



**Zastoupení adsorbovatelných organicky
vázaných halogenů (AOX) přirozeného původu
ve vodárenské nádrži Hamry.**

Praha 2010

Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.

**Ústav experimentální botaniky AV ČR, v.v.i.
Izotopová laboratoř
Praha
Prosinec 2010**

Vypracovali:

Dr. Josef Holík
Ing. Miroslav Matucha, DrSc.
Dr. Sándor Forczek, PhD.
Mgr. Jana Holakovská

Poděkování:

Autoři děkují sponzorům tohoto výzkumu: Krajskému úřadu Pardubice, Vodárenské společnosti Chrudim, a.s. a Vodovodům a kanalizacím Chrudim, a.s. za poskytnuté finanční prostředky. Dále děkují pracovníkům laboratoří Povodí Labe s.p. za provedení analýz AOX a TOC a za poskytnutí výsledků monitoringu adsorbovatelných chlorovaných organických látek v povodí vodárenské nádrže Hamry, který proběhl v letech 2007 až 2008.

Zastoupení adsorbovatelných organicky vázaných halogenů (AOX) přirozeného původu ve vodárenské nádrži Hamry.

Úvod

Jako adsorbovatelné organicky vázané halogeny (AOX) je označována skupina organických látek obsahující ve své molekule halogeny, nejčastěji chlor, které se z vodného mírně kyselého roztoku adsorbují na aktivní uhlí, po jehož spálení je obsah halogenů stanoven mikrocoulometrickou titrací. Stanovují se jako skupinový parametr, který měl původně charakterizovat znečištění povrchových vod látkami antropogenního původu jako byly nejruznější herbicidy (např. 2,4-dichlorfenoxyoctová kyselina, atrazin, kyselina trichloroctová) a insekticidy (DDT, lindan a další), používané v zemědělství, chlorované odpadní látky z bělení celulosy, v průmyslu používané polychlorované bifenyly nebo chlorovaná rozpouštědla (perchloroethylen, chloroform).

Chlorované látky byly do osmdesátých let minulého století považovány výlučně za průmyslové produkty. V souvislosti s rozvojem sledování kvality životního prostředí a se studiem jeho znečištění antropogenní činností se však zjistilo, že ve Skandinávii i jinde ve světě v oblastech nezatížených lidskou činností, kde nikdy nebyly aplikovány žádné herbicidy nebo pesticidy ani tam nebyly žádné průmyslové podniky, jsou v povrchových vodách rozsáhlých zalesněných území obsaženy vysoké hladiny AOX, dosahující desítek až stovek $\mu\text{g/L}$.

Dalším výzkumem se prokázalo, že se jedná o látky přírodního původu, vznikající chlorací půdní organické hmoty. Bylo prokázáno, že chlorace probíhá v lesní půdě především za katalýzy mikrobiálními exoenzymy chloroperoxidázami v přítomnosti chloridových iontů (Asplund and Grimvall 1991). Studie chlorovaných organických látek v lesních ekosystémech a vodotečích byly prováděny především skupinou z Linköping University (Öberg et al. 2002, Öberg 2003, Johansson et al. 2003, Öberg et al. 2005, Öberg and Sandén 2005). Vzniklé chlorované organické látky však nebyly podrobně charakterizovány. Práce indikovaly pouze přítomnost chlorohumusu, chlorovaných fulvokyselin a látek o nízké molekulární hmotnosti jako jsou chloroctové kyseliny, chloroform, chlorfenoly, chloranisoly a další chlorované aromatické sloučeniny, z nichž některé by mohly být i v nižších koncentracích toxické.

Chlorid sodný, nejrozšířenější sloučenina chloru, se k nám dostává především atmosférickým přenosem z oceánů nebo z některých antropogenních zdrojů, např. při spalování uhlí. Z hlediska vlivu na životní prostředí byl považován za chemicky inertní látku a jeho role v lesním ekosystému byla dlouho považována za zanedbatelnou. V poslední době však bylo zjištěno, že role chloru v přírodě je aktivní a je nutno se dívat na koloběh chloru v ekosystémech komplexně. Atmosférické srážky vymývají chloridy z atmosféry a koncentrace chloridu ve srážkové vodě není bezvýznamná, u nás dosahuje hodnot i kolem 1 mg/L . Jeho aerosoly jsou přímo zachycovány vegetací, jeho depozice se pohybují v množstvích desítek kg v kontinentálních oblastech (např. u nás) a až stovek kg/ha za rok v přímořských oblastech (kupř. v jihozápadním Norsku) v závislosti na geografické situaci a klimatických podmínkách. Chlorid s půdními organickými látkami reaguje převážně bioticky za zprostředkování enzymů, ale i abioticky, tj. nechová se pasivně, je relativně brzy vázán a tvoří součást biogeochemického cyklu chloru (Öberg 2003, Winterton 2000). Důležitým faktorem chlorace v lesním ekosystému je působení mikroorganismů, hub a nižších rostlin. Tyto organizmy produkují exoenzymy schopné způsobit konverzi chloridu na kyselinu

chlornou (tj. radikály chloru) chlorující pak půdní organickou hmotu. V lesní půdě je obsažen lignin, huminové kyseliny, jejich degradací vzniklé fulvokyseliny a celá řada dalších látek vznikajících jejich degradací.

Mikrobiální chlorací humusu probíhající v půdě, ale i vlivem abiotických faktorů (Keppler et al. 2000) vzniká chlorohumus, který obsahuje celou škálu chlorovaných sloučenin jako chlorované huminové kyseliny, chlorované fulvokyseliny, i řadu chlorovaných nízkomolekulárních látek. Předpokládán je rovněž vznik chlorovaných aromatických látek pocházejících z degradace ligninu. Tyto látky bývají obsaženy v odtoku z lesního ekosystému. Nízkomolekulární chlorované sloučeniny, jako jsou chloroctové kyseliny a chloroform jsou poměrně dobře detekovatelné. Na našem pracovišti byl v dlouhodobých modelových pokusech za pomoci izotopů chloru ^{36}Cl a uhlíku ^{14}C bezpečně prokázán vznik chloroctových kyselin v lesní půdě (Matucha et al. 2007a,b) i tvorba těkavých chlorovaných uhlovodíků jako jsou methylochlorid a chloroform (Rohlenová et al. 2009).

V lesní půdě vznikající chlorované organické látky jsou stanovovány jako adsorbovatelné organohalogeny (AOX). Jejich obsah, udávaný v mezích 200-1000 mg Cl/kg půdy, je úměrný celkovému obsahu uhlíku v půdě a přesahuje obsah volného chloridu. Vznik různých typů chlorovaných látek v lesní půdě vede k tvorbě sloučenin snadněji degradovatelných a lépe rozpustných ve vodě. Ve vodě odtékající z lesního ekosystému do rezervoárů pitné vody mohou tyto látky přispívat ke zvyšování obsahu AOX, a tím ke zhoršování její kvality.

V letech 2006 až 2008 provedly laboratoře Povodí Labe rozsáhlý monitoring AOX v povodí vodárenské nádrže Hamry (Ferenčík et al. 2008). Ojediněle byly nalezeny zvýšené koncentrace AOX v povrchových vodách z antropogenně málo zatížené oblasti povodí hamerské vodní nádrže. Nalezené hodnoty svědčily mj. o jisté korelaci hodnot AOX s hodnotami koncentrací huminových látek, vyplavovaných z lesních porostů a rašelinišť povodí nádrže Hamry, což ukazovalo na jejich přírodní původ. Nebyla také nalezena žádná xenobiotika. Podrobnými analýzami vzorků z povodí hamerské nádrže nebyly prokázány organohalogeny antropogenního původu, testy na přítomnost celkem 80 nízkomolekulárních organických xenobiotik (především pesticidů) obsahujících v molekule halogen byly negativní. Skutečnost, že se zde nepodařilo prokázat přítomnost halogenoctových kyselin v analyzovaných vzorcích je způsobena jejich poměrně rychlým mikrobiálním odbouráváním (Matucha et al. 2003). Dosavadní poznatky získané monitoringem AOX v povodí vodní nádrže Hamry u Hlinska, který provedly laboratoře Povodí Labe (Ferenčík et al. 2008), vedou k závěru, že hodnoty AOX, které indikují občasná dosažení či překročení stanovených limitů, jsou způsobeny přírodními půdními procesy. Tyto poznatky odpovídají výsledkům publikovaným zejména skupinou z University Linköping (Öberg et al. 2002-2005) a tento závěr potvrzují i nejnovější vědecké poznatky, na kterých se podílí i naše pracoviště (Matucha et al. 2007a,b a Rohlenová et al. 2009).

Impulsem k našemu zkoumání byl nález ojediněle zvýšených hodnot koncentrací AOX v povrchových vodách z antropogenně málo zatížené oblasti povodí hamerské vodní nádrže během monitoringu, který prováděly laboratoře Povodí Labe v letech 2006 až 2008 (Ferenčík et al. 2008). Předkládáme zde výsledky projektu získané v roce 2010 v rámci kooperace s Pardubickým krajem, Povodím Labe, státní podnik, Vodárenskou společností Chrudim, a.s. a Vodovody a kanalizací Chrudim, a.s. v oblasti ochrany životního prostředí se zaměřením na výše uvedené studium zastoupení AOX ve vodárenské nádrži Hamry, navazující na recentní vesměs publikované výsledky výzkumu osudu chloru v lesním ekosystému, na kterém se podílí mimo několika zahraničních pracovišť i naše laboratoř, a na výsledky účelově

prováděného monitoringu AOX v povodí této vodárenské nádrže, který prováděly laboratoře Povodí Labe v letech 2006 až 2008 (Ferenčík et al. 2008).

V tomto vědecko-výzkumném projektu jsme se zaměřili na studium adsorbovatelných organických halogenů v povrchových vodách povodí vodárenské nádrže Hamry a ve vodě přitékající do úpravní vody. Na vybraných odběrových místech bylo sledováno:

1. zastoupení AOX v původních vzorcích
2. zastoupení AOX v nízkomolekulárních frakcích do 500 daltonů získaných ultrafiltrací
3. celkový obsah organického uhlíku (TOC) v původních vzorcích
4. celkový obsah organického uhlíku (TOC) v nízkomolekulárních frakcích
5. měřena spektra v UV i viditelné oblasti u původních vzorků
6. měřena spektra v UV i viditelné oblasti v jednotlivých nízkomolekulárních frakcích.
7. stanoven obsah chloroformu v původních vzorcích vody

Dále byly měřeny následující parametry:

1. pH odebraných vzorků vody
2. obsah chloridu ve vodě
3. teplota vody při odběrech
4. denní hodnoty maximální teploty vzduchu
5. množství srážek

Tyto údaje byly sledovány, protože jak abiotické tak biotické faktory s těmito parametry úzce souvisí.

Pro vydělení nízkomolekulární frakce do velikosti molekul 500 daltonů byla použita ultrafiltrace pracující s přetlakem dusíku, umožňující získat frakci s látkami do 500 daltonů, jejichž vyšší koncentrace by především mohly představovat určité zdravotní riziko (sem patří nízkomolekulární látky jako je chloroform, chloroctové kyseliny, chlorfenoly, chloranisoly, chlorované dikarboxylové kyseliny atd.). Použití ultrafiltrace pro vydělení nízkomolekulárních látek ze složitějších směsí byla popsána i dalšími autory (Jones and O'Melia 2001, Thurman et al. 1982, Lin et al. 1999).

Ultrafiltráty jsou poměrně složité směsi nízkomolekulárních sloučenin o velice nízké koncentraci. V této směsi jen menší část látek obsahuje chlor. Obsahy jednotlivých sloučenin nesoucích chlor ve své molekule jsou v převážné míře pod hranicí stanovitelnosti. Abychom byli schopni analyzovat tyto směsi a mohli se pokusit o charakterizaci aspoň některých látek, pokusili jsme se vypracovat metodu prekoncentrace přítomných látek pomocí sorpce na koloně plněné DEAE-celulosou. Použití DEAE-celulose pro koncentraci humínových látek bylo popsáno již dříve (Hiraide et al. 1994, Ibrahim et al. 2008). Pro sledování účinnosti koncentrační metody bylo použito měření absorbance jednotlivých frakcí v UV oblasti. Použití UV spektroskopie pro sledování účinnosti separačních procesů bylo popsáno v různých pracích (Korshin et al. 1997, Duarte et al. 2003).

V odebraných vzorcích vody byl stanovován obsah vzniklého chloroformu plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD) s pomocí mikroextrakce tuhou fází (SPME technika) (Stack et al. 2000, Procházková 2002, Deok-Hee et al. 2003, Pastore et al. 2005)

Pomocí radioizotopů chloru ^{36}Cl a uhlíku ^{14}C je studována tvorba jednotlivých AOX v lesní půdě v in vitro experimentech (Matucha et al. 2007b).

Je třeba porozumět a důsledně oddělovat biogeochemický cyklus chloru a přírodní procesy probíhající v lesním ekosystému od antropogenních vlivů a hrozeb, pocházejících z lidských aktivit, abychom byli schopni posoudit možná zdravotní rizika pro člověka při využití vodních nádrží jako jsou Hamry a nádrží obdobných jako zdrojů pitné vody. Zároveň by to mělo umožnit snadnější posouzení nevhodnějších vodárenských technologií pro úpravu pitné vody.

Experimentální část

Lokalita

Vodárenská nádrž Hamry (obr. 1) byla postavena před sto lety na toku řeky Chrudimky. Jedná se o vodní zdroj pro město Hlinsko a okolní obce tj. cca pro 20 000 obyvatel. Z této nádrže je podzemním vedením přiváděna surová voda do cca 500 m vzdálené úpravný vody, odkud je po úpravě dodávána do skupinového vodovodu. V povodí žije něco přes 2000 obyvatel. Objem nádrže je asi 1,6 milionů m³ vody. Povodí této vodní nádrže je asi 56 km² a je tvořeno ze 70 % lesy s převahou smrkové monokultury a pouze z 15 % zemědělskou půdou, což jsou převážně louky. Významným fenoménem v povodí této nádrže jsou rašeliniště, vyskytující se na mnoha místech ve sledované oblasti, ze kterých jsou do vodotečí uvolňovány huminové látky včetně celé řady jejich metabolitů a které jsou zodpovědné za vyšší obsahy celkového uhlíku i AOX v povrchových vodách.

Obrázek 1:

Vodárenská nádrž Hamry



Do vodní nádrže ústí tři hlavní přítoky, které jsou zodpovědné za transport látek z celého povodí. Těmito přítoky jsou:

Chrudimka, která zabírá asi 53% povodí, jejími důležitými přítoky jsou Chlumětínský a Krejcarský potok.

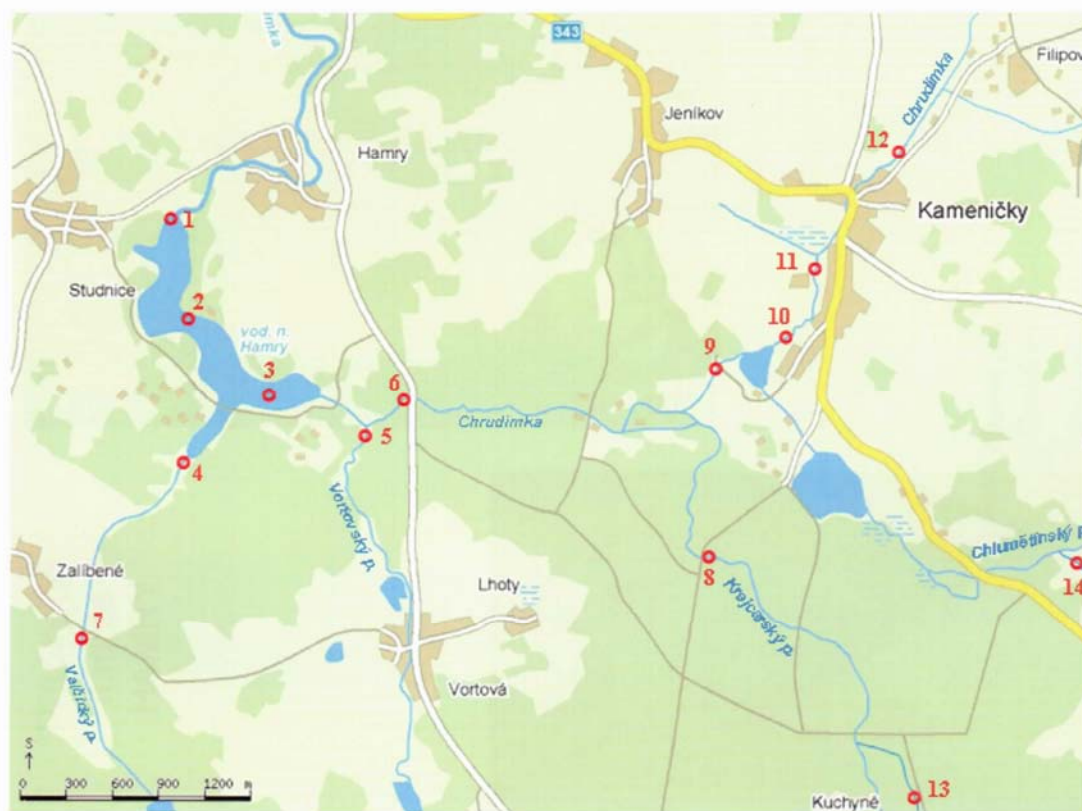
Vortovský potok, jehož povodí zaujímá asi 23%.

Valčický potok, který odvodňuje asi 20% povodí.

V rámci dlouhodobého monitoringu jakosti vody, prováděného laboratořemi Povodí Labe, byla na vodní nádrži Hamry a na jejích přítocích používána následující odběrová místa (obr. 2).

Obrázek 2:

Schéma profilů monitoringu jakosti vody na vodárenské nádrži Hamry a jejích přítocích



- 1 nádrž – u hráze
- 2 nádrž – střed
- 3 nádrž – konec vzdutí
- 4 Valčický potok – nad nádrží
- 5 Vortovský potok – před soutokem s Chrudimkou
- 6 Chrudimka – silnice
- 7 Valčický potok – mlýn
- 8 Krejcarský potok – nad soutokem s Chrudimkou
- 9 Chrudimka – Kameničky
- 10 Chrudimka – nad rybníkem Kameničky
- 11 Chrudimka – pod Jeníkovským potokem
- 12 Chrudimka – nad Kameničkami
- 13 přítok do Krejcarského potoka
- 14 přítok do Chlumětínského potoka

Vodní dílo Hamry – vodárenská nádrž pro skupinový vodovod Hlinsko, Nasavrky a další (okr. Chrudim)

Pro tuto studii byly opakovaně odebírány vzorky vody v úpravně vody před úpravárenským procesem a na odběrových místech č. 6, 8 a 13 (obr. 3).

Úpravna vody:

589 m.n.m.

koordináty S 49° 44' 31,26''
V 15° 55' 16,54''

Odběrové místo 6:

609 m.n.m.

koordináty S 49° 43' 38,72''
V 15° 56' 07,42''

Odběrové místo 8:

633 m.n.m.

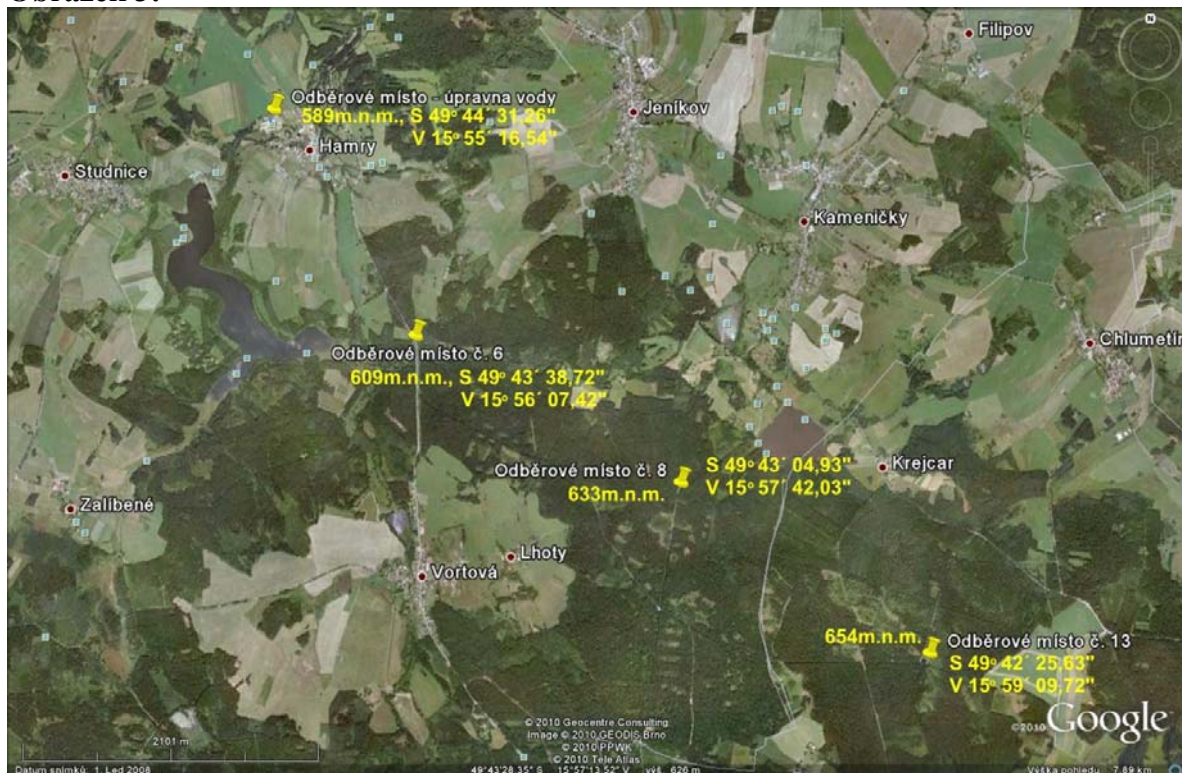
koordináty S 49° 43' 04,93''
V 15° 57' 42,03''

Odběrové místo 13^{cc}

654 m.n.m.

koordináty S 49° 42' 25,63''
V 15° 59' 09,72''

Obrázek 3:



V mapě oblasti jsou popsána a vyznačena odběrová místa.

Z hlediska studia vzniku chlorovaných organických látek byla pro nás nejdůležitější odběrová místa č. 13 a 8, kde byly předpokládány vyšší obsahy celkového uhlíku i AOX, dále bylo vybráno odběrové místo č. 6, což je Chrudimka před vtokem do vodní nádrže a úpravna vody s vodou, odebíranou před zahájením úpravárenského procesu.

Odběrové místo č. 13 (obr. 4)

Jde o pramenné stružky (pramennou oblast) jednoho z přítoků Krejcarského potoka, kde odtok vody je velmi pomalý, oblast je hojně porostlá rašeliníkem na rašeliništi a starší smrkovou monokulturou. Celé území je prakticky nedotčené lidskou činností, s výjimkou lesního hospodářství.

Obrázek 4:



Odběrové místo č. 8 (obr. 5)

Krejcarský potok protékající rozsáhlým lesním porostem s hlavním podílem smrkové monokultury, oblast je hojně porostlá mechy včetně rašeliníku a jsou zde i rašeliniště. Oblast je možno označit jako plochu bez antropogenní činnosti, zase s výjimkou lesního hospodářství.

Obrázek 5:



a odběrové místo č. 6. (obr. 6)

Chrudimka (u silnice), po napojení Krejcarského potoka protéká vzrostlým smíšeným lesem.

Obrázek 6:



Posledním odběrovým místem je úpravná vody, Vzorky k analýzám byly odebírány z místa před zahájením úpravárenského procesu. (obr. 7)

Obrázek 7:



Na těchto lokalitách byly opakovaně odebrány vzorky vody na přímé stanovení AOX, TOC a těkavých látek (především chloroformu) a byly změřeny UV-VIS spektra v oblasti 220 až 600 nm i k vydělení nízkomolekulární frakce do velikosti molekul 500 daltonů, ve které byly rovněž stanoveny obsahy AOX a TOC a změřeny UV-VIS spektra

Materiál a metody

Pro vydělení nízkomolekulární frakce do velikosti molekul 500 daltonů byla použita ultrafiltrace pracující s přetlakem dusíku, použitím membránového filtru Millipore YC 500 diam. 76mm byly izolovány frakce s látkami do 500 daltonů, jejichž vyšší koncentrace by především mohly představovat určité zdravotní riziko (sem by patřily nízkomolekulární látky jako je chloroform, chloroctové kyseliny, chlorfenoly, chloranisoly, chlorované dikarboxylové kyseliny atd.). Vhodnost použití této metody byla potvrzena i dalšími autory (Jones and O'Melia 2001, Thurman et al. 1982, Lin et al. 1999). Ultrafiltrace byla prováděna v míchané ultrafiltrační cele Millipore typ 8400 s minireservoárem RC800. Aby nemohlo dojít během ultrafiltrace ke kontaminaci vzorků těkavými chlorovanými sloučeninami, potenciálně přítomnými v laboratorním ovzduší byly filtry před vlastním použitím promyty vyvařenou vodou 2x destilovanou z křemenné aparatury a jednotlivé ultrafiltráty byly jímány pod argonem.

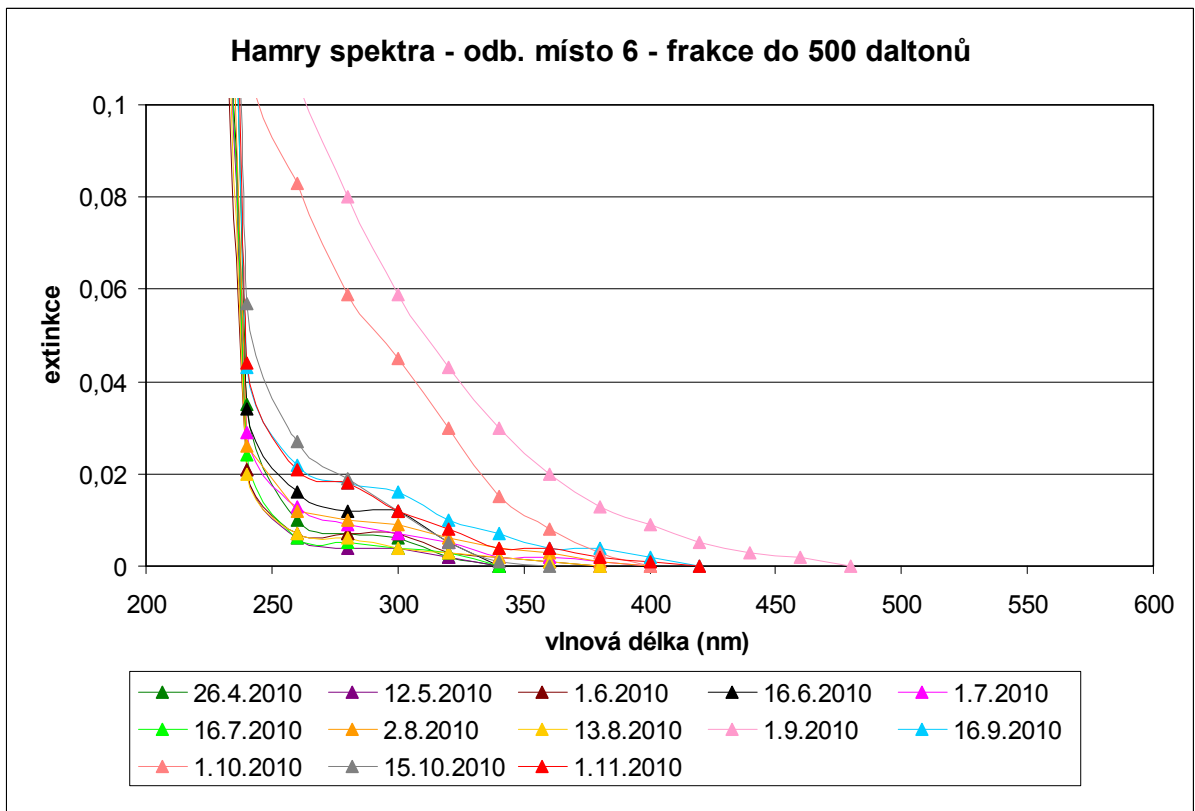
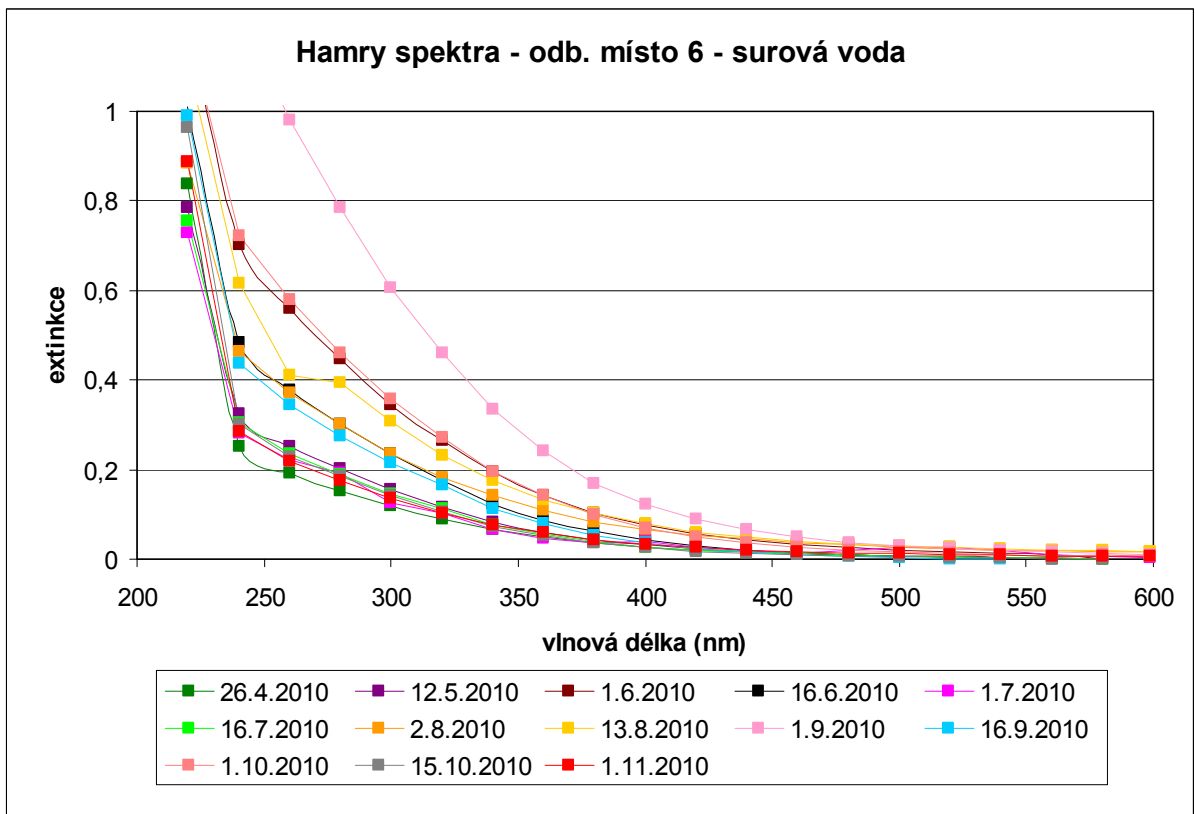
Pro stanovení AOX ve vzorcích vody z přítoků i jejich frakcí připravených pomocí ultrafiltrace byla použita metoda podle ČSN EN ISO 9562 a stanovení celkového uhlíku (TOC) bylo provedeno podle ČSN EN 1484. Analýzy provedla zkušební laboratoř Povodí Labe s.p., akreditovaná ČIA č. 1264.

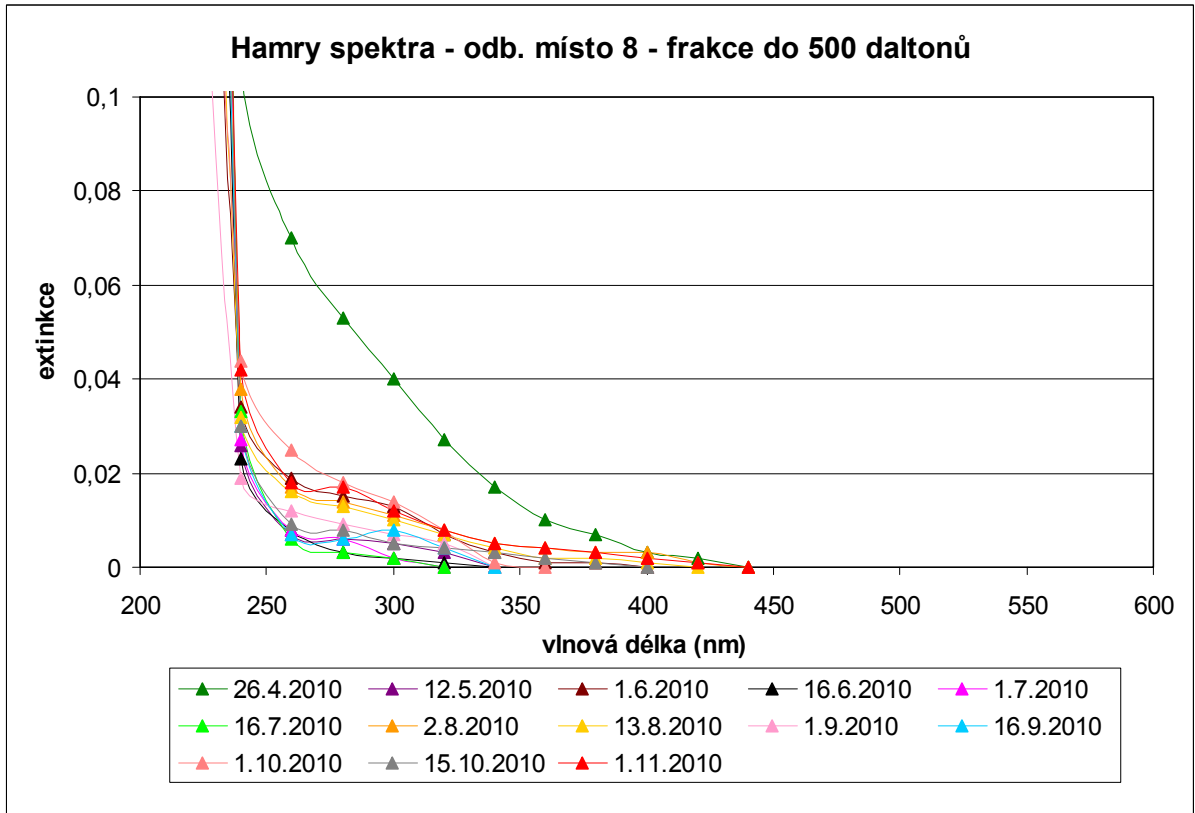
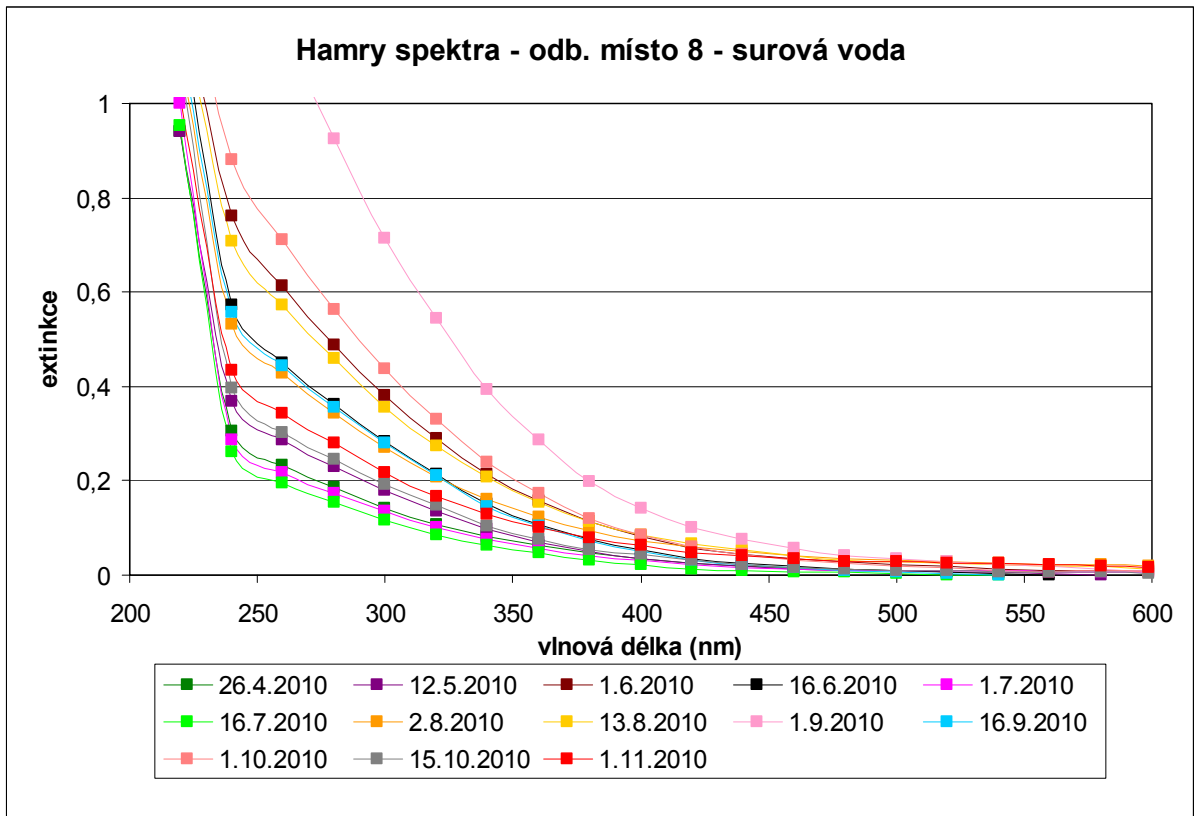
UV-VIS spektra původních vzorků odebrané vody i jednotlivých ultrafiltrátů byla měřena jednopaprskovým skenovacím UV-VIS spektrometrem Helios Beta od firmy UNICAM. Spektrální rozsah přístroje je 190 – 1100 nm, fotometrická přesnost $\pm 0,005A$. Měření byla prováděna v v křemenných kyvetách s optickou dráhou 10 mm. Spektrální rozsah sledování byl od 220 nm do 600 nm. Absorbance u jednotlivých eluovaných frakcí po koncentraci ultrafiltrátů pomocí DEAE-celulosity byla měřena při 260 nm.

