

Porównanie akumulacji metali ciężkich- Zn, Cr i Pb w liściach brzozy brodawkowej (*Betula verrucosa*) z terenu Wyżyny Krakowsko-Częstochowskiej i Pojezierza Mazurskiego.

Comparison of the accumulation of heavy metals- Zn, Cr, Pb in *Betula verrucosa* leaves from the Kraków-Częstochowa Upland and Masurian Lake District.

Drewnicka Katarzyna, Cetnarska Ewa, Zuzanna Cąkała, Ewelina Bugaj

AGH Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Inżynierii Materiałowej i Ceramiki, Katedra Chemii Analitycznej

Streszczenie: Intensywny rozwój przemysłu oraz komunikacji wpływa negatywnie na jakość środowiska przyrodniczego. Podwyższona zawartość metali ciężkich w ekosystemie stała się poważnym problemem ekologicznym ze względu na wywieranie szkodliwego wpływu na organizmy ludzkie i zwierzęce. Szczególnie przydatne w procesie oczyszczania środowiska są rośliny, które nie tylko produkują tlen, ale dodatkowo pobierają i akumulują zanieczyszczenia z gleby i powietrza przede wszystkim w liściach i korzeniach. Rośliny zatrzymują zanieczyszczenia w swoich tkankach, przez co środowisko staje się bardziej przyjazne innym organizmom. Celem przeprowadzonych badań była ocena akumulacji metali ciężkich oraz określenie ich zawartości w blaszce liściowej brzozy brodawkowej (*Betula verrucosa*) pobranej na terenie dwóch obszarów województw o skrajnym poziomie zanieczyszczenia - małopolskiego w okolicach Krakowa oraz warmińsko-mazurskiego w pobliżu Szczytna. Na podstawie pomiaru stężeń metali ciężkich w liściach dokonano oceny zanieczyszczenia metalami ciężkimi tych dwóch terenów odległych od siebie o niespełna 500km. Poprzez zastosowanie absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA) wyznaczono stężenia metali: Zn, Cr i Pb. Wyniki badań pozwoliły na wstępną ocenę zanieczyszczenia środowiska, i stwierdzenie że stężenie metali jest znacznie większe w próbkach pobranych z Ojcowskiego Parku Narodowego niż Pojezierza Mazurskiego.

Słowa kluczowe: Absorpcyjna Spektrometria Atomowa (ASA); *Betula verrucosa*; Ojcowski Park Narodowy; Pojezierze Mazurskie; metale ciężkie; cynk; chrom; ołów

1. Wprowadzenie

Metale ciężkie to pierwiastki o gęstości powyżej $4,5 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$, które występują naturalnie w skorupie ziemskiej. Niektóre z nich są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmów żywych (np. miedź, cynk), a inne są przyczyną wielu problemów zdrowotnych.

Istnieją dwa podstawowe źródła zanieczyszczeń środowiska metalami ciężkimi: naturalne (związane z wietrzeniem skał, procesami glebotwórczymi, czy też pożarami lasów), a także antropogeniczne (przede wszystkim spowodowane rozwojem przemysłu, energetyki i nieracjonalnym stosowaniem nawozów mineralnych i środków ochrony roślin) [1].



Rysunek 1. Mapa lokalizacji punktu poboru próbek na terenie Polski: Pojezierze Mazurskie (1), Ojcowski Park Narodowy (2).

W celu wykazania niekorzystnego wpływu bliskość zakładów przemysłowych pobrano próbki w dwóch rejonach Polski- o środowisku zanieczyszczonym (województwo małopolskie – Ojcowski Park Narodowy) oraz w „Zielonych Płucach Polski” (województwo warmińsko-mazurskie, Szczytno).

2. Część teoretyczna

2.1. *Betula verrucosa*

Brzoza jest ważnym gatunkiem lasotwórczym. Z istniejących 120 gatunków na świecie i 40 gatunków na półkuli północnej w Polsce występuje 7 gatunków. Najbardziej rozpowszechnionym w Polsce gatunkiem jest brzoza brodawkowata (*Betula verrucosa*), która występuje również pod nazwą brzoza "gruczołkowata". Drzewo w sprzyjających warunkach dorasta do 30m wysokości i 80cm średnicy pierśnicy [2].

Brzoza brodawkowata swoim zasięgiem naturalnym obejmuje prawie całą Europę z wyjątkiem Hiszpanii, Grecji i północnego cypla Włoch. Ponadto występuje w części Azji Mniejszej, na Kaukazie i w zachodniej Syberii [2]. Brzoza uważana jest za gatunek pionierski, szybko rosnący oraz odporny na zanieczyszczenia przemysłowe [2].

Wysokość brzozy brodawkowatej dochodzi do 25 m, przy średnicach do ok. 60 cm również w postaci karłowatej. Pień osiąga wysokość ok. 12-15 m. Jest cylindryczny, wolny od gałęzi, niekiedy zniekształcony przy odziomku a także skrzywiony na niekorzystnych siedliskach. Kora jest mlecznobiała, gruba i miejscowo czarna, dająca się oddzielać cienkimi poprzecznymi pasmami, wiekiem pstra, oraz spękana w dolnej części pnia. Młode pędy są pokryte brodawkami, natomiast liście skrętoległe, pojedyncze, podwójnie ząbkowane, jajowato zakończone lub trójkątne. Długość liścia koloru zielonego osiąga 7 cm a szerokość ok. 3 cm. Kwiatostany występują w postaci długich kotek. Z kolei nasiona dookoła błoniasto oskrzydłone to orzeszki ok. 3mm, [3].

2.1. Mechanizmy akumulacji pierwiastków tkankach roślinnych.

Metale ciężkie wraz z innymi pierwiastkami są pobierane przez rośliny w postaci jonowej. Działają toksycznie upośledzając procesy życiowe roślin, głównie poprzez interakcję z grupami funkcyjnymi molekuł wchodzących w skład komórek, szczególnie białek i polinukleotydów. Skutkiem tego może być słabszy wzrost i rozwój rośliny, a w skrajnym przypadku obumarcie. Ich szkodliwość wynika z możliwości kumulacji w organizmach żywych i ich chronicznej toksyczności. Pobieranie pierwiastków przez roślinę zależy m. in. od ich dostępności uwarunkowanej np. stężeniem lub występowaniem przyswajalnych form [4].

W procesie akumulacji można wyróżnić trzy etapy: zwiększenie mobilności jonów metali, ich pobieranie i transport do miejsc składowania w roślinie. Można zauważyć, że nagromadzenie się metali w roślinie maleje na ogół w kolejności: korzenie>łodygi>liście>owoce i nasiona. Ponadto w procesie pobierania znaczącą rolę odgrywa forma w jakiej metal się znajduje oraz kwasowość gleby. Roślina najszybciej pobiera wolne jony, natomiast jony znajdujące się pod postacią kompleksów, są uwalniane przy pomocy substancji aktywnych wydzielanych przez rośliny. Po wnikięciu jonów metali do komórki są one wiązane i otoczkowane przez substancje chelatujące i chaperonowe [4]. Reakcja rośliny na metale ciężkie zależy od wrażliwości osobniczej rośliny, stężenia, czasu działania czynnika oraz postaci, w jakiej występuje jon [4].

2.2 Toksyczność metali ciężkich- Zn i Cr dla roślin

Toksyczny wpływ metali ciężkich na rośliny występuje często dopiero przy wysokim zanieczyszczeniu gleb metalami ciężkimi. Cynk jest jednym z najbardziej ruchliwych metali w glebie, jest w niej dobrze rozpuszczalny, ma zdolność do akumulacji się w jej wierzchnich warstwach, przez co jest bardziej dostępny dla roślin [6].

W przypadku nadmiernej zawartości cynku w glebie i jego zwiększonym pobieraniu przez korzenie następuje zahamowanie wzrostu roślin. Dodatkowo objawem nadmiernego stężenia Zn w biomasie roślin jest ograniczenie fotosyntezy i zmiany nekrotyczne na liściach, powodujące ich marszczenie i utratę zabarwienia [5].

Innym metalem ciężkim akumulującym się w roślinach jest chrom. Jest to mikroelement odpowiedzialny za wiele procesów fizjologicznych. Jego brak oraz nadmiar jest przyczyną zaburzeń we wzroście rośliny, procesie fotosyntezy, a także powodem spadku odporności roślin na patogeny. Chrom blokuje pobieranie innych składników potrzebnych do prawidłowego rozwoju roślin, dlatego jego nadmiar jest przyczyną chlorozy [7].

W tabeli 1 przedstawiono wartości stężeń normalnych i krytycznych pierwiastków śladowych w roślinności.

Tabela 1. Wartość stężeń normalnych i krytycznych pierwiastków śladowych w roślinności [7]

| Metal | Stężenie [mg/kg] | | | |
|-----------|------------------|-------------|------------------------------|-------------|
| | Normalne | σ | Krytyczne dla wzrostu roślin | σ |
| Cd | <0,1-1 | 0,287 | 5-10 | 1,708 |
| Cu | 3-15 | 3,742 | 15-20 | 1,708 |
| Pb | 1-5 | 1,414 | 10-20 | 3,162 |
| Zn | 15-150 | 39,259 | 150-200 | 14,719 |
| Cr | brak danych | brak danych | brak danych | brak danych |

2.3 Atomowa Spektrometria Absorpcyjna

W atomowej spektrometrii absorpcyjnej mierzy się ilość światła zaabsorbowanego przy danej długości fali w czasie przejścia promieniowania przez chmurę atomów wytworzonych w atomizerze. W miarę wzrostu liczby atomów na drodze promieniowania rośnie absorbancja przechodzącej wiązki promieniowania. Pomiar ilości zaabsorbowanego promieniowania przez atomy danego pierwiastka pozwala na wyznaczenie zawartości tego pierwiastka w analizowanej próbce. Stosowanie odpowiedniego źródła promieniowania oraz prawidłowy wybór długości fali, przy której mierzona jest absorbancja promieniowania, pozwala na selektywne oznaczanie danego pierwiastka w obecności innych składników próbki.

W spektrometrii absorpcyjnej natężenie padającego promieniowania (I_0) zmniejsza się po przejściu przez ośrodek zawierający atomy pierwiastka mogące absorbować promieniowanie o tej właśnie długości fali. Zgodnie z prawem Lamberta - Beera, promieniowanie o określonej długości fali, przechodząc przez ośrodek zawierający wolne atomy danego pierwiastka, zmniejsza swoje natężenia wykładniczo. Zmniejszenie natężenia promieniowania zależy od długości drogi optycznej i od stężenia absorbującej substancji.

Logarytm ilorazu I_0/I jest nazywany absorbancją (A).

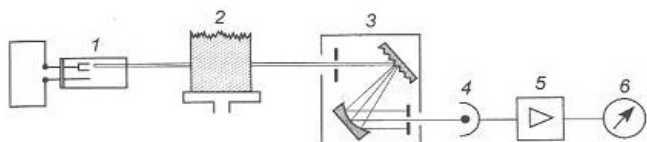
$$A = \log (I_0/I) = l \cdot c \quad (1)$$

Gdzie:

A – absorbancja,

I_0 – natężenie światła padającego na ośrodek absorbujący,
 I – natężenie światła przepuszczonego przez ośrodek absorbujący,
 c – stężenie substancji w roztworze [mol/dm^3],
 ϵ – molowy współczynnik absorpcji [$\text{dm}^3/(\text{mol} \cdot \text{cm})$],
 l – grubość warstwy absorbującej [cm],

Przyrządy stosowane do pomiaru absorpcji atomowej składają się z następujących elementów: źródła promieniowania liniowego, atomizera, układu dyspersyjnego, detektora oraz przetwornika sygnału. Na rysunku 2. przedstawiono schemat blokowy spektrometru do pomiaru absorpcji atomowej.



Rysunek 2. Schemat blokowy spektrometru do badań absorpcji atomowej: 1 - źródło promieniowania, 2 - atomizer, 3 - monochromator, 4 - detektor, 5 - wzmacniacz, 6 - rejestrator [8].

Rolą źródła promieniowania jest emisja promieniowania liniowego charakterystycznego dla danego pierwiastka. Najczęściej stosowane są lampy z katodą węgłową lub lampy bezelektrodowe. Jednym z ważniejszych elementów układu do pomiarów absorpcji atomowej jest atomizer, w którym wytwarzane są wolne atomy danego pierwiastka. W zależności od rodzaju zastosowanego atomizera wyróżnia się Atomową Spektrometrię Absorpcyjną z atomizacją w płomieniu, elektrotermiczną, techniką wodorkową oraz techniką zimnych par. Kolejnym elementem jest układ dyspersyjny, najczęściej monochromator, w którym promieniowanie ulega rozszczepieniu, a odpowiednio ustawiona szczelina wyjściowa umożliwia wyselekcjonowanie linii rezonansowej oznaczanego pierwiastka. Natężenie promieniowania jest mierzone za pomocą detektora, którym może być fotopowielacz, lub tak, jak to jest stosowane w nowoczesnych układach pomiarowych, detektorem półprzewodnikowym (CCD).

3. Część doświadczalna

3.1 Materiały i metody

Liście brzozy brodawkowej (*Betula verrucosa*) z terenu Mazur (jako materiał referencyjny), liście brzozy z terenu Ojcowskiego Parku Narodowego, woda destylowana, 30% perhydrol, 60% kwas azotowy(V), podstawowe szkło laboratoryjne, aparat do mineralizacji firmy Anton Paar, spektrometr absorpcji atomowej Zeeman 4100L, spektrometr absorpcji atomowej firmy PerkinElmer MHS-20.



Rysunek 3. Przykładowa próbka pobrana na terenie Ojcowskiego Parku Narodowego (a), wysuszone próbki przed etapem mineralizacji (b)

3.2 Przebieg doświadczenia

Etap mineralizacji. Naważono 4 rozdrobnione w moździerzu próbki o masie ok. 0,2 g każda (dwie pochodzące z terenu Mazur i dwie pochodzące z Ojcowskiego Parku Narodowego) i umieszczono je w fiolkach do mineralizacji. Kolejno dodano do każdej z nich 2 ml 30 % perhydrolu a następnie 6 ml 60 % kwasu azotowego(V). Otrzymane mieszaniny umieszczono w mineralizatorze na czas 1,5 h. W tym samym czasie wysuszono w suszarce wcześniej wykwaszone w HNO_3 4 zlewki i przygotowano 4 kolby miarowe (10 cm^3) dla każdej z próbek.

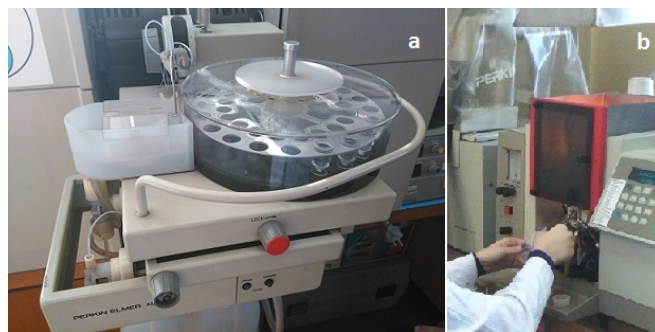
Etap przygotowania próbek do pomiaru. Odparowywano zmineralizowane próbki na płycie grzewczej przez 30 minut i umieszczono roztwory we wcześniej przygotowanych kolbach miarowych.



Rysunek 4. Etap mineralizacji próbek (a), odparowanie zmineralizowanych próbek i ślepych prób (b).

Etap pomiaru metodą ASA. Stężenie chromu zostało zmierzone za pomocą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją elektrotermiczną, natomiast zawartość cynku została określona za pomocą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z atomizacją w płomieniu przy użyciu spektrometru absorpcji atomowej firmy Perkin Elmer MHS-20.

Próbki w pierwszej metodzie umieszczano kolejno w kuwetach o pojemności 1 cm^3 a następnie włożono je do tarczy pomiarowej aparatu. W przypadku badania stężenia cynku przygotowano odpowiednio rozcieńczone roztwory próbek i zmierzono w nich zawartość Zn.



Rysunek 5. Próbki umieszczone w tarczy pomiarowej w metodzie ASA z atomizacją elektrotermiczną (a), badanie przy pomocy ASA z atomizacją w płomieniu (b).

Wyniki i dyskusja

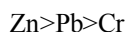
Wyniki pomiarów metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej (ASA) przedstawiono w Tabeli 2.

Tabela 2. Zakres zmian stężenia Zn, Cr dla próbek pobranych z Ojcowskiego Parku Narodowego i Pojezierza Mazurskiego wraz z wyliczoną wartością średnią i odchyleniem standardowym.

| Wartość statystyczna | Zawartość pierwiastka dla próbek pobranych z Ojcowskiego Parku Narodowego [ug/g] | | | Zawartość pierwiastka dla próbek pobranych z Pojezierza Mazurskiego [ug/g] | | |
|----------------------|--|-------|-------|--|-----|-------|
| | Zn | Cr | Pb | Zn | Cr | Pb |
| S_{sr} | 142,105 | 0,4 | 0,6 | 107,13 | 0,2 | 0,4 |
| S_{min} | 139,23 | 0,3 | 0,5 | 99,45 | 0,2 | 0,3 |
| S_{max} | 144,98 | 0,5 | 0,7 | 114,81 | 0,2 | 0,5 |
| σ | 4,0658 | 0,141 | 0,141 | 10,861 | 0 | 0,141 |

Gdzie: S_{sr} - stężenie średnie, S_{min} – stężenie minimalne, S_{max} – stężenie maksymalne, σ - odchylenie standardowe

Na podstawie uzyskanych wyników można ustawić dane pierwiastki w szereg, ze względu na ich wzrastające stężenia :



Zależność tą obserwujemy zarówno dla próbek pochodzących z Ojcowskiego Parku Narodowego jak i z Pojezierza Mazurskiego. Średnie stężenie cynku w porównaniu ze średnim stężeniem dla chromu i ołowiu jest około 284 razy większe w przypadku Ojcowskiego Parku Narodowego i około 357 razy większe niż w przypadku Pojezierza Mazurskiego.

Podsumowanie

Celem badań było określenie i porównanie zawartości metali ciężkich w blaszce liściowej brzozy brodawkowej (*Betula verrucosa*) na przykładzie chromu i cynku przy pomocy absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ASA).

Zaletą tej metody jest wysoki poziom czułości (w zakresie 0,1-10 ppm), co umożliwiło udowodnienie istotnych różnic w danych stężeniach. Ponadto badanie próbek wykazało znaczącą rozbieżność w zawartości oznaczanych metali ciężkich. Wybór danych pierwiastków uwarunkowany był ich specyficznym oddziaływaniem na procesy fizjologiczne organizmów roślinnych (spowolnienie wzrostu, upośledzeniu przebiegu procesu fotosyntezy). Na podstawie przeprowadzonego eksperymentu stwierdzono, że pierwiastkiem, który wykazuje największą absorpcję w tkankach roślinnych był cynk. Natomiast gatunek rośliny użytej do badania charakteryzuje się znaczną odpornością na zanieczyszczenia przemysłowe dlatego jest dobrym indykatorem jakości środowiska w którym występuje.

Porównanie wartości zbadanych stężeń pierwiastków dla dwóch danych obszarów Polski z określonymi w literaturze normami wskazują, że ołów oraz cynk nie zawierają się w zakresie krytycznym dla wzrostu roślin (brak danych dla chromu). Jednakże, w przypadku cynku zaobserwowano, że średnie stężenie znajduje się blisko dolnej granicy stężeń krytycznych. Potwierdza to znaczny wpływ środowiska

przemysłu w przypadku Ojcowskiego Parku Narodowego, co wiąże się z istnieniem Kopalni „Olkusz” pozyskującej rudy cynku i ołowiu w latach 1962-2003. Pomimo upływu okresu blisko 12 lat, nadal można zauważyć wysokie stężenia tych pierwiastków ze względu na ich obieg w ekosystemie.

Literatura

- [1] M. Siwek, Wiadomości Botaniczne 52(1/2): 7–22, 2008
- [2] <http://www.itd.poznan.pl/pl/index.php?id=37> dostęp 20.11.2015
- [3] <http://www.drzewapolski.pl/Drzewa/Brzoza/Brzoza.html> dostęp 20.11.2015
- [4] S. Gruca-Królikowska, W. Waclawik, Metale w środowisku cz. II Wpływ metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi, METROLOGIA 2006, r. 11, nr 1-2
- [5] E. Ociepa, A. Ociepa-Kubicka, Toksyczne oddziaływanie metali ciężkich na rośliny, zwierzęta i ludzi
- [6] E. Kucharczyk, A. Moryl, Zawartość metali w roślinach i prawnych pochodzących z rejonu Zgorzelecko- Bogatyńskiego, cz. II Arsen, Chrom, Cynk, Miedź
- [7] Kabata-Pendias, Biochemia pierwiastków śladowych
- [8] W. Szczepaniak, Metody instrumentalne w analizie chemicznej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997