Monitoring lokalit soustavy Natura 2000 jako nástroj pro efektivní management a ochranu autochtonních populací raků

EHP-CZ02-OV-1-007-2014

RNDr. Marek Liška, Ph.D. a Mgr. Jakub Dobiáš

Povodí Vltavy, státní podnik – útvar vodohospodářských laboratoří – partner projektu

7.12.2016

Povodí Vltavy, státní podnik
útvar vodohospodářských laboratoří
partner projektu

Úloha partnera projektu:

Chemické analýzy vzorků sedimentů z vybraných lokalit (kovy, pesticidy, další organické látky)

Chemické analýzy organických látek a stopových prvků v dodaných biologických vzorcích (kovy, pesticidy, léčiva a další organické látky) včetně předúpravy vzorků. Směsné vzorky svaloviny raků, individuální vzorky svaloviny, žáber, hepatopankreasu - podmínkou úspěšné analýzy- dostatečné množství materiálu

Součinnost při řízení projektu v rozsahu aktivního zapojení v rámci řídícího výboru,

Součinnost při vyhodnocování získaných dat a poznatků v podobě konzultací;

Součinnost při zajišťování publicity a osvěty projektu, tj. aktivní účast na seminářích.

Mimo původní plán byly zařazeny analýzy farmak a pesticidů ve vodě a vyřazeno stanovení kovů v hemolymfě raků

Povodí Vltavy, státní podnik
útvar vodohospodářských laboratoří
představení partnera projektu

všechny laboratoře: odběr vzorků, základní chemie, mikrobiologie, hydrobiologie, AOX

laboratoř v Praze

předúpravy vzorků, analýza kovů ICP-MS, radiochemie, stanovení PAU

laboratoř v Plzni

analýza organických látek, PCB, OCP, pesticidy, farmaka, MUSK, atd…

laboratoř v Č. Budějovicích

analýza TOC/DOC, radiochemie, hydrobiologie…

Analýzy pro projekt:

- laboratoř Praha

přeúpravy vzorků sedimentů a raků, lyofilizace, homogenizace,
analýza kovů metodou ICP-MS/MS
analýza PAU

- laboratoř Plzeň

analýza PCB, OCP, ftaláty metodou GC-MS
analýza farmak a pesticidů metodou – LC-MS/MS

Přehled dokončených prací partnera projektu

- předúprava vzorků sedimentů
- chemické analýzy dodaných vzorků sedimentů z vybraných lokalit (kovy, pesticidy, další organické látky)

- chemické analýzy vzorků vody pro stanovení farmak a pesticidů

- předúprava vzorků tkání raků a směsných vzorků svaloviny raků
- analýzy stopových prvků v tkáních raků (žábra, hepatopankreas, svalovina)
- chemické analýzy organických látek směsných vzorků svaloviny raků

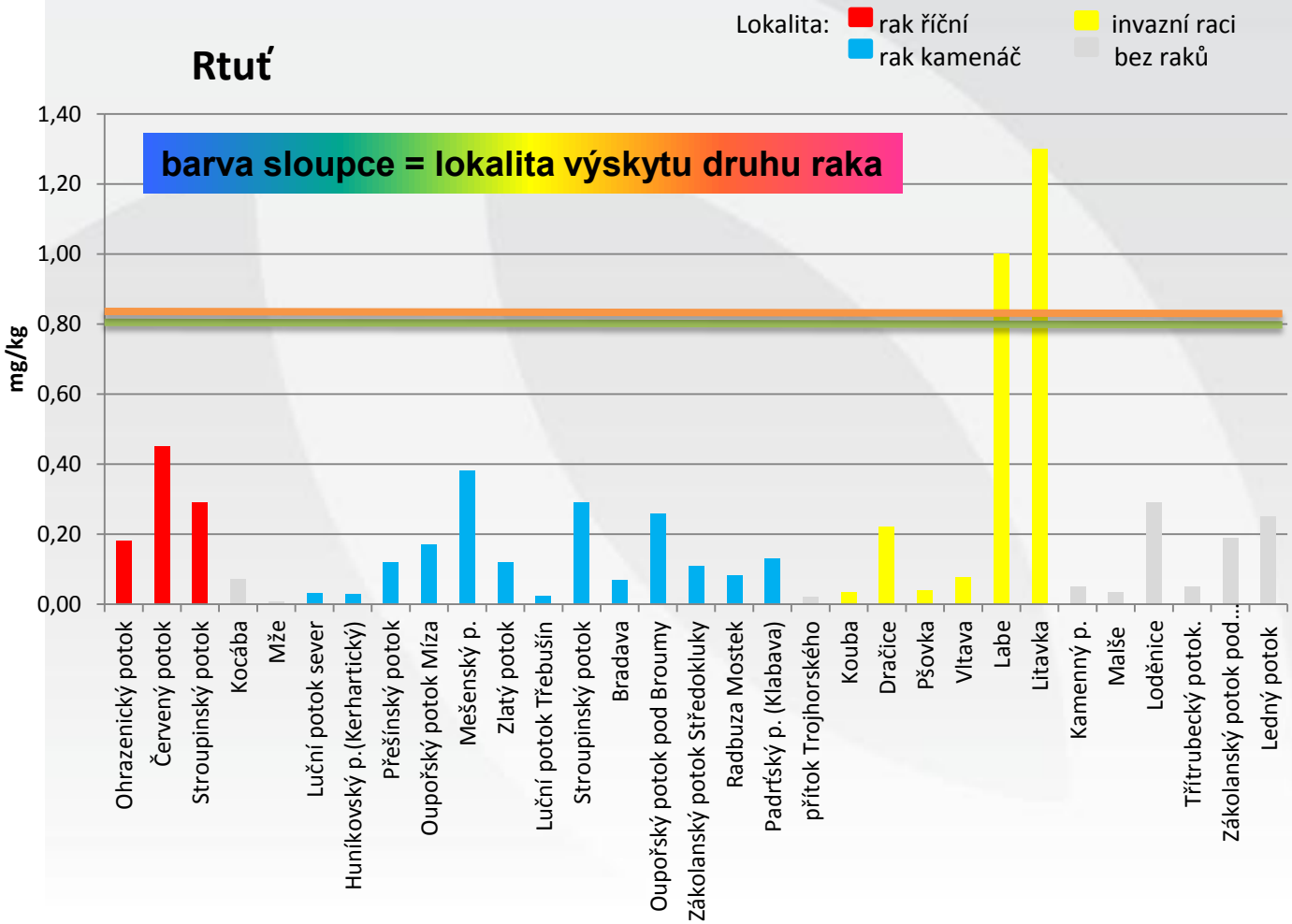
- součinnost při řízení a publicitě projektu, vyhodnocení a prezentaci dat

Sedimenty – způsob odběru vzorků
přehled sledovaných látek

Kovy: Cd,Hg,Pb,Cr,Ni,Al,Fe, Be, As, Cu, Zn
PCB: 28, 52, 101, 118, 138, 153,180,194, suma
OCP: o,p DDT, DDD, DDE
PAU: 15 sledovaných látek
Farmaka: cca 35 sledovaných látek
Pesticidní látky a jejich metabolity: cca 60 sledovaných látek
TOC
AOX

Sedimenty – výsledky
Rtuť

pro sedimenty nejsou v ČR environmentální normativy, pouze limity pro nakládání se sedimentem jako odpadem



Vyhláška č. 294/2005 limit pro uložení na povrch terénu: 0,8 mg/kg suš.

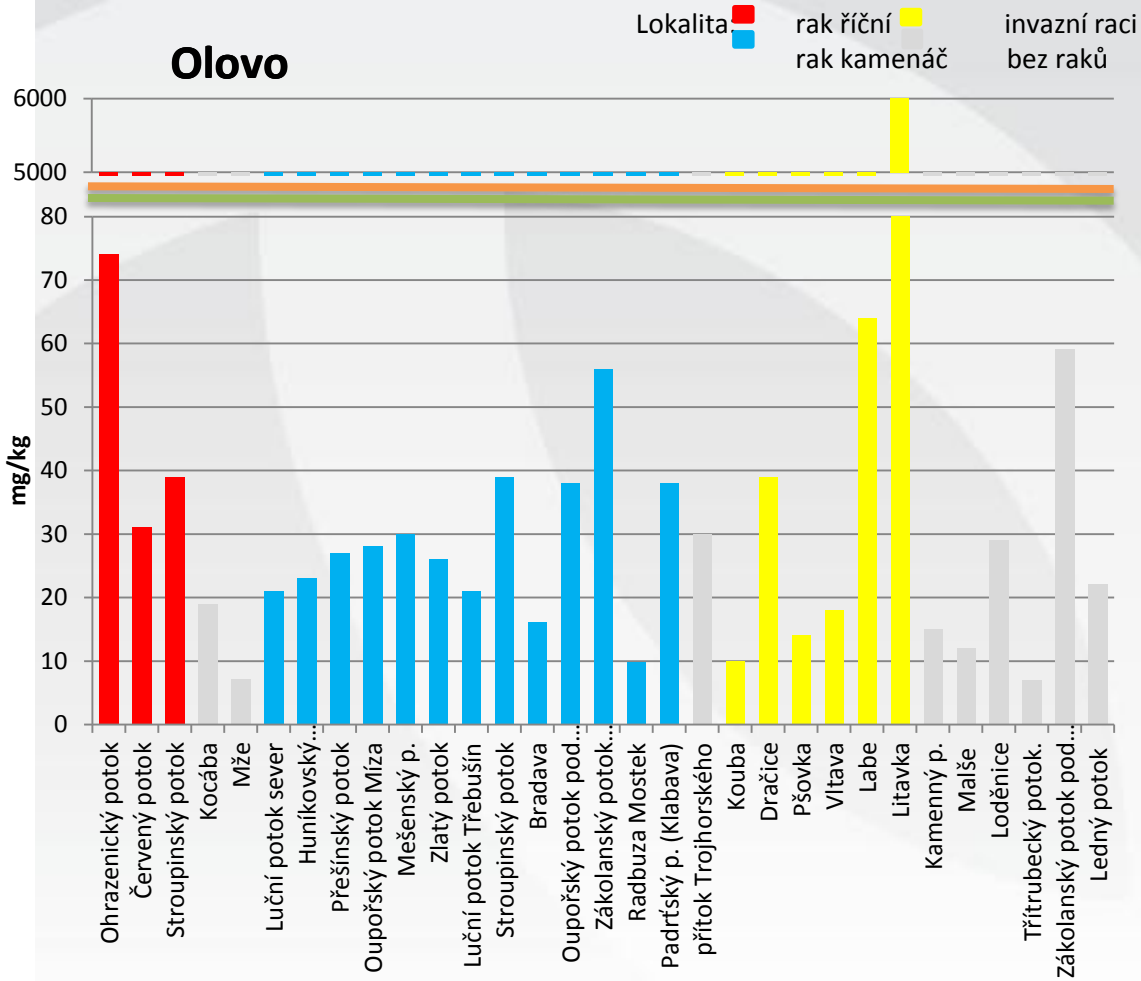
Vyhláška č. 257/2009 limit pro použití na zemědělskou půdu: 0,8 mg/kg suš.

Vyšší hodnoty:

Labe Kly
pravděpodobně vliv Spolany

Litavka nad Příbramí
(pravděpodobně geogenní pozadí, vliv důlní činnosti – vymývání výsypek)

Sedimenty – výsledky
Olovo



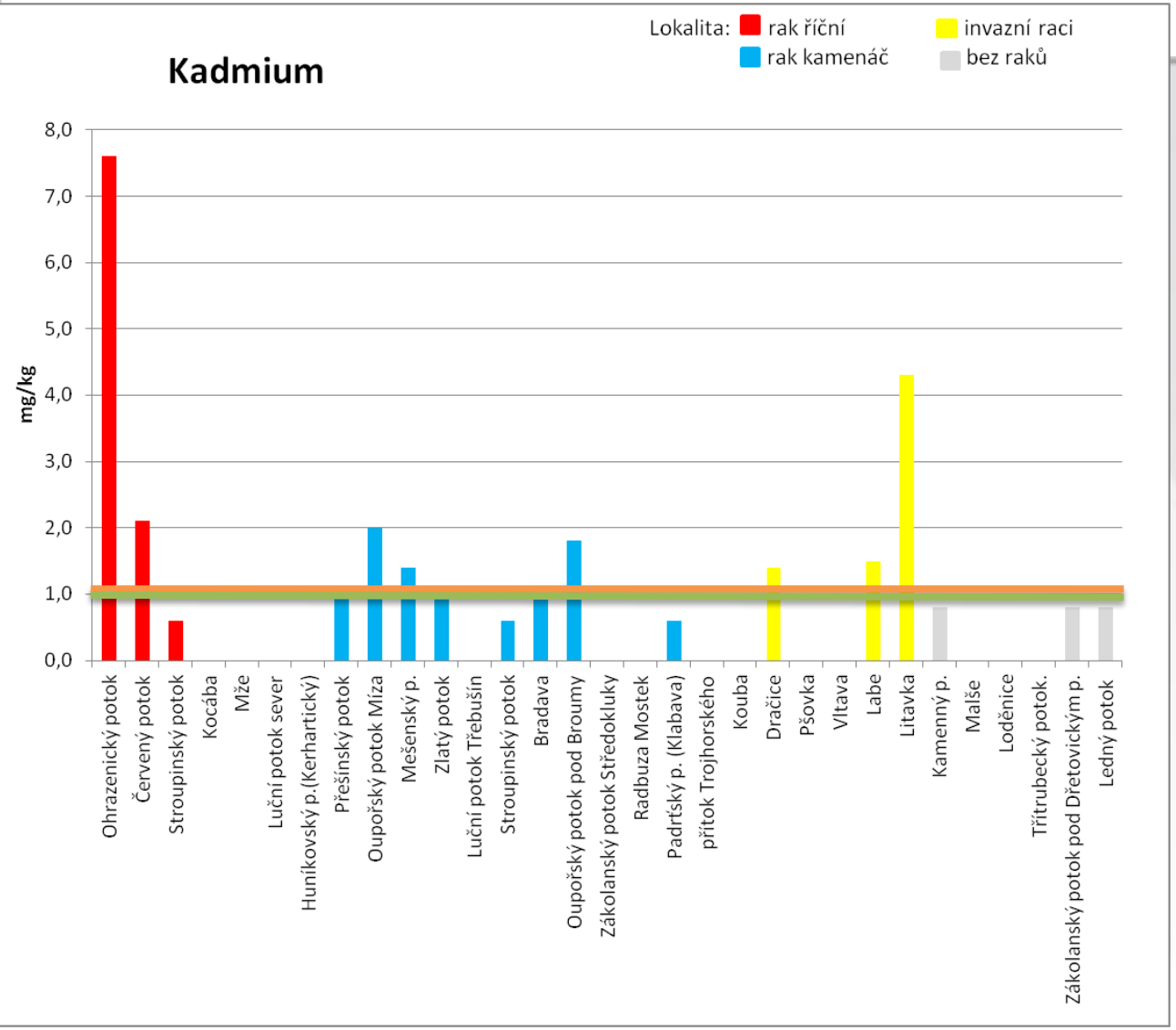
Limit pro uložení na povrch terénu: 100 mg/kg suš.

Limit pro použití na zemědělskou půdu: 100 mg/kg suš.

Litavka nad Příbramí
(vliv důlní činnosti + vymývání výsypek geogenní pozadí Brd)

Ohrazenický, Stroupinský, Padrťský p…
pravděpodobně geogenní pozadí Brd

Sedimenty – výsledky
Kadmium



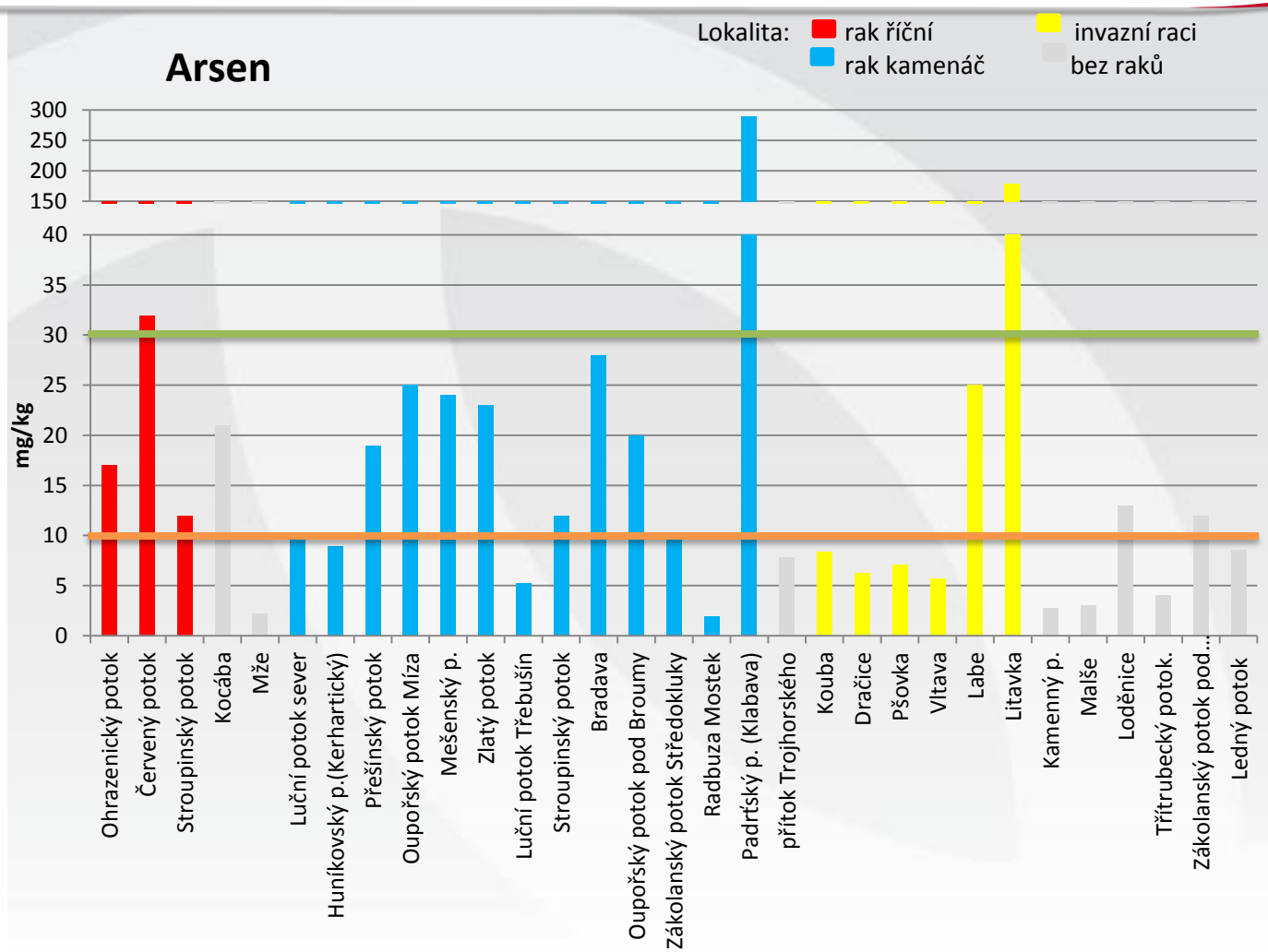
Limit pro uložení na povrch terénu: 1,0 mg/kg suš.

