

Fytoremediace VI.

Petr Soudek

Laboratoř rostlinných biotechnologií
Společná laboratoř ÚEB AV ČR, v.v.i. A VÚRV, v.v.i.
Akademie věd České Republiky

XENOBIOTIKA

PCBs

Herbicides, pesticidy

Halogenová organická rozpouštědla

TCE

PAH

Nitroaromáty, explosiva

Farmaceutika

Barviva

Retardanty hoření

Antikoncepce

Dioxiny



POLYCHLOROVANÉ BIFENYLY(PCB)

Vzorec



- Používaly se do transformátorových a kondenzátorových olejů, do barev, plastifikátorů, ale třeba také na propisovací papíry a do inkoustů
- 1984 zakázána jejich výroba i v tehdejší Československu
- dodnes v transformátorech a kondenzátorech
- vedlejší produkty v řadě průmyslových výrob (například v hutnictví, při spalování odpadů, v chemické výrobě různých sloučenin chlóru anebo ve spalovacích motorech automobilů při spalování olovnatého benzínu atd.)
- v prostředí detekovány poprvé v roce 1966 společně s DDT
- Toxický charakter PCBs (i ve velmi nízkých koncentracích) byl definitivně prokázán až v 70. letech minulého století
- Nyní se PCB do životního prostředí dostávají například v důsledku požárů a úniků z uzavřených systémů (transformátorů, kondenzátorů a dalších), z barev či omítek s obsahem PCB, z úložišť odpadů s obsahem PCB, spalováním odpadů s obsahem PCB

FYTOREMEDIACE PCB

- lipofilní povaha PCB napomáhá tendenci akumulace v tukových ložiscích, čímž může vstupovat do potravního řetězce
- první PCB degradující bakterie-1973 *Achromobacter*- dnes izolace enzymů, sekvenace genů-expresní vektory
- primární produkty u rostlin –hydroxychlorobiphenyly x konečný produkt aerobní bakteriální degradace PCB-kyseliny chlorbenzoové
- zvýšení úrovně exprese cytochromů P-450 a peroxidas

DEGRADACE PCB

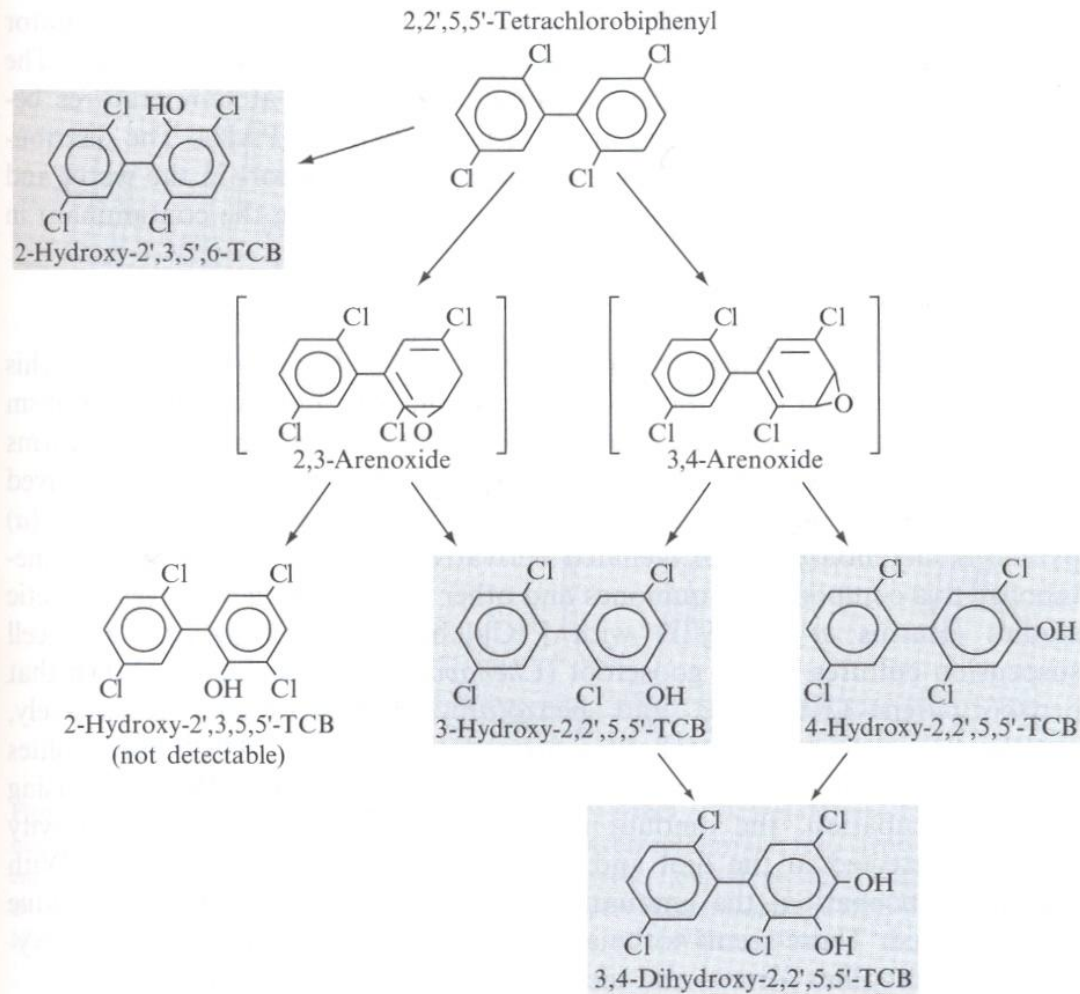
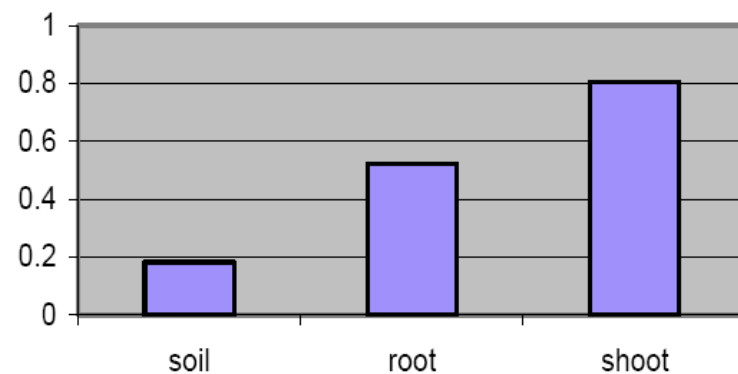
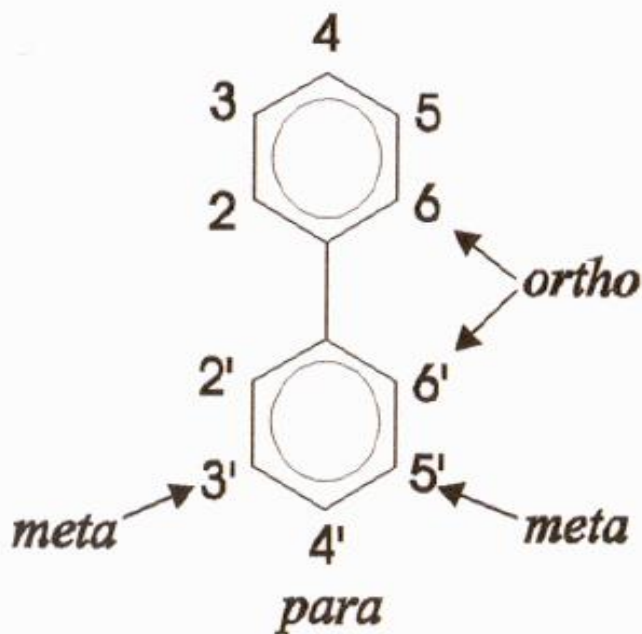


Figure 9-4 Metabolism of PCB 52 (2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl) in plants. The shaded metabolites have been detected in cell cultures of various plant species, the others are known from animal metabolism but are not detectable in the investigated cell cultures.

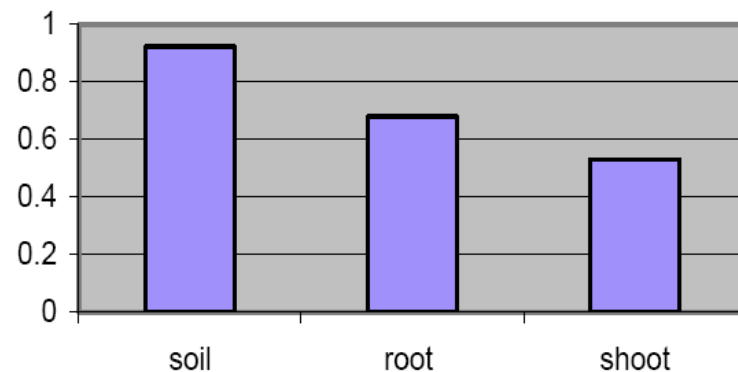
GEOMETRIE MOLEKUL A TRANSLOKACE

209 kongenerů

Ortho nesubstituované a mono-ortho substituované kongenery jsou koplanární nebo semi-koplanární molekuly



Ortho nesubstituované kongenery



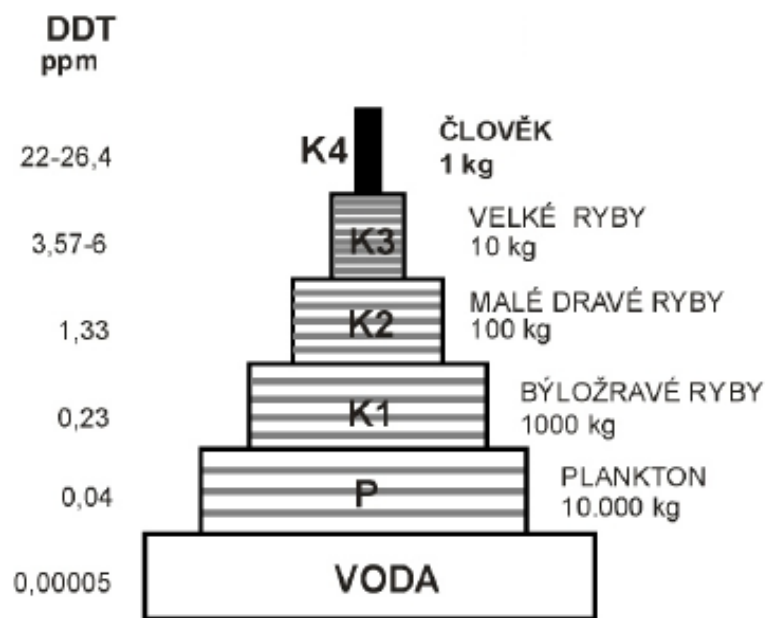
Multi-ortho substituované kongenery



PESTICIDY

(insekticidy, herbicidy, fungicidy, zoocidy)

pesticidy např. (TOCP (tri-o-cresylphosphat), DDT (dichlorodiphenyltrichloroethan) a jejich metabolické produkty přijímá velké množství zemědělských plodin



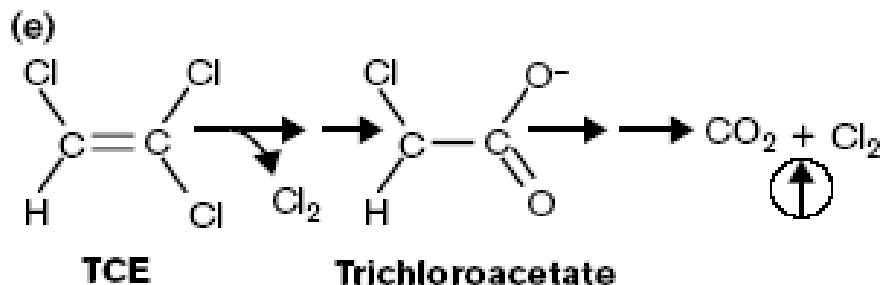
Spolana Neratovice (DDT)



PLEVELE REZISTENTNÍ VŮČI HERBICIDŮM

Druh	Rok nálezu	Herbucid
Laskavec ohnutý	1985	triaziny
Laskavec Powelův	1989	triaziny
Merlík bílý	1986	triaziny, chloridazon, lenacil
Merlík tuhý	1989	triaziny, chloridazon, lenacil
Rdesno blešník	1987	triaziny, chloridazon, lenacil
Rdesno červivec	1989	triaziny, chloridazon, lenacil
Turanka kanadská	1987	triaziny, paraquat, diquat
Starček obecný	1988	triaziny, chloridazon, lenacil
Lipnice roční	1988	triaziny
Ježatka kuří noha	1994	atrazine, simazine
Bér zelený	1994	atrazine, simazine
Bytel metlatý	1998	atrazine, sulfonylmočoviny
Chenopodium pedunculare	1998	atrazine

HALOGENOVANÁ ORGANICKÁ ROZPOUŠTĚDLA (TCE)



hybridní topoly

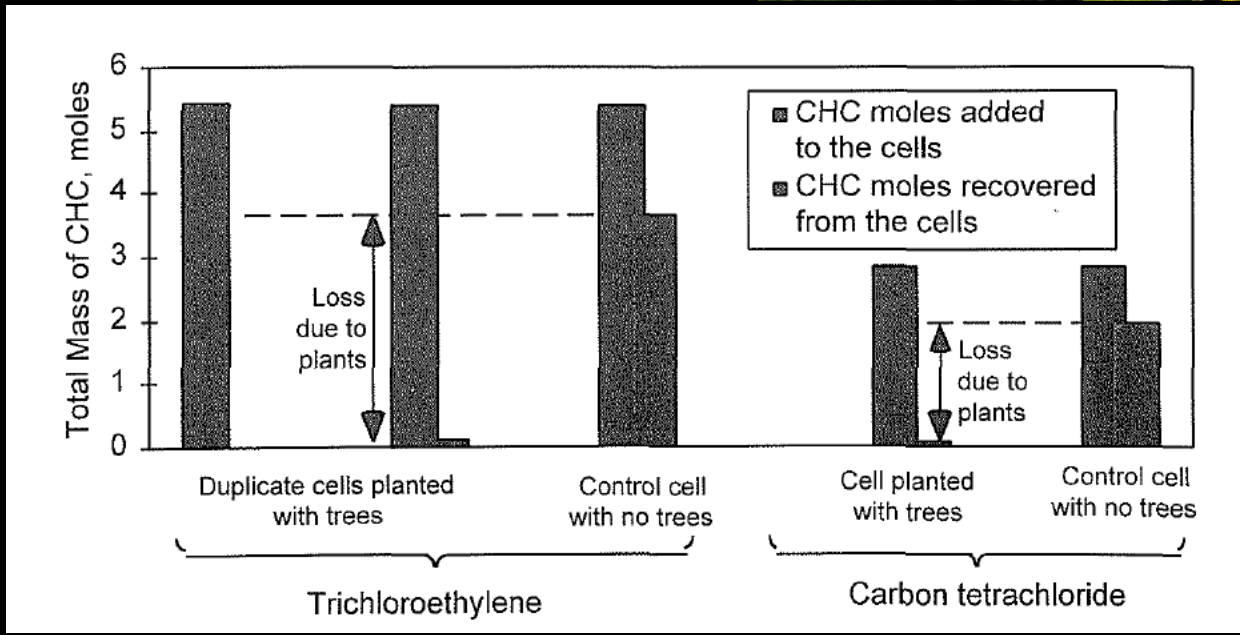
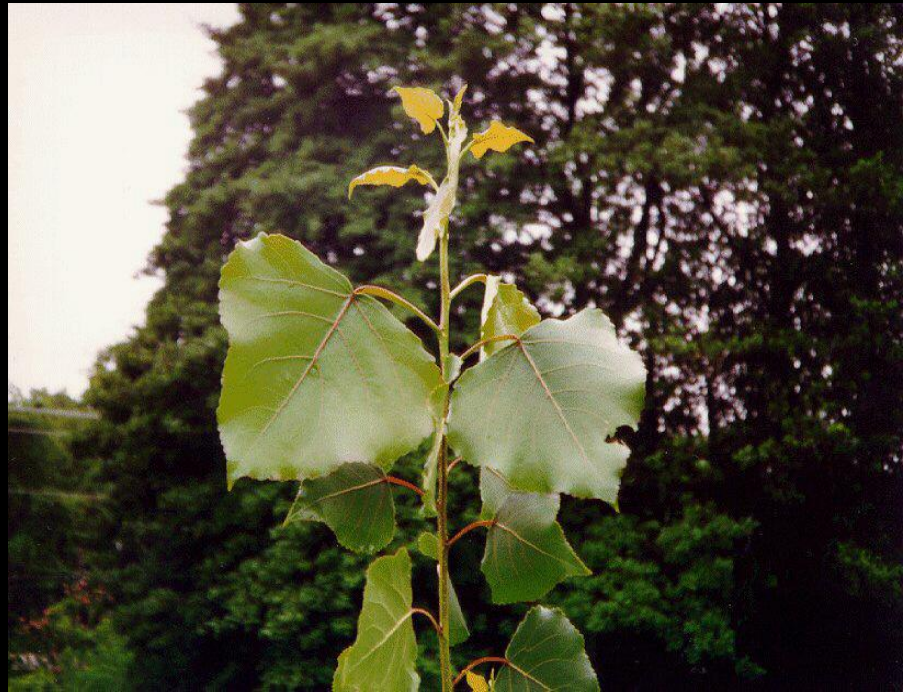
- ❖ rostliny obsahují nescifické alifatické dehalogenázy, které jsou schopny degradovat trichlorethylen (TCE) a příbuzná chlorovaná rozpouštědla
- ❖ *in vitro* topoly aktivně přijímaly TCE a degradovaly na trichlorethanol nebo dichloracetat a nakonec CO_2 , za 10 dní mineralizováno 10% TCE z media
- ❖ v Oregonu byly topoly použity pro snížení migrace TCE

TRICHLORETHYLÉN (TCE)

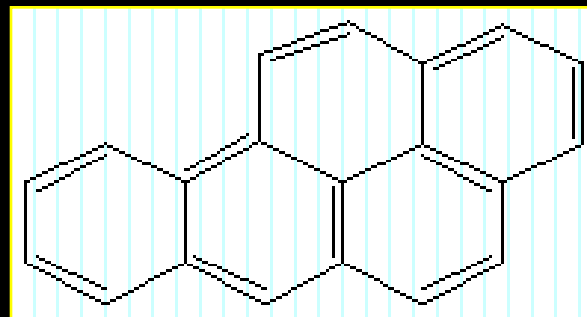
- Spolu s tetrachlorethylenem jako rozpouštědlo v chemických čistírnách a ve strojírenství.
- Více než 80 % trichlorethylenu se používá pro odmašťování páry a pro čištění kovových dílů.
- Trichlorethylen se nachází také v některých přípravcích pro domácnost a běžné použití, např. jako odstraňovač barev, lepidel a skvrn.
- Dále se používá jako surovina pro syntézy v chemickém průmyslu.
- V minulosti se používal jako vykuřovací pesticid pro obilí a měl také omezené použití jako anestetikum v medicíně a ve stomatologii.
- Trichlorethylen může unikat z průmyslových provozů ve formě par a odpadních vod.
- Likvidace produktů s obsahem trichlorethylenu jako jsou rozpouštědla a nátěry může vést k jeho únikům v závodech na jejich zpracování a na skládkách odpadů.



FYTOREMEDIACE TCE

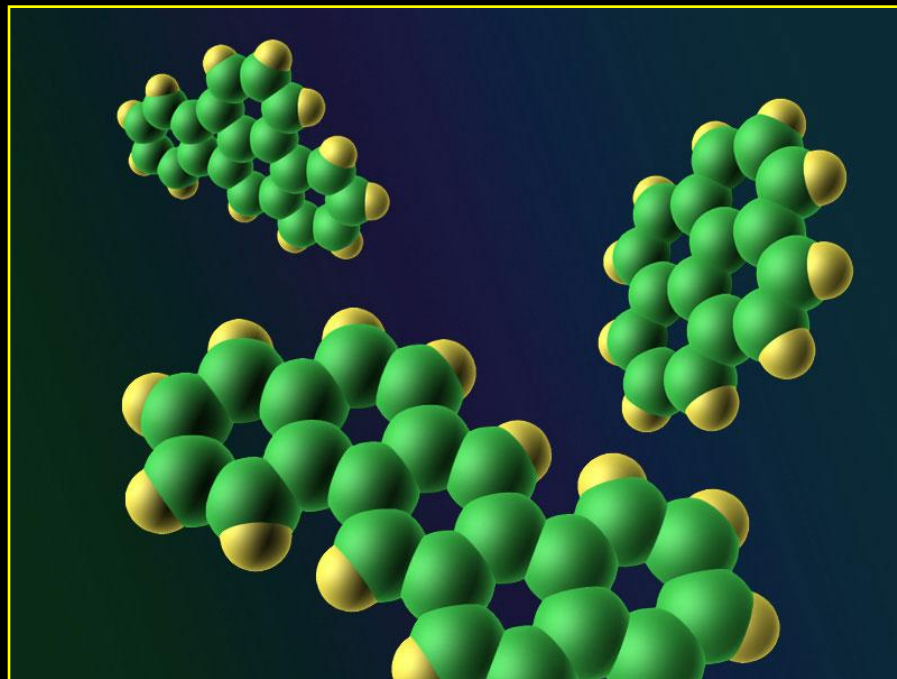


POLYCYKLIČKÉ AROMATICKÉ UHLOVODÍKY (PAHs)



- představitele perzistentních organických polutantů (POPs)
- mají výraznou schopnost vázat se na pevných sorbentech nebo částicích (prach) i v živých organismech
- naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, pyren, benz(a)antracen, chrysen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)pyren, indeno(123cd)pyren, dibenz(ah)antracen, a benzo(ghi)perylene
- především ze spalování fosilních paliv

(PAHs)



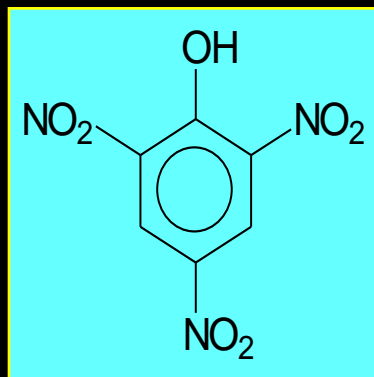
- benzo(a) pyren - nejkarcinogenější, rostliny ho metabolizují na chinony a další oxidační deriváty- na procesu se podílejí cytochromy P-450
- fluorantén- jeden z nejrozšířenějších, mutagenní, rostliny ho téměř nepřijímají, absorbuje se pouze na povrch kořenů
- pyren- *kostráva a proso* -30% mineralizace

FYTOREMEDIACE PAH

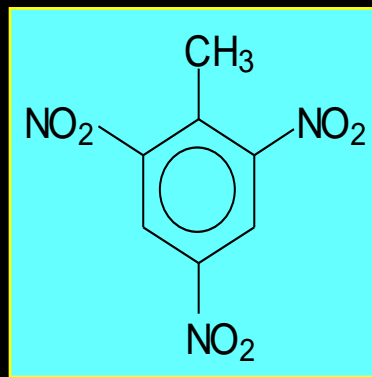
Species/strain	Residual PAH content (% of control)				Residual PCB content (% of control) Delor 103
	Acenaphth.	Phenanthr.	Anthracene	Pyrene	
Tomato/To	7	46	0	73	92
Soybean/S (PC-1026)	7	25	0	83	78
Wheat/W (PC-0998)	0	4	0	13	78
Birdy/Bk22	0	79	1	73	95
Mulberry/Mr15	0	59	64	86	95
Barley/Hv (PC-1118)	2	54	8	37	82
Nightshade/SNC-90	69	100	58	95	85

Průměrný obsah polychlorovaných bifenyly (Delor 103) a polycyklických aromatických uhlovodíků po 14 denní kultivaci *in vitro* kultur kmenů různých rostlinných druhů

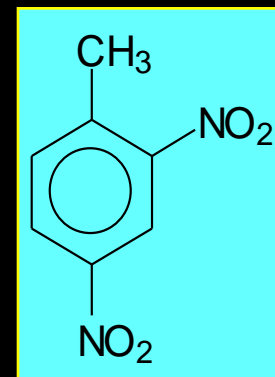
EXPLOSIVA



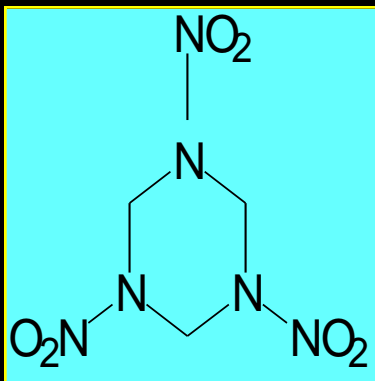
**2,4,6-trinitrophenol
(picric acid, TNF)**



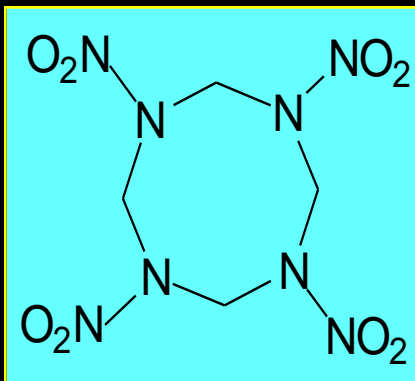
**2,4,6-trinitrotoluene
(tritol, TNT)**



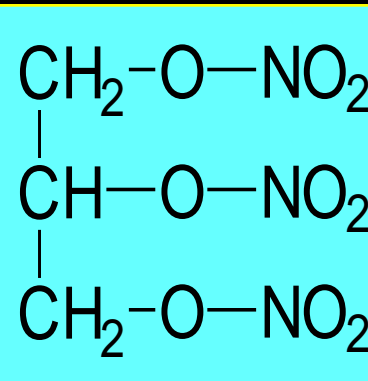
**2,4-dinitrotoluene
(DNT)**



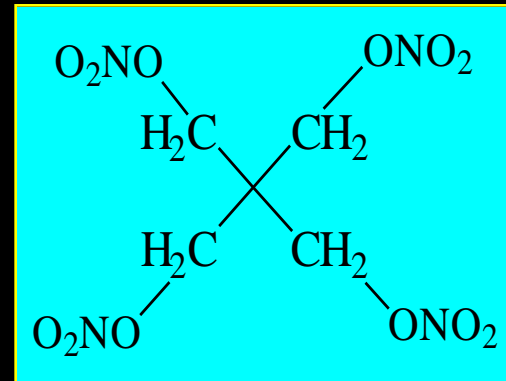
**1,3,5-trinitro-
1,3,5-triazine
(RDX)**



**1,3,5,7-tetranitro-
1,3,5,7-tetrazocine
(HMX)**



**glycerol
trinitrate
(GTN)**



**pentaerythritol
tetranitrate
(pentrit, PETN)**

VÝSKYT

- Vojenské prostory (Libavá, Doupov, Boletice, Milotice, Ralsko-Mladá)
- Muniční sklady
- Továrny (Semtín, Vsetín, Vlašim, Polička)
- nejčastěji se vyskytující - TNT, RDX, NG

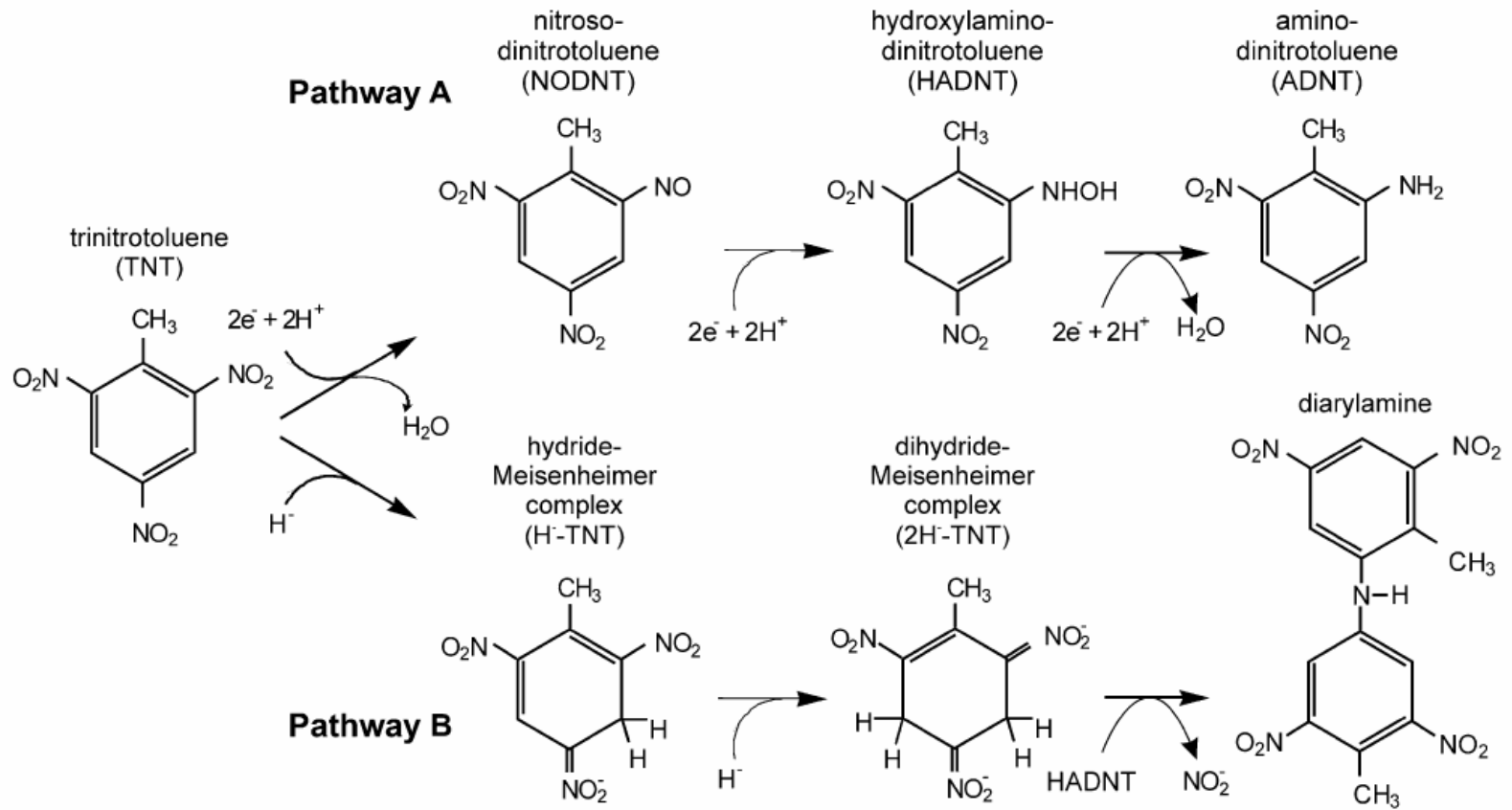
- způsobuje anémii
- poškozuje jaterní tkáň
- dráždí pokožku
- způsobuje šedý zákal
- potenciální lidský karcinogen

- ovlivňuje nervový systém
- potenciální lidský karcinogen

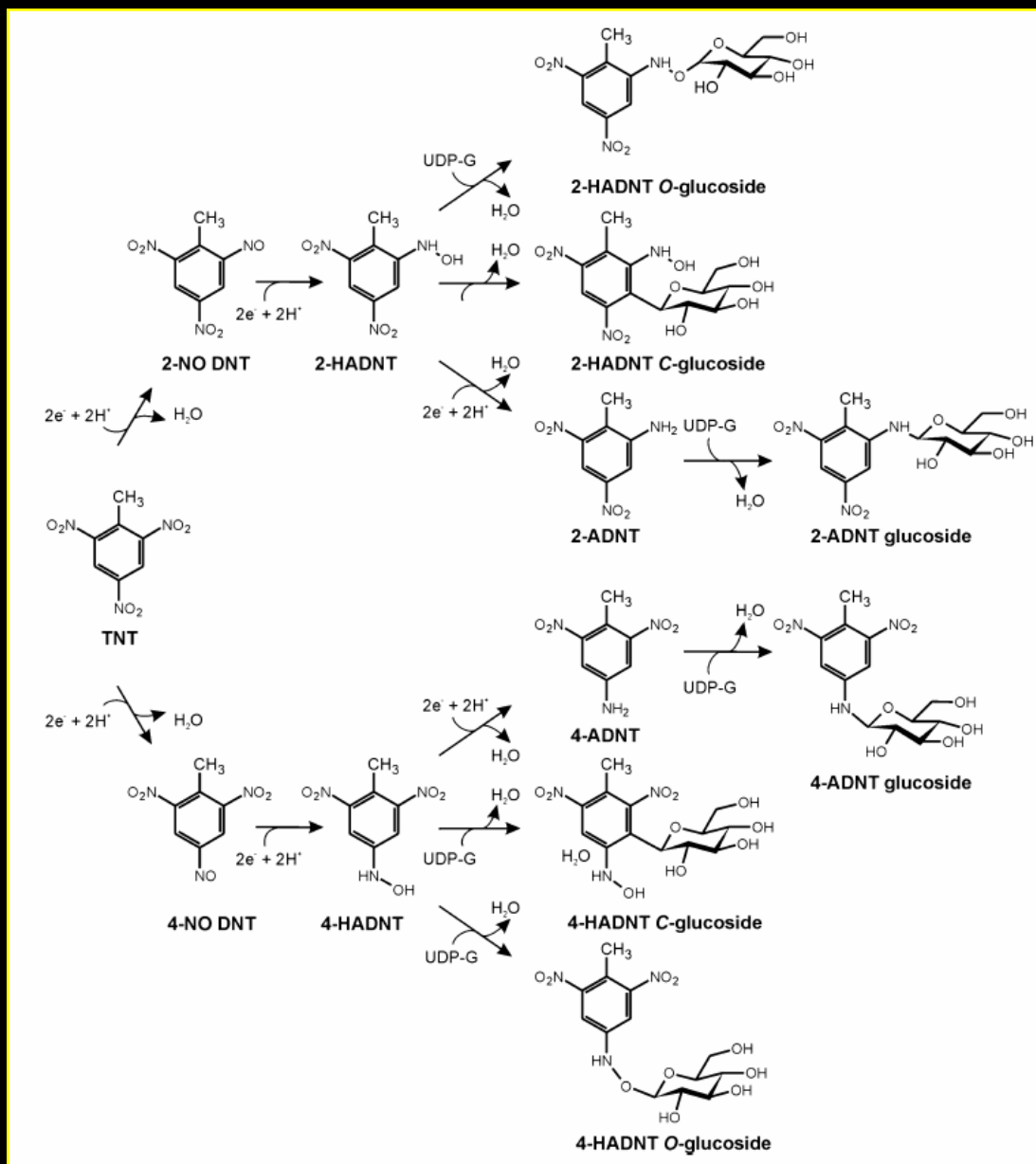
- vazodilatační účinky



DEGRADACE TNT



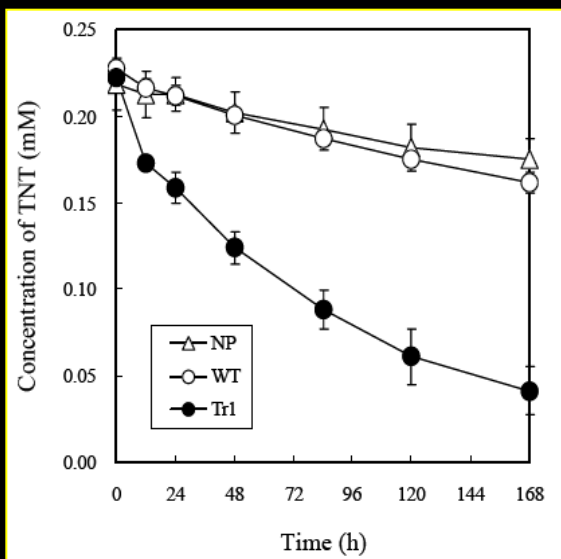
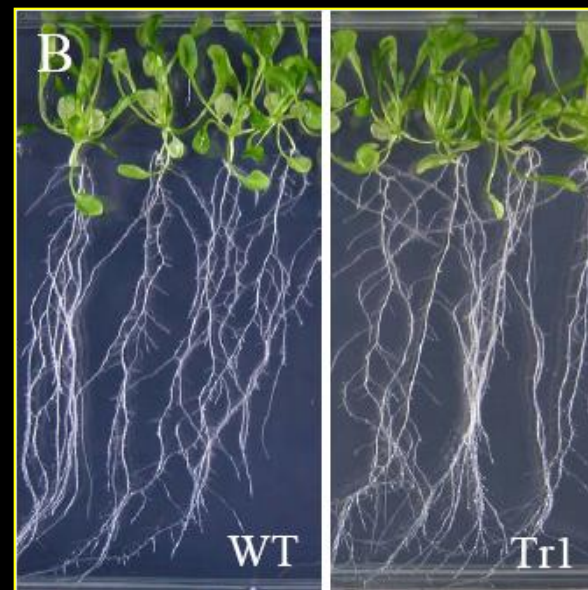
DEGRADACE TNT V ARABIDOPSIS



DEGRADACE TNT POMOCÍ *ARABIDOPSIS*



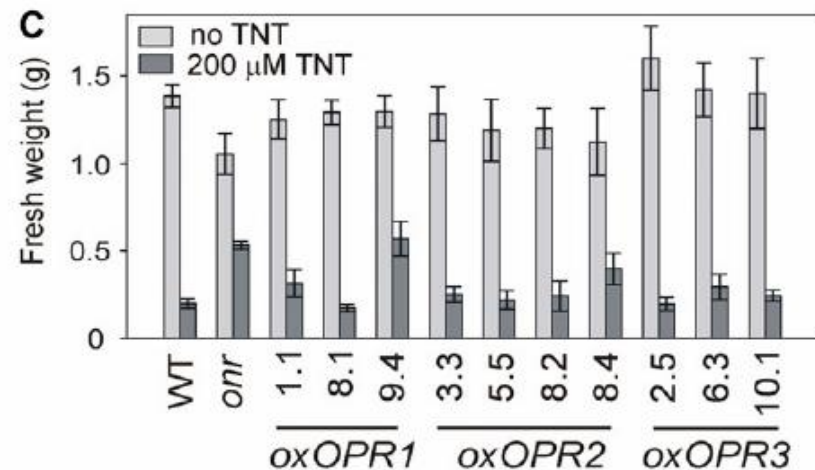
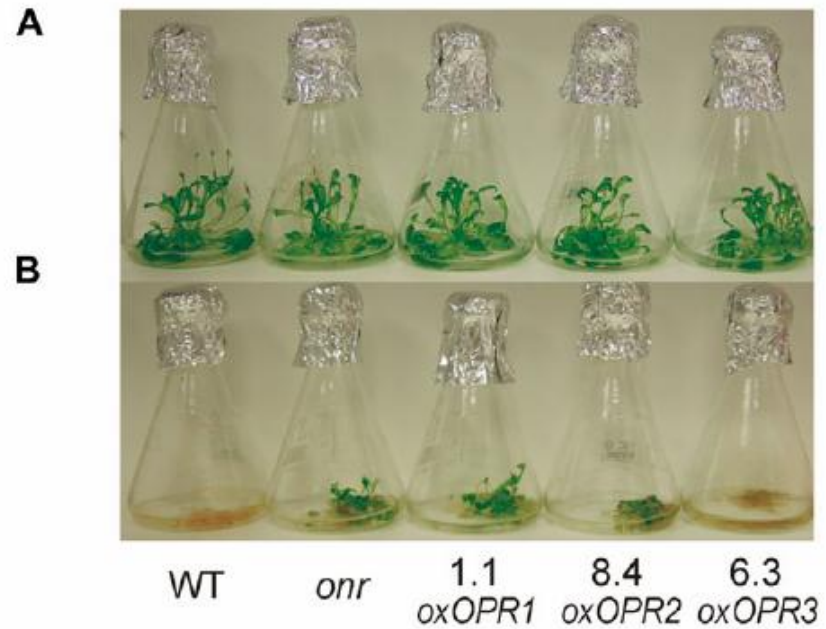
Srovnání tolerance k TNT mezi „wild-type“ (WT) a transgenní linií (Tr1) s nitrát reduktasou. Deset semen z každé linie bylo kultivováno v přítomnosti (A) a bez přítomnosti (B) 0.1 mM TNT po 21 dnech.



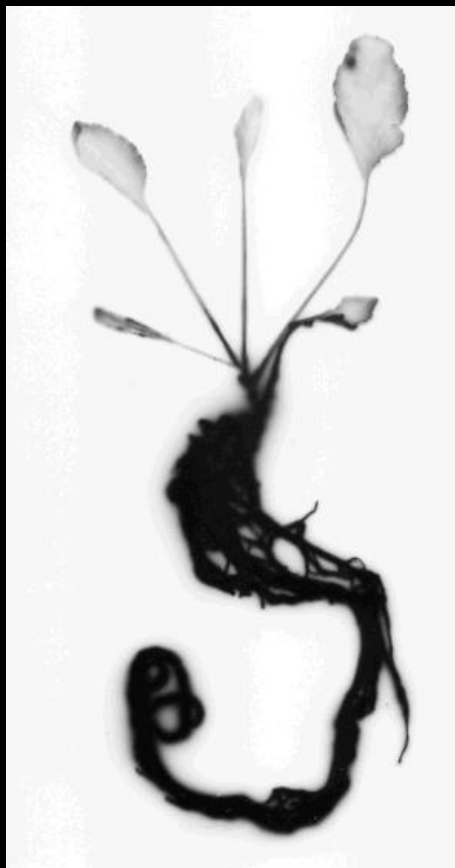
Deset dní staré semenáčky rostoucí asepticky byly inkubovány v mediu obsahujícím 0.25 mM TNT po 7 dní. Koncentrace TNT v mediu vynesena proti času inkubace v přítomnosti „wild-type“ (WT) nebo transgenních (Tr1) rostlin a bez přítomnosti rostlin (NP).

DEGRADACE TNT POMOCÍ ARABIDOPSIS

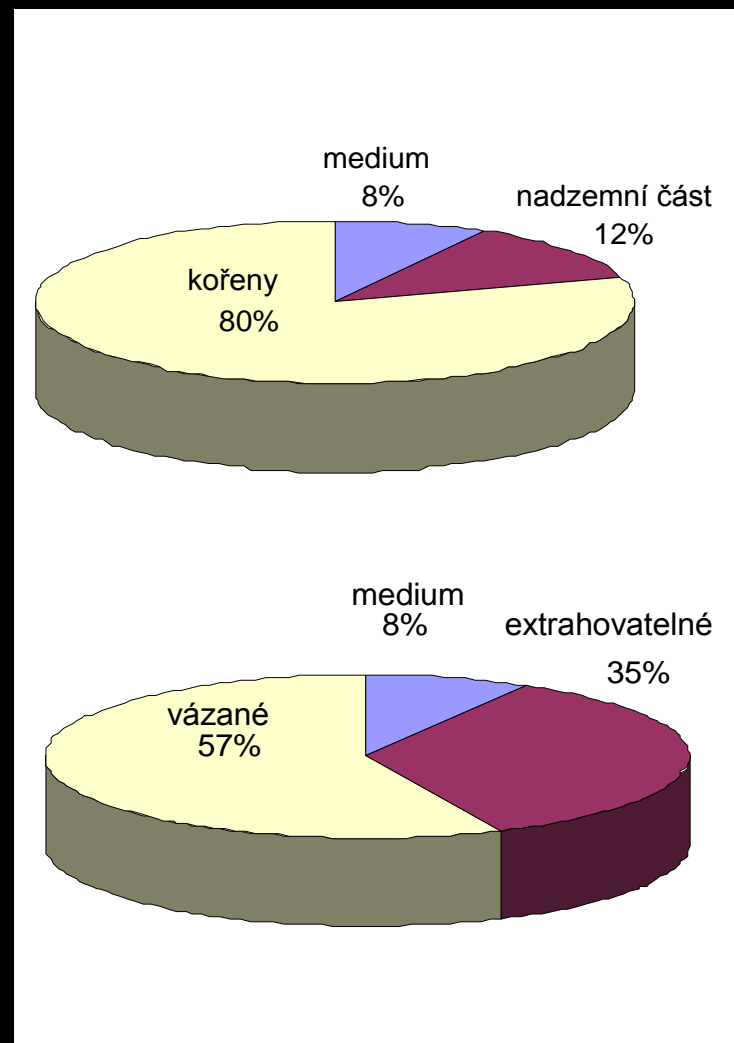
oxOPR - oxophytodienoat
reductasa linie
onr – pentaerythritol tetranitrat
reduktasa linie
WT – divoká forma



DISTRIBUCE TNT V ROSTLINÁCH

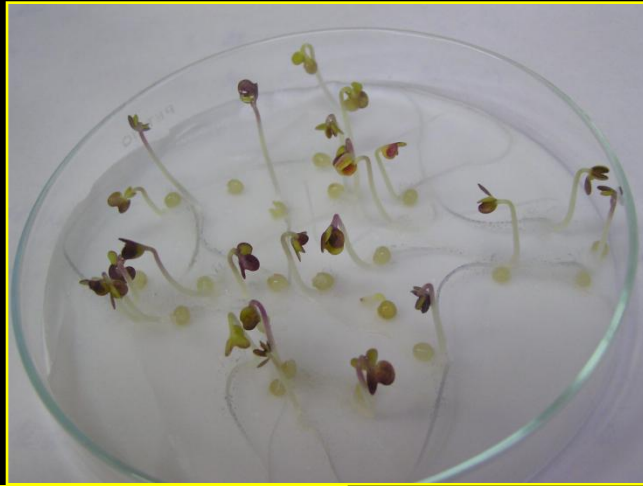
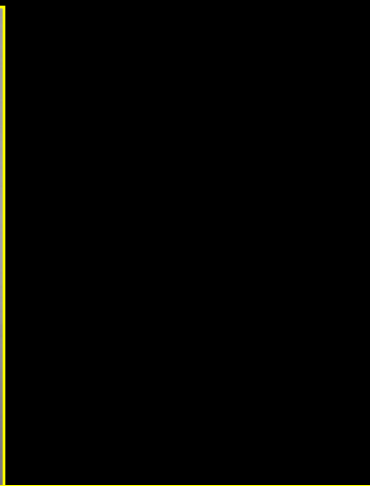


$^{14}\text{C}[\text{ring}]$ TNT
Senecio jacobaeae L.



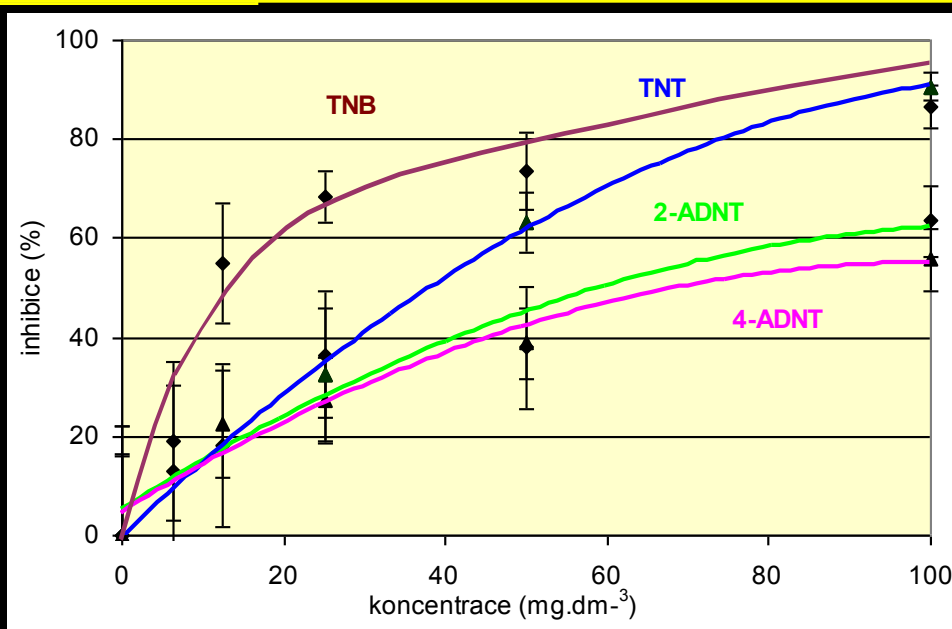
FYTOTOXICITA NITROSLOUČENIN

Dle normy ISO 7346 jako inhibice růstu primárního kořene klíčících rostlin *Sinapis alba*

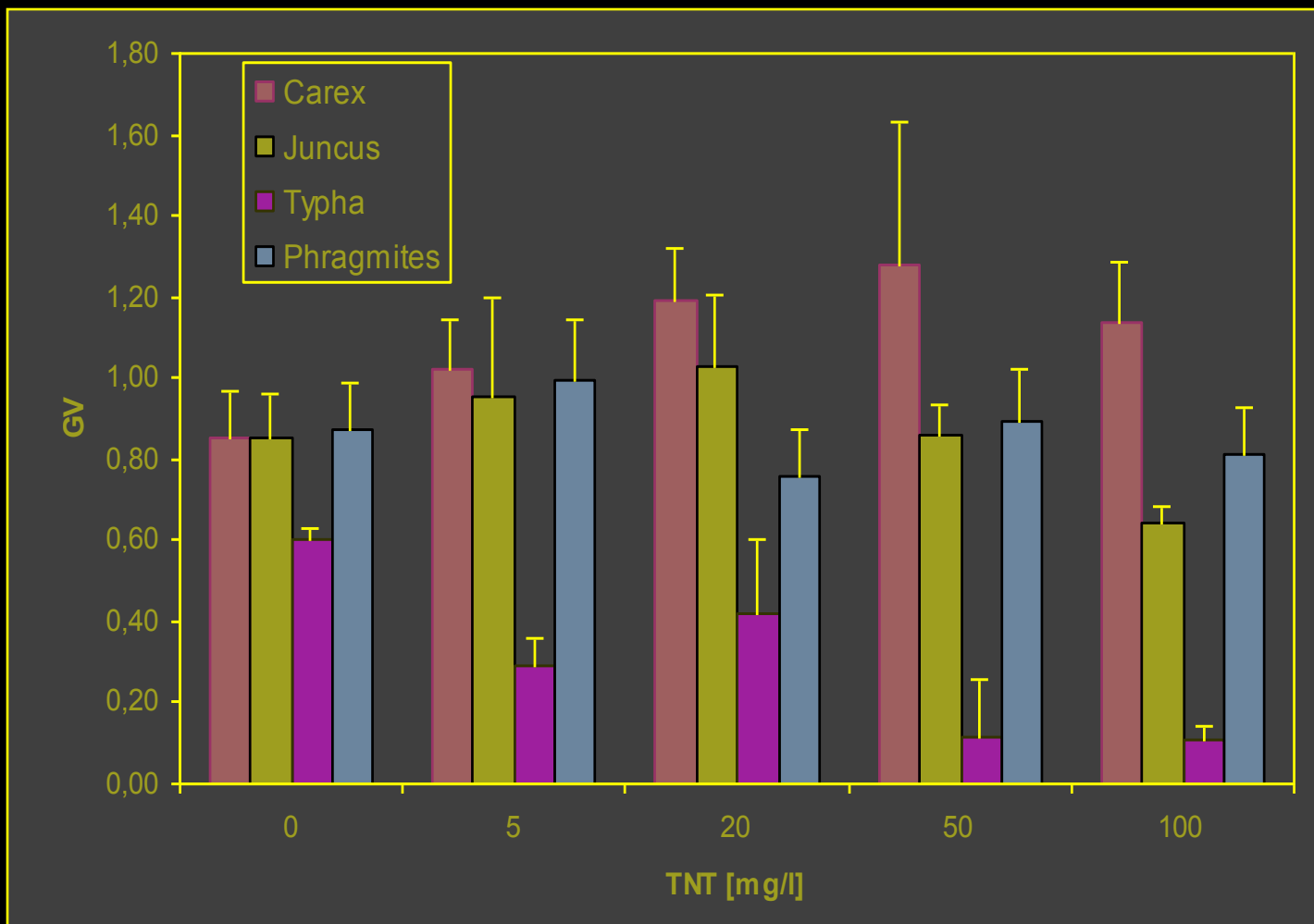


TNT 100mg/l

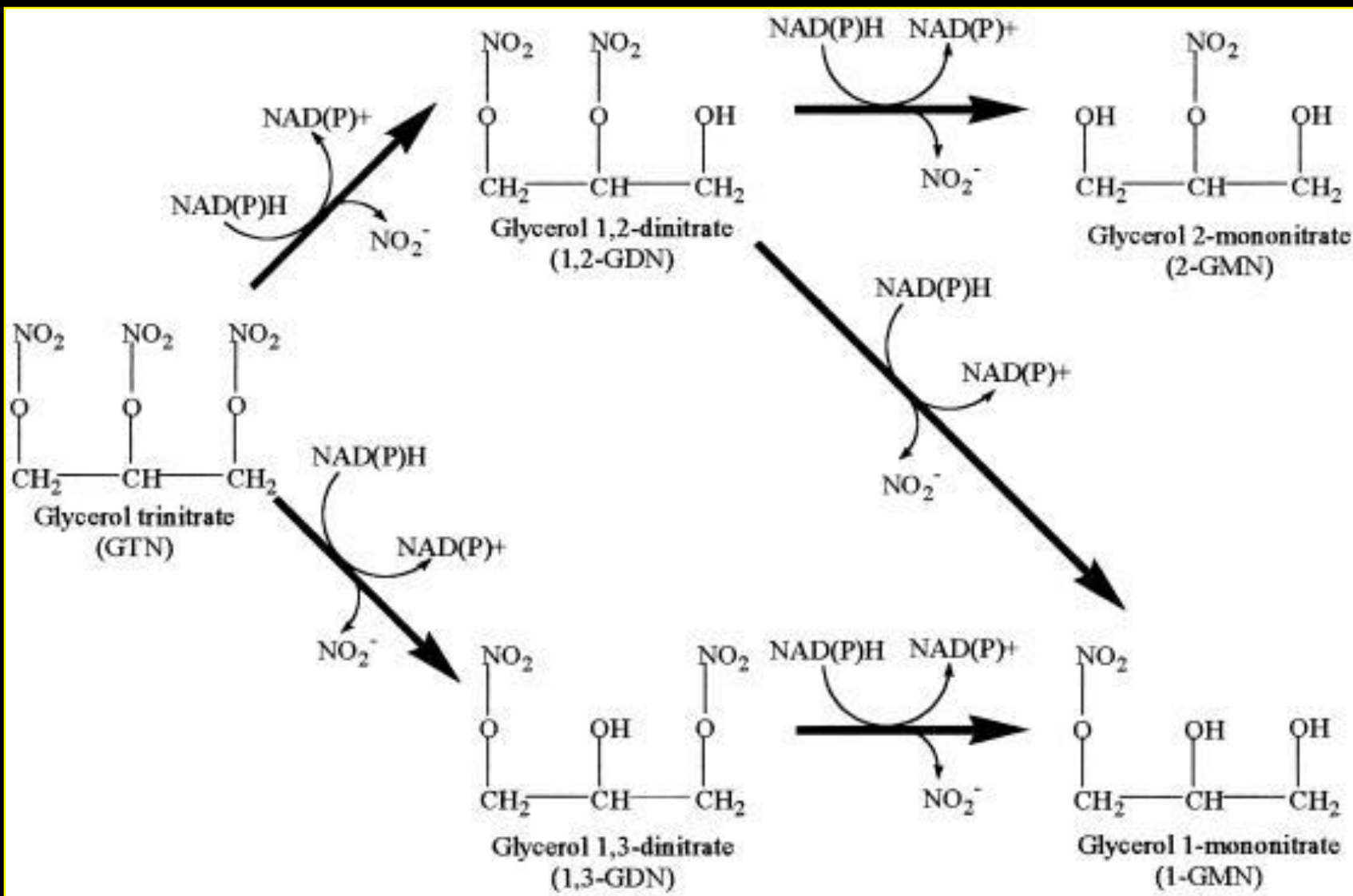
kontrola



FYTOTOXICITA TNT

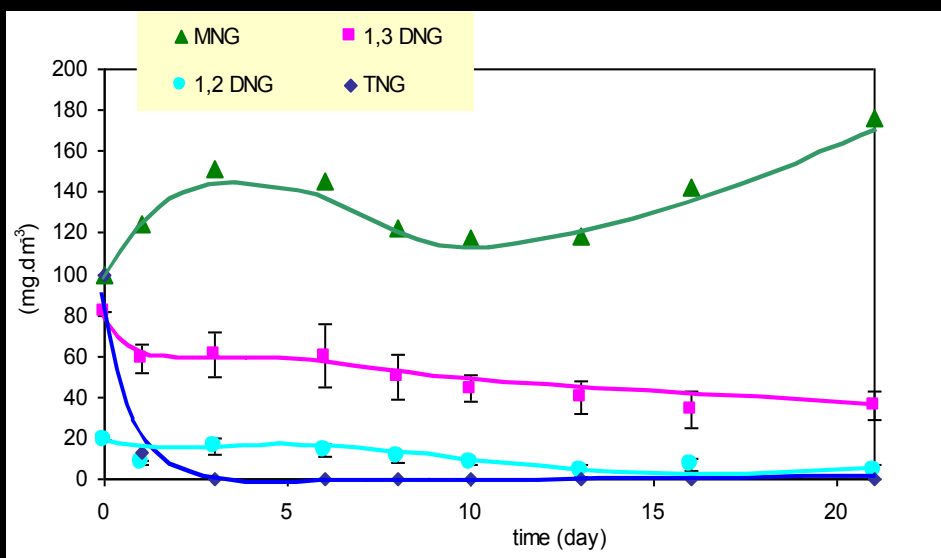
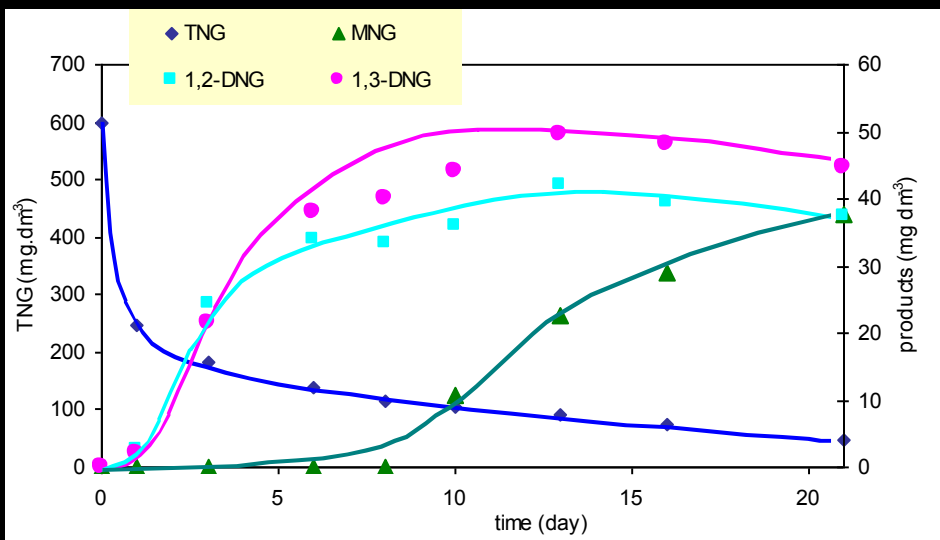


DEGRADACE TNG

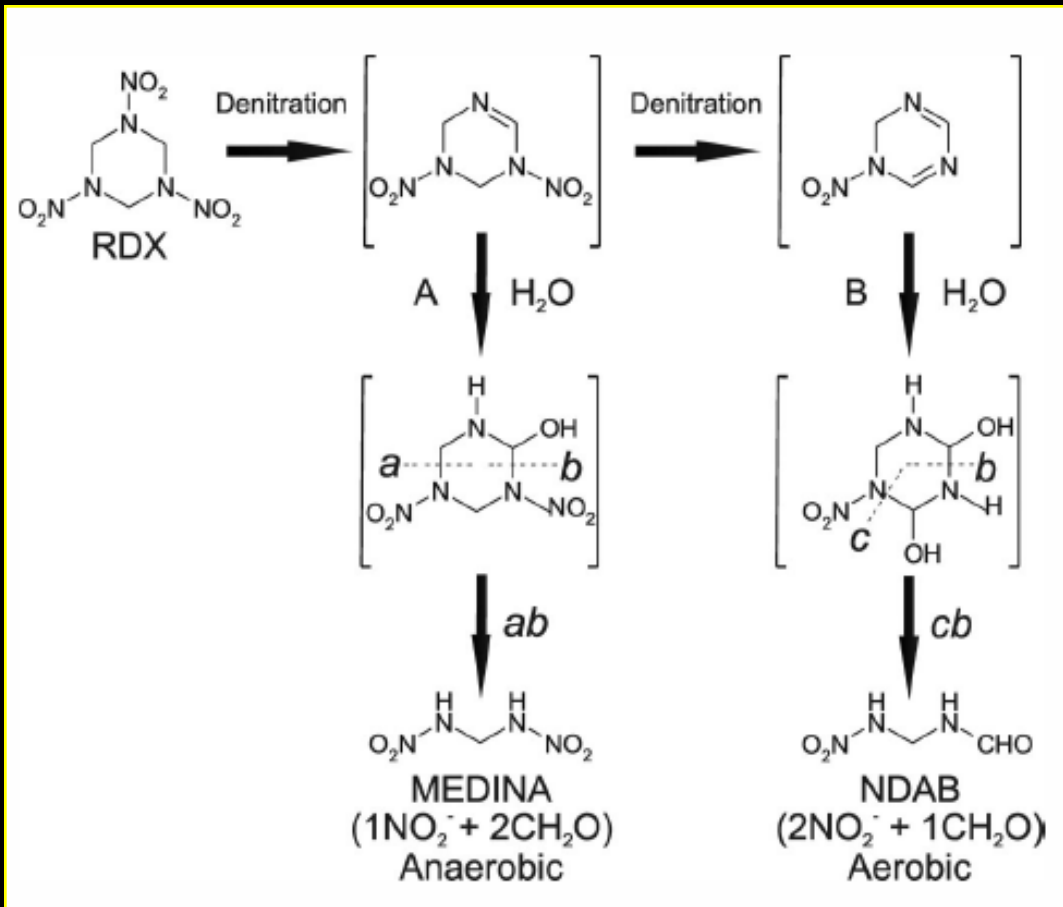




DEGRADACE TNG

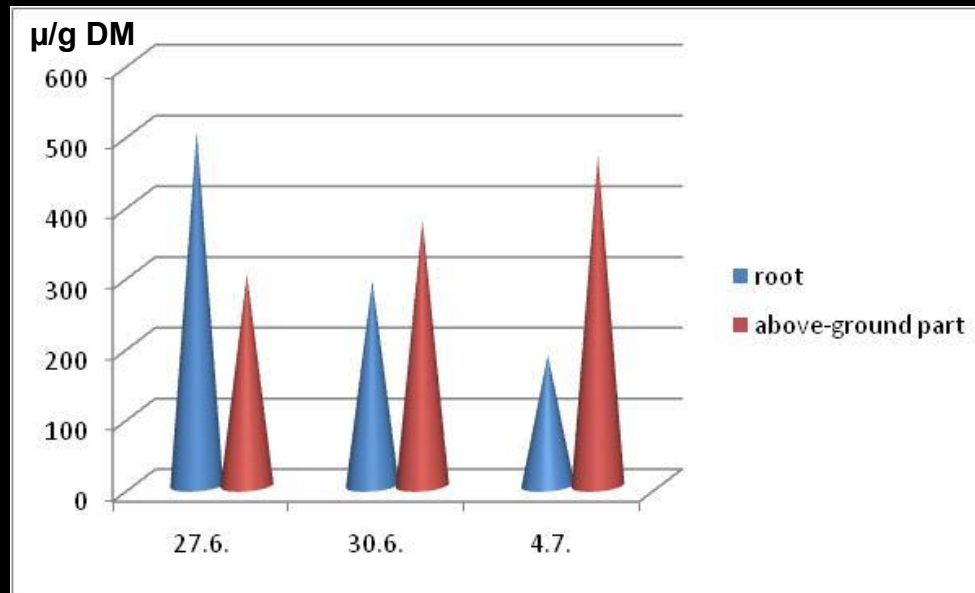


DEGRADACE RDX



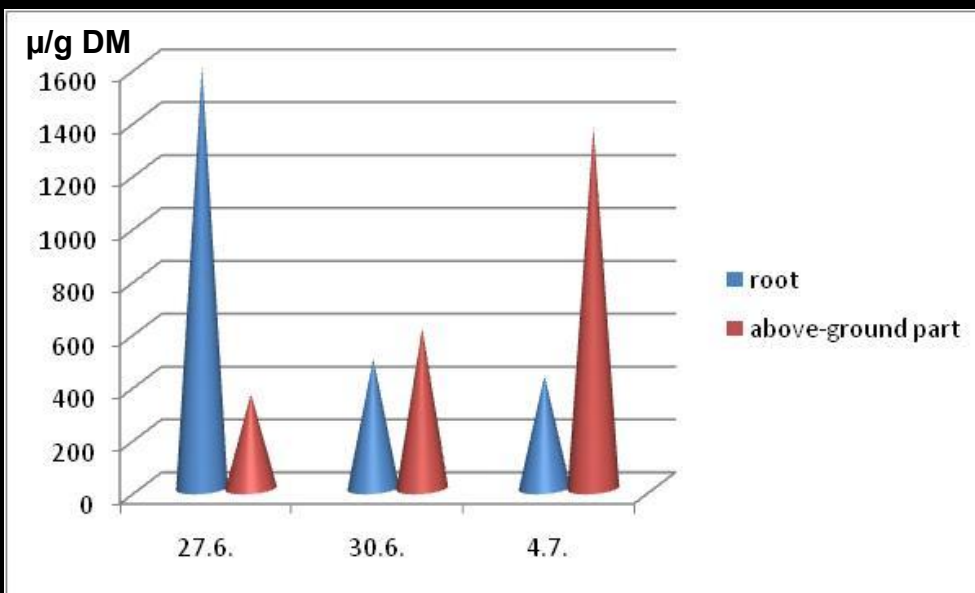
DEGRADACE RDX

25 mg/l



***Cannabis sativa* L. cv. Beniko**

50 mg/l



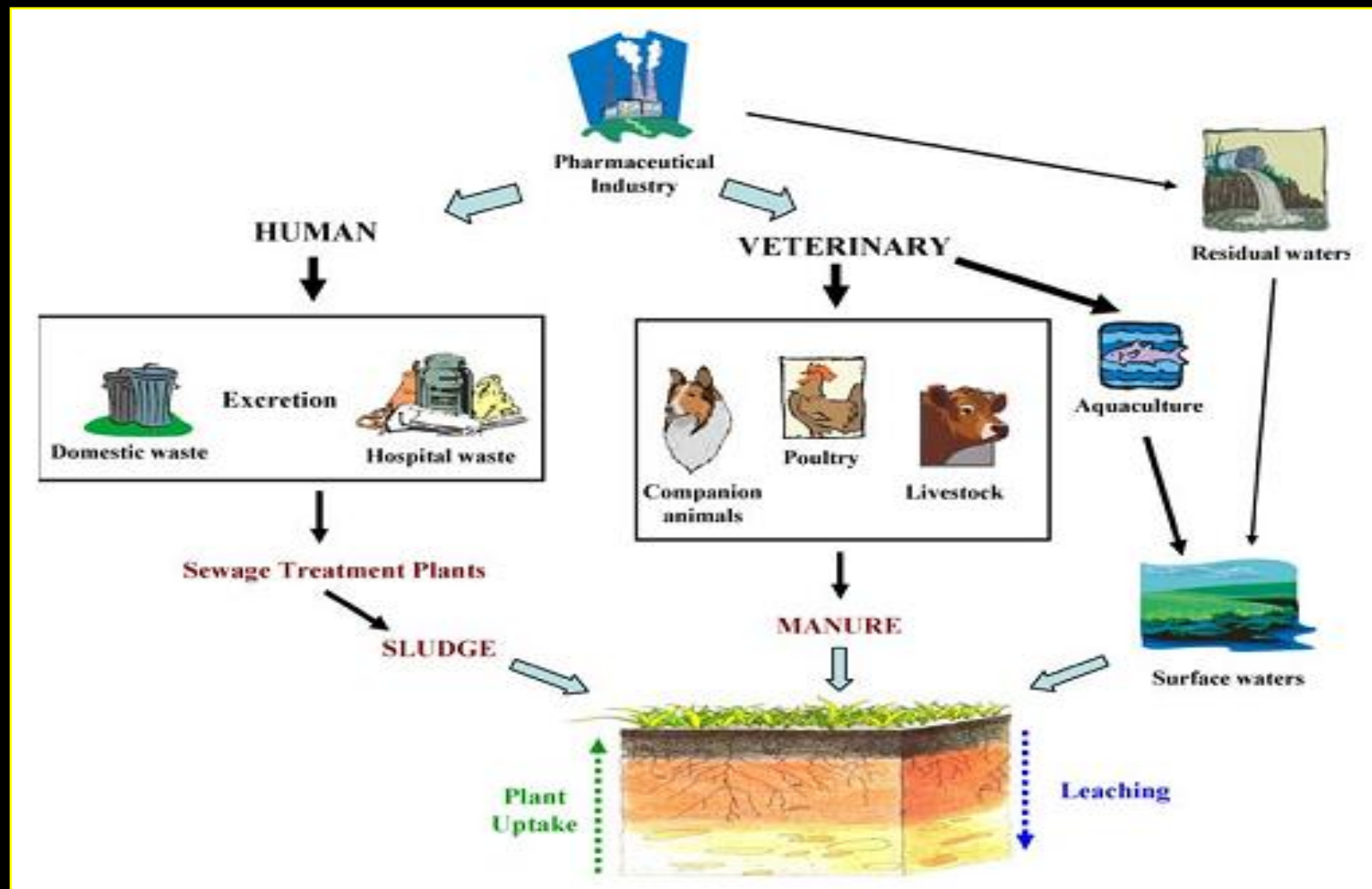
LÉČIVA V PŘÍRODĚ

- uvolňována postupně (od 50. let)
- zvýšený zájem v polovině 90. let
- různorodé látky (různé vlastnosti)
- těžko odhadnutelná toxicita
- prokázaný vliv na vodní organismy (střevle, žáby)

- úměrné prodeji léčiv na daném území
- široké koncentrační rozmezí (ng/l – mg/l)
- prakticky ve všech složkách (voda, půda)
- v ČR zatím nedostatek průzkumů
- nalezeny pouze estrogény v řádu ng/l



DISTRIBUČNÍ MECHANIZMUS



SPOTŘEBA LÉČIV V ČR

Léčiva s největším objemem distribuce v počtu balení
v roce 2007

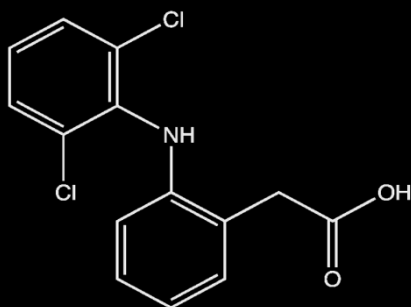
	Léčivá látka	Balení [mil]
1.	paracetamol	15,38
2.	elektrolyty parenterální	10,94
3.	ibuprofen	10,49
4.	kyselina acetylsalicylová (antikoagulancia, antitrombotika)	5,47
5.	paracetamol, kombinace mimo psycholeptik	4,69
6.	kyselina acetylsalicylová (analgetika, antipyretika)	4,08
7.	ambroxol	3,66
8.	xylometazolin	3,58
9.	atorvastatin	3,54
10.	metoprolol	3,54

POUŽITÁ LÉČIVA

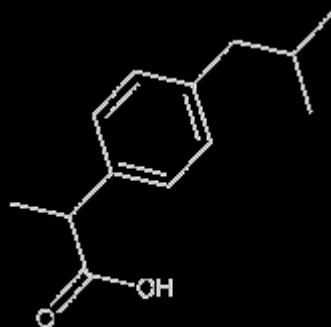
ZÁKLADNÍ INFORMACE O POUŽITÝCH LÉČIVECH

účinná látka	$\log K_{ow}$	rozpustnost [mg/ml]	M_r	počet balení (mil. ks)
diklofenak	0,7	2,43	312,15	3,91
ibuprofen	3,97	0,021	206,28	10,49
paracetamol	0,46	14	151,16	15,38

diklofenak

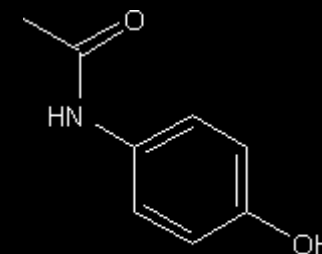


ibuprofen



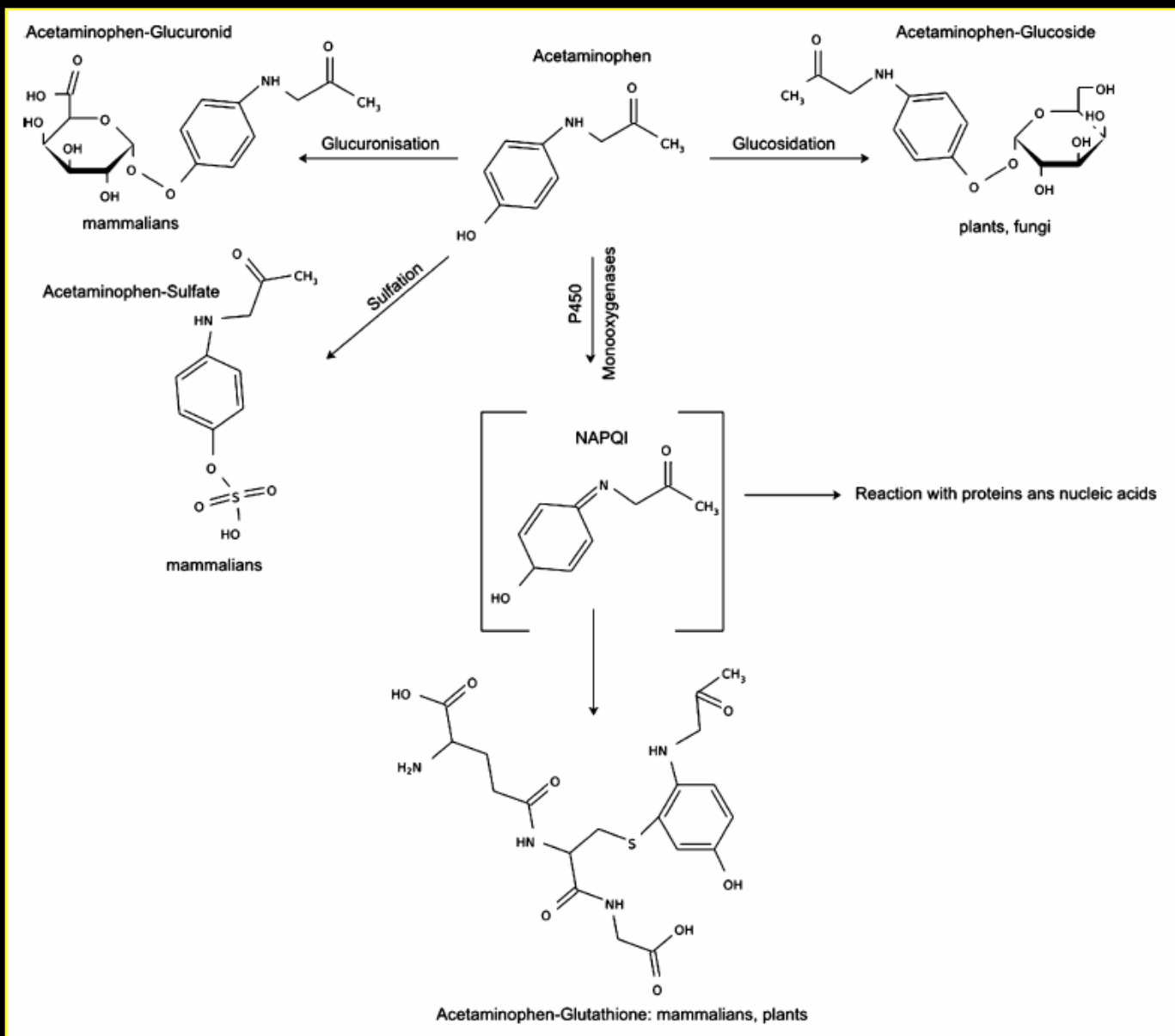
Chemical Formula: $C_{13}H_{18}O_2$

paracetamol

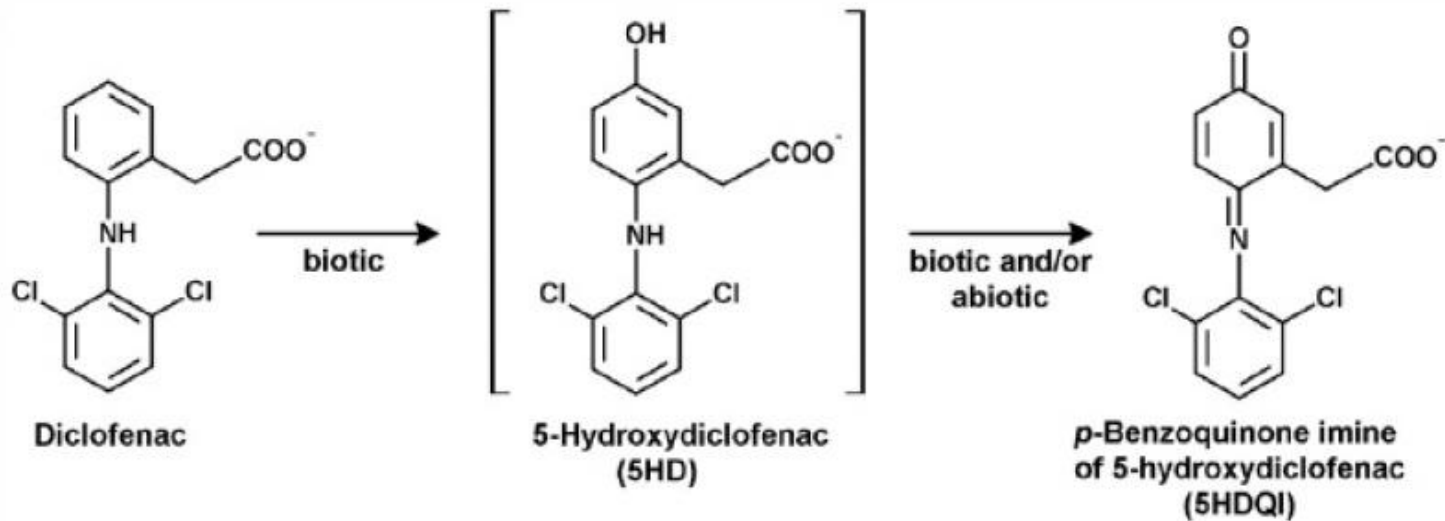


Acetaminophen

DEGRADACE ACETAMINOFENU

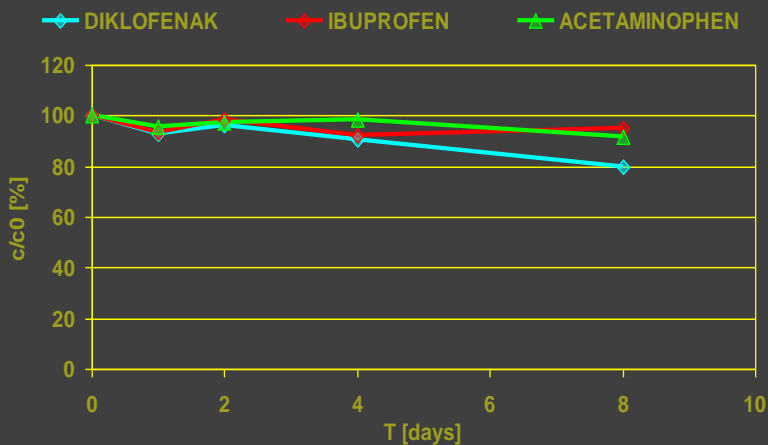


DEGRADACE DIKLOFENAKU

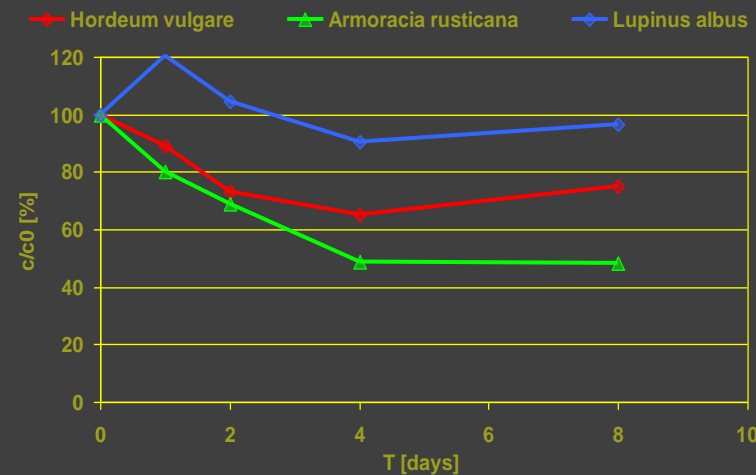


DEGRADACE FARMAK

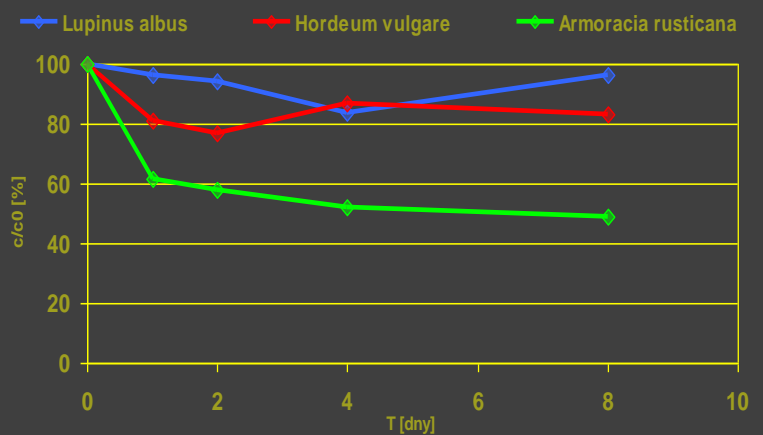
Degradace v mediu bez rostlin



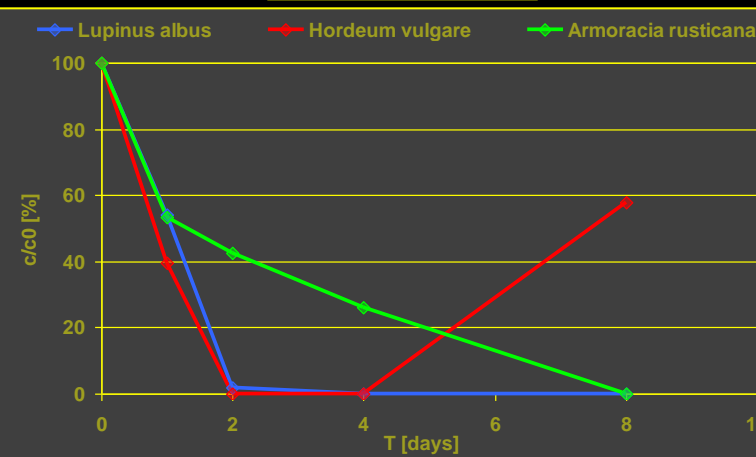
Diklofenak



Ibuprofen



Acetaminofen

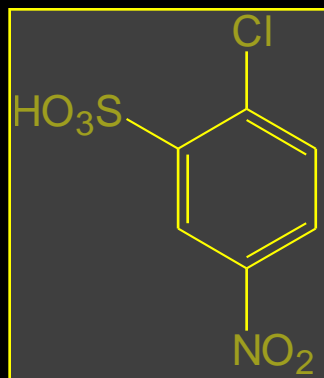


TRANSLOKACE FARMAK



^{14}C [ring] acetaminofen
Armoracia rusticana L.

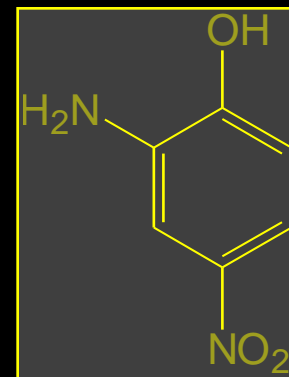
PREKURZORY SYNTETICKÝCH BARVIV



4-nitrochlorbenzen-6-sulfonová kyselina



1-diazo-2-naftol-4-sulfonová kyselina



4-nitro-2-aminofenol



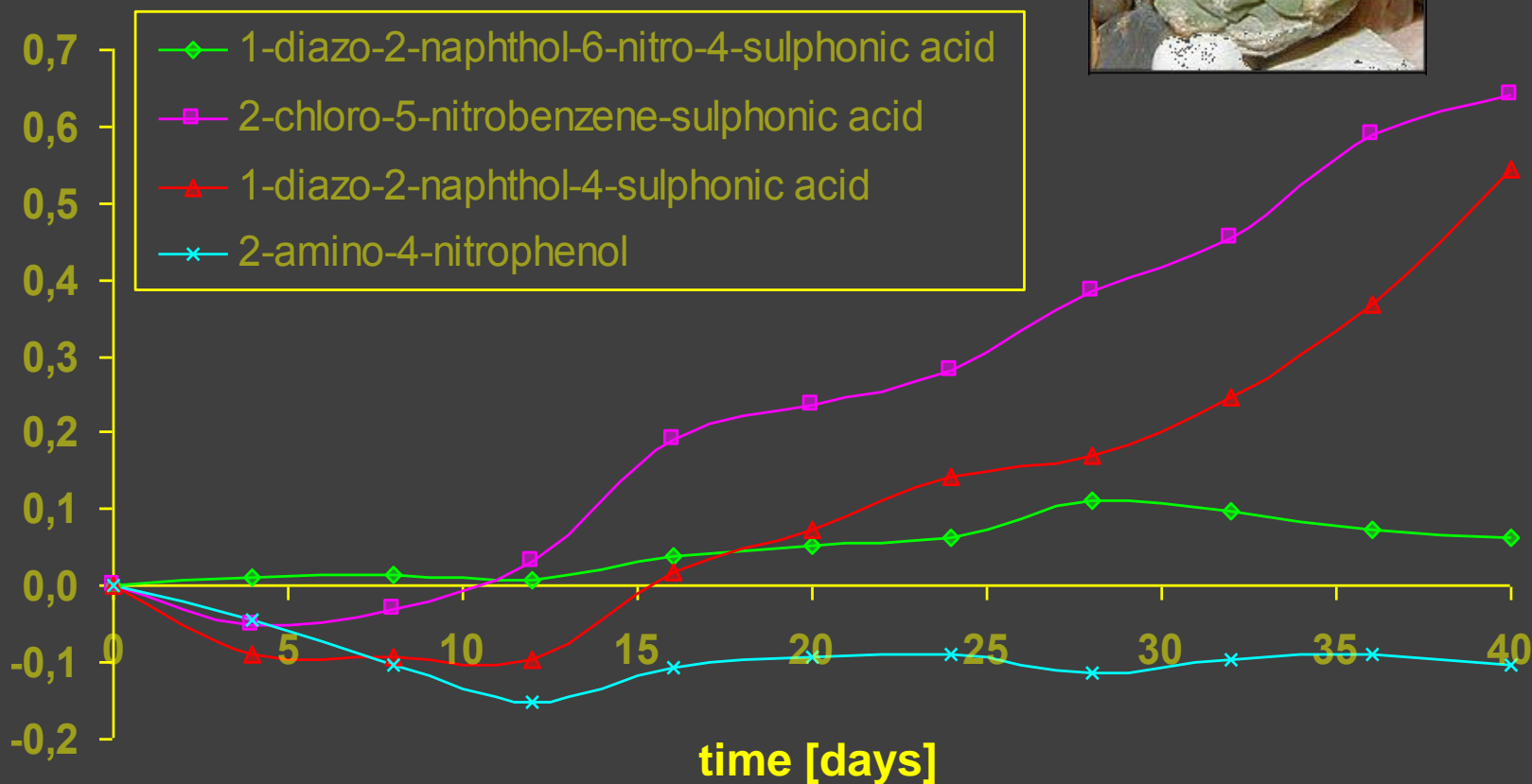
6-nitro-1-diazo-2-naftol-4-sulfonová kyselina

- Naftalen sulfonové kyseliny jsou důležitými prekurzory pro meziprodukty barev, smáčedel a dispersantů.
- Prvním krokem biodegradace je vnesení kyslíku proti dvojně vazbě nesoucí sulfonovou skupinu vedