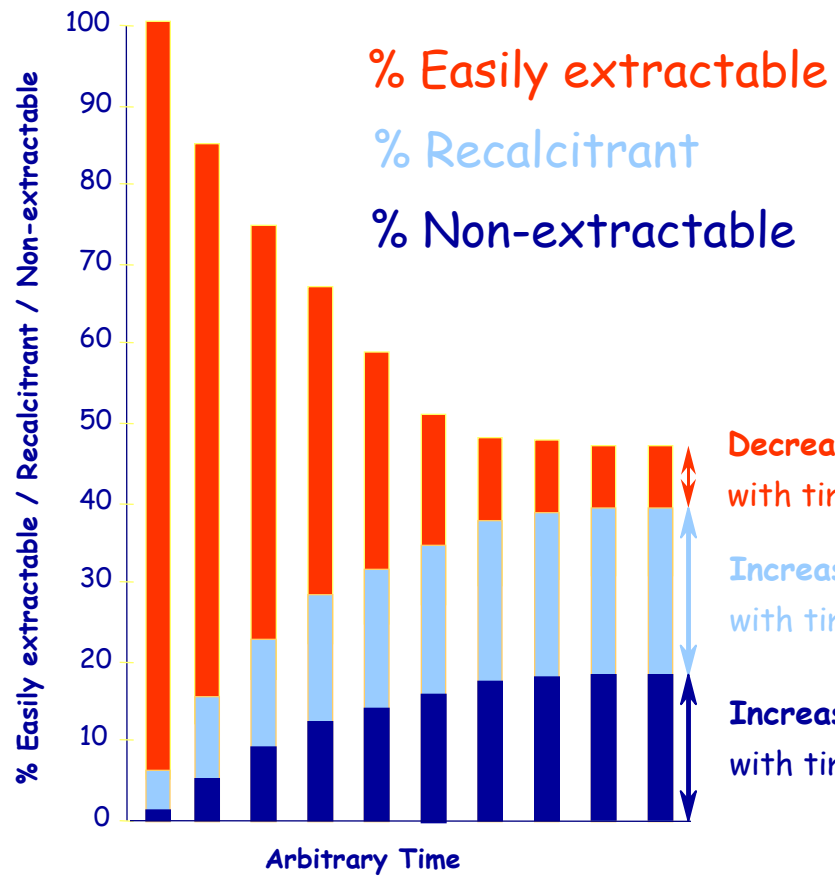
- Klasický přístup měření totální koncentrace musí být nahrazen metodami stanovení biodostupné frakce/koncentrace/potenciálu !!!
- Ale jaké metody ? A lze vůbec mít CHEMické metody pro hodnocení BIOdostupnosti ???
- Asi ANO, ale je vždy nutné ujasnit si, PRO CO chceme biodostupnost hodnotit (mikrob, žížala, rostlina) a Z JAKÉHO DŮVODU (remediace, toxicita, riziko)
- NEEXISTUJE ani nemůže jedna metoda pro biodostupnost
- Protože různé organismy (typy ale možná až druhy) a různé typy interakcí biota-půda-kontaminant vyžadují specifické metody



## Chemická extrakce vs biologická interakce

- **Chemická extrakce** – více rozděluje jednotlivé frakce
  - Lehce extrahovatelná
  - Odolná
  - Vázaná a neextrahovatelná
- **Biologická interakce** – zásadní a jednoduché rozdělení
  - Biodostupná
  - Nedostupná

# Extrakce vs biologický přístup



# Biologické metody vs chemické metody

## Biologické

- Nezbytné ke stanovení samotné biodostupnosti
- Zahrnují další aspekty (forma expozice, metabolismus, chování organismů)
- Poskytují informace o případné toxicitě látky
- Časově a prostorově náročné, vysoké náklady

## Chemické

- Bez korelace s biologickými nedávají informace o biodostupnosti
- Nezahrnují další aspekty (forma expozice, metabolismus, chování organismů)
- Neposkytují žádné informace o případné toxicitě látky
- Časově a prostorově méně náročné, nižší náklady

# Rozdělení metod hodnocení



**KORELACE**

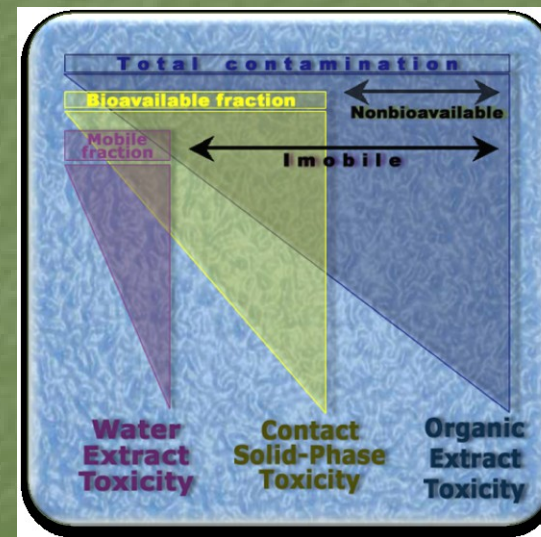
**KALIBRACE**

- **Biologické metody**
  - Přímé – testy bioakumulace, rezidua (CBR)
  - Nepřímé – testy toxicity, biomarkery expozice ...
- **Chemické metody**
  - Celková extrakce NE
  - Extrakce vodnými roztoky ( $\text{CaCl}_2$ )
  - Extrakce pórové vody
  - Extrakce organickými rozpouštědly (MeOH, BuOH)
  - Desorpční metody (HPCD, Tenax, XAD-4)
  - Superkritická fluidní extrakce (SFE)
  - Extrakce na pevnou fázi (biomimetika, SPME, POM, SPMD)
  - Persulfátová oxidace
  - Slabá kyselina či komplexotvorné činidlo
- **Modelování**
  - WHAM, EqP, BLM, FIM ...

# Biologické hodnocení biodostupnosti

- Potřeba zajistit: expozice testovaného organismu biodostupné formě kontaminantu ve vzorku
- **Testy toxicity, bioakumulační studie a biodegradační pokusy**

- vodné výluhy
  - ve vodě rozpustná frakce
- extrakty
  - extrahovatelná frakce
- kontaktní testy s pevnou fází
  - biodostupné množství