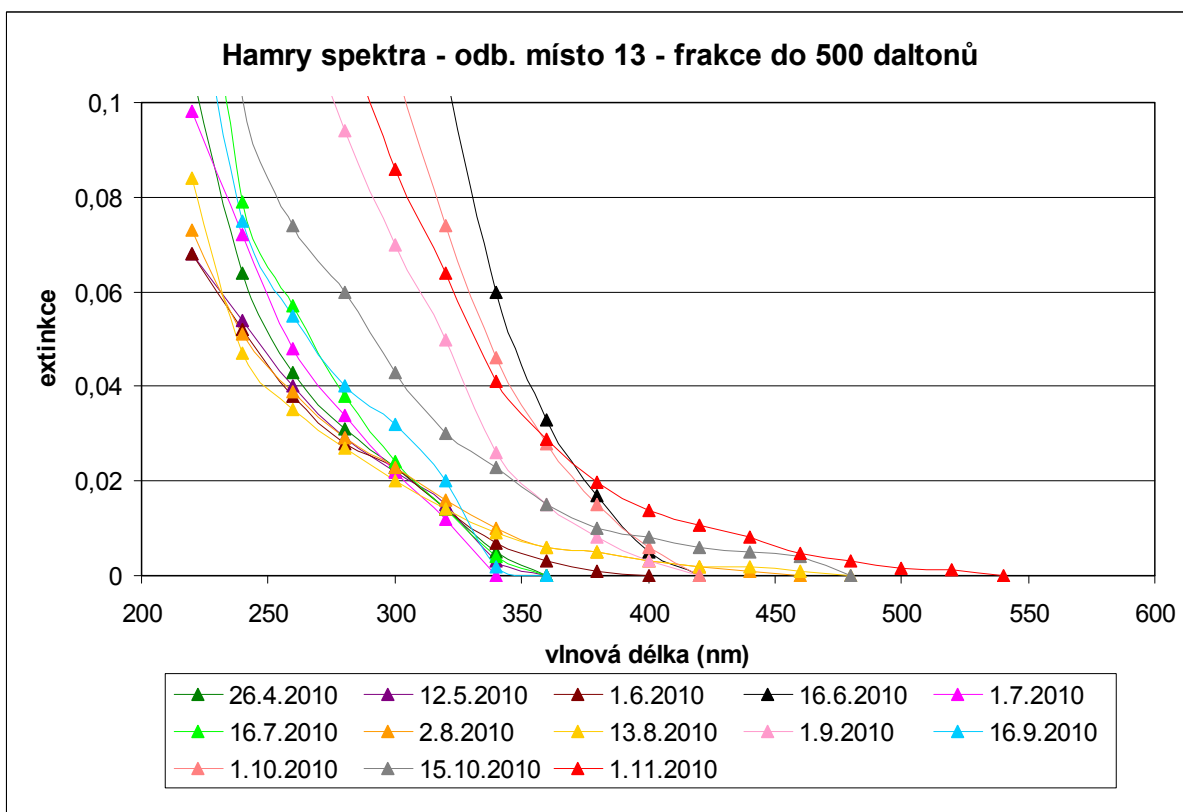
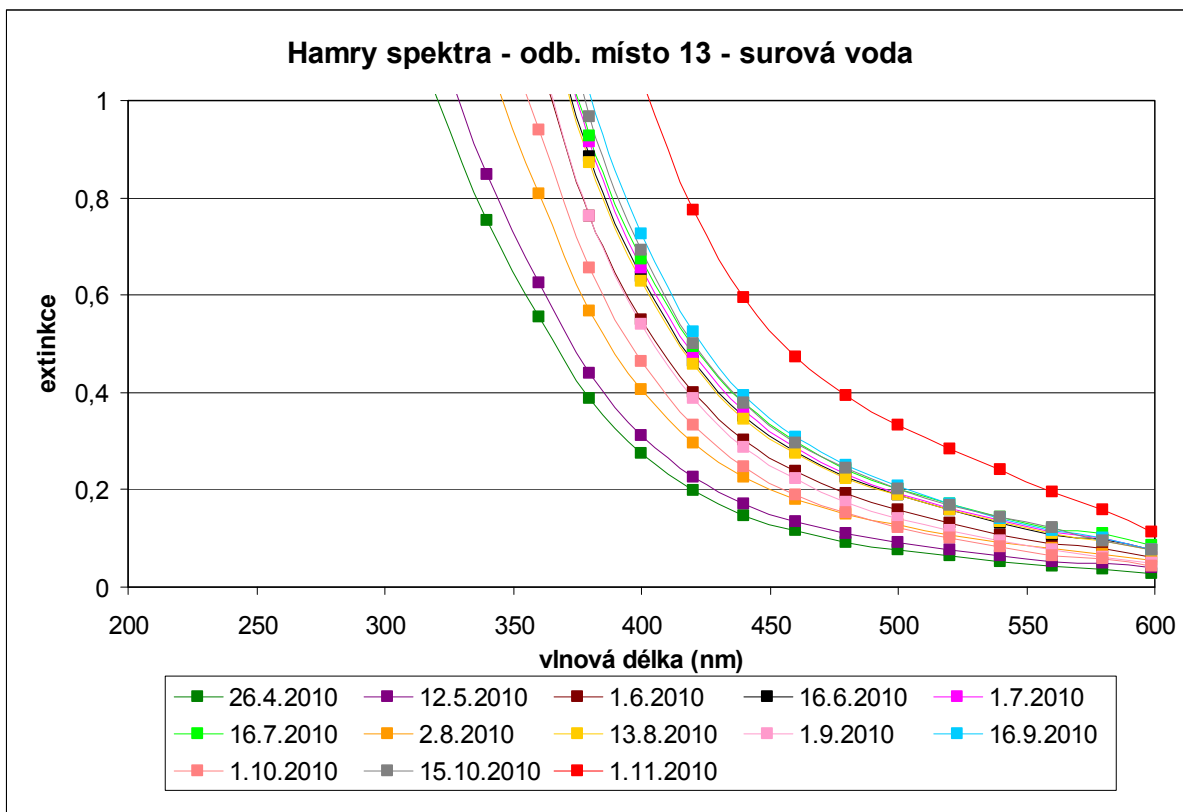
Chloroform byl stanovován plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD) s pomocí mikroextrakce tuhou fází (SPME technika) na plynovém chromatografu Varian CP-3800 s autosamplerem CombiPal, SPME a nástřikem z prostoru (head space) nad 10 ml vzorku v 20 ml nádobce. Pro mikroextrakci tuhou fází (SPME) bylo použito vlákno s nanosenou 100 μ m vrstvou polydimethylsiloxanu jako sorpčním polymerem od firmy Supelco (SPME Fiber Assembly, 100 μ m polydimethylsiloxan for Merlin MicrosealTM, 23 gauge needle Auto Holder Red). Pro GC byla použita kapilární kolona VF-1ms (15m x 0,25mm ID s tloušťkou filmu 0,25 μ m), při průtoku 1ml/min He jako nosného plynu, jako přidavný plyn sloužil dusík. Ke kalibraci byla použita směs trihalomethanů firmy Supelco (Trihalomethanes Calibration Mix) obsahující chloroform spolu s bromodichloromethanem, bromoformem a dibromochlormethanem, každý o koncentraci 2000 μ g/ml methanolu. Roztoky standardů a blanky pro kalibrační křivku byly připraveny ve vyvařené vodě 2x destilované z křemenné aparatury. Pro každý odběr bylo změřeno 10 paralelních vzorků, u naměřených hodnot byly eliminovány extrémy, poté vypočtena průměrná hodnota s směrodatná odchylka.

Měření pH odebraných vzorků vody bylo prováděno pomocí pH-metru EcoScan6 s teplotní korelací, s měřicím rozsahem pH 0,00 – 14,00 a rozlišením 0,01 pH. Chloridy byly stanovovány na přístroji Eutech Instruments Ion 510 pomocí chloridové iontově selektivní elektrody.

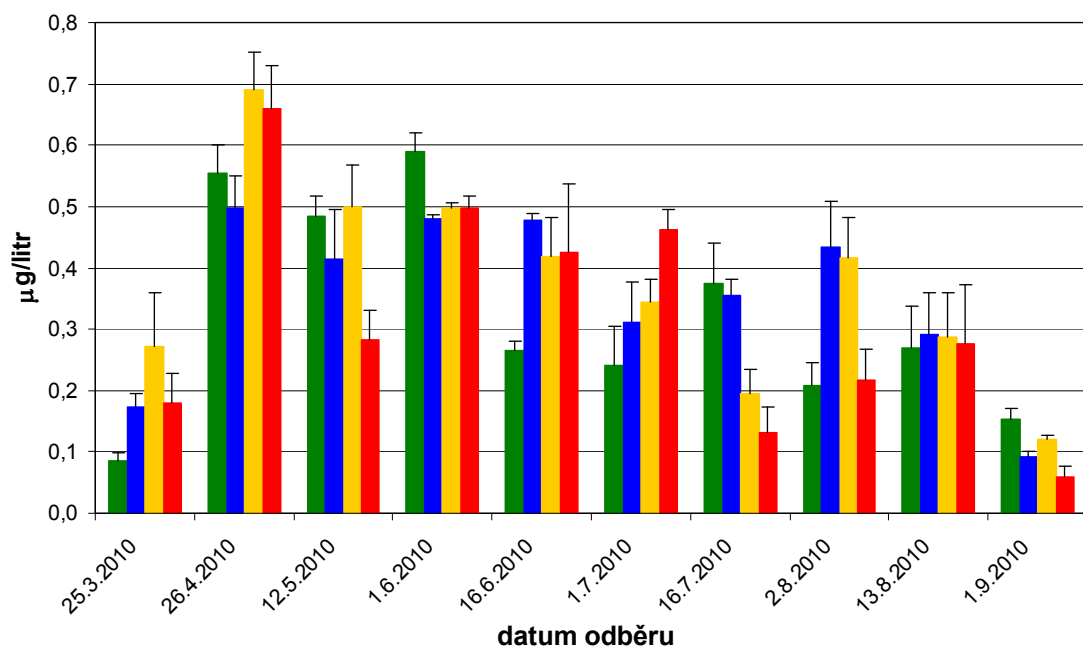
Prekoncentrace látek z ultrafiltrátů byla prováděna pomocí sorpce na kolonách, plněných DEAE-celulosou. Výška sloupce 50mm, průměr 25mm. Pro přípravu kolon byl použit postup popsán v produktovém listu firmy SIGMA pro DEAE-celulosu, kde je popsán postup pro přípravu kolony, její použití i regeneraci DEAE-celulosity. V našem případě jsme připravenou kolonu nechali protéci 400 ml ultrafiltrátu, kdy došlo k sorpci látek. Následovalo promytí kolony 100 ml redestilované vody. Poté jsme prováděli desorpci látek elucí roztokem 0,1N NaOH do frakcí po 10 ml. Celkový objem elučního činidla byl 100 ml (10 frakcí po 10 ml 0,1N NaOH). Slepý vzorek by získám stejným postupem, pouze místo 400 ml vzorku bylo na kolonu nalito 400 ml redestilované vody. V eluovaných frakcích byla měřena extinkce při 260 nm s použitím slepého vzorku jako blanku. Pro ilustraci uvádíme grafy koncentrace pomocí DEAE-celulosity u dvou odběrových míst: úpravna vody a č. 6. Vybrané frakce č. 5 byly okyseleny kyselinou chlorovodíkovou na pH1, poté přidán chlorid sodný a takto připravený vzorek byl extrahován methyl-t-butyletherem (variantně diethyletherem, zbaveným peroxidů). V současné době jsou etherické extrakty po zahuštění a derivatizaci diazomethanem analyzovány pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Plynový chromatograf Varian GC450-240MS. Program kolony: 50 °C, 2 min hold, 20 °C/min na 100 °C, 5 °C/min na 190 °C, 10 min hold, 60 °C/min na 300 °C, 3.67 min hold. Injektor: 250 °C. Kolona: Varian VF-5MS, 30 m, 0,25 mm ID., 0,25 μ m D_f.





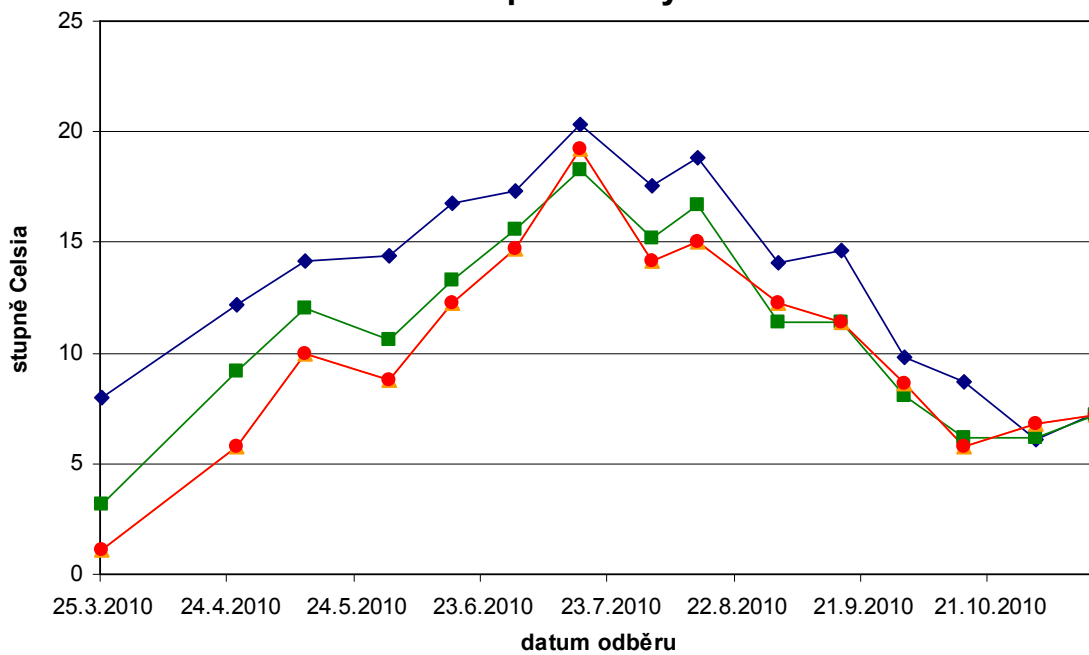


Hamry - obsah chloroformu

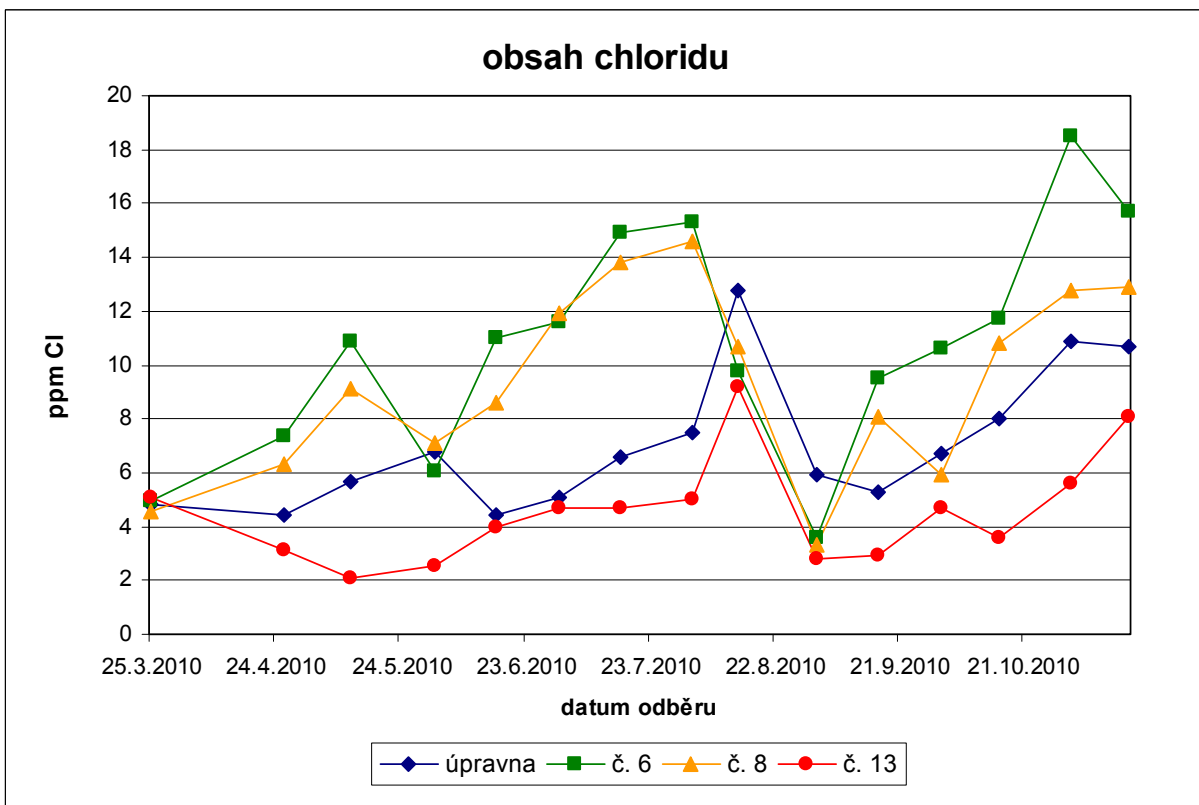
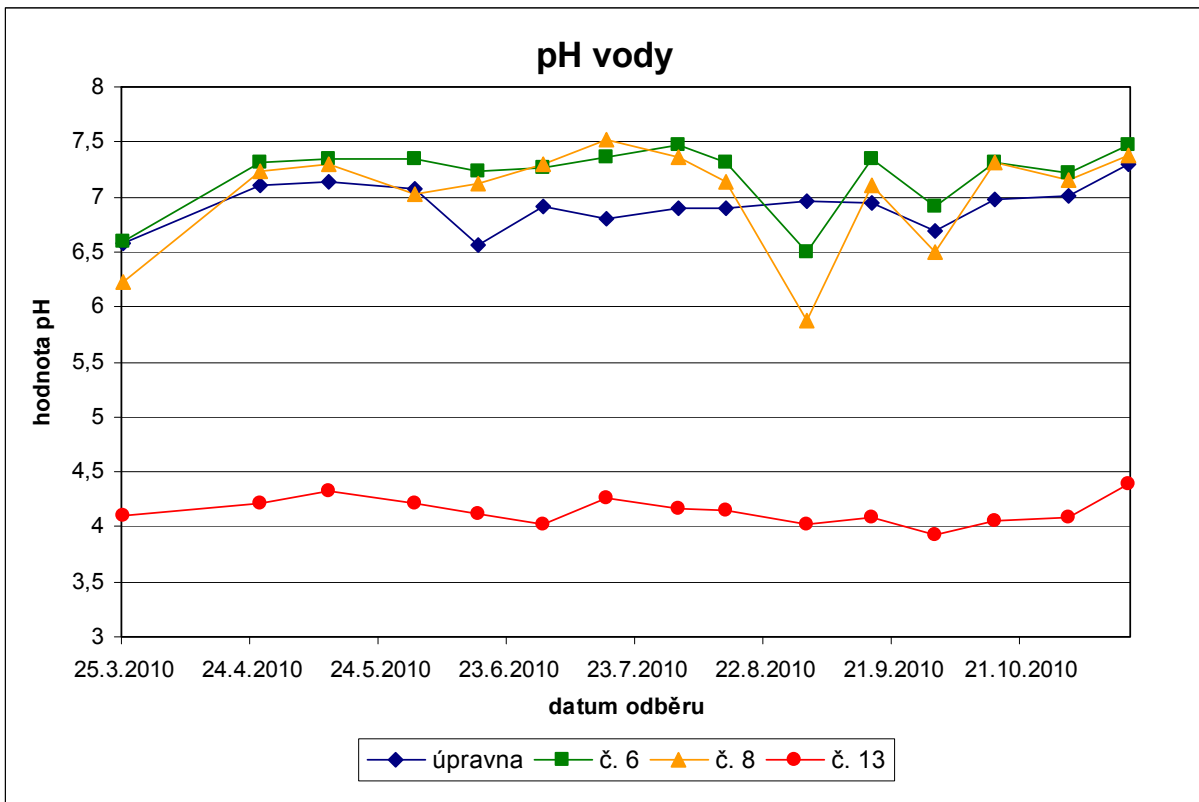


■ Úprava vody
 ■ Odběrové místo č.6
 ■ Odběrové místo č.8
 ■ Odběrové místo č.13

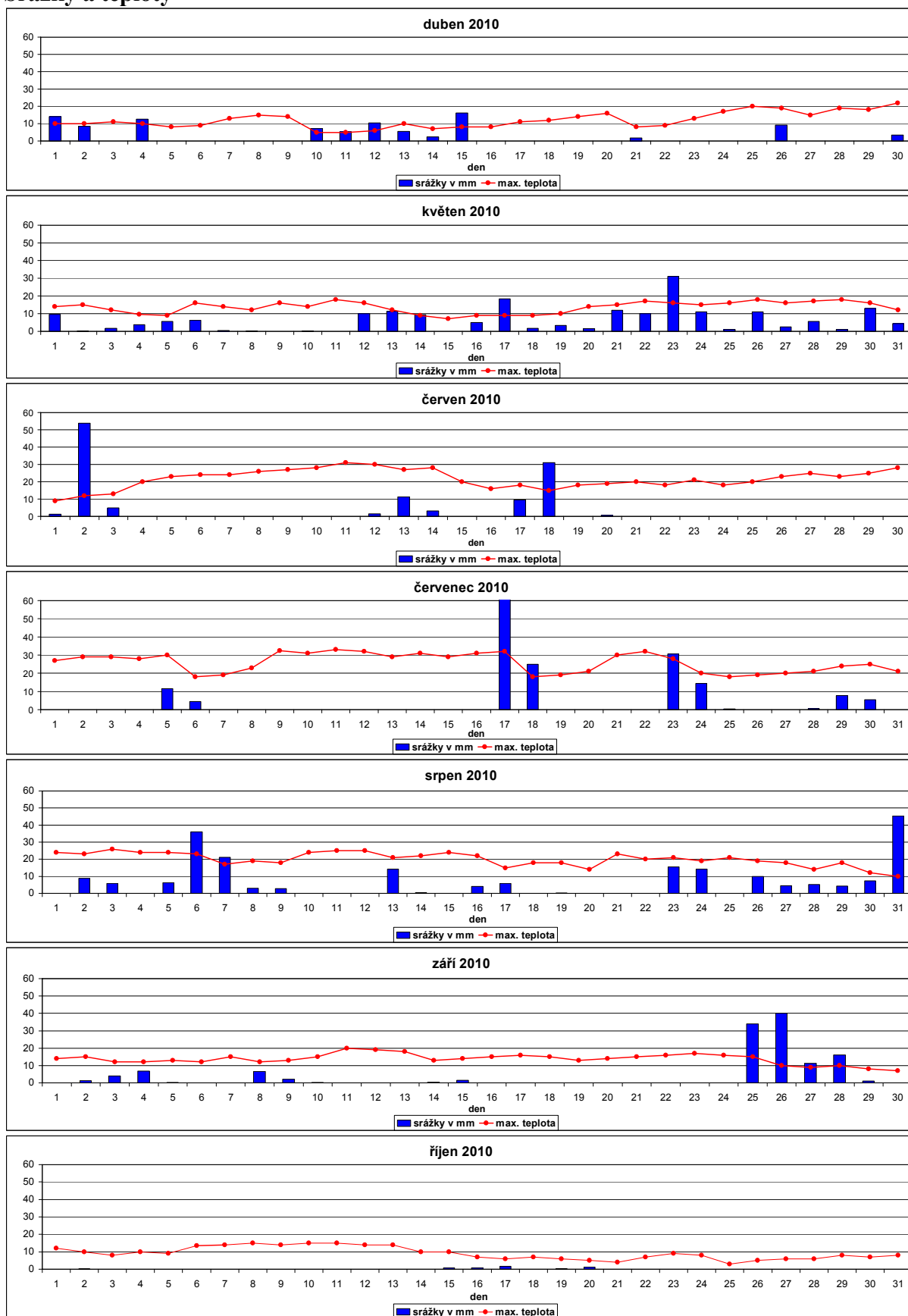
teplota vody



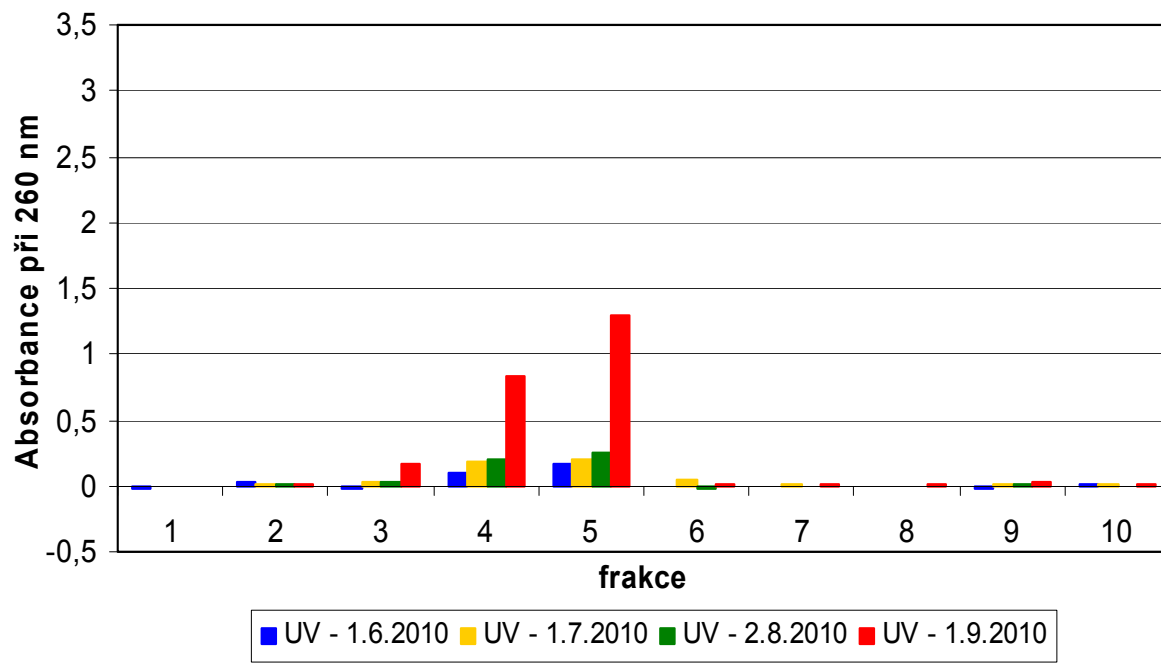
◆ úpravna
 ■ č. 6
 ▲ č. 8
 ● č. 13



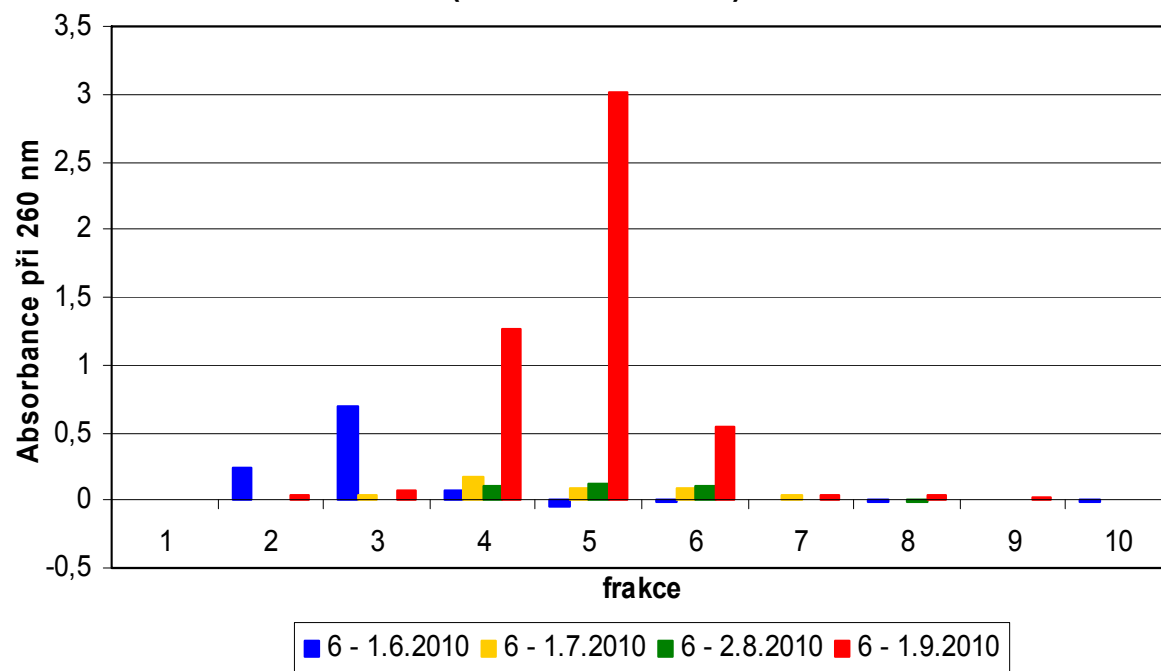
Srážky a teploty



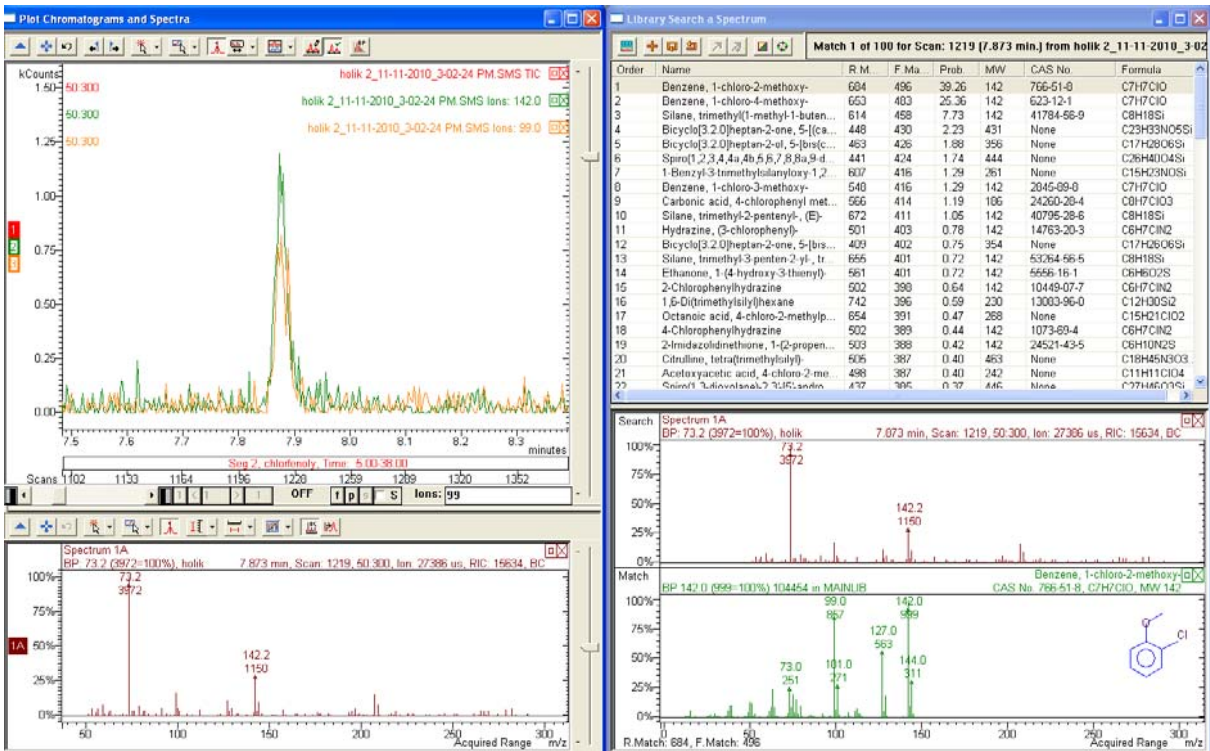
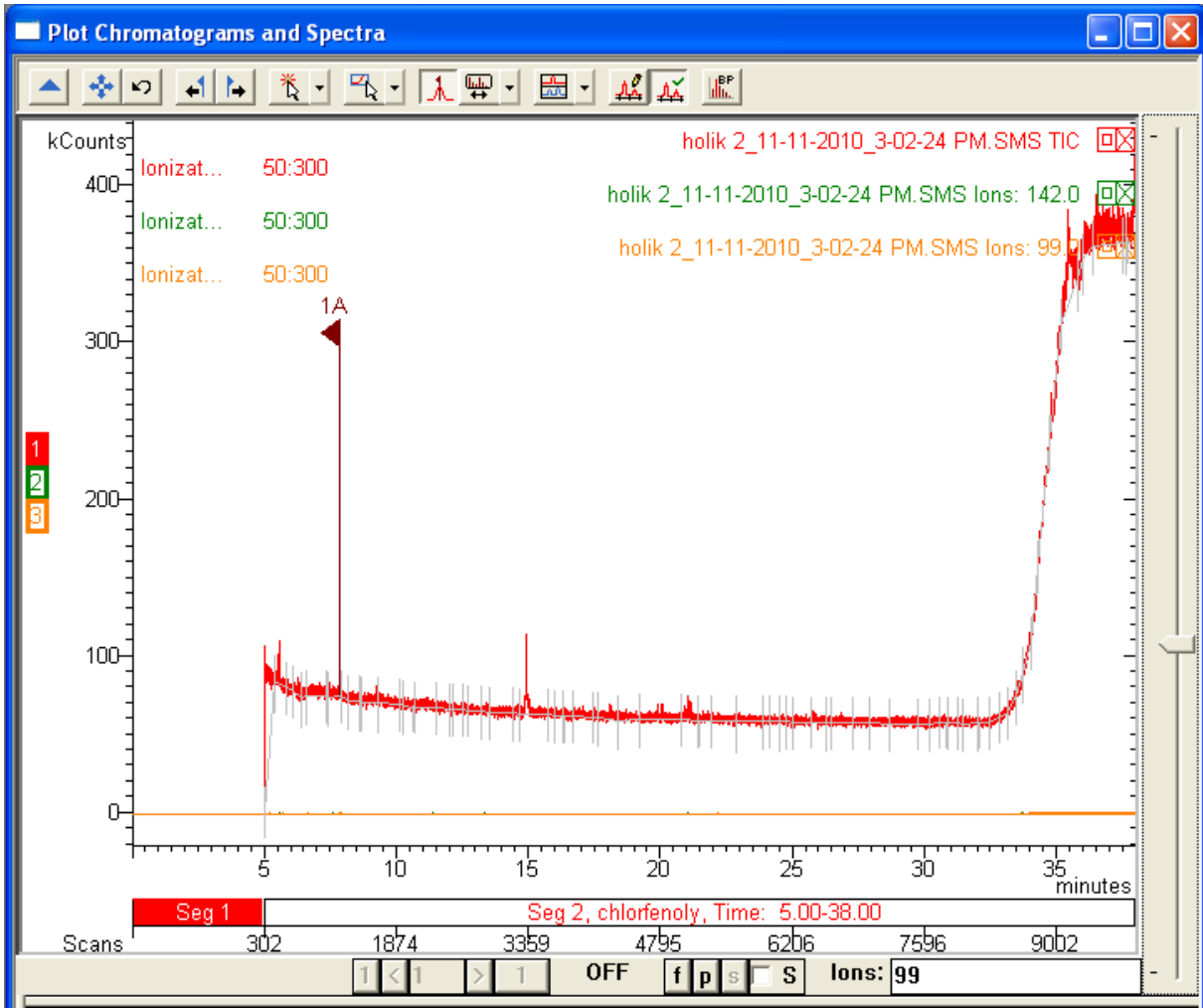
Koncentrace pomocí DEAE-celulosity (odběr. místo úpravná vody)



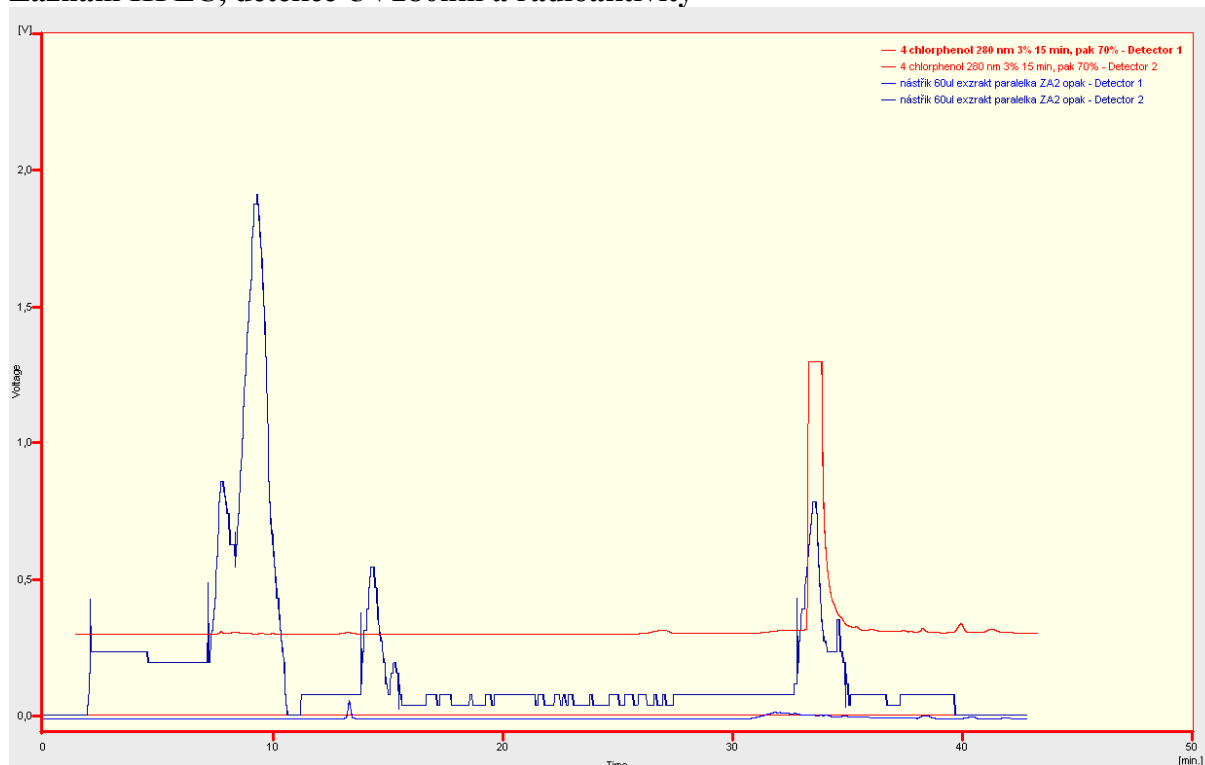
Koncentrace pomocí DEAE-celulosity (odběr. místo č. 6)



Záznam GC-MS



Záznam HPLC, detekce UV280nm a radioaktivity



Diskuse k výsledkům:

Naměřené hodnoty chlorovaných organických látek AOX odpovídají původním předpokladům, že chlorované organické látky vznikají přirozenou cestou v lesním ekosystému jak biotickou tak i abiotickou chlorací v půdě přítomných složitých organických látek, jako jsou huminové látky, lignin, fulvokyseliny a celá široká škála jejich metabolitů.

Na odběrovém místě č. 13, což je pramenná oblast jednoho z přítoků Krejcarského potoka, s rozsáhlými plochami rašelinišť s nízkým odtokem vody, byly v této vodě nalezeny nejvyšší koncentrace AOX spolu s nejvyšším obsahem celkového organického uhlíku TOC. Na grafech obsahu AOX a hodnot TOC na sledovaných lokalitách v jednotlivých odběrových termínech lze dokumentovat i korelaci mezi množstvím celkového rozpuštěného organického uhlíku, přítomného v půdě i ve vodě a množstvím AOX, nalezeného v odebraných vzorcích vody na všech odběrových lokalitách. Přesto, že obsahy AOX v povodí vodní nádrže Hamry v řadě případů překračují hygienický limit, nebyly ve vodě nádrže, která vchází do úpravárenského procesu, zjištěny koncentrace AOX, které by přesáhly hygienický limit pro pitnou vodu.

Z odebíraných vzorků vody byly pomocí ultrafiltrace současně izolovány frakce s velikostí molekul do 500 daltonů. U těchto frakcí byly rovněž stanovovány obsahy AOX a TOC. Při analýze výsledků se ukázalo, že v nízkomolekulárních frakcích je poměr zastoupení AOX ku TOC vyšší, než je poměr těchto parametrů v původních vzorcích. U vzorků vody i u jednotlivých nízkomolekulárních frakcí byly měřeny UV-VIS spektra v oblasti 220 až 600 nm. U spekter nízkomolekulárních frakcí, kde je podle předpokladu extinkce mnohem nižší, než v původní vodě, je vidět v oblasti vlnových délek mezi 260 až 280 nm plato, které nejspíše odpovídá přítomnosti organických molekul s aromatickým cyklem nebo heterocyklem v molekule. Je důvodný předpoklad, že tyto látky by mohly vznikat degradací

huminových látek i odbouráváním ligninu. Z těchto výsledků lze vyslovit teoretický závěr, že abiotická i biotická chlorace vysokomolekulárních látek umožňuje v lesním ekosystému jejich snadnější degradaci. Tím se ovšem tyto metabolity snáze uvolňují do povrchových vod, neboť bývají v převážné míře snadněji rozpustné. Zároveň však musíme mít na zřeteli skutečnost, že obsahy AOX v původní vodě i v odpovídající nízkomolekulární frakci jsou nižší o několik řádů oproti obsahům TOC.

Námi prováděná studie chlorace rostlinnými druhy, rostoucími na rašeliništích v lesním ekosystému ukazuje na biotickou tvorbu nízkomolekulárních těkavých chlorovaných uhlovodíků. Podobné studie byly prováděny poprvé jen na několika druzích kapradí v Japonsku (Yokouchi et al., 2002). Tamní druhy kapradí (*Cyathea lepifera*, *Angiopteris* spp. atd.) tvoří značné množství chlorovaných uhlovodíků, v této studii byl potvrzen vznik methylchloridu. V biotopu boreálního lesa byly potvrzeny emise těkavých chlorovaných uhlovodíků jen ve velmi omezené míře (Rhew et al., 2003); v dalších biotopech emise nebyly sledovány.

V našich experimentech, kde jsme sledovali produkci těkavých chlorovaných látek živými rostlinami, houbami a lišejníky, převažovaly tyto látky: dichlormethan, trichlorethylen, a v nižším množství 1,2-dichlorethan. V experimentálních materiálech, kde byly jen mikroorganismy žijící v půdě a na odumřelých částech rostlin (rašelina) byly nalezeny následující látky: methylchlorid, dichlormethan, trans-1,2-dichlorethylen, chloroform a 1,2-dichlorethan. Naměřené hodnoty se pohybují pod 0,1 μg na g rostlinné tkáně za 1 hodinu tvorby. Analýza se provádí plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí (GC-MS/SIM) za použití kryofokusace pro sběr plyných produktů rostlin.

Předpokládaná tvorba chlorovaných uhlovodíků se tedy liší podle způsobu chlorace, protože v rostlinách převažují specifické halogenázy (FADH₂-dependentní halogenázy), FADH₂-dependentní halogenázy regiospecificky a selektivně chlorují organické látky přítomné v rostlinách. Tyto látky mohou být rostlinami uvolňovány do půdy postupně, nebo během jejich rozkladu.

V půdě se vyskytují exoenzymy (haloperoxydázy a perhydrolázy), produkované mikroorganismy. Haloperoxydázy a perhydrolázy typu hem- nebo vanadium obsahující chloroperoxydázy produkované všudypřítomnými mikroorganismy a houbami (*Caldariomyces* f., *Pseudomonas* sp., *Streptomyces* sp. apod.) jsou volně přítomné v půdě a jsou odpovědné za vznik kyseliny chlorné (HOCl), která nespecificky a neselektivně reaguje s půdní organickou hmotou (Silk et al., 1997; Hoekstra et al., 1998) za vzniku chlorovaných látek.

Oběma způsoby vznikají chlorované organické látky, které mohou být jak netěkavé, tak i těkavé. I těkavé chlorované látky mohou částečně zvyšovat hladinu AOX ve vzorcích vody, a proto jsme se pokusili je stanovit odděleně. V našich experimentech jsme sledovali hladiny chloroformu v odebraných vzorcích vody. Z výsledků se jeví, že produkce chloroformu je v převážné míře zapříčiněna biotickou chlorací mikroorganismy v půdě a je závislá na ročním období a teplotě. Hladina chloroformu v povrchové vodě je rovněž závislá na počasí

Při analýze chlorovaných látek v prekoncentrovaných frakcích ultrafiltrátů pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí se ukázalo, že zatím dosažený koncentrační faktor neumožňuje detailní analýzu přítomných látek. Změřené a interpretované výsledky nás vedou k podezření, že by mohly být přítomné chlorfenoly a chloranisoly, avšak v tak nízkých

koncentracích, které jsou takřka na hranici detekce použité metody. Nejsme schopni zatím rozlišit, zda stopy o- nebo p-chloranizolu pocházejí ze studovaných vzorků, nebo zda vznikly methylací stop chlorfenolu, jenž teoreticky může vznikat přírodními procesy. V modelových experimentech za použití radioaktivního chloru Cl-36, kdy byla provedena inkubace značeného chloridu s lesní půdou, se ukazuje, že by ve vodném výluhu mohly být přítomny mimo stop radioaktivních chloroctových kyselin i stopy radioaktivního 4-chlorfenolu. Analýzy vodného výluhu byly provedeny pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV a radioaktivní detekcí.

Závěr:

Naše studie vychází a navazuje na účelově provedený monitoring, který provádělo v letech 2006 až 2008 Povodí Labe, s.p., v povodí vodárenské nádrže Hamry, kdy byly kromě jiných parametrů sledovány obsahy AOX. Při tomto monitoringu bylo zjištěno, že ačkoliv hodnoty AOX v povodí někdy překračují limit 30 mg/l, ve vodě samotné nádrže tento limit nebyl nikdy překročen. Ačkoliv byl parametr AOX původně zaveden jako údaj, který měl charakterizovat znečištění látkami antropogenního původu, nebyly ve vodě této nádrže žádné látky tohoto typu prokázány. Proto vznikla otázka, zda se v tomto případě nemůže jednat o znečištění povrchových vod v povodí vodárenské nádrže Hamry látkami přírodního původu, které jsou vyplavovány do vodoteče z lesní půdy a rašelinišť, které se v daném povodí nacházejí.

Naše studie potvrdila předpoklad uvedený v závěrech monitoringu, provedeného Povodím Labe, s.p., že látky souhrně popsané parametrem AOX jsou přírodního původu. Podobně jako počátkem výzkumu přítomnosti a původu chlorovaných organických látek v povrchových vodách v jihovýchodním Švédsku, který byl původně zaměřen na zjištění látek původu antropogenního (Asplund a Grimvall 1991), i z výzkumu prováděného v povodí hamerské nádrže je evidentní, že zjištěné AOX jsou přírodního původu a vznikají především mikrobiální chlorací organické hmoty v lesní půdě. Ta je součástí biodegradace humusu vzniklého z ligninu.

Ze získaných výsledků je zřejmé, že podobně jako během předchozího monitoringu provedeného laboratořemi Povodí Labe (Ferenčík et al. 2008) jen v některých případech dojde k překročení přípustných hodnot koncentrací AOX pro zdroje pitné vody, tj. 30 µg/l. Ty byly úměrné nalezeným hodnotám TOC, stejně tak se pohybovaly hodnoty koncentrací nízkomolekulárních látek o velikosti do 500 daltonů (Tab.2), které byly podle očekávání nižší než AOX i TOC původních vzorků. Nalezené koncentrace těkavého chloroformu vznikajícího chlorací půdní organické hmoty rovněž potvrzují nižší než maximálně přípustné hodnoty (30 µg/l pro pitnou vodu), a zároveň také ukazují, že jeho těkavost, resp. těkavost jeho azeotropu s vodou dále snižuje jeho koncentraci v surové vodě. Předmětem zájmu byly především zatím nezjištěné toxické chlorfenoly (Winterton 2000), produkované mikroorganismy které jsou pravděpodobně v lesní půdě ihned degradovány anebo tvoří asociáty s huminovými látkami. Pokus o identifikaci a stanovení obsahu nízkomolekulárních látek v povrchových vodách byl předmětem tohoto výzkumu, pro který jsme měli metodické předpoklady (separační metody včetně HPLC s UV a radioaktivní detekcí, ultrafiltrace, GC-ECD, GC-MS). Bylo nutno zvládnout metodiku zakoncentrování nízkých koncentrací nízkomolekulárních látek. Mikrobiální chlorace půdní organické hmoty je v současnosti studovaná také in vitro pomocí radiostopovací techniky s použitím chloridu-³⁶Cl. Výsledky těchto studií potvrdily tvorbu nízkomolekulárních látek, z nichž byly identifikovány dichlor- a trichloroctová kyselina (Matucha et al. 2007a,b a Rohlenová et al. 2009), k nim se řadí chloroform a je podezření, že

by v systému mohla vznikat i stopová množství jiných chlorovaných látek. Další produkty chlorace popsané v literatuře (Winterton 2000, Clarke et al. 2009) zatím identifikovány nebyly.

Závěrem lze konstatovat, že látky popsané parametrem AOX ve vodě vodárenské nádrže Hamry jsou opravdu přírodního původu a suma jejich obsahů v surové vodě před úpravárenským procesem nepřekračuje limit 30 µg/l.

Použitá literatura:

1. Asplund, G., Grimvall, A.: Organohalogenes in nature, more widespread than previously assumed. *Environ. Sci. Technol.* 25, (1991) 1346-1350.
2. Bastviken, D., Thompsen, F., Karlsson, S., Svensson, T., Sandén, P., Shaw, G., Matucha, M., Öberg, G.: Chloride retention in forest soil by microbial uptake and by natural chlorination of organic matter. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, (2007) 3182-3192
3. Clarke, N., Fuksová, K., Gryndler, M., Lachmanová, Z., Liste, H. H., Rohlenová, J., Schroll, R., Schröder, P., Matucha, M.: The formation and fate of chlorinated organic substances in temperate and boreal forest soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 16, (2009) 127-143
4. Deok-Hee Ch., Slang-Ho K., Seong-Geun Oh.: Analysis of trihalomethanes in drinking water using headspace-SPME technique with gas chromatography. *Water Res.* 37, (2003) 402-408
5. Duarte, R.M.B.O., Santos, E.B.H., Duarte, A.C.: Spectroscopic characteristics of ultrafiltration fractions of fulvic and humic acids isolated from an eucalyptus bleached Fraft pulp mill effluent. *Wat. Res.* 37, (2003) 4073-4080
6. Ferenčík, M., Rederer, L., Pešava, J.: Adsorbovatelné organické halogeny (AOX) a organické látky (CHSK_{Mn}) v povodí vodárenské nádrže Hamry. Povodí Labe, Hradec Králové (2008)
7. Hoekstra, E.J., Verhagen, F.J.M., Field, J.A., de Leer, E.W.B., Brinkman, U.A.T.: Natural production of chloroform by fungi. *Phytochemistry* 49, (1998) 91-97
8. Hiraide, M., Shima, T., Kawaguchi, H.: Separation and determination of dissolved and particulate humic Substances in river water. *Mikrochim. Acta* 113, (1994) 269-276
9. Ibrahim M.B.M., Moursy, A.S., Bedair, A.H., Radwan, E.K.: Comparison of XAD-8 and DEAE for isolation of humic substances from surface water. *J. Environ. Sci. Technol.* 1, (2008) 90-96
10. Johansson, E., Sandén, P., and Öberg, G.: Spatial patterns of organic chlorine and chloride in Swedish forest soil. *Chemosphere* 52, (2003) 391-397
11. Jones, K.L., O'Melia, Ch.: Ultrafiltration of protein and humic substances: effect of solution chemistry on fouling and flux decline. *J. Membrane Sci.* 193, (2001) 163-173
12. Keppler, Eiden, Pracht, Shoeler: Halocarbons produced by natura oxidation processes during degradation on organic matter. *Nature* 403, (2000) 298-301
13. Korshin, G.V., Li Chi-Wang, Benjamin, M.M.: Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: a consistent theory. *Wat. Res.* 31(7), (1997) 1787-1795
14. Lin, Ch-F., Huang Y-J., Hao, O.: Ultrafiltration processes for removing humic substances: effect of molecular weight fractions and PAC treatment. *Water Research* 33, (1999) 1252-1264
15. Matucha, M., Forczek, S.T., Gryndler, M., Uhlířová, H., Fuksová, K., Schroder, P.: Trichloroacetic acid in Norway spruce/soil-system I. Biodegradation in soil. *Chemosphere* 50, (2003) 303-309
16. Matucha, M., Gryndler, M., Schröder, P. Forczek, S.T., Uhlířová, H., Fuksová, K., Rohlenová, J.: Chloroacetic Acids - Degradation Intermediates of Organic Matter in Forest Soil. *Soil Biol. Biochem.* 39, (2007a) 382-385
17. Matucha, M., Gryndler, M., Forczek, S.T., Schröder, P., Bastviken, D., Rohlenová, J., Uhlířová, H., Fuksová, K.: A Chlorine-36 and Carbon-14 Study of the Role of Chlorine in the Forest Ecosystem. *J. Label. Compd. Radioph.* 50, (2007b) 437-439

18. Öberg, G.: The natural chlorine cycle – fitting the scattered pieces. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58, (2002) 565-581
19. Öberg, G.: The Biogeochemistry of Chlorine in Soil. In: *The Handbook of Environmental Chemistry*, Vol. 3, (2003) Part P, (Ed. Gribble, G.) Springer-Verlag, pp. 43-62
20. Öberg, G., Sandén, P.: Retention of chloride and cycling of organic matter-bound chlorine. *Hydrological Processes* 19, (2005) 2123-2136
21. Öberg, G., Holm, M., Sandén, P., Svensson, T., Parikka, M.: The role of organic matter-bound chlorine in the chlorine cycle: a case study of the Stubbetorp catchment, Sweden. *Biogeochemistry* 75, (2005) 241-269
22. Pastore, P., Favaro, G., Badocco, D., Lavagnini, I.: Headspace solid phase micro extraction GC-ECD determination of volatile organic chlorinated hydrocarbons in soil. *Annali di Chimica* 95, (2005) 741-756
23. Procházková, D.: Mikroextrakce na tuhou fázi a stanovení obsahu analytů. *Chem. Listy* 96, (2002) 827-852
24. Rhew, R.C., Aydin, M., Saltzman, E.S.: Measuring terrestrial fluxes of methyl chloride and methyl bromide using a stable isotope tracer technique. *Geophysical Research Letters* 30, (2003) 2103-2107
25. Rohlenová, J., Gryndler, M., Forczek, S.T., Fuksová, K., Handová, V., Matucha, M.: Microbial chlorination of organic matter in the forest soil: Investigation using chlorine 36 and its methodology. *Environ. Sci. & Technol.* 43 (2009) 3652-3655
26. Silk, P.J., Lonergan, G.C., Arsenault, T.L., Boyle, C.D.: Evidence of natural organochlorine formation in peat bogs. *Chemosphere* 35, (1997) 2865-2880
27. Stack, M.A., Fitzgerald, G., O'Connell, S., James, K.J.: Measurement of trihalomethanes in potable and recreational waters using solid phase micro extraction with gas chromatography-mass spectrometry. *Chemosphere* 41, (2000) 1821-1826
28. Thurman, E.M., Wershaw, R.L., Malcolm, R.L., Pickney, D.J.: Molecular size of aquatic humic substances. *Org. Geochem.* 4, (1982) 27-35
29. Winterton, N.: Chlorine: the only green element – towards a wider acceptance of its role in natural cycles. *Green Chemistry* 2, (2000) 173-225
30. Yokouchi, Y., Ikeda, M., Inuzuka, Y., Yukawa, T.: Strong emission of methyl chloride from tropical plants. *Nature* 416, (2002) 163-165