Limit pro použití na zemědělskou půdu: 1,0 mg/kg suš.

Litavka nad Příbramí
(vliv důlní činnosti + vymývání výsypek geogenní pozadí Brd)

Ohrazenický, Oupořský p.…
pravděpodobně geogenní pozadí Brd, zrudnění, příp. vliv vojenského prostoru

Sedimenty – výsledky
Arsen



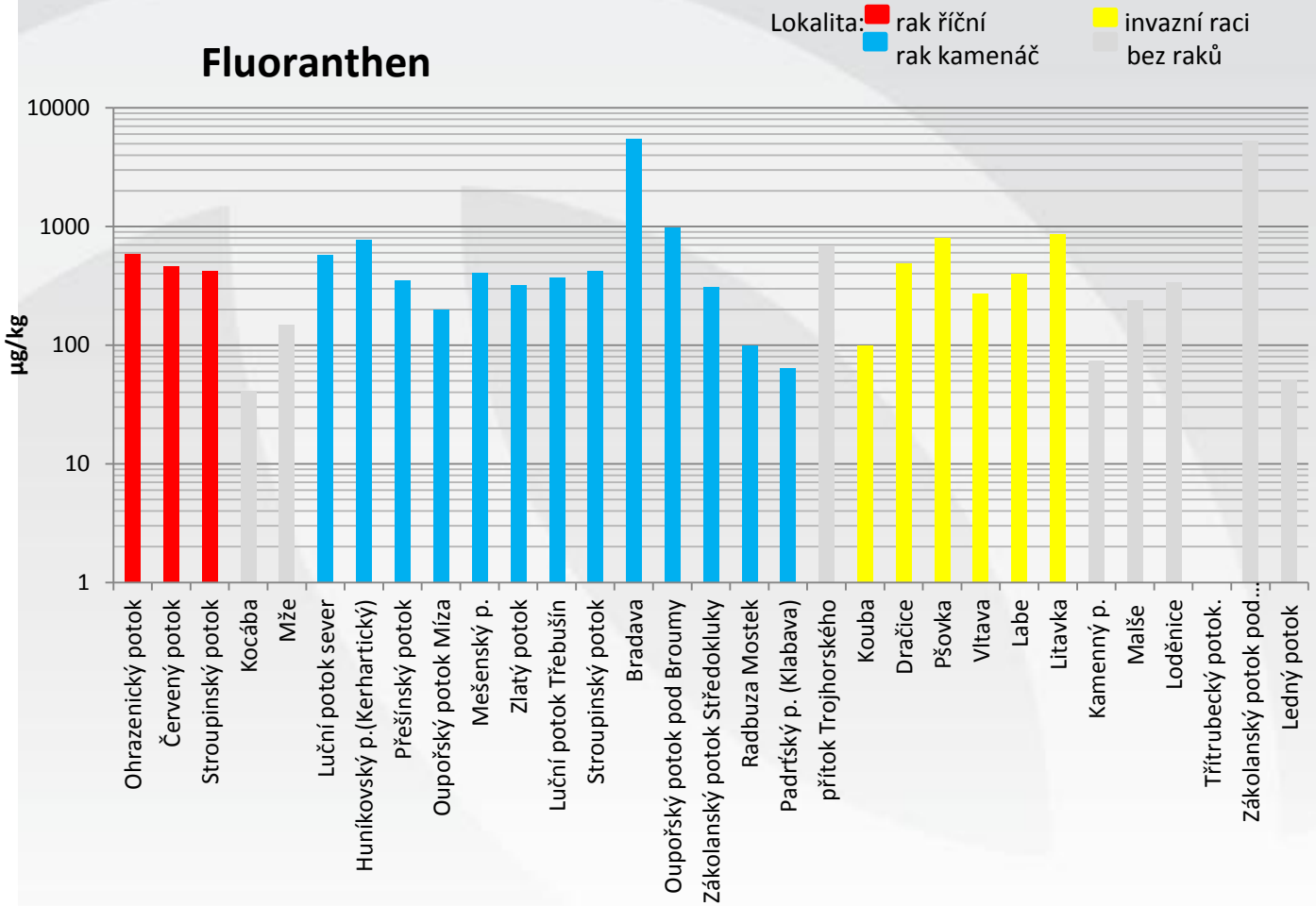
Limit pro uložení na povrch terénu: 10 mg/kg suš.

Limit pro použití na zemědělskou půdu: 30 mg/kg suš.

Brdská oblast
Padrťský potok
Litavka nad Příbramí
(pravděpodobně geogenní pozadí Brd)+ možné další zdroje)
dále Ohrazenický, Stroupinský, Padrťský p…

Labe Kly– *vliv chemické výroby Pardubicka, depozice popílku tepelných elektráren*

Sedimenty – výsledky
Fluoranthen (PAU)



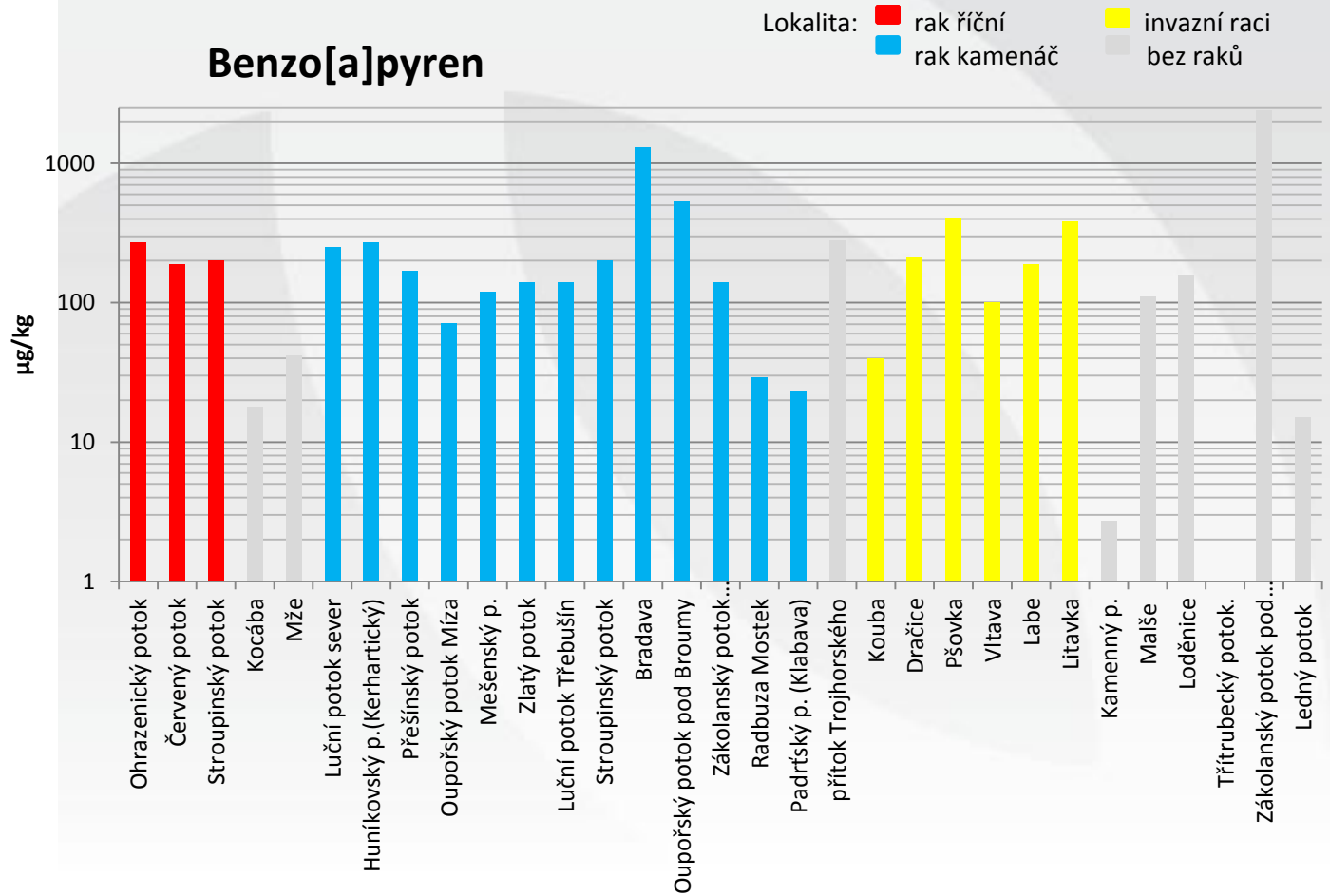
Bradava – Hořehledy
? důvod

Zákolanský potok
vliv Kladna a Slaného

PAU vznikají při spalování fosilních paliv, lokální topeniště, doprava, ale i z určitých typů výrob

Fluoranthen-prioritní látka

Sedimenty – výsledky
Benzo(A)pyren (PAU)



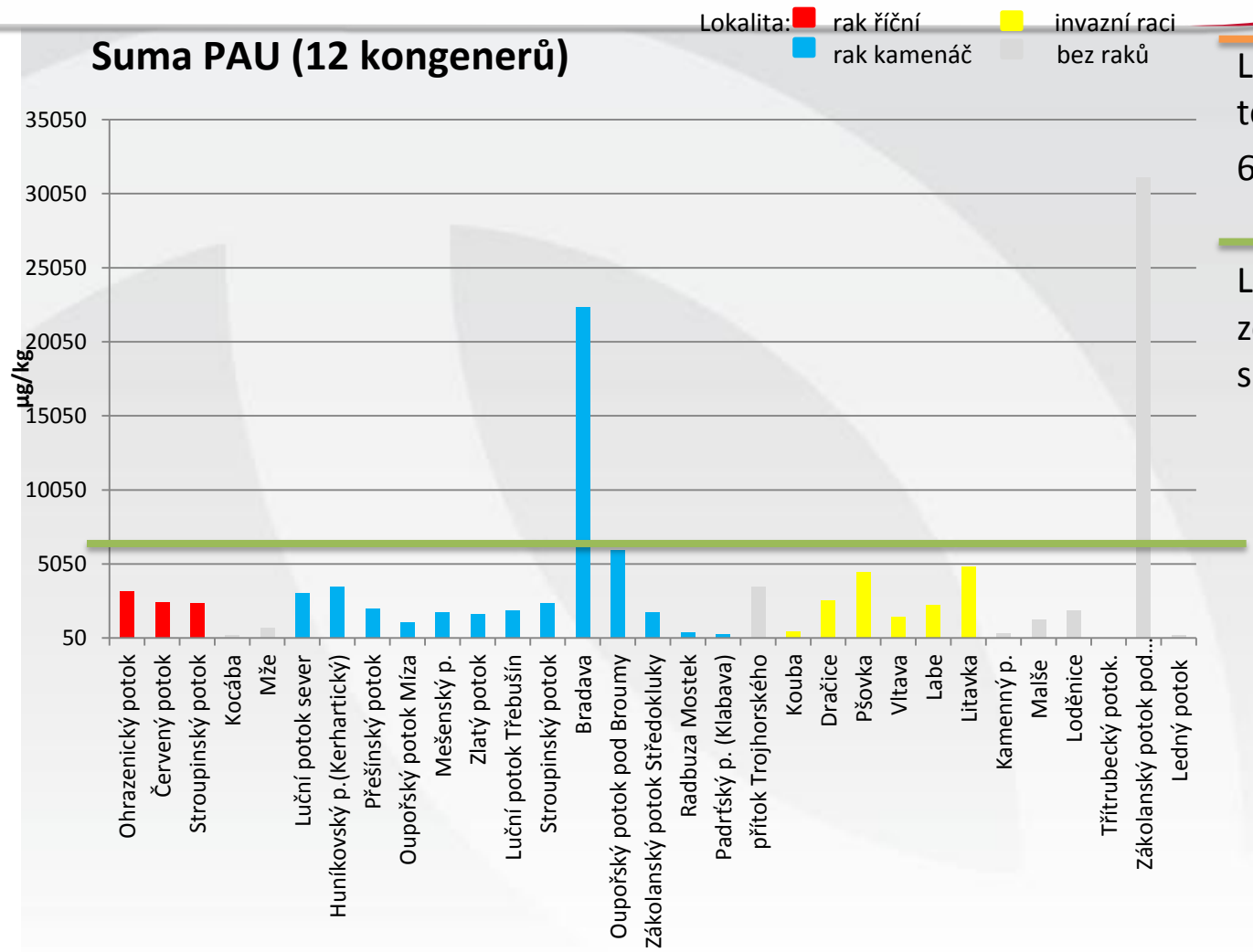
Bradava – Hořehledy
? důvod

Zákolanský potok
vliv Kladna a Slaného

PAU vznikají při spalování fosilních paliv, lokální topeniště, doprava, ale i z určitých typů výrob

Benzo(a)pyren – prioritní látka

Sedimenty – výsledky
Suma (PAU)



Limit pro uložení na povrch terénu pro PAU suma(12): 6 000 **mg/kg** suš.

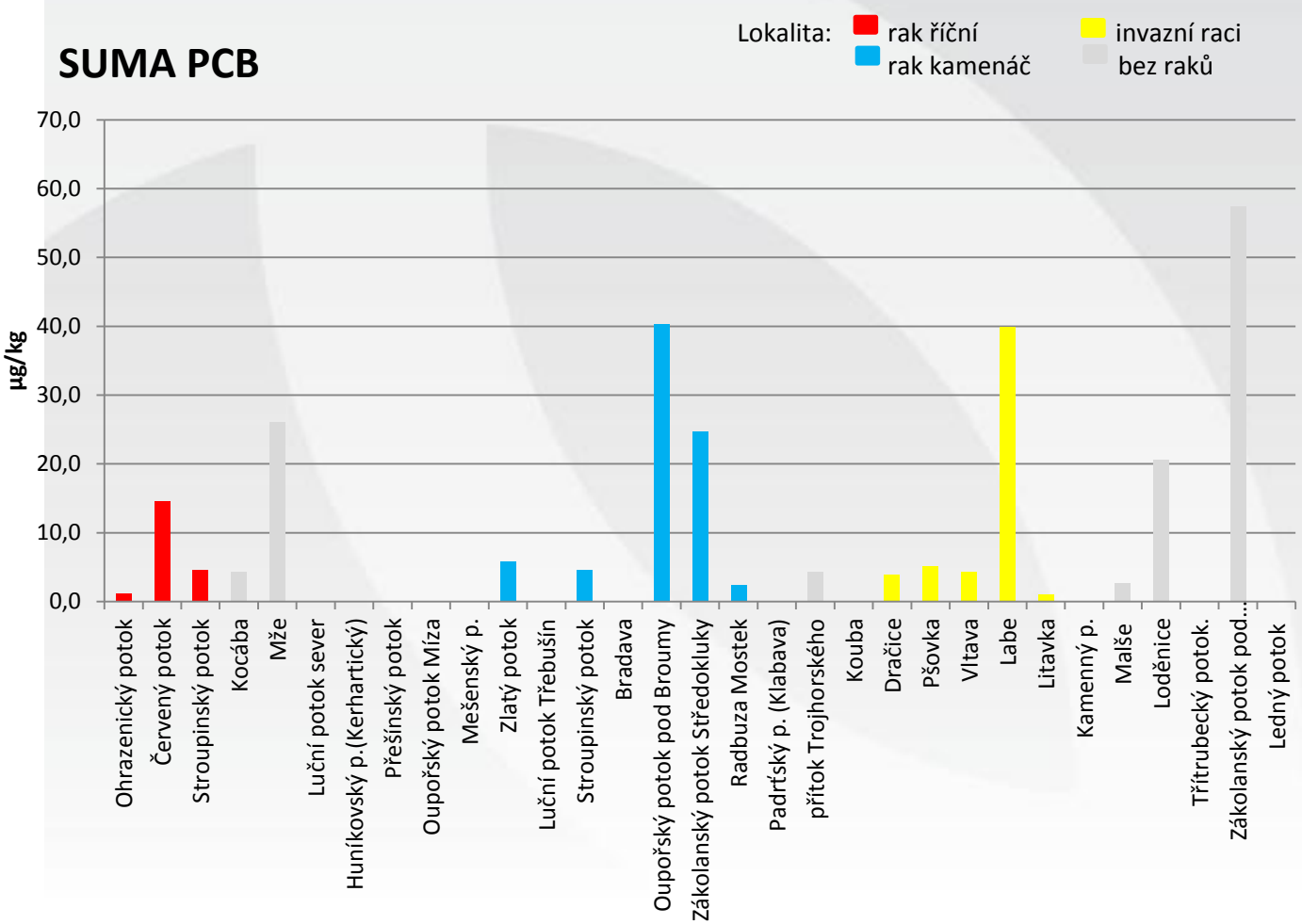
Limit pro použití na zemědělskou půdu pro PAU suma (12): 6 000 ug/kg suš.

Překročení limitu použití na zemědělskou půdu

Bradava – Hořehledy
? důvod

Zákolanský potok
vliv Kladna a Slaného

Sedimenty – výsledky
PCB - suma



Limit pro uložení na povrch terénu: 200 mg/kg suš.

Limit pro použití na zemědělskou půdu: 0,2 mg/kg suš.

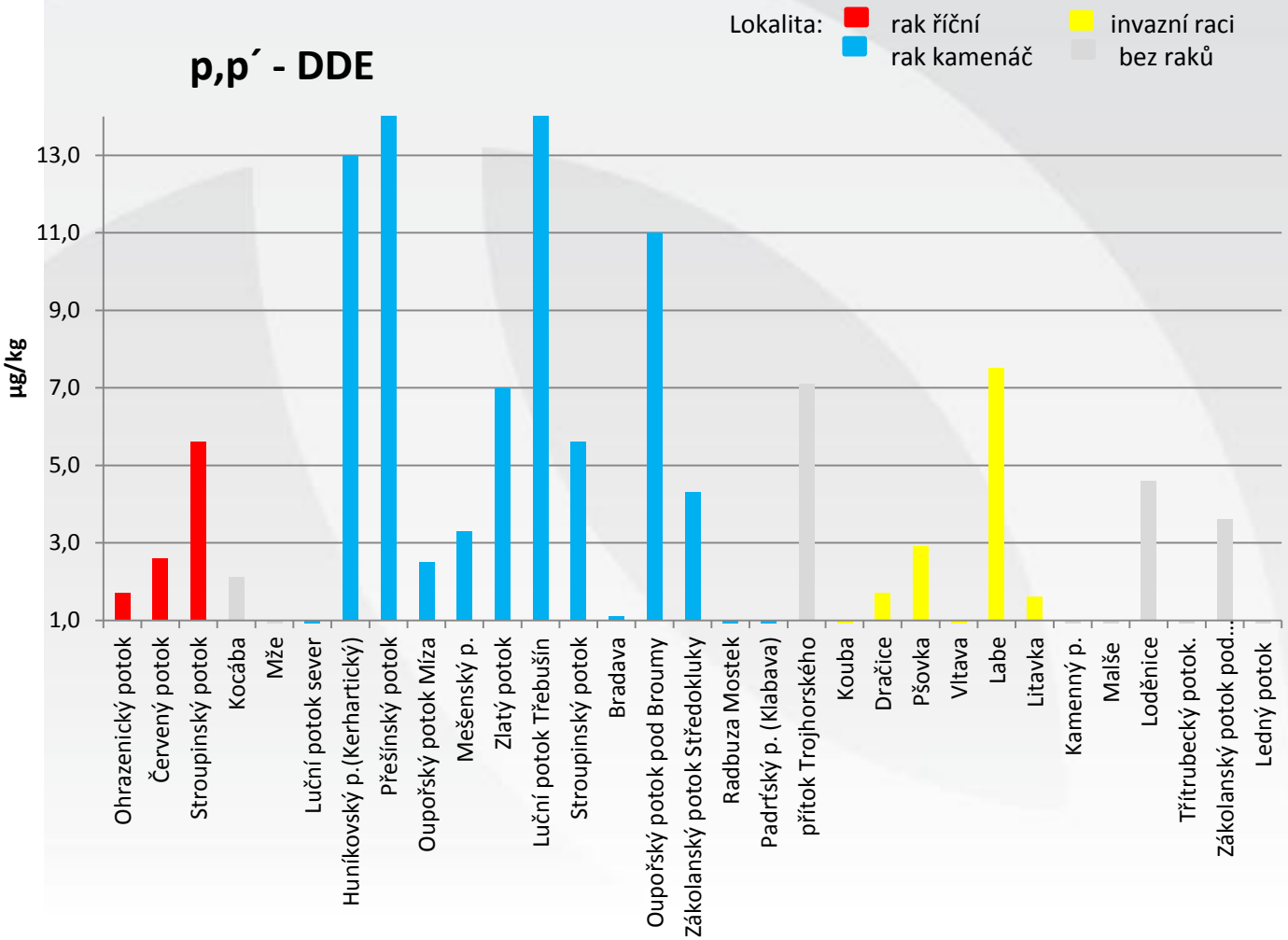
limity nepřekročeny,

„obecně nízké koncentrace“

Vliv civilizace, průmyslu, PCB bylo obsaženo v barvách , olejích a jako aditivum

Vliv Kladna, Slaného, Rakovníku, Komárova Broumy ?

Sedimenty – výsledky
p,p DDE

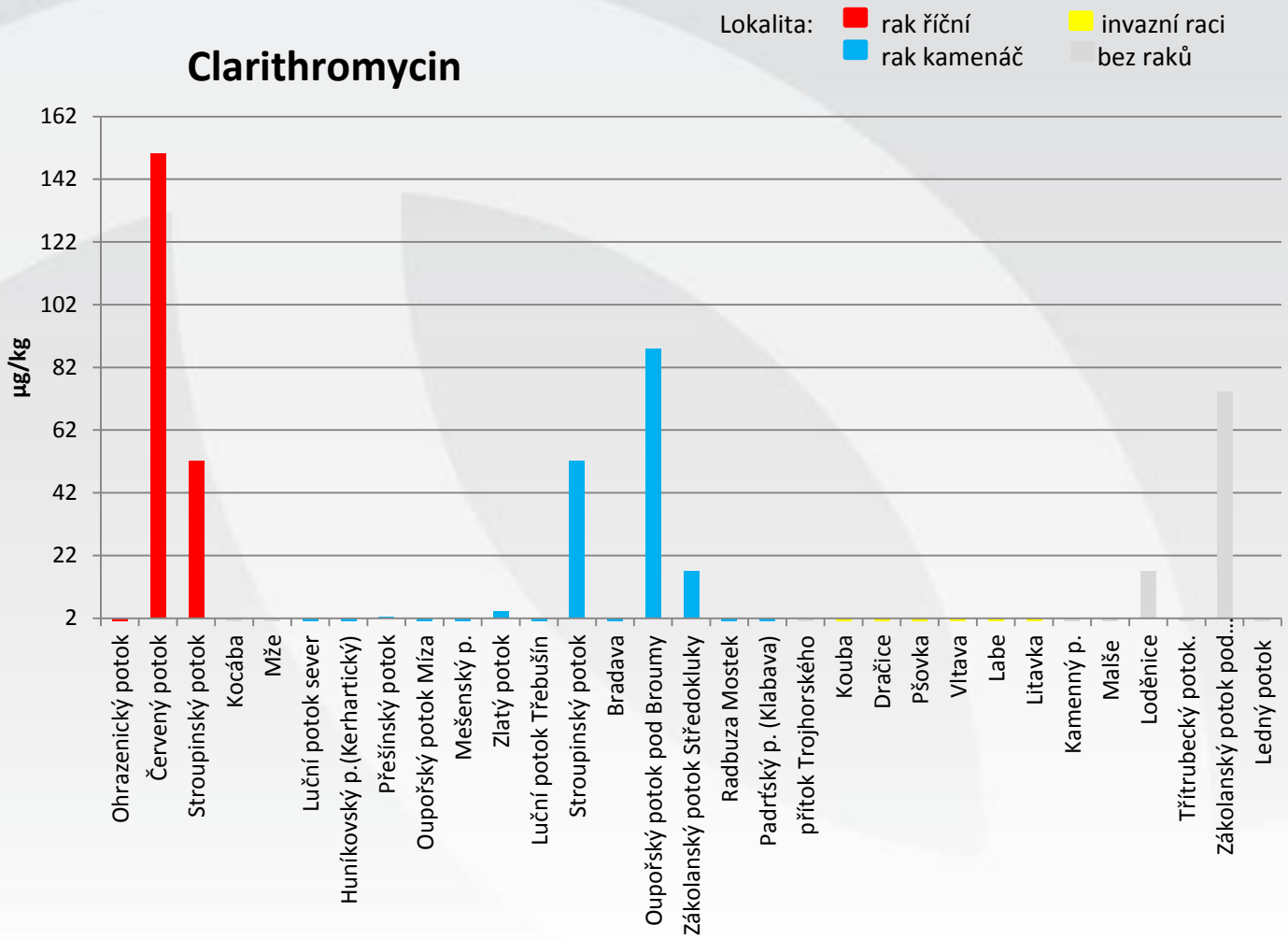


limit pro použití na zemědělskou půdu pro **sumu DDT včetně metabolitů**: 100 ug/kg suš.

limit nepřekročen

Metabolity DDT – možný dobíhající vliv dávné plošné aplikace insekticidu DDT

Sedimenty – výsledky
Clarithromycin - *antibiotikum*



Clarithromycin – vazba na sediment ve vodě je v minimálních množstvích

Červený potok - lokální vliv lidských sídel Pravděpodobně vliv nemocnice Hořovice – velké sídlo x malý tok

Voda - farmaka, sledované látky rozdělelní do terapeutických skupin

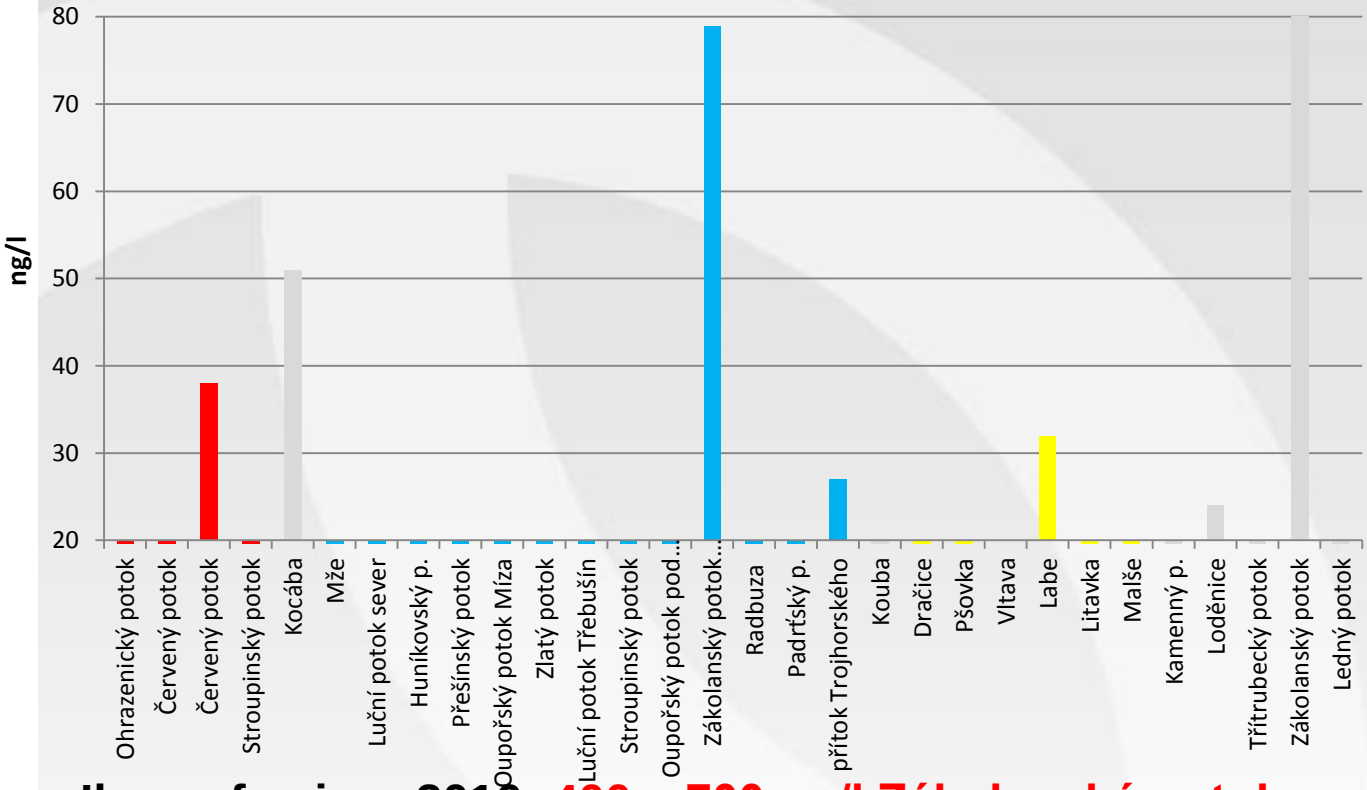
léky proti zánětu a protirevmatické: ***naproxen, diklofenak, ibuprofen, paracetamol, ketoprofen,***
léky na vysoký krevní tlak: ***atenolol, hydrochlorthiazid, furosemid, metoprolol***
léky snižující tělní tuk a cholesterol (hypolipidemika): ***benzafibrate, gemfibrozil***
antibiotika: ***klaritromycin, erytromycin, chloramfenikol, penicilin G, roxithromycin, trimetoprim, sulfamerazin (veterinární)***
sulfonamidy (léčba infekcí): ***sulfamethazin, sulfamethoxazol, sulfanilamid, sulfapyridin***
léky na epilepsii: ***karbamazepin***
léky na epilepsii a neuropatickou bolest: ***gabapentin***
opioidy: ***tramadol***
léky proti srážlivosti krve: ***warfarin***
rentgendiagnostické látky: ***iopamidol, iopromid***
umělá sladidla: ***sacharin***
antibakteriální a antimykotické látky: ***triclocarban a triclosan***
stimulancia: ***caffein***

metabolity ibuprofenu – „zkušebně“

Voda – farmaka
růžový kamarád ☺
antiflogistikum

Ibuprofen

Lokalita: rak říční, invazní raci, rak kamenáč, bez raků



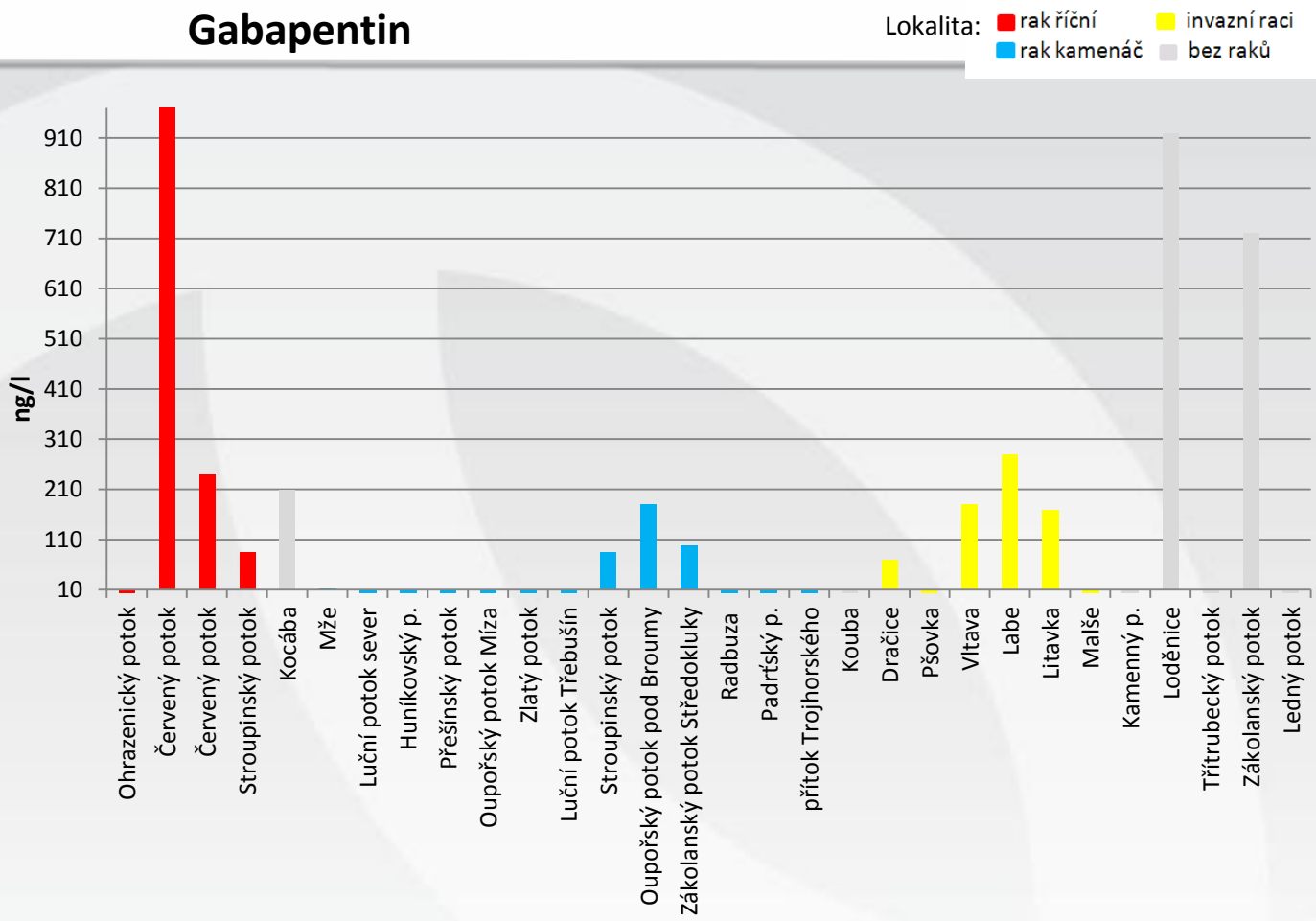
lokální vliv lidských sídel Zákolanský potok – Slaný, Kladno

Červený potok – Komárov, Zaječov
velké sídlo x malý tok

Ibuprofen jaro 2016: 400 – 700 ng/l Zákolanský potok - pod Dřetovicemi, Bradava - Hořehledy, Mšenecký – Příkosice, Oupořský - Míza

Ibuprofen 2 hydroxy: 4 700 - 5 300 ng/l Zákolanský p. - pod Dřetovicemi,
Ibuprofen – carboxy: 28 – 220 ng/l Zákolanský p. - pod Dřetovicemi

Voda – farmaka
Gabapentin
neuropatická bolest, epilepsie



lokální vliv lidských sídel Zákolanský potok – Slaný, Kladno

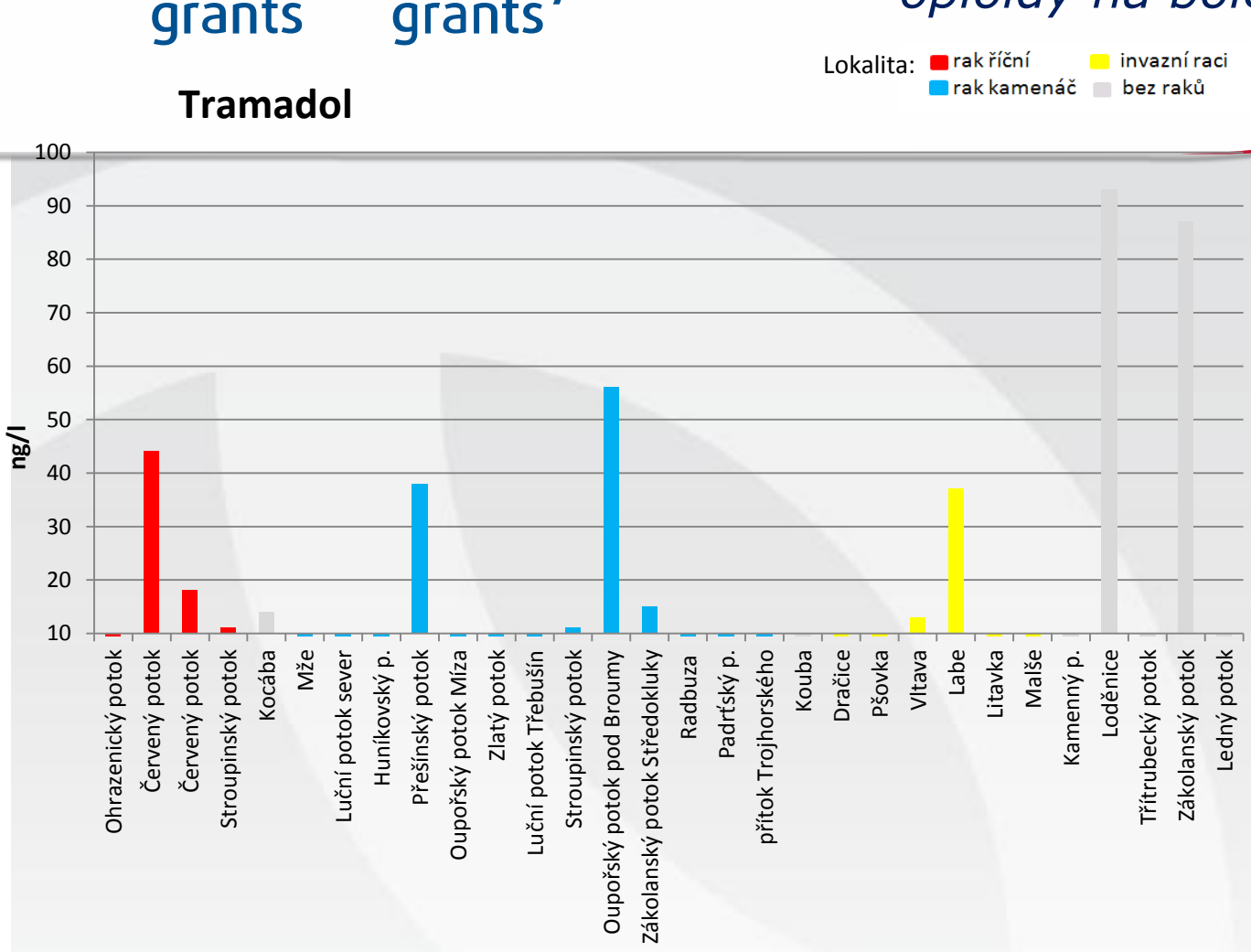
Červený potok – (Komárov, Zaječov)

Loděnice – Unhošť (domov důchodců-léčebna) + Loděnice

velké sídlo x malý tok

Gabapentin jaro 2016: 6000 ng/l Zákolanský p. - pod Dřetovicemi, 400 ng/l Stroupinský p.

Voda – farmaka
Tramadol
opioidy na bolest



lokální vliv lidských sídel Zákolanský potok – Slaný, Kladno

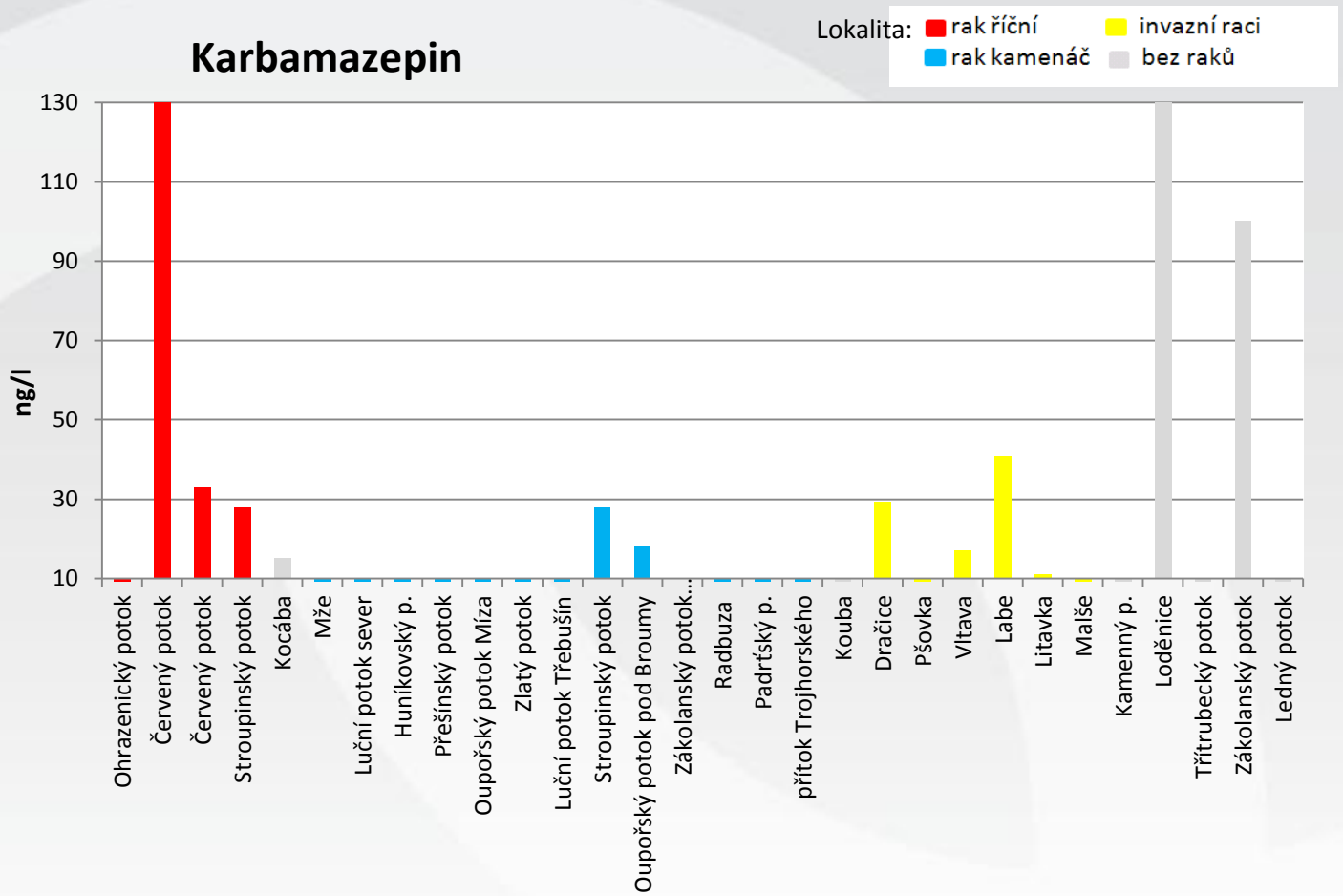
Červený potok – (Komárov, Zaječov)

Loděnice – Unhošť (domov důchodců-léčebna) + Loděnice

velké sídlo x malý tok

Tramadol jaro 2016: 800 ng/l Zákolanský p. - pod Dřetovicemi, 140 ng/ Oupořský p. Broumy, 78 ng/l Stroupinský p.

Voda – farmaka
Karbamazepin
antidepresivum, antiepileptikum



lokální vliv lidských sídel Zákolanský potok – Slaný, Kladno

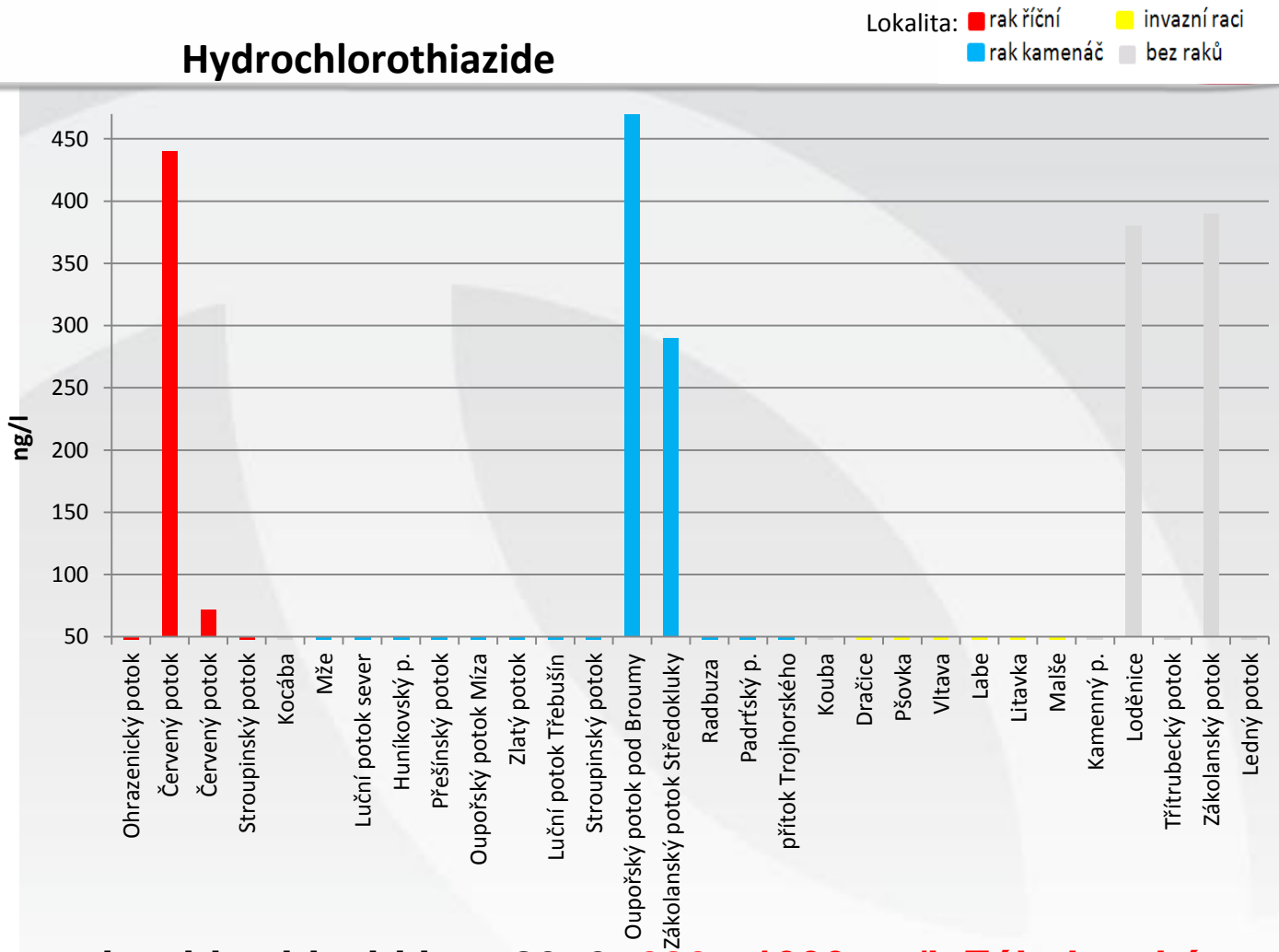
Červený potok – (Komárov, Zaječov)

Loděnice – Unhošť (domov důchodců-léčebna) + Loděnice

velké sídlo x malý tok

Karbamazepin jaro 2016: 420-580 ng/l Zákolanský p. - pod Dřetovicemi, Oupořský - Stroupinský potok 40 – 70 ng/l

Voda – farmaka
Hydrochlorthiazid
Antihypertenzivum-vysoký krevní tlak



lokální vliv lidských sídel

Zákolanský potok – Slaný, Kladno

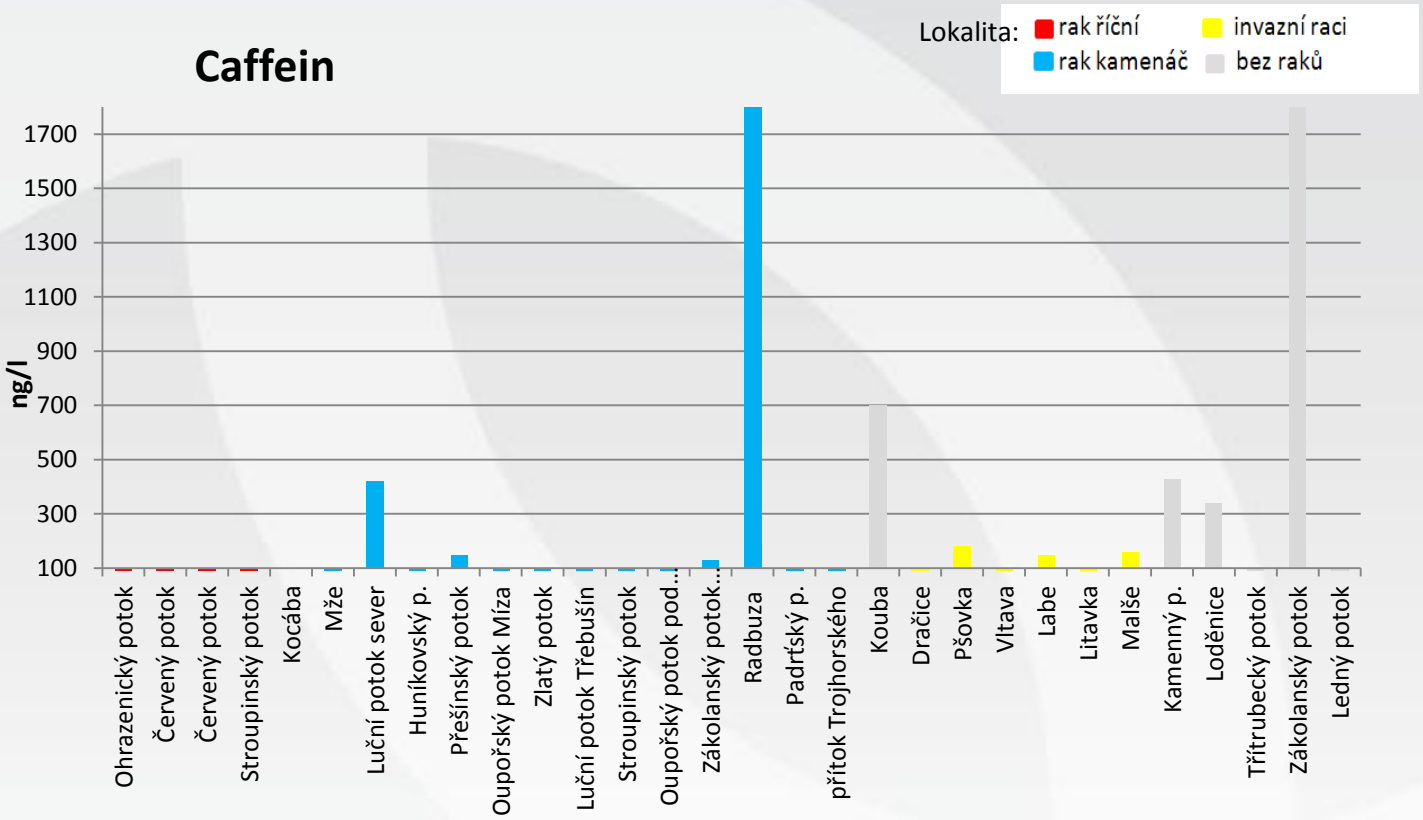
Červený potok – Komárov, Zaječov

Loděnice – Unhošť (domov důchodců-léčebna) + Loděnice
velké sídlo x malý tok

Oupořský p. Broumy - ?hypertonici?

Hydrochlorthiazid jaro 2016: 630 - 1000 ng/l Zákolanský p. - pod Dřetovicemi, 320 ng/ Oupořský p. Broumy,

Voda – farmaka
Caffein
léky a káva ☺



Radbuza

Zákolanský potok

Další zajímavé látky

- **Pesticidy** – nízké koncentrace rodičovských látek, nejsou zajímavé, pouze metabolity chloracetanilidů: nízké hodnoty **metazachlor ESA, alachlor ESA – hodnoty do 240ng/l**
- **Benzotriazoly** – látky používající se jako antokoroziva, antifreeze:

  Zákolanský potok – Dřetovice: 1-H-benzotriazol =13 500 ng/l,

  5 methyl 1-H-benzotriazol = 2 550ng/l, ostatní lokality v desítkách nanogramů – „běžný kontaminant“
- **Iohexol –** rentgenkontrastní látka (ve zdravotnictví)

  Zákolanský potok – Dřetovice 4900 - 8000 ng/l

Bioakumulace těžkých kovů a speciálních organických látek v tkáních autochtonních a alochtonních raků

- 12 lokalit v ČR a 2 v Norsku (jezera)
- Rak signální, pruhovaný, říční a kamenáč
- Analyzované tkáně: svalovina, žábra, hepatopankreas, ~~hemolymfa~~

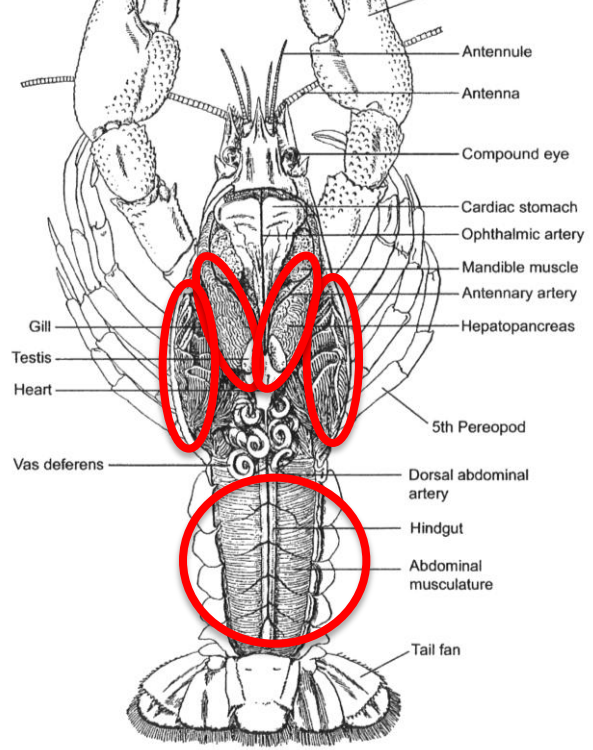
- **Analýzy kovů:** kobalt, hliník, vápník, železo, mangan, nikl, měď, zinek, arsen, kadmium, olovo, rtuť
- **Analýzy SOA:**

léčiva, pesticidy, PCP

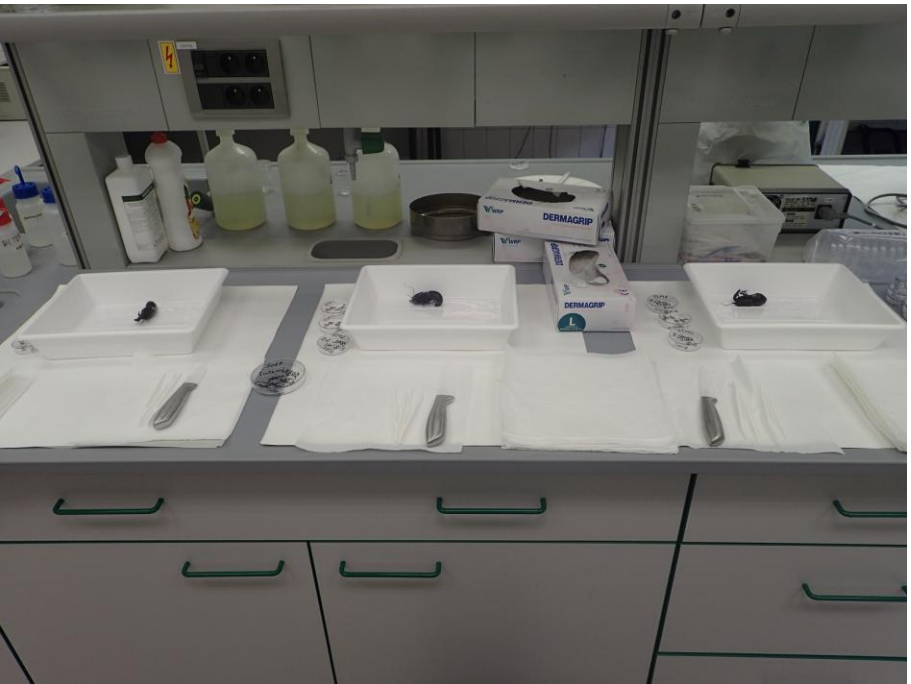
Předúprava vzorků biologického materiálu

- Lov a zmražení (VÚV)
  - Odebráno 7 jedinců / lokalita
  - kovy: z každého jedince,
  - organické polutanty: směsný vzorek svaloviny
- Preparace
- Lyofilizace
- Mletí vzorku
- Analýza – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)
  - plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS)
  - kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS/MS)

Preparace:



- Obezřetnost: možnost kontaminace stopových množství prvků x rozdílná koncentrace prvků v tkáních



Výsledky:

- **Znečištění těžkými kovy**
  - **bioakumulace** do tkání živočichů **běžná** (Dalzell and Macfarlane 1999)
  - Znečištění, přirozené pozadí (Al), **mikrobiogenní prvky:** (**Mn, Fe, Cu, Zn)**

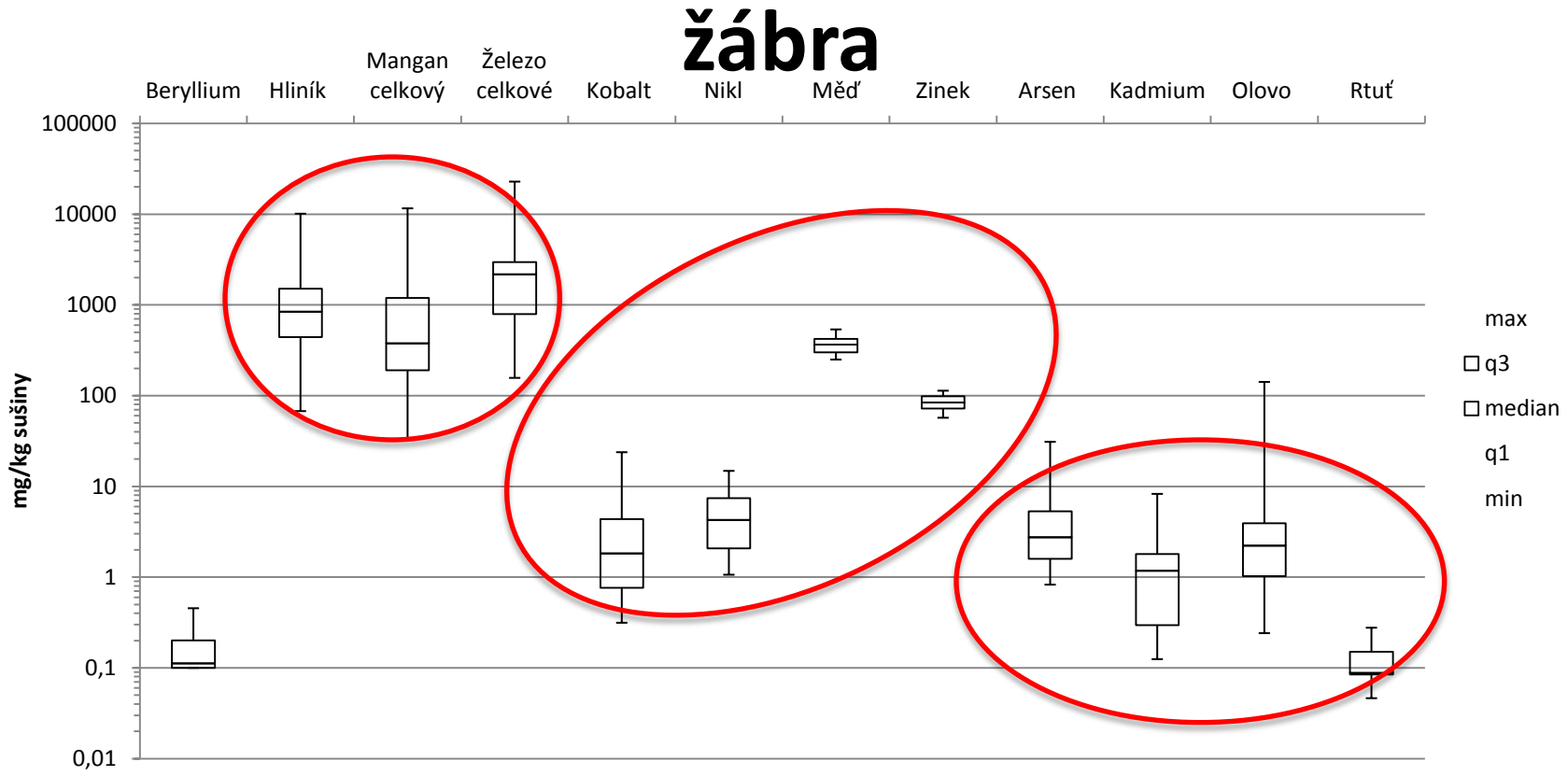
- **Bioakumulace závislí na:**
  - míře znečištění, délce expozice, fyzikálně chemických podmínkách dané lokality , stáří raků, podloží, kys. deště, Brdy – huminové kyseliny, smrčiny, riziko toxicity hliníku při nízkém pH)
  - naopak příliš nezáleží na druhu, pohlaví atd.

- **Těžké kovy: Stejné poměry mezi sebou, liší se pouze řády koncentrací v závislosti na tkáni (podobně Antón et al. 2000): žábra > hepatopankreas > svalovina**

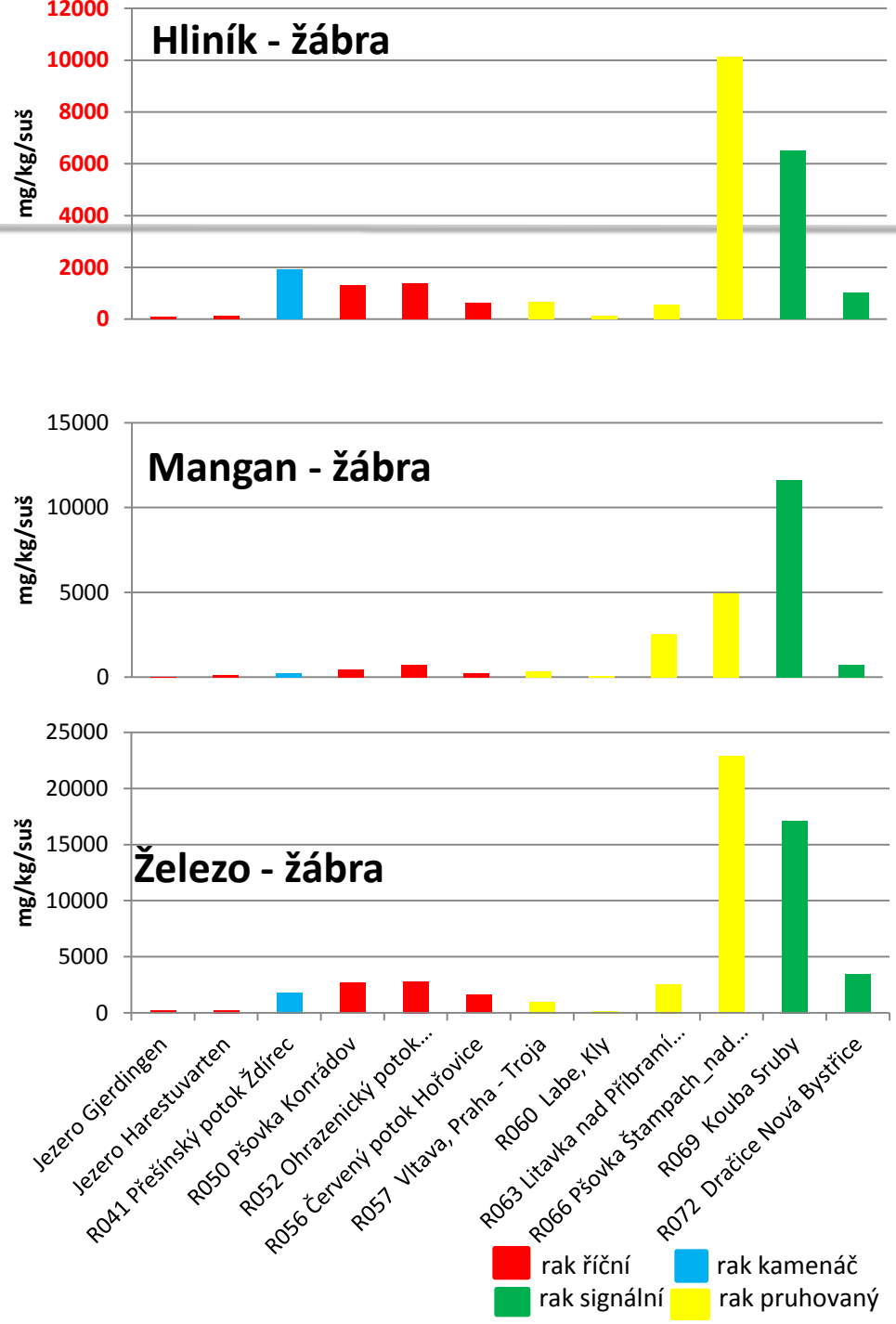
  - (vyjma zinku a železa – stejné koncentrace ve svalovině **X** Svobodová a kol. 2016 – vyšší ve svalovině)

Bioakumulace těžkých kovů

14 lokalit a až 7 vzorků

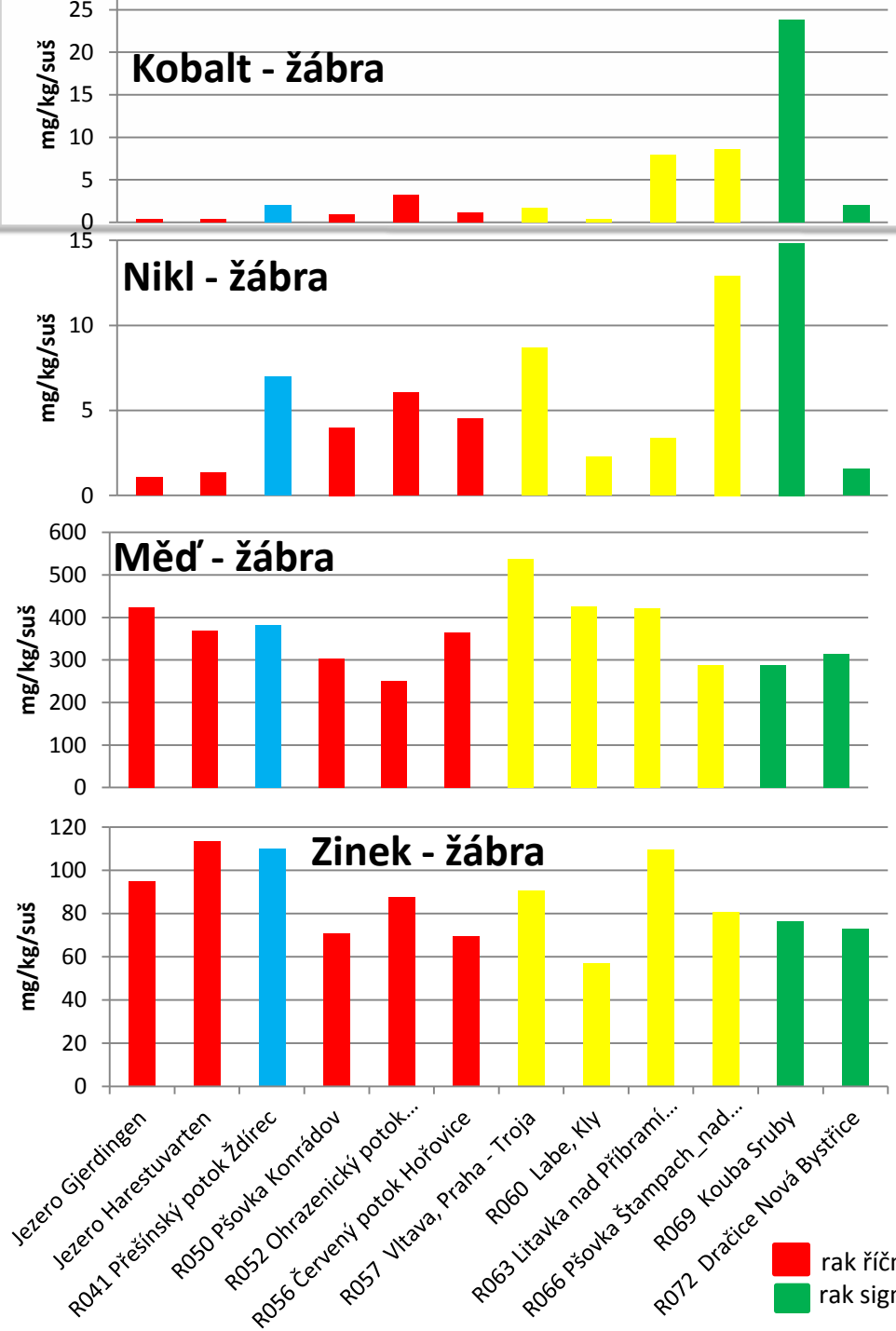


- Biogenní prvky (Cu, Zn) – malý rozptyl
- Kovy, jejichž dostupnost je vázána na prostředí (Al, Mn, Fe) – velký rozptyl na lokalitách
- Těžké kovy (As, Cd, Pb) – korelace s lokalitou
- Jednotky: x.1000 mg/kg sušiny



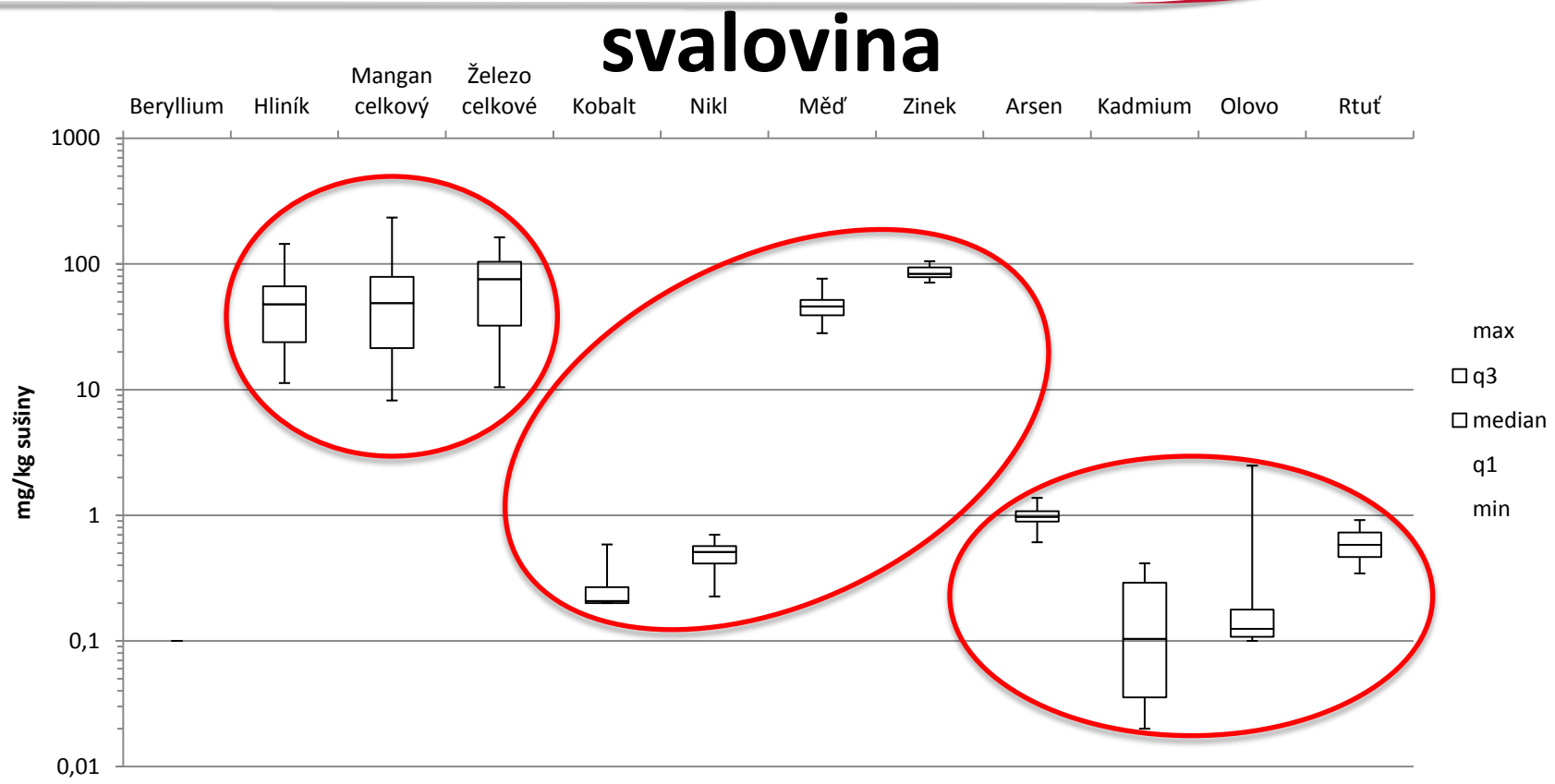
- **Průměr koncentrací ze 7 jedinců (mg/kg suš.)**
- **Na žábrách největší koncentrace (1000-10000)** rozhraní povrch tkáně/voda
- Al: Při nadměrném vysrážení na povrchu žaber – ovlivněné **dýchání a chování (Alexopoulos et al. 2003)**
  - ☛ na raky má vliv, hl. invazní druhy
- Korelace **manganu a železa** ve vodách☛zjevné i na žábrách, bioakumulace podobná

Stopové prvky



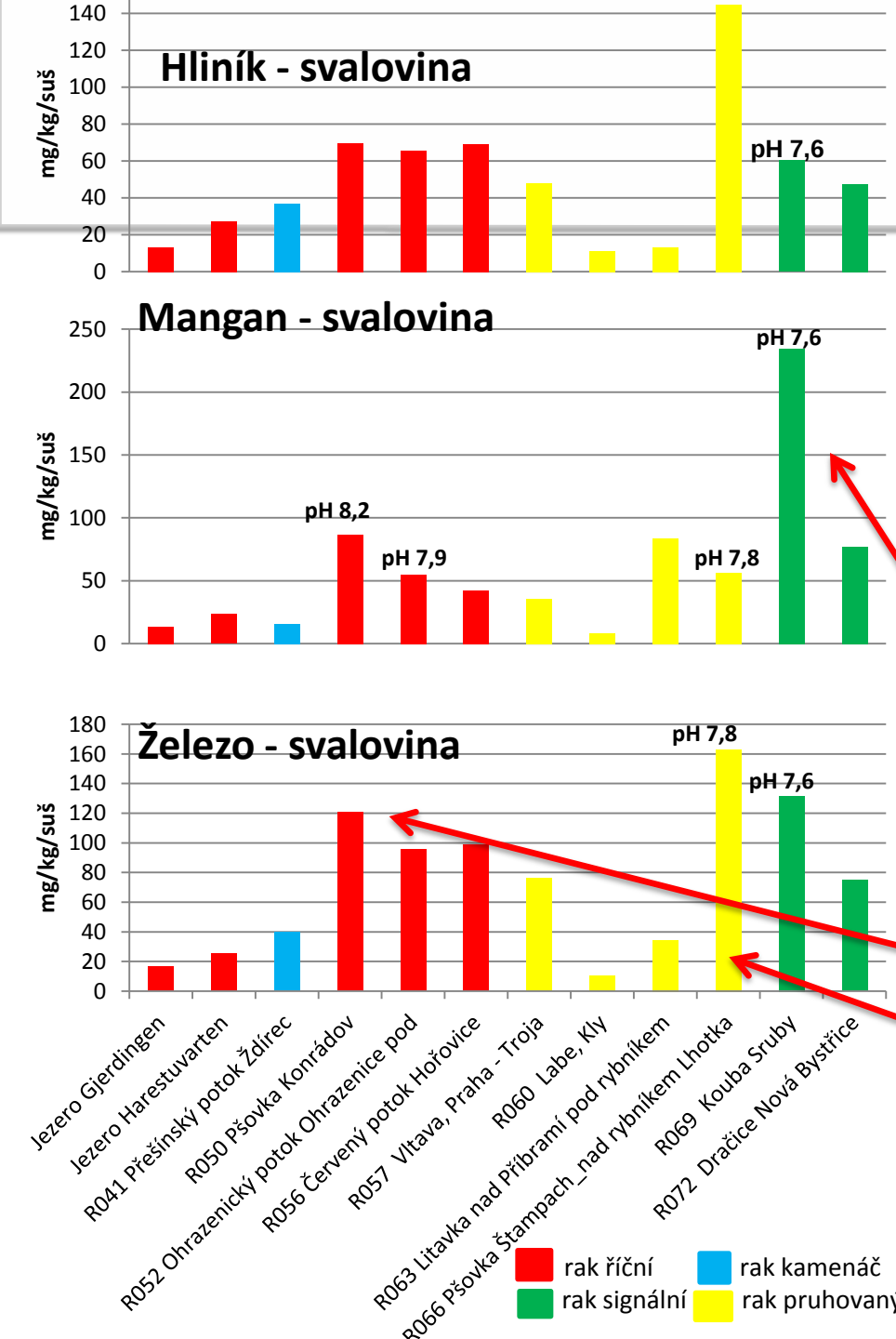
- Esenciální prvky, nadměrný přísun mohu být škodlivé
- **Nikl a Kobalt** ve volné přírodě **společný výskyt**, ve větší míře toxický: Kouba – Sruby
- **Nikl:** toxický – usazování v exoskeletu ☛žábra
- **Měď, Zinek:** esenciální prvek, vyrovnané koncentrace (viz. box-plot)

Bioakumulace těžkých kovů



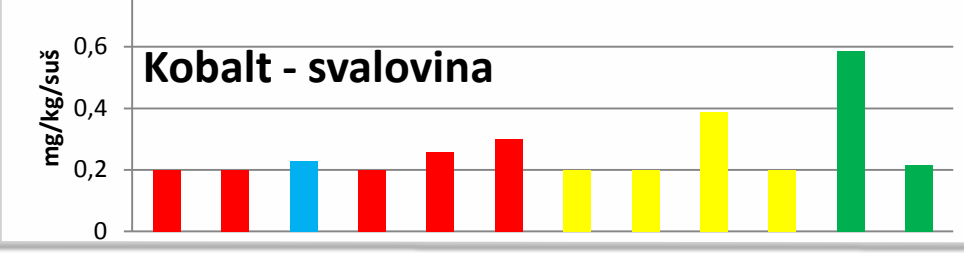
- Biogenní prvky (Cu, Zn) – malý rozptyl
- Kovy, jejichž dostupnost je vázána na prostředí (Al, Mn, Fe) – velký rozptyl na lokalitách
- Těžké kovy (As, Cd, Pb) – korelace s lokalitou
- Jednotky: x.1 - 100 mg/kg sušiny

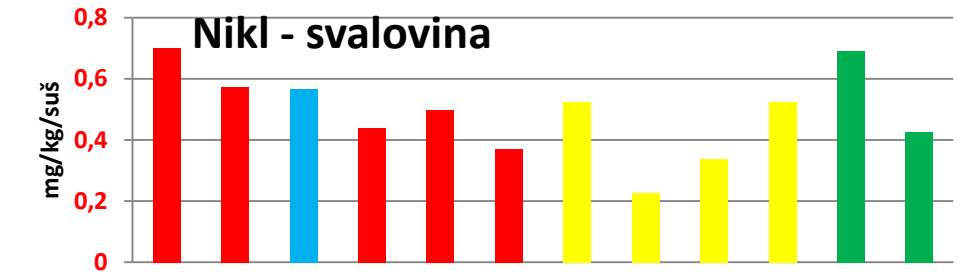
Al, Mn, Fe

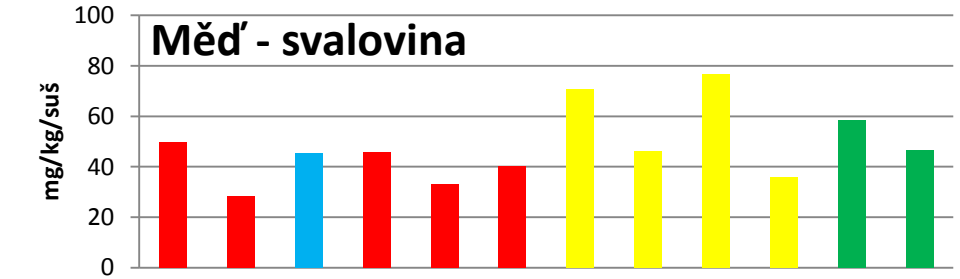


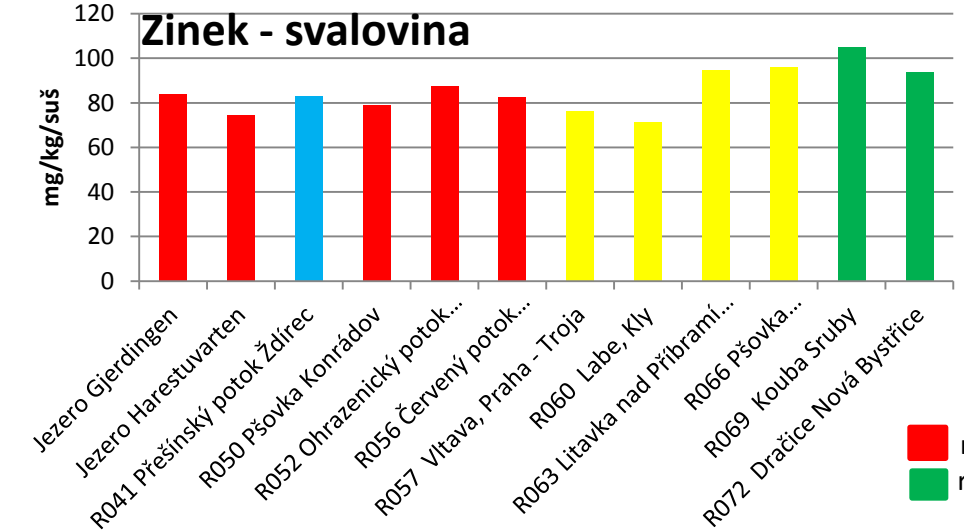
- Ve svalovině **nejnižší koncentrace Al, Fe, Mn (10x)**
- **Bioakumulace Mn, Fe je na lokalitě podobná** - korelace
- **srovnání s dostupností manganu ve vodě** na lokalitách:
  - Pšovka: 0,06 mg/l
  - Ohrazenický p.: 0,017 mg/l
  - **Kouba**: 0,12 mg/l
- **srovnání s dostupnosti železa ve vodě** na lokalitách:
  - Pšovka Konrádov: 1,7 mg/l
  - Ohrazenický p.: 0,2 mg/l
  - Pšovka Štampach.: 0,47 mg/l
  - Kouba (prům. voda): 0,46 mg/l

korelace







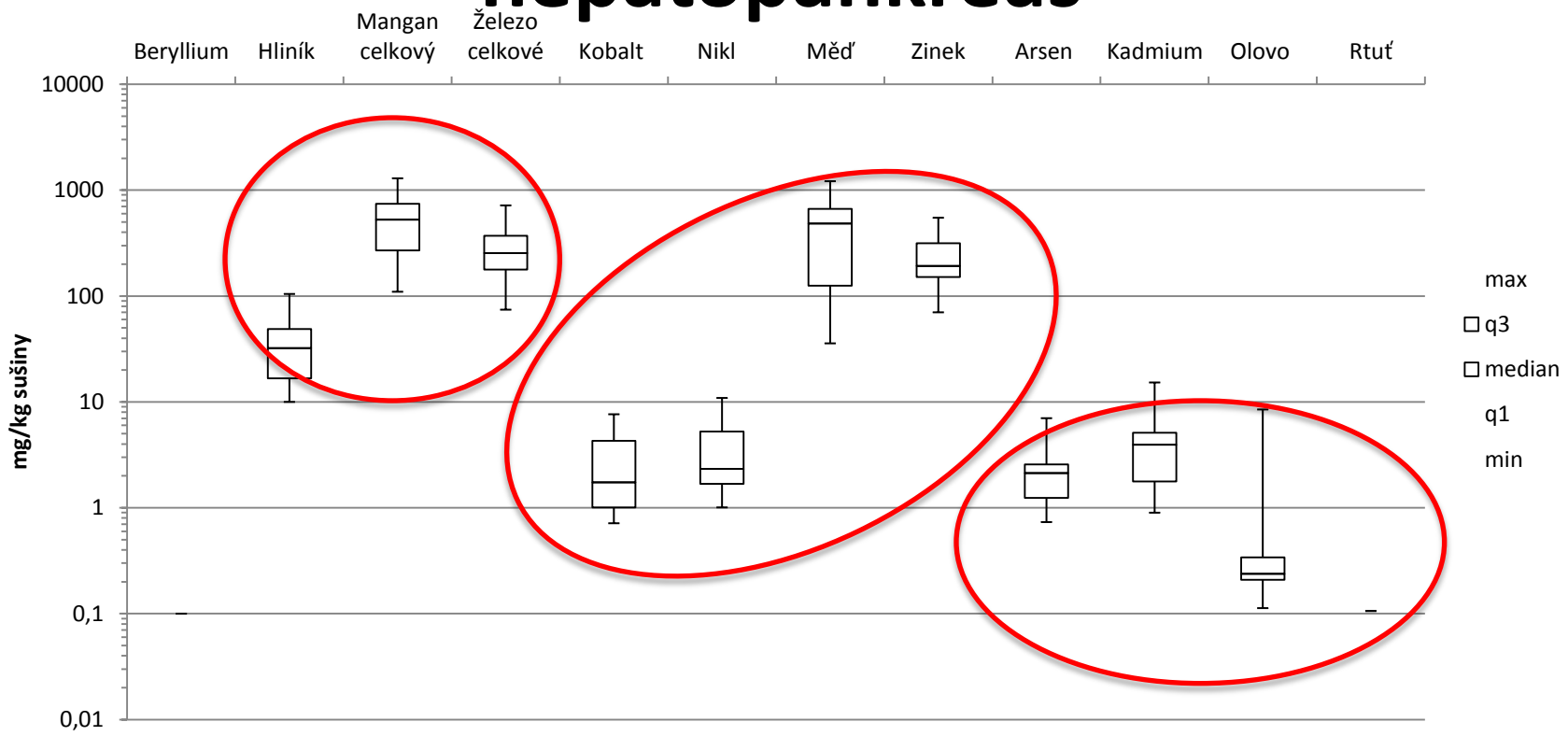


Stopové prvky

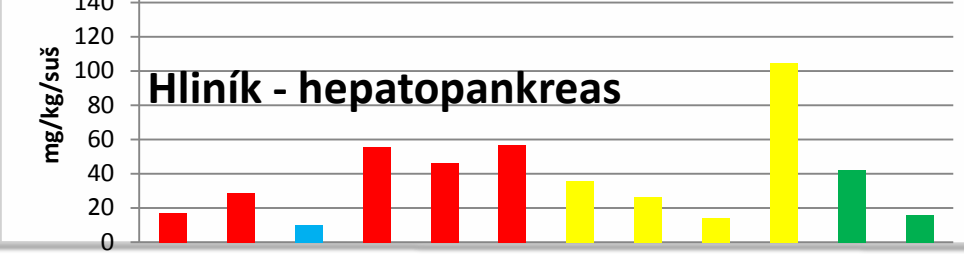
- **Nikl a kobalt: Kouba - Sruby**
- Nikl: ve svalovině nejnižší koncentrace (i Svobodová et al. 2016)
- Zinek a Měď: Udržování koncentrace na **konstantní úrovni v těle**,
  - při přebytku **může docházet k nadměrnému ukládání** (Cu: Troja, Příbram)

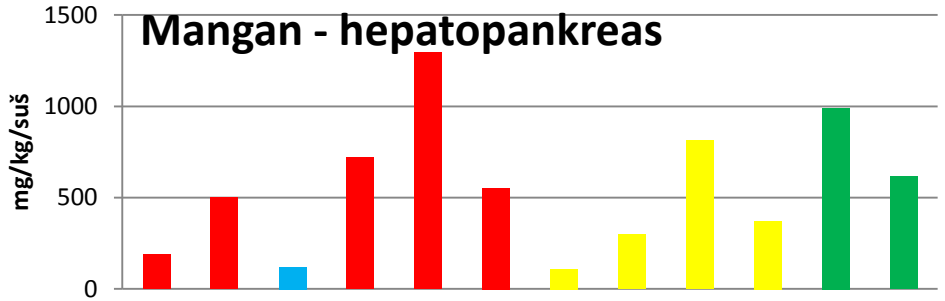
Bioakumulace těžkých kovů

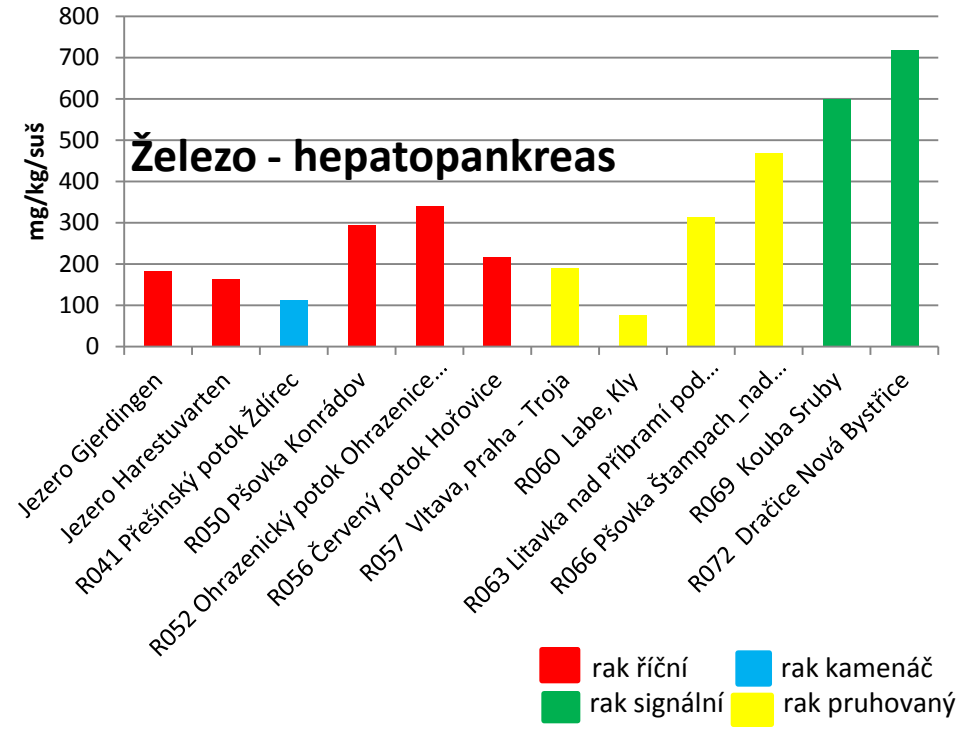
hepatopankreas



- Biogenní prvky (**Cu, Zn**) – větší rozptyl oproti jiným tkáním
- Kovy, jejichž dostupnost je vázána na prostředí (Al, Mn, Fe) – menší rozptyl oproti jiným tkáním, **Al** prokazatelně méně, než **Fe, Mn**
- Těžké kovy (**As, Cd, Pb**) – korelace s lokalitou (velké rozdíly)
- Jednotky: 100x mg/kg sušiny

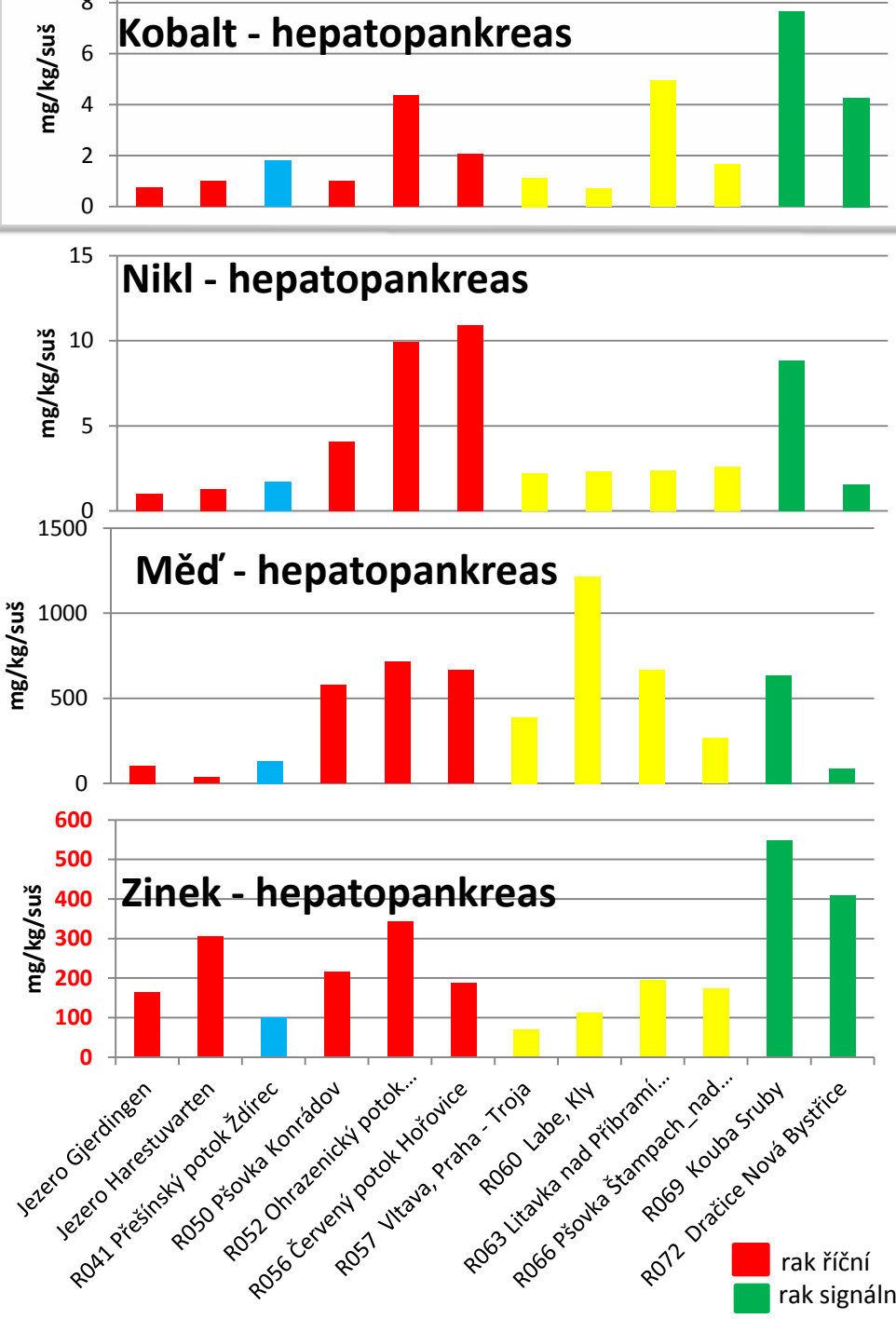






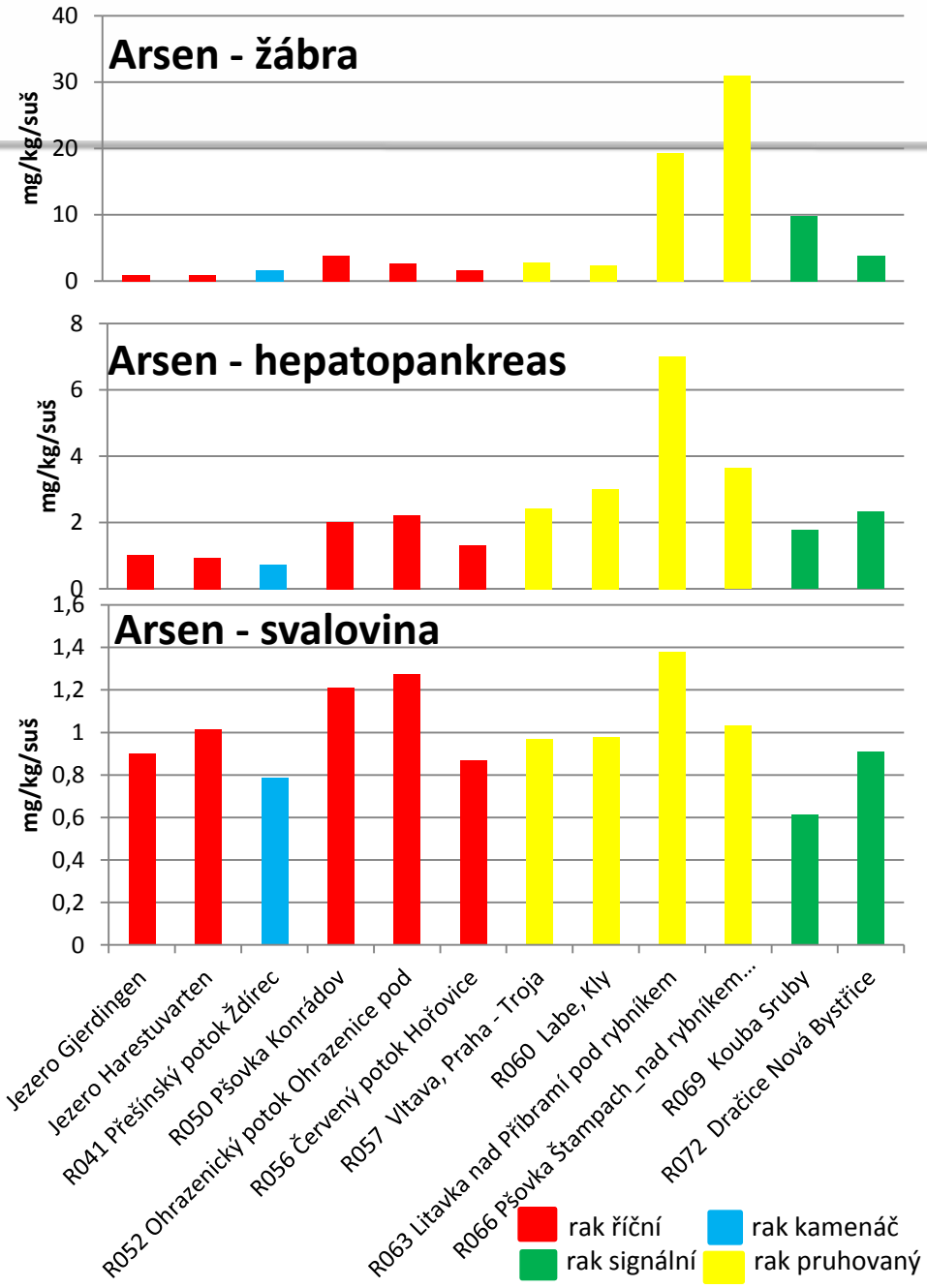
Al, Mn, Fe

- **nejméně hliníku** oproti esenciálním prvkům Mn a Fe
  - jednotky



Stopové prvky

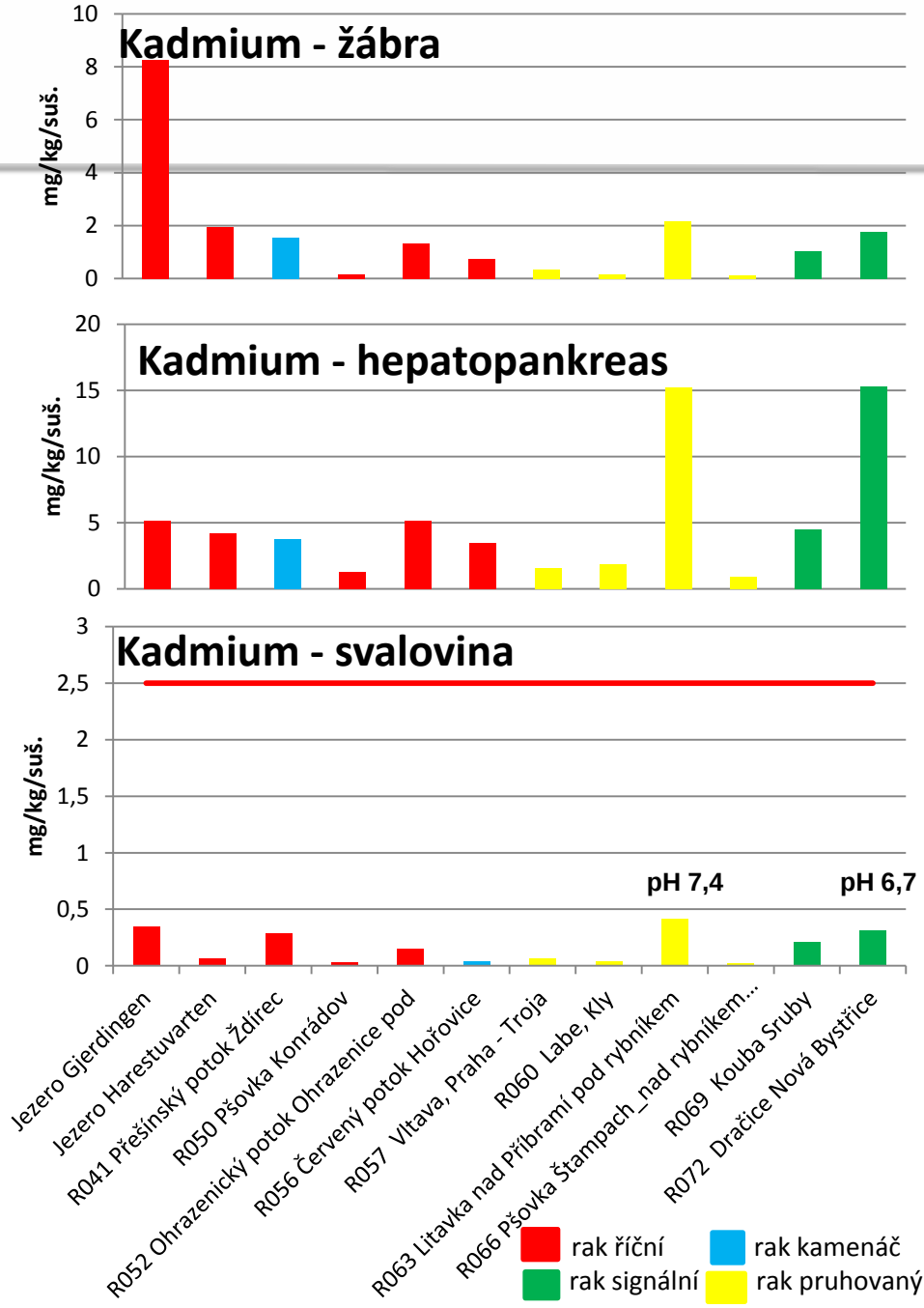
- **Zinek: Nejvíce se ukládá v hepatopankreasu – výsledky potvrzují – až 6x více** (Esenciální prvek, nadměrný přísun může být škodlivý)
- **Nikl: Maximální hodnoty v hepatopankreasu** (Ohrazenický a **Červený potok**)
  - Zdroj: úpravy rud, pokovování, **průmysl**
  - a v **žábrách** (Přešínský p., Trója, Kouba a Dračice)



Těžké kovy

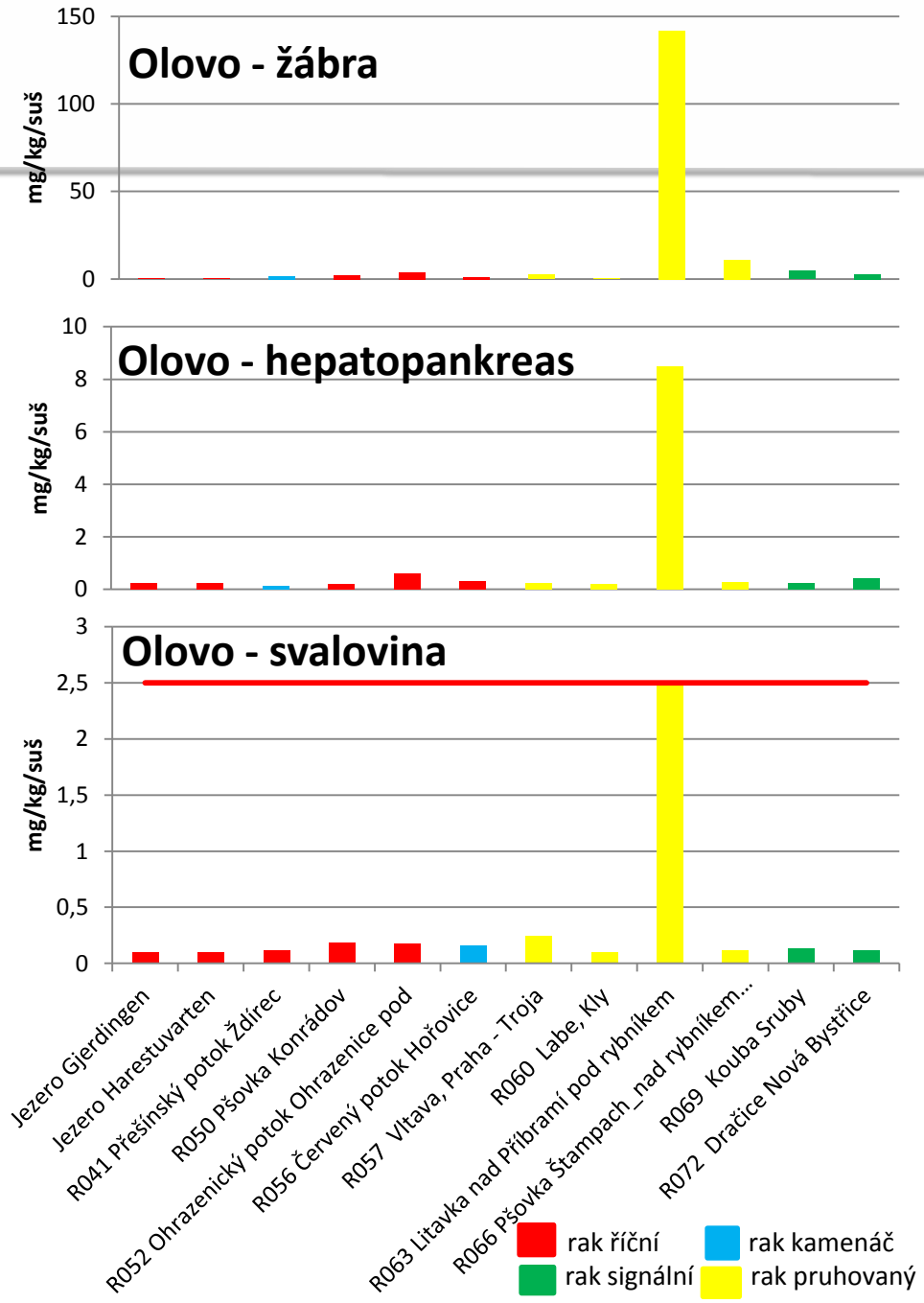
- **Nejvyšší koncentrace – žábra a hepatopankreas (jednotky!)**
- možný původ:
  - **zpracování rud**, aditiva do skla, insekticidy, hnojiva
  - **Geogenní pozadí Brd, výsypky – Litavka nad Příbramí**
  - **Kovohuť Příbram – vyšší koncentrace v okolí Padrťských rybníků** (Zpráva České geol. služby 2015, Hojdová et al. 2011)

Těžké kovy



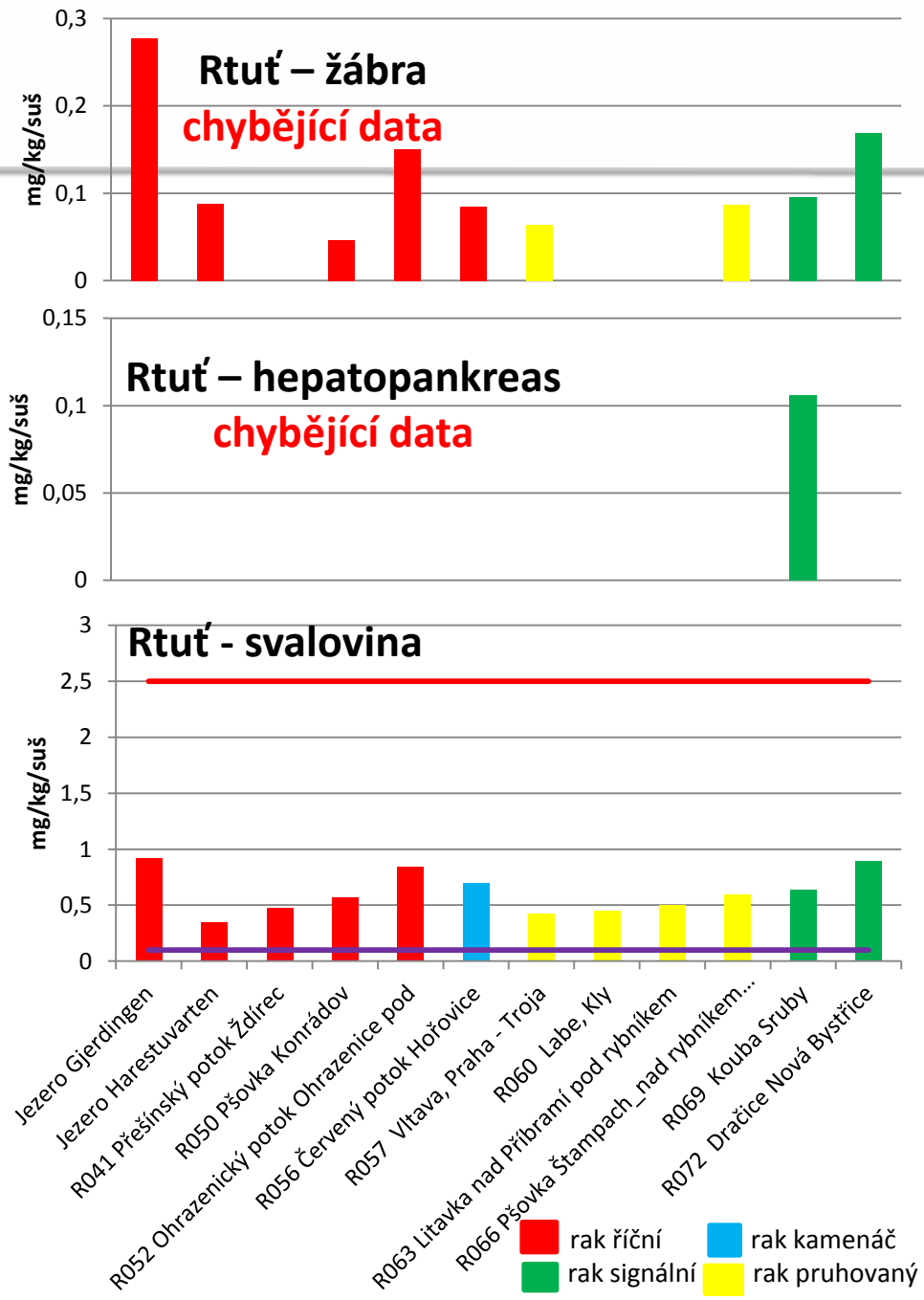
- Limity 1881/2006/ES (Hg, Pb, Cd): 2,5 mg/kg/sušiny (koncentrace v potravinách)
- **Bioakumulace** z potravy i vodního prostředí, karcinogenní, teratogenní a nefrotoxický
- **Nejvíce se ukládá v hepatopankreasu –** výsledky to potvrzují
- Jedna z největších koncentrací v norském **jezeře Gjerdingen**
- **Zemědělství (hnojiva) - Dračice**
- doprovodně se zinkem v **rudách výsypky – Litavka nad Příbramí** (geogenní pozadí Brd)
  - zlepšení ve vodách Brd: 1986 – 2010 (Majer a kol. 2012)

Těžké kovy



- Limity potraviny 1881/2006/ES (Hg, Pb, Cd): 2,5 mg/kg/sušiny
- Často jsou **nejvyšší nálezy v hepatopankreasu – výsledky nepotvrzují**
- **Litavka nad Příbramí** –
  - **Nemělo by mít vliv**: průmysl, fosilní paliva, akumulátory, barvy atd.
  - **Mohlo by mít vliv:** Zátěž rybničního sedimentu

Těžké kovy



- Limity 1881/2006/ES (Hg, Pb, Cd): 2,5 mg/kg/sušiny
- Limit 39/2013/EU (Hg): 0,1 mg/kg/sušiny
- Studie: **nejvyšší usazování ve svalovině** pro níž jsou stanovené NEK **(souhlasí s dostupnými výsledky)**
- Ukládání do tkání z vody i potravy (potravní řetězec),**zvýšená úmrtnost → snížení populací**
- Zdroj: průmysl, zpracování rud, baterie, medicína

Bioakumulace speciálních organických látek

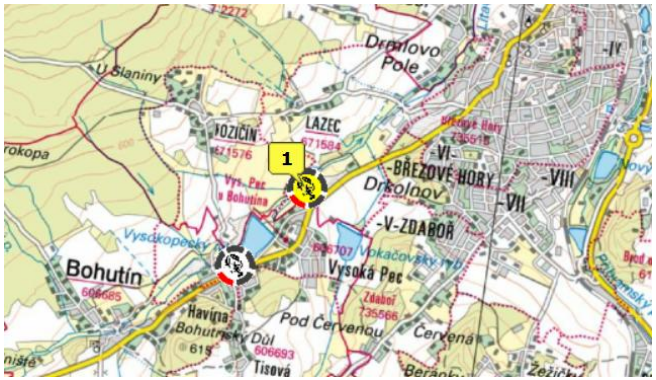
- Směsné vzorky svaloviny (7 jedinců/lokalita):

léčiva	pesticidy	PAU	Personal Care Products
↓	↓	↓	↓
výjimky (gabapentin) (ketoprofen)	nenalezeno	toxické bioakumulace karcinogenní	některé (saccharin, caffein)

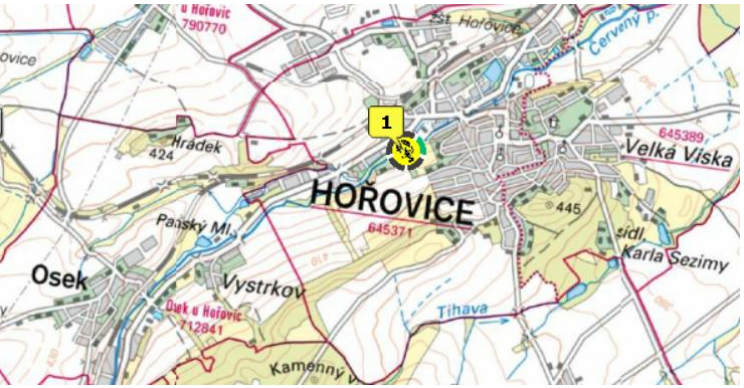
Gabapentin, Ketoprofen

Pšovka Konrádov

Litavka nad Příbramí

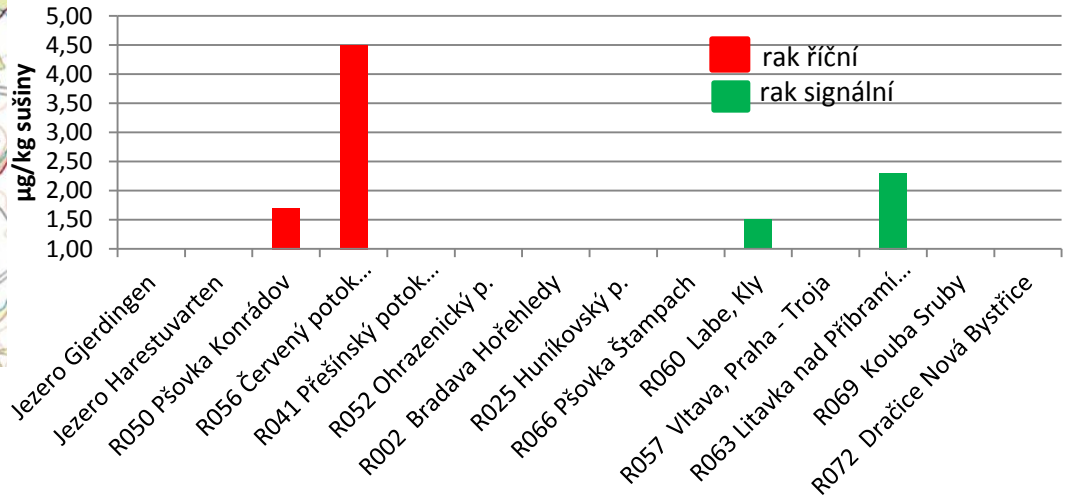


- 2 naměřená léčiva (bioakumulativní)
- **Gabapentin** (neuropatický, tlumící bolesti, inhibuje neurotransmitery)
- **Ketoprofen** (lokální tlumení bolestí pohyb. aparátu) – Huníkovský p. 2,4 ug/kg sušiny
- V tkáni naměřen i nad městy (pod menšími sídly)



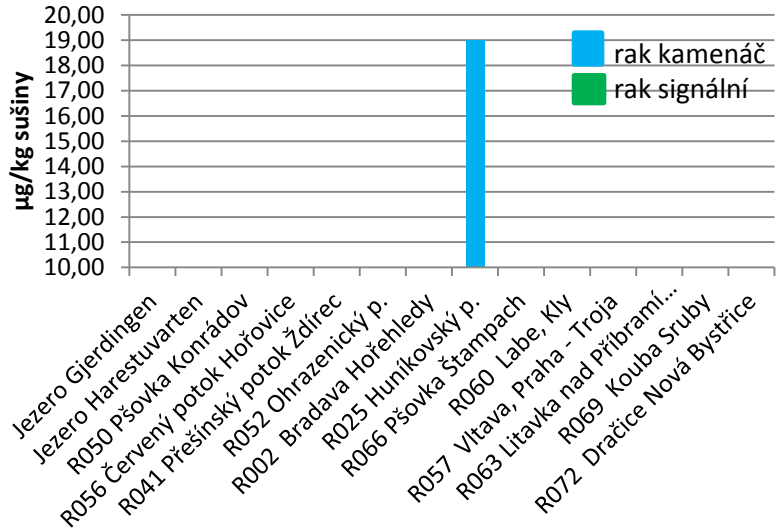
Červený potok - Hořovice

Gabapentin - svalovina (muscle)

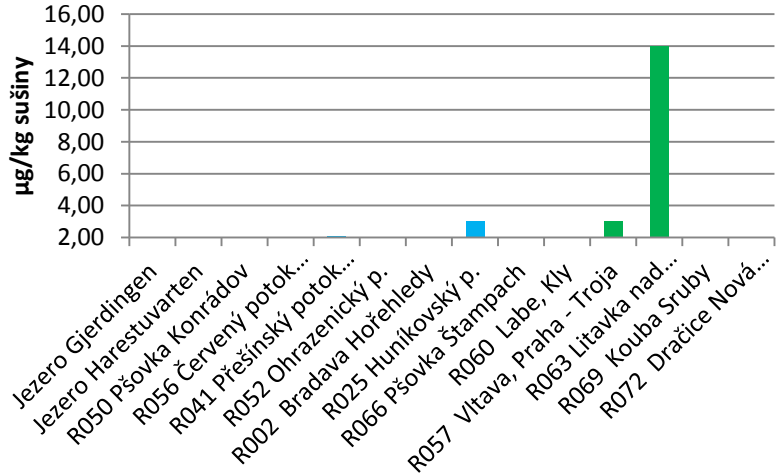


Caffein, Saccharin

Saccharin - svalovina (muscle)



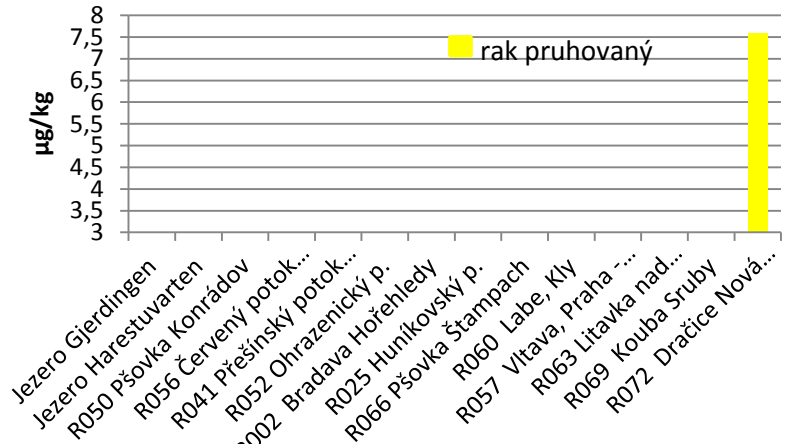
Caffein - svalovina (muscle)



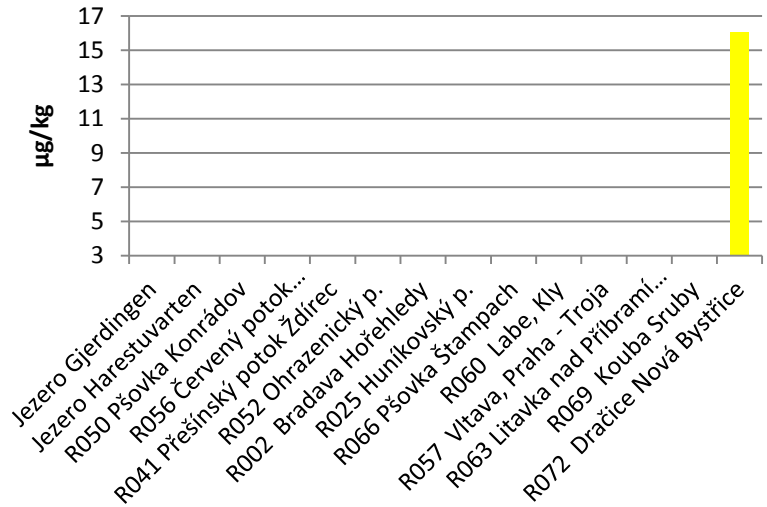
- zjištěná bioakumulace látek pro osobní potřebu
- Huníkovský potok
  - (malá obec Huníkov) – lokální výskyt látky postačuje k bioakumulaci
  - EVL pro ochranu *Austropotamobius torrentium*
- Caffein na relativně málo lokalitách

PAU - R072 Dračice

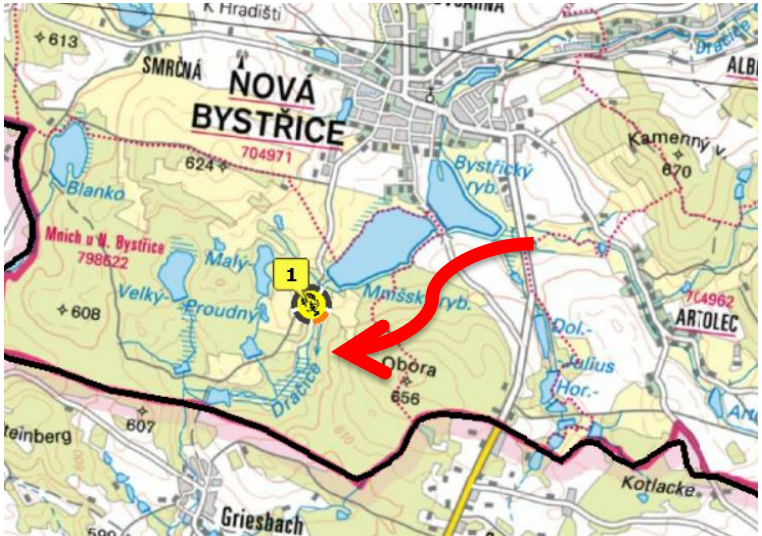
Benzo[a]pyren
svalovina (muscle)



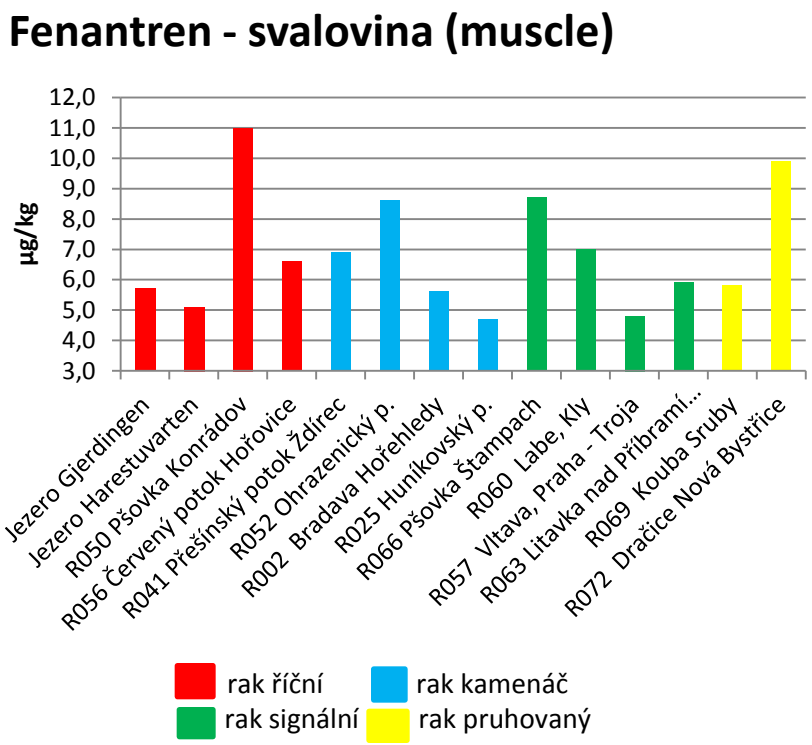
Fluoranten - svalovina (muscle)



- výrazné znečištění PAU
- ve vyšších koncentracích (5-15 Ug/kg sušiny) naměřeny pouze na této lokalitě **(benzo-a-pyren, benzo-a-anthracen, chrysen, benzo-a-fluoranthen, benzo-a-pyren, indeno-c,d-pyren)**
- karcinogenní, bioakumulativní, mutagenní, v tucích
- průmysl, zpracování plastů, možná depozice v rybničních sedimentech, nedokonalé spalování, dehet



PAU - fenantren



- ve svalovině **na všech profilech**
- toxická, bioakumulativní a karcinogenní látka
- **Stabilní** ☛dlouhodobá či stará depozice
- nedokonalé spalování, výroba barviv, léčiv, výbušnin
- nejvíce v **Pšovce (Konrádov)**, jediný profil s nálezem fluorenu (4,1 ug/kg sušiny) ☛**výroba barviv a pigmentů**
- Míra znečištění nekoreluje s druhem raka

Hodnocení výsledků: Kovy

- Výsledky slouží jako podklad pro **analýzy vlivů** a ochranu raků

- Vlivy:
  - **kyselé srážky**
  - **průmysl, ČOV**
  - **zemědělství**
  - **staré ekologické zátěže**
  - **zrudnění, těžba, výsypky:** hornická činnost v minulosti – Brdy,
  - **přirozené pozadí:** Brdy – těžké kovy, vyšší konc. manganu a železa (Zpráva České geol. služby, Brdy, 2015)

- Vysoké nálezy **těžkých kovů** na určitých lokalitách: Co, Ni, As, Pb, Hg(?)
- Podle výsledků není patrná bioakumulace v závislosti na druhu raka

Hodnocení výsledků: Organické látky

- Výsledky bioakumulace **organických látek** korespondují s lokalitou a s lidskými sídly/průmyslem (plošné znečištění: Dračice – Nová Bystřice: *Orconectes limosus*)

- Ve vysoké míře zjištěna **bioakumulace PAU** ve svalovině raků, **v menší míře zjištěny bioakumulace některých léčiv a látek osobní potřeby (Huníkovský potok – EVL:** *A. torrentium)*

- naopak nezjištěna bioakumulace **pesticidních látek** a jejich metabolitů (testováno)

- Příliš nezáleží na druhu raka

Děkujeme za pozornost!

Litavka 2016 – horní tok