# Přímé hodnocení biodostupnosti PRO mikroorganismy

Biologický přístup – mineralizační test

respiromet

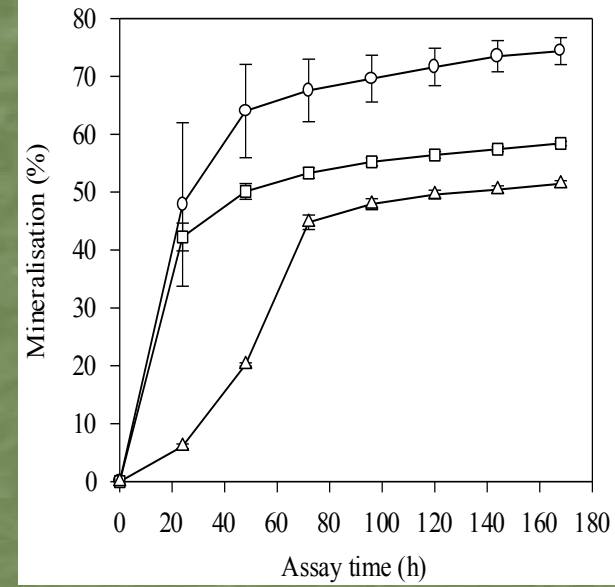
$^{14}\text{CO}_2$  sorbce

10g půdy

30ml MBS



$^{14}\text{C}$



$^{14}\text{C}$ -značení je na místě  
primárního ataku degradátorů

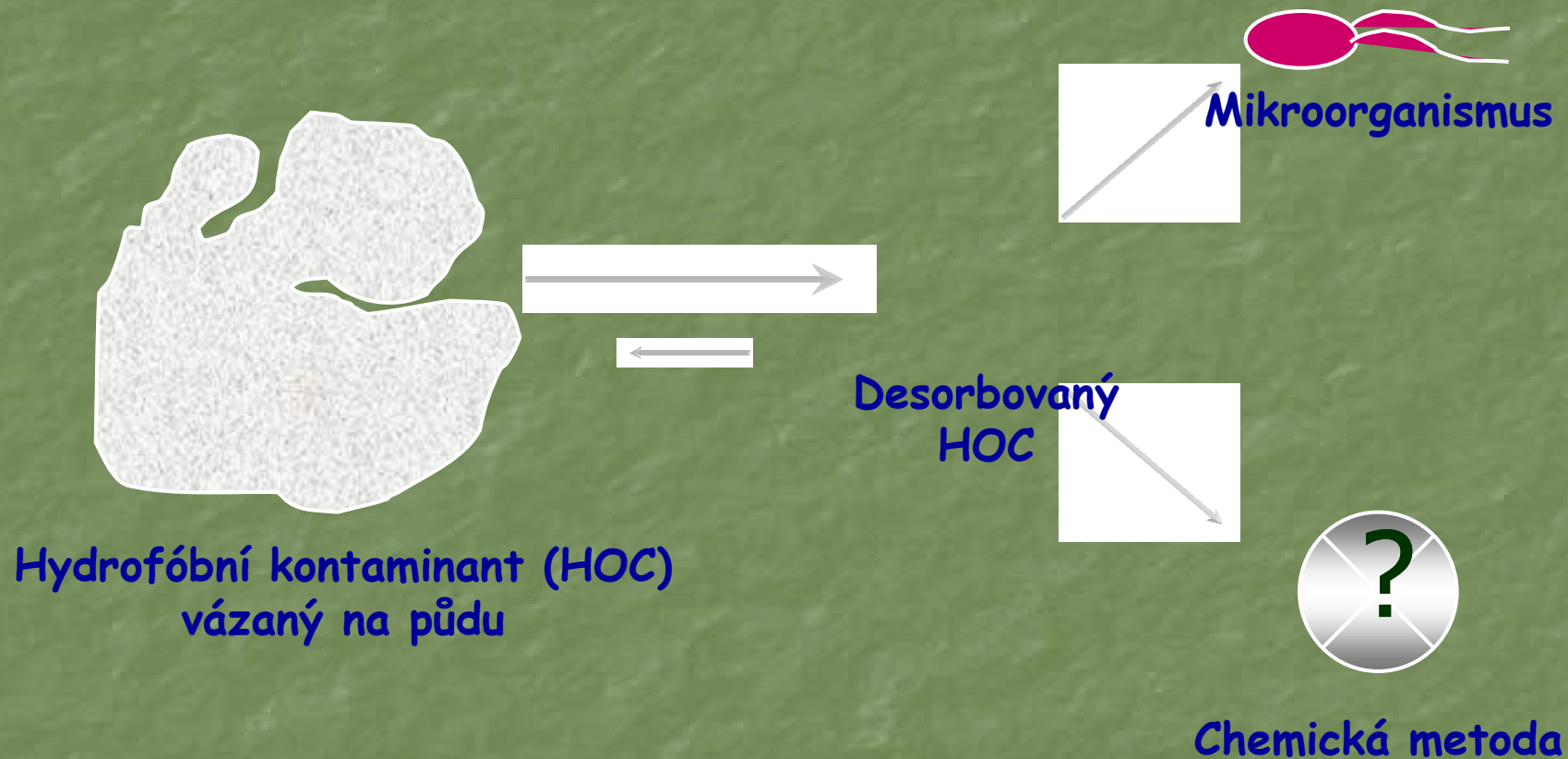
+



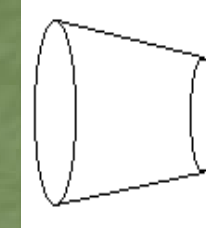
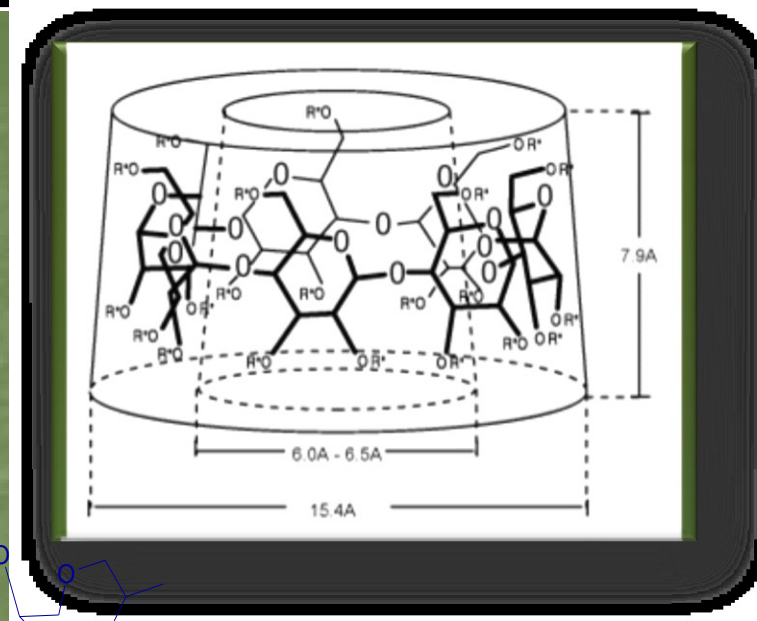
$^{14}\text{CO}_2$   
+  $\text{H}_2\text{O}$

Autor schématu J. Stroud

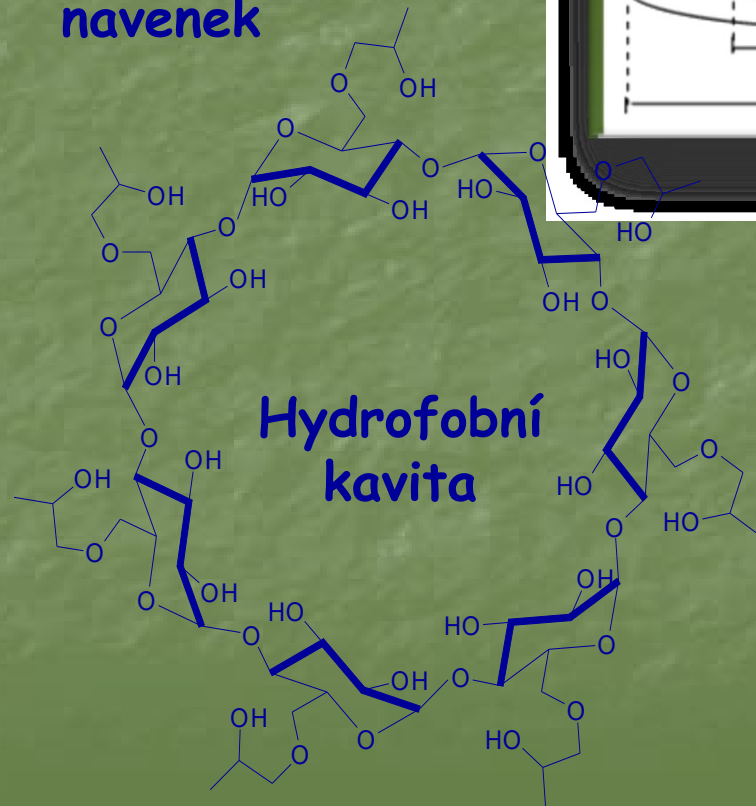
# Napodobení biodostupnosti PRO mikroorganismy



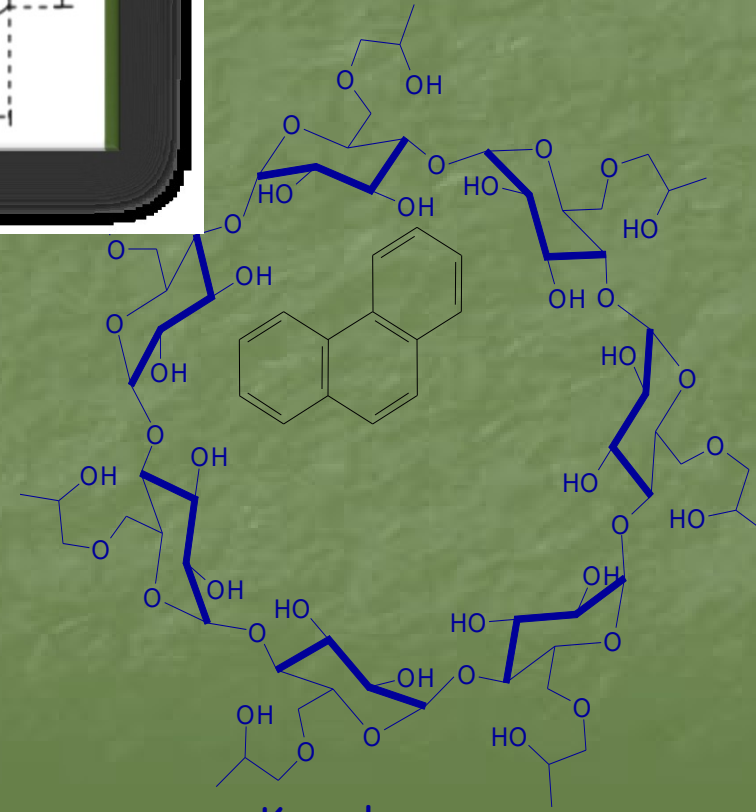
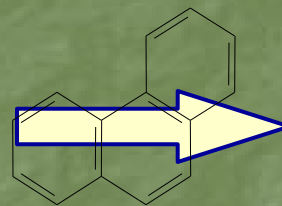
# HPCD extrakce



Hydrofilní navenek



Hydrofobní kavita



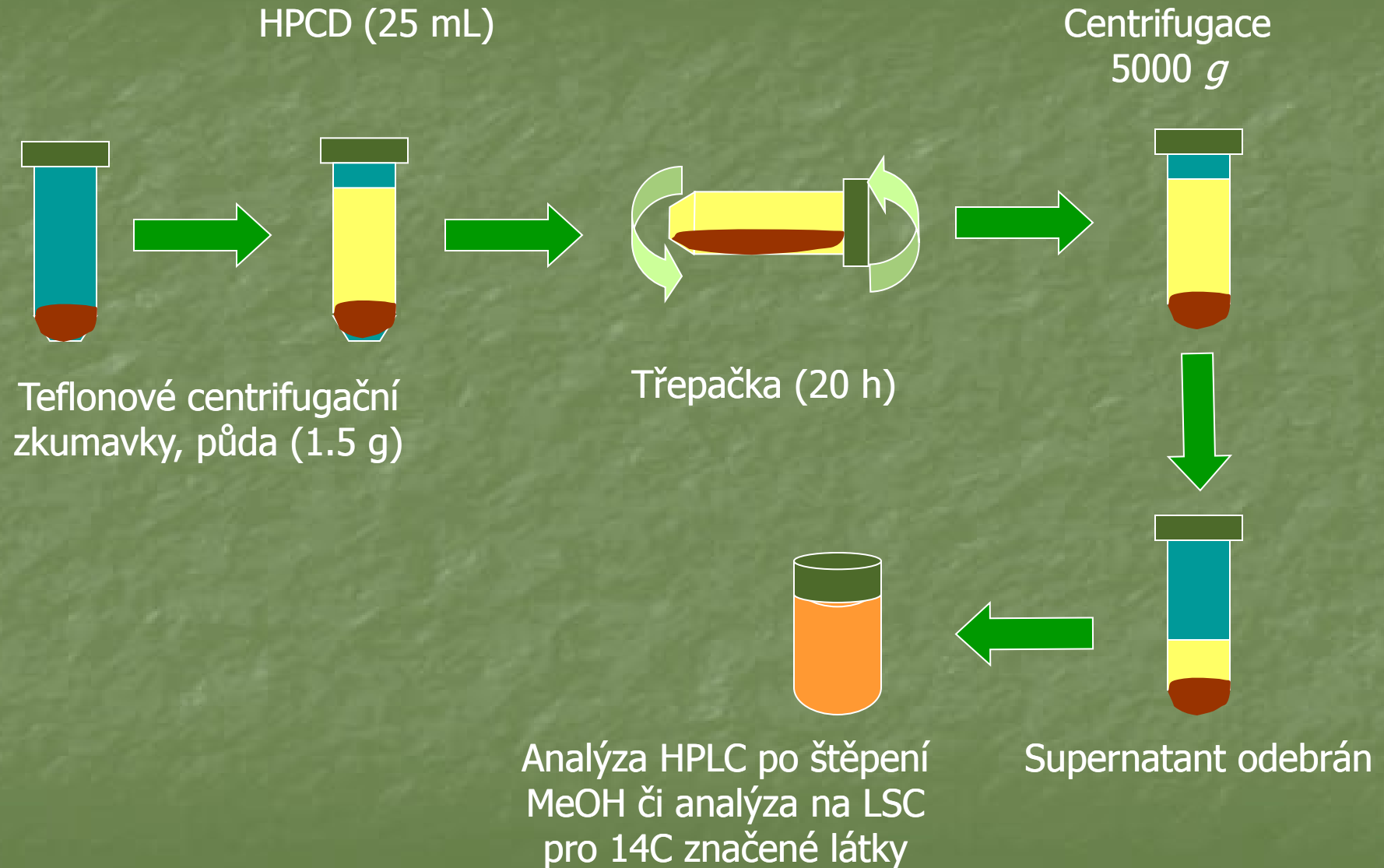
Komplex

Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin

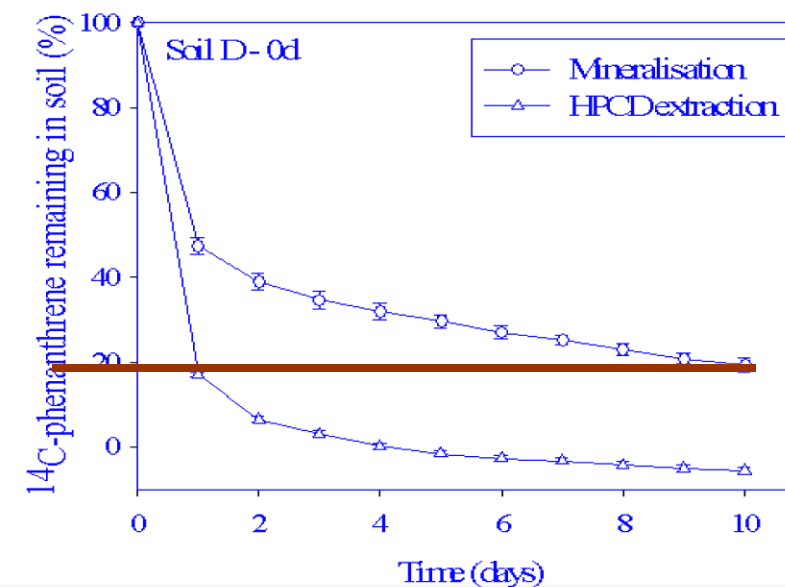
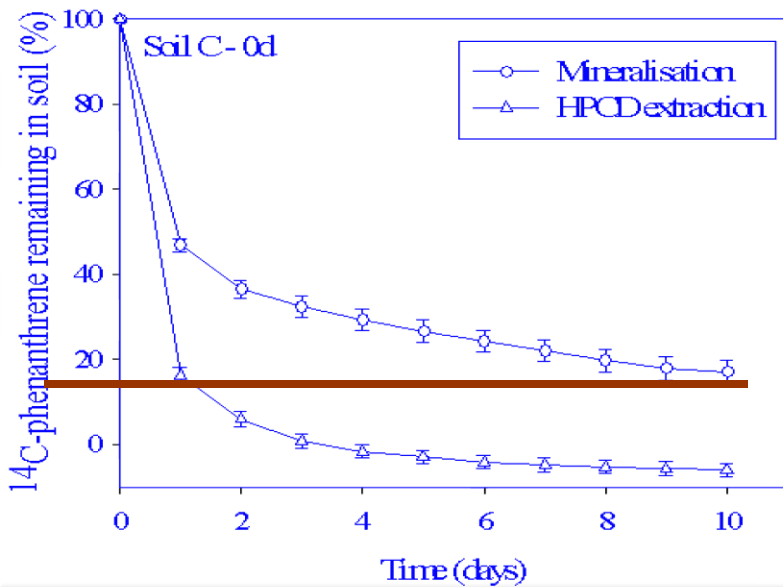
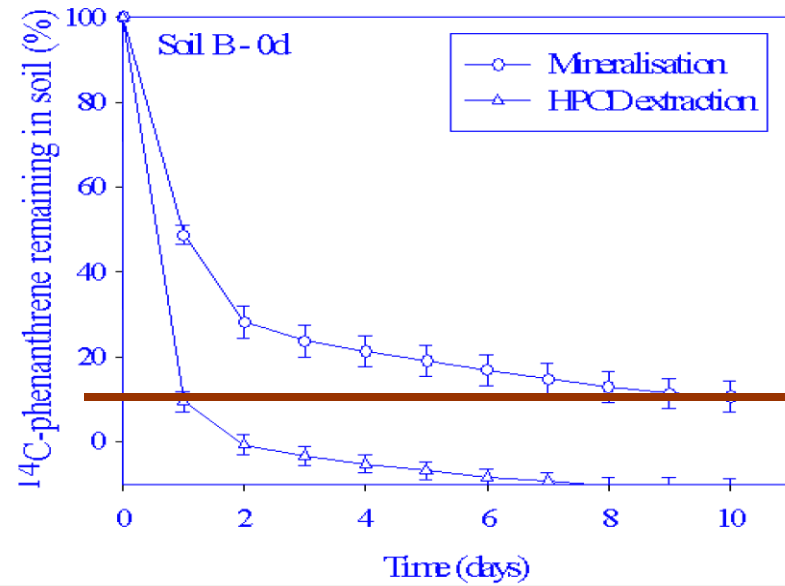
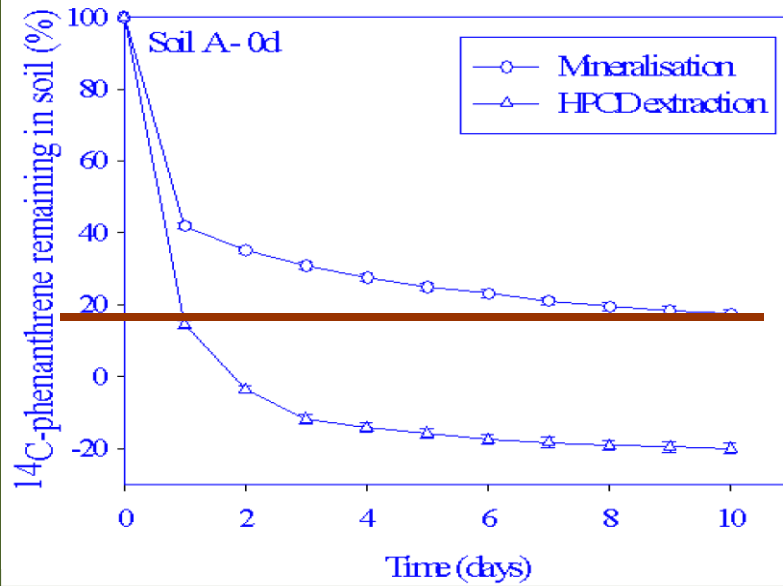
Hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin-kontaminant



# HPCD extrakce



# HPCD ekstrakce vs mineralizace

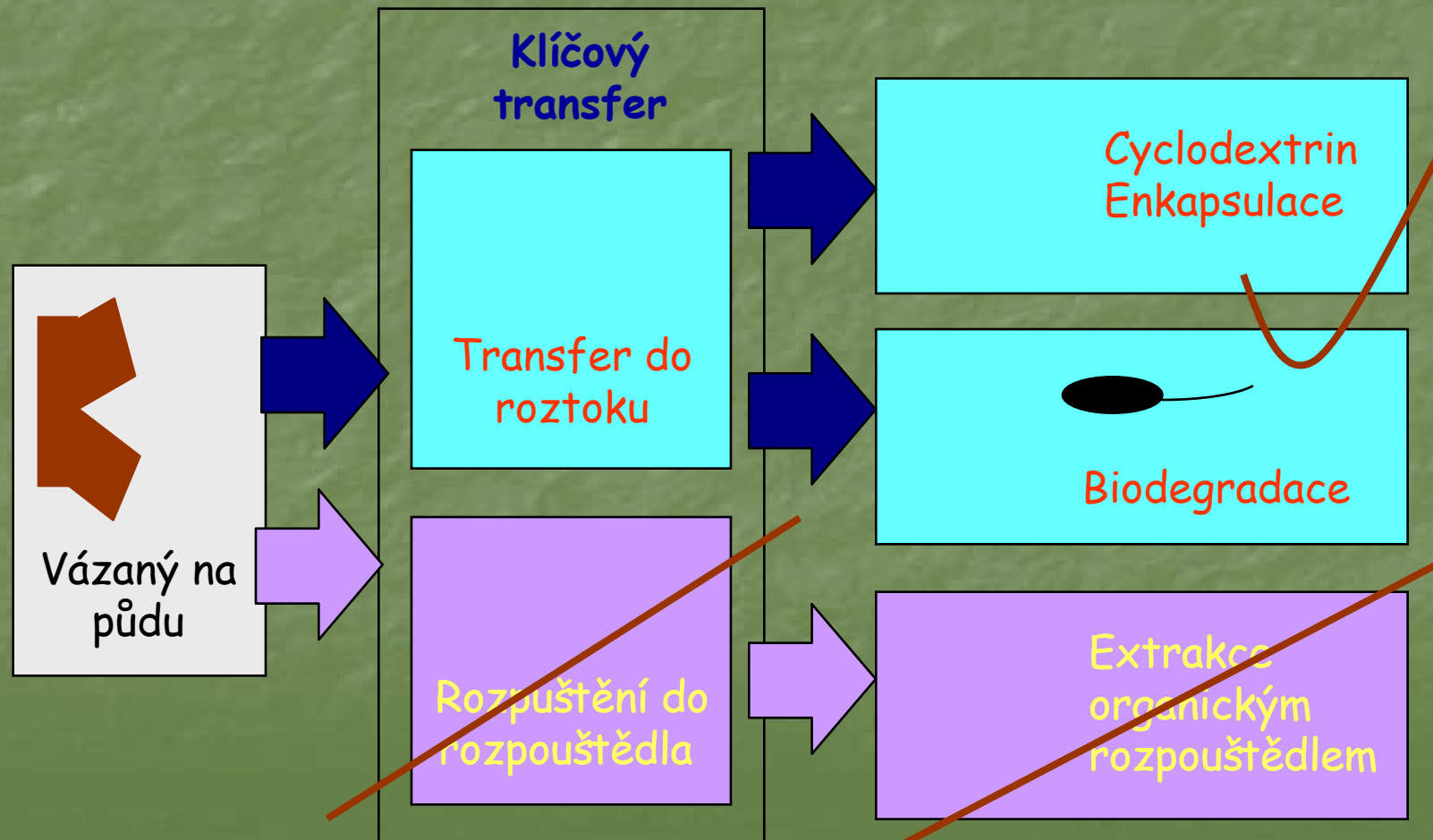


## HPCD ekstrakce vs mineralizace

Soil	Time (days)	<sup>14</sup> C-phenanthrene removed with one HPCD extraction (%)	<sup>14</sup> C-phenanthrene after 10 x 24h mineralisation steps (%)	Ratio
A	0	86.5 ± 1.8	82.5 ± 1.8	0.95
(2.7%)	25	85.4 ± 1.0	82.0 ± 4.9	0.96
	50	86.3 ± 1.0	80.1 ± 2.7	0.92
	100	82.3 ± 0.7	81.4 ± 0.5	0.99
B	0	90.5 ± 2.4	89.4 ± 3.6	0.99
(5.3%)	25	81.9 ± 1.6	81.3 ± 4.0	0.99
	50	81.1 ± 0.4	80.9 ± 5.8	1.00
	100	80.2 ± 1.4	77.0 ± 5.0	0.96
C	0	83.7 ± 2.0	82.9 ± 2.8	0.99
(7.8%)	25	78.9 ± 0.8	78.0 ± 0.7	0.99
	50	73.4 ± 1.0	74.2 ± 0.4	1.01
	100	70.0 ± 1.6	69.9 ± 4.8	1.00
D	0	82.8 ± 0.5	80.6 ± 1.7	0.97
(9.3%)	25	72.3 ± 0.4	70.4 ± 0.3	0.97
	50	67.9 ± 0.4	64.2 ± 1.6	0.95
	100	67.6 ± 0.1	62.7 ± 1.0	0.93

# Extrakce HPCD

- Extrakce cyklodextrinem dokáže mimikovat biodostupnost pro bakterie



# SPME – biomimetické metody

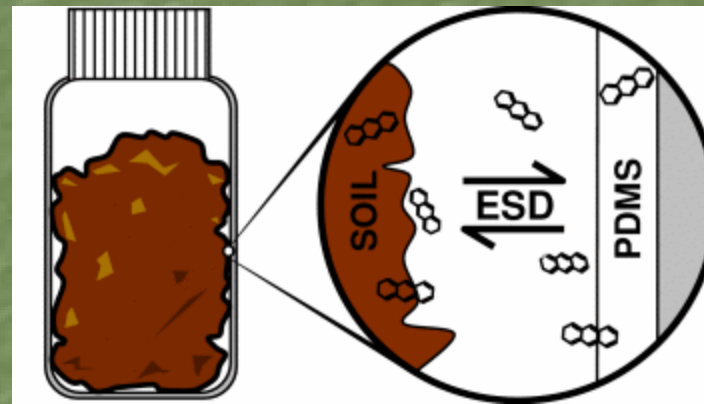
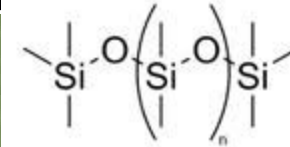
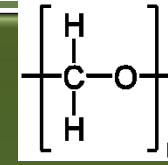


## SPME – biomimetické metody

- Patří mezi metody, kde se vychází z rovnovážného rozdělování – equilibrium sampling devices
- Obecný postup:
  - Nechat potřebný čas k dosažení rovnováhy roztok – vzorkovač
  - Stanovit koncentraci ve vzorkovači
  - Přepočítat fugacitu či koncentraci látky v roztoku

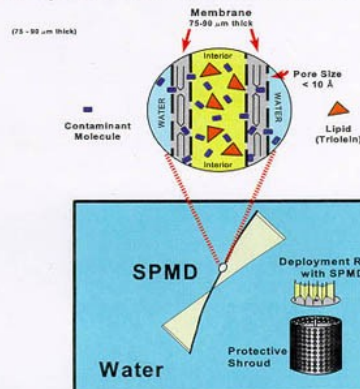
# Polymery – biomimetic devices

- POM – polyoxymethylene
- SPMD - polydimethylsiloxane



Drawing of equilibrium sampling device (ESD) for determination of thermodynamic activity by partitioning to micrometer thin polydimethylsiloxane (PDMS).

## Semipermeable Membrane Device (SPMD)

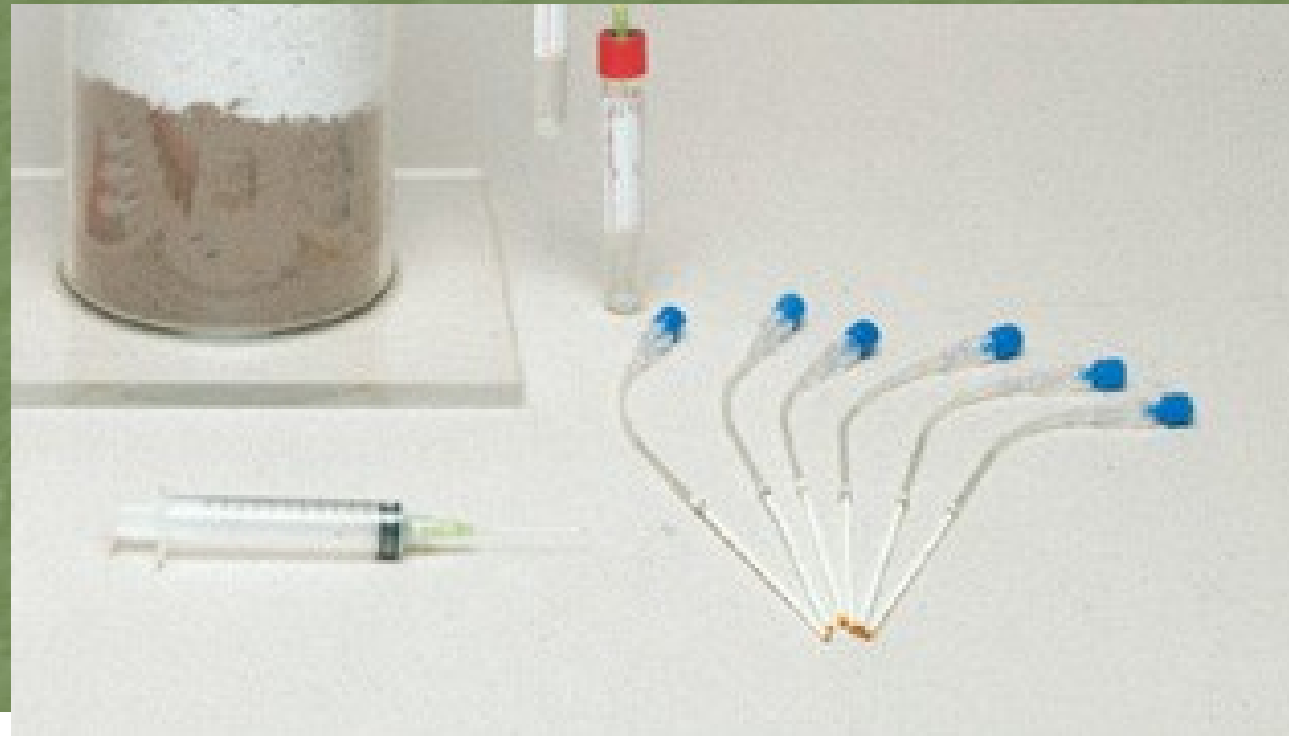


The lipid containing semipermeable membrane device (SPMD) and a typical deployment apparatus.

- SPMD – náplně různé, např. triolein

# Extrakce pórové vody

- Extrakce, tlaková filtrace, centrifugace, vytlačení
- Rhizon, tzv. umělý kořen

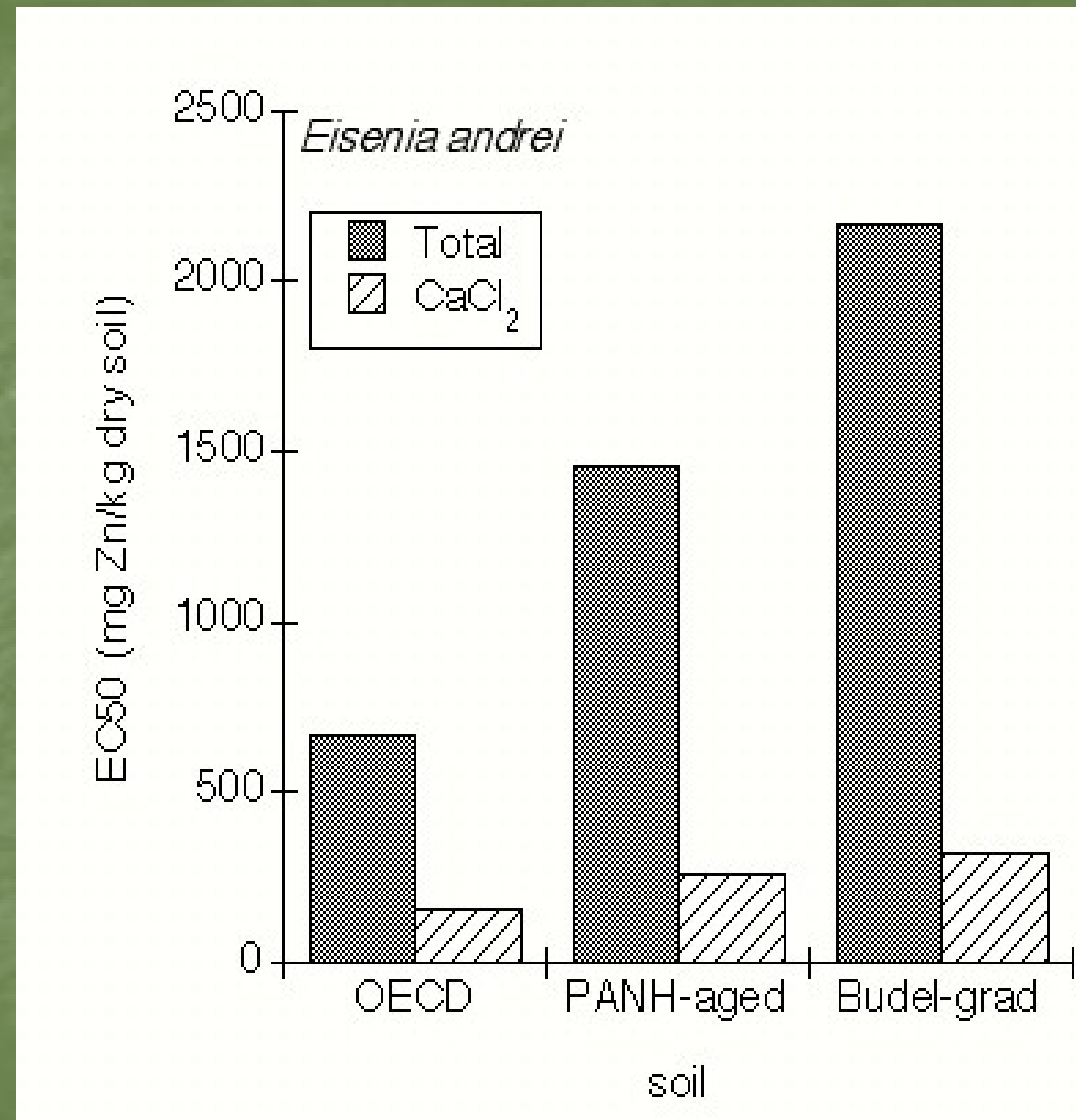


Rhizosphere Research Products Rhizon CSS 19.21.23 F (Koelling version)





## Extrakce roztokem $\text{CaCl}_2$ pro kovy



From: Posthuma et al. (1998)

# Další možná extrakční činidla pro kovy - 1

Extraction agent	Type of binding						
	ion exchange	surface adsorption	precipitate (carbonates, sulphides or hydroxides)	Coprecipitate (amorphous hydroxides)	organic complexes	occlusion (crystalline hydroxides)	mineral crystal lattice
electrolytes	MgCl <sub>2</sub>						
acetic acid (buffer)	CH <sub>3</sub> COOH + CH <sub>3</sub> COOH/CH <sub>3</sub> COONa						
acetic acid (reducing)	CH <sub>3</sub> COOH + NH <sub>2</sub> OH						
oxalic acid (buffer)	(COOH) <sub>2</sub> + (COONH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>						
diluted mineral acid	HNO <sub>3</sub>						



## Další možná extrakční činidla pro kovy - 2

Extraction agent	Type of binding						
	ion exchange	surface adsorption	precipitate (carbonates, sulphides or hydroxides)	Coprecipitate (amorphous hydroxides)	organic complexes	occlusion (crystalline hydroxides)	mineral crystal lattice

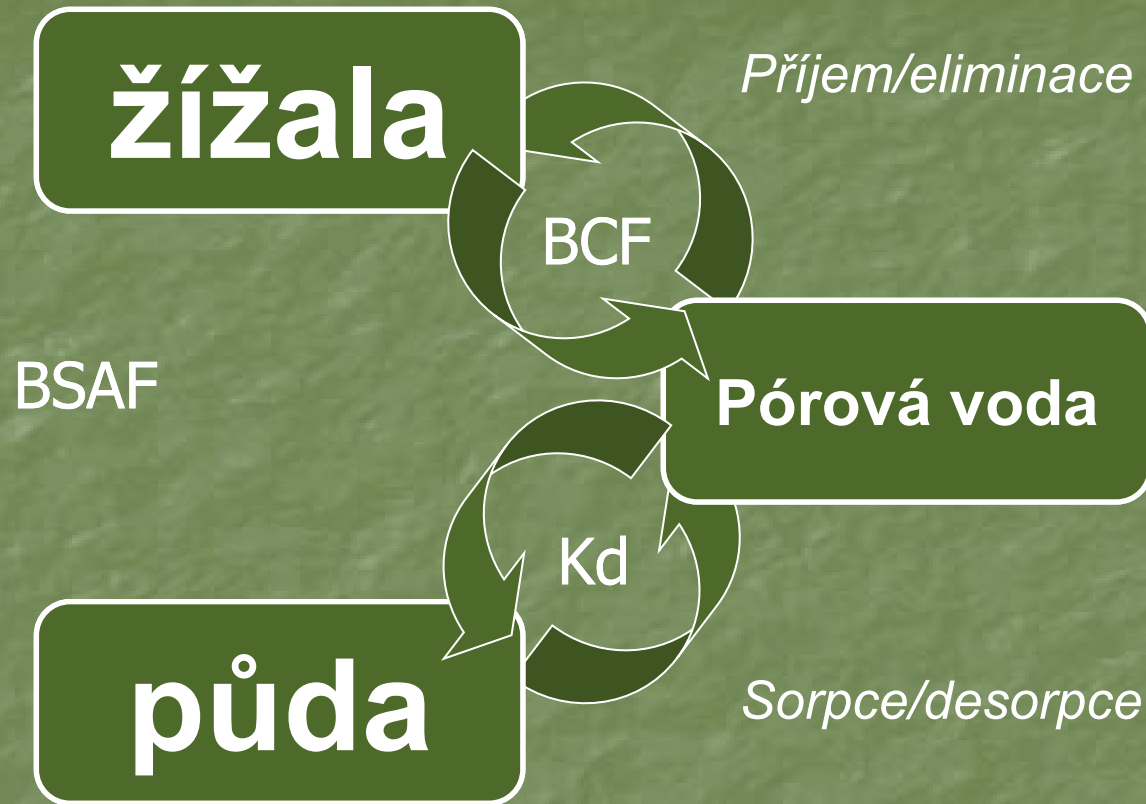
aqua regia	HCB +						
alkaline fusion (extracts + acid)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>						
basic solution					NaOH		
complex formers	EDTA, DTPA						
complex formers	citric acid (hot)						



# Modelování

- Modelování nám umožní, že pokud známe základní mechanismy a principy chování látek v půdě a zákonitosti jejich příjmu organismy, lze extrapolovat:
  - Mezi různými půdami
  - Mezi různými látkami (pokud mají podobný mode of action)
  - Mezi starou a novou kontaminací
  - Z akvatické ekotoxikologie na půdní
  - Z laboratorních testů na reálnou situaci

# Modelování – Equilibrium Partitioning - EqP



**Equilibrium partitioning** = rovnovážné rozdělování  
„Stačí“ znát sorpční chování látky a poté z koncentrace v  
pórové vodě lze odvodit příjem a efekty na organismus

## Modelování koncentrace v půdní pórové vodě

Table 3. Summary of results for the toxicity tests on *Folsomia finetaria*: 50% effect on lethality (LC50), 50% and 10% effect on reproductive output (EC50 and EC10, respectively), and no-observed-effect concentrations (NOEC values) for the eight substances tested

Substance	Lethality		Reproduction		NOEC mg/kg <sup>c</sup>
	LC50 (95% CI) <sup>a</sup> mg/kg <sup>b</sup>	EC50 (95% CI) mg/kg <sup>b</sup>	EC10 (95% CI)		
			mg/kg <sup>b</sup>	μg/L <sup>c</sup>	
Pyrene	53 (47, 58)	16 (12, 19)	10 (7.3, 13)	14	13
Fluoranthene	81 (73, 90)	51 (40, 62)	37 (26, 48)	55	47
Phenanthrene	41 (38, 45)	30 (23, 36)	23 (9.1, 38)	76	21
Fluorene	39 (36, 43)	14 (12, 16)	7.7 (5.2, 10)	54	14
Carbazole	2,500 (2,100, 3,000)	35 (26, 43)	10 (4.6, 17)	99	17
Dibenzothiophene	21 (19, 23)	11 (9.4, 13)	7.8 (5.5, 10)	41	8.6
Dibenzofuran	50 (45, 55)	23 (20, 25)	19 (13, 18)	170	14
Acridine	910 (820, 1,000)	460 (400, 520)	290 (200, 380)	300	230

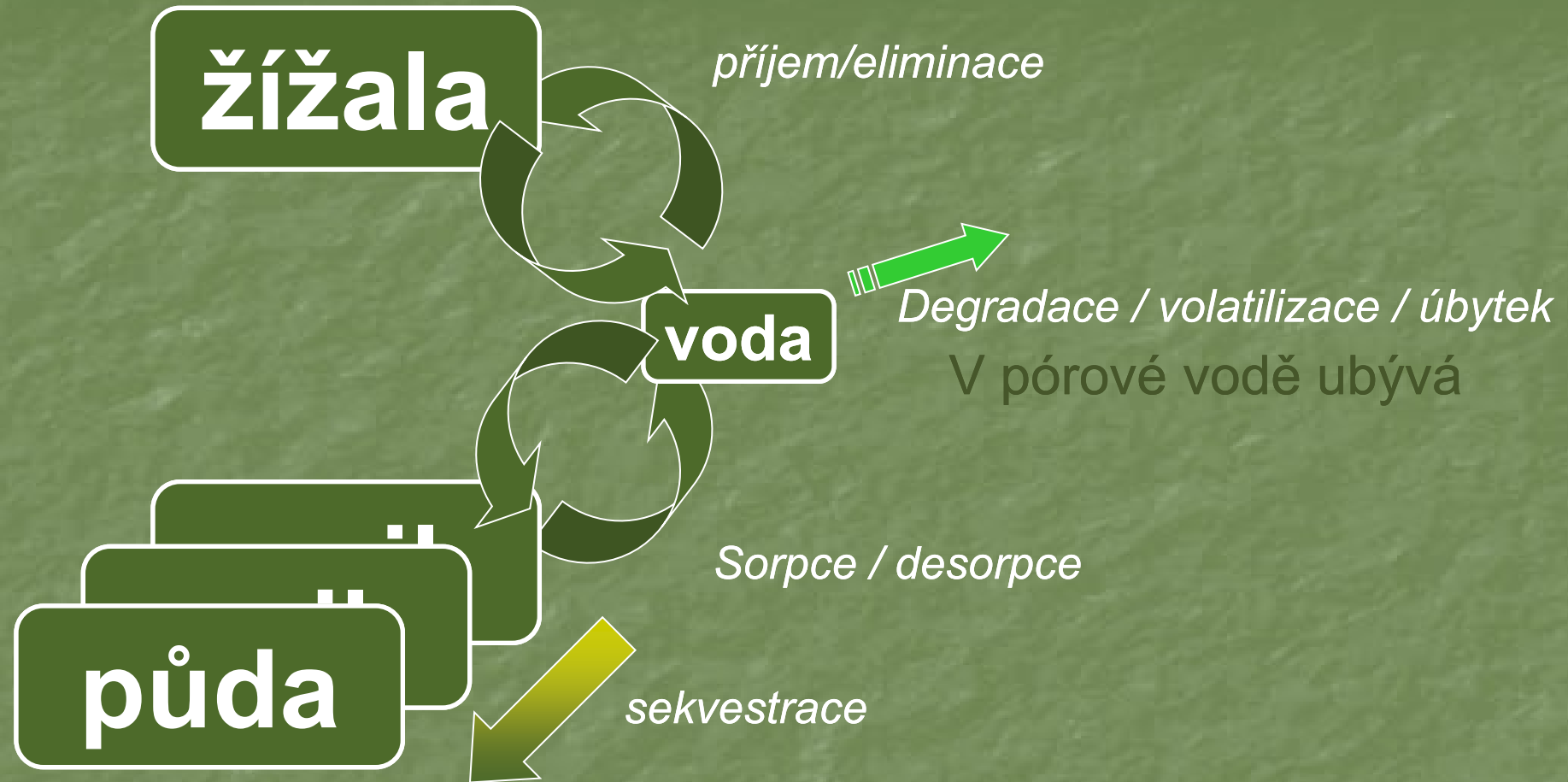
<sup>a</sup> CI = confidence interval.

<sup>b</sup> Soil effects concentration (mg/kg dry wt), based on measured initial concentrations.

<sup>c</sup> Equilibrium soil pore-water concentrations (μg/L) estimated from soil concentrations using  $K_d$  values. Measured  $K_d$  values were used where available, that is, for all substances but pyrene, fluoranthene, and phenanthrene.

- Rovnovážné koncentrace v půdní pórové vodě (μg/L) vypočítané pomocí  $K_d$

# Pore-water hypothesis: má i svá ALE



Dle C.A.M. Van Gestela

Ageing:

Sorpce s časem narůstá a není už predikovatelná z laboratorně stanovených  $K_d$  hodnot



# Modelování osudu a biodostupnosti pro kovy

- jejich biodostupnost je funkcí jejich chemické formy (speciace) a ta je závislá na celé řadě faktorů
  - pH
  - Eh (redox potenciál)
  - Výměnná kationtová kapacita
  - Iontová síla roztoku
  - Obsah organického uhlíku
  - Anorganické ligandy (F<sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup>..)
  - Anorganické oxidy Fe, Mn, Al, Si
  - Sulfidy
  - Organická komplexotvorná činidla (humínové látky, organický uhlík..)
  - Koncentrace jiných kovových iontů





# Speciace je závislá na faktorech např. pH

## Kyselé prostředí

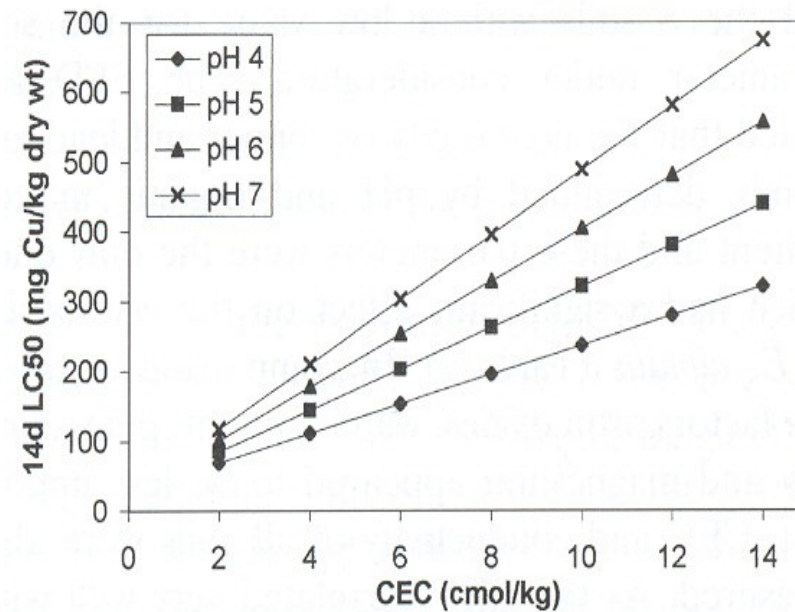
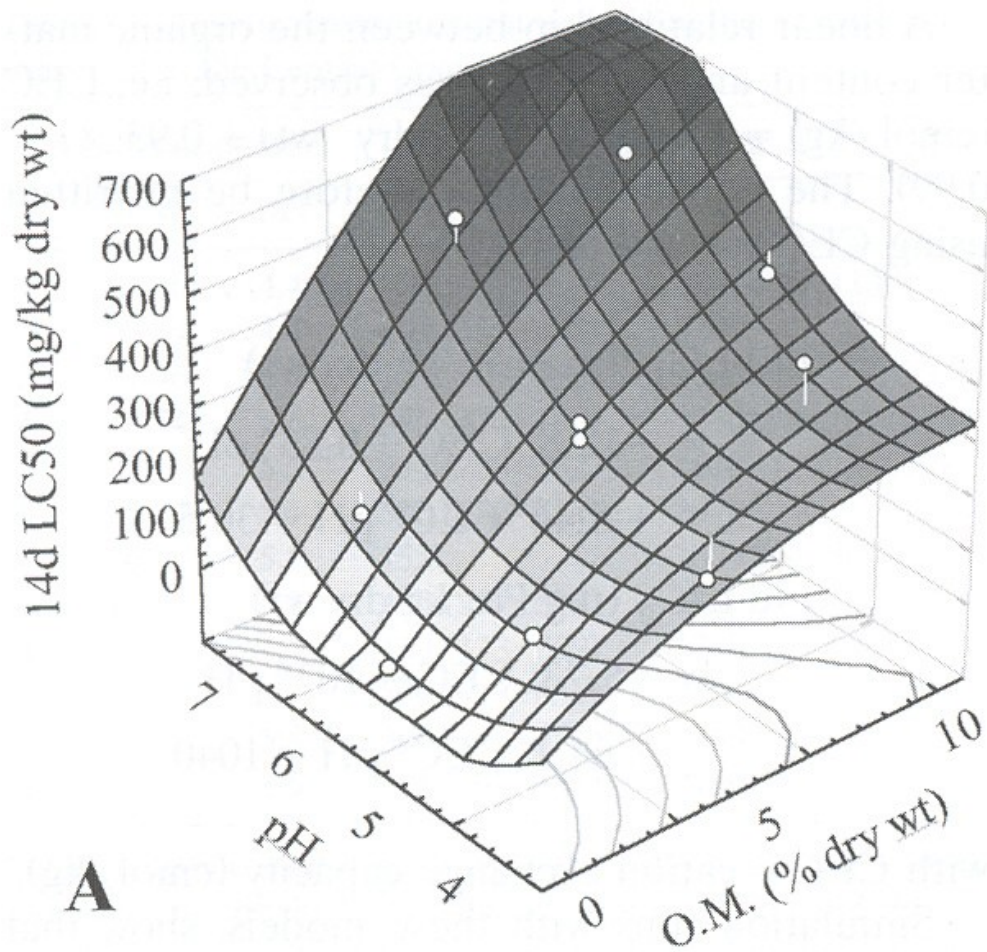
## Zásadité prostředí

Ag(I)	$\text{Ag}^+$ , $\text{AgCl}^0$	$\text{Ag}^+$
As(III)	$\text{As}(\text{OH})_3$	$\text{AsO}_3^{3-}$
As(V)	$\text{H}_2\text{As}_4^-$	$\text{HAsO}_4^{2-}$
B(III)	$\text{B}(\text{OH})_3$	$\text{B}(\text{OH})_4^-$
Be(II)	$\text{Be}^{2+}$	$\text{Be}(\text{OH})_3^-$ , $\text{Be}(\text{OH})_4^{2-}$
Cd(II)	$\text{Cd}^{2+}$ , $\text{CdSO}_4^0$ , $\text{CdCl}^-$	$\text{Cd}^{2+}$ , $\text{CdCl}^-$ , $\text{CdSO}_4^0$ , $\text{CdHCO}_3^+$
Co(II)	$\text{Co}^{2+}$ , $\text{CoSO}_4^0$	$\text{Co}(\text{OH})_2^0$
Cr(III)	$\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$	$\text{Cr}(\text{OH})_4^-$
Cr(VI)	$\text{CrO}_4^{2-}$	$\text{CrO}_4^{2-}$
Cu(II)	$\text{Cu}^{2+}$ , $\text{CuCl}^-$	$\text{CuCO}_3^0$ , $\text{CuHCO}_3^+$
Hg(II)	$\text{Hg}^{2+}$ , $\text{Hg}(\text{Cl})_2^0$ , $\text{CH}_3\text{Hg}^-$	$\text{Hg}(\text{OH})_2^0$
Mn(II)	$\text{Mn}^{2+}$ , $\text{MnSO}_4^0$	$\text{Mn}^{2+}$ , $\text{MnSO}_4^0$ , $\text{MnCO}_3^0$ , $\text{MnHCO}_3^+$
Mo(V)	$\text{H}_2\text{MoO}_4^0$ , $\text{HMoO}_4$	$\text{HMoO}_4^-$ , $\text{MoO}_4^{2-}$
Ni(II)	$\text{Ni}^{2+}$ , $\text{NiSO}_4^0$ , $\text{NiHCO}_3^+$	$\text{NiCO}_3^0$ , $\text{NiHCO}_3^+$ , $\text{Ni}^{2+}$
Pb(II)	$\text{Pb}^{2+}$ , $\text{PbSO}_4^0$ , $\text{PbHCO}_3^+$	$\text{PbCO}_3^0$ , $\text{PbHCO}_3^+$ , $\text{Pb}(\text{CO}_3)_2^{2-}$ , $\text{PbOH}^+$
Sb(III)	$\text{Sb}(\text{OH})_2^+$ , $\text{Sb}(\text{OH})_3$	$\text{Sb}(\text{OH})_4^-$
Se(IV)	$\text{HSeO}_3^-$	$\text{SeO}_3^{2-}$
Se(VI)	$\text{SeO}_4^{2-}$	$\text{SeO}_4^{2-}$
Tl(I)	$\text{Tl}^+$	$\text{Tl}^+$
Tl(III)	$\text{Tl}(\text{OH})_3^0$	$\text{Tl}(\text{OH})_4^-$
V(IV)	$\text{VO}^{2+}$	oxidized to V(V) species
V(V)	$\text{VO}_2^+$ , polyvanadates	$\text{VO}_2(\text{OH})_2^-$ , $\text{VO}_3(\text{OH})^{2-}$
Zn(II)	$\text{Zn}^{2+}$ , $\text{ZnSO}_4^0$	$\text{ZnHCO}_3^+$ , $\text{ZnCO}_3^0$ , $\text{Zn}^{2+}$ , $\text{ZnSO}_4^0$

Protože huminové látky jsou lépe rozpustné v zásaditém prostředí, je také kromě jmenovaných specií častá specie M-DOC, zejména pro Pb, Cu, Zn

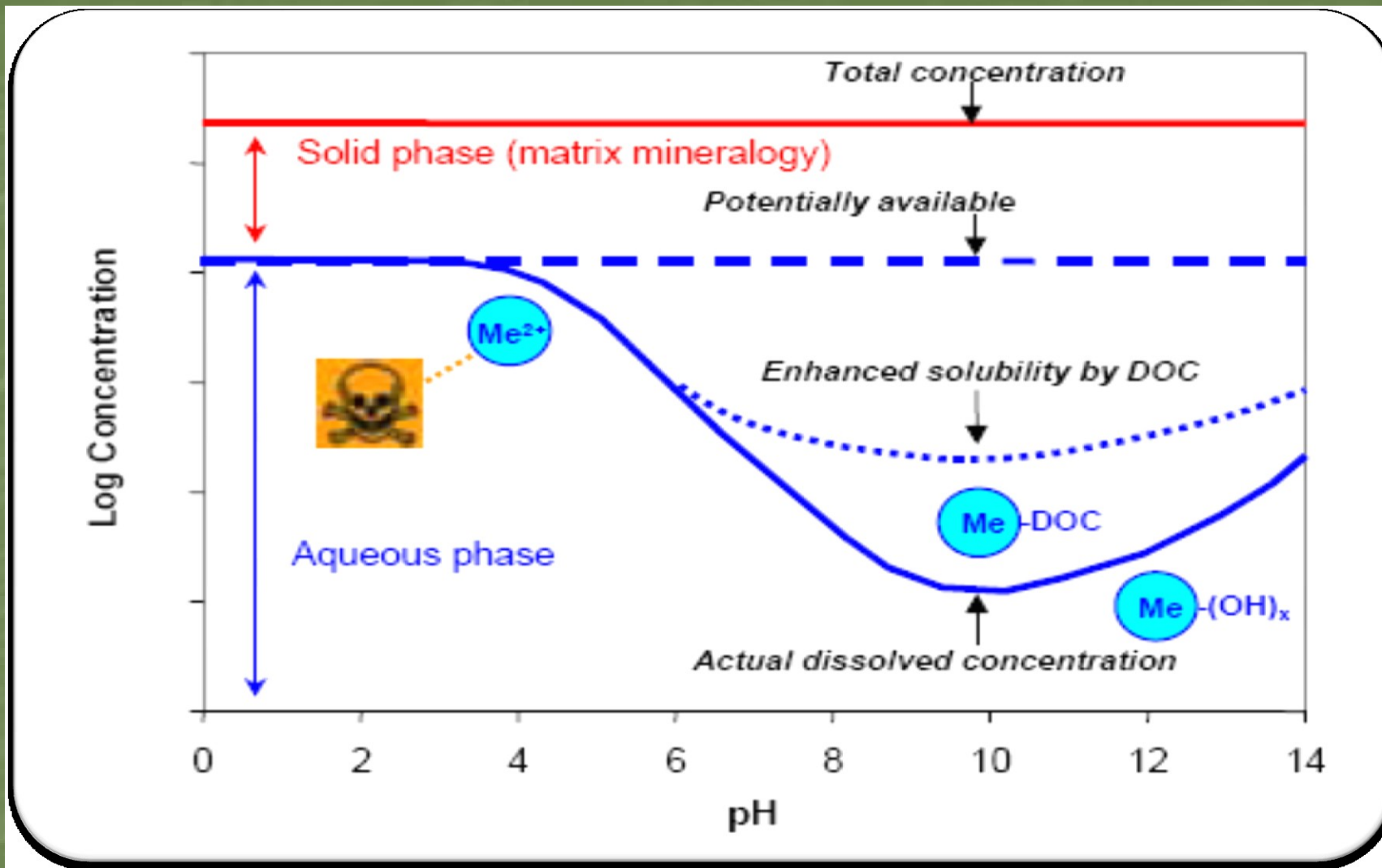


# Příklad – toxicita mědi pro *Enchytraeus albidus*



From Lock & Janssen (2001)

# Příklad – vliv pH na biodostupnost kovu



Převzato z ISO 17402: Soil quality - Guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability in soil and soil materials

## Závěry I

- Neexistuje a ani nemůže existovat univerzální metoda pro hodnocení biodostupnosti, jde však spíš o to, **vytvořit ucelený soubor metod** určený pro různé typy scénářů
- Mezi biologickými a chemickými měly být ustanoveny závislosti a korelace a tyto dvě větve by se **neměly vyvíjet odděleně**
- **Není jedna všezahrnující BIODOSTUPNOST**, ale vždy je biodostupnost **PRO** ... biodegradace, bioakumulace, toxicitu ...

## Závěry II

### **Pokud se zabýváme problematikou biodostupnosti:**

- Znat základní vědecké poznatky o biodostupnosti (mechanismy, principy, modely, vztahy mezi výsledky CHEM a BIO metod, atp.)
- Správný výběr metod a přístupů (např. ISO 17402, HPCD pro mikroorganismy, SPME pro bezobratlé ...)
- Hodnotit biodostupnost relevantně k cíli studie (toxicita vs biodegradace ...)

#### **Web of Science:**

- bioavailability – 49 933 článků !!!
- bioavailability and soil – 5 781 článků
- bioavailability and sediment – 3 278
- bioavailability and freshwater – 503
- bioavailability and water – 8 296

## Příklad - Baterie metod v RECETOX

Biologické metody	Přímé metody	Akumulační test s <i>E. fetida</i>
	Nepřímé metody	Test toxicity <i>F.candida</i>
Chemické metody	Extrakce pórové vody	Rhizon
	Extrakce vodnými rozpouštědly	HPCD, CaCl <sub>2</sub>
	Extrakce slabými organickými rozpouštědly	butanol
	Mikroextrakce na pevnou fázi	SPME
	Superkritická fluidní extrakce	SFE

# Literatura

Míchal I. (1992): Ekologická stabilita. 244 s. ISBN 8085368226.

Tan, K.H. (2011): Principles of Soil Chemistry. Fourth edition. CRC Press. ISBN: 978-1-4398-1392-8

Bleam, W.F. (2012): Soil Environmental Chemistry. Elsevier. ISBN: 978-0-12-384980-9.

Dean, J.R. (2007): Bioavailability, bioaccessibility and mobility of environmental contaminants. Analytical techniques in the sciences. John Wiley and Sons, ISBN 0470025778, p. 292.

Allen, H.E. (2002): Bioavailability of Metals in Terrestrial Ecosystems: Importance of Partitioning for Bioavailability to Invertebrates, Microbes, and Plants (Metals and the Environmental Series). SETAC, ISBN-10: 1880611465.

Naidu. R. (2008): Chemical bioavailability in terrestrial environments. Elsevier, ISBN 0444521690, p. 809.

National Research Council (2003): Bioavailability of contaminants in soils and sediments: processes, tools, and applications. National Academies Press, ISBN 0309086256, p. 420.

Hamelink, J.L. (1994): Bioavailability: physical, chemical, and biological interactions. SETAC special publications series. Lewis Publishers, ISBN 1566700868, p. 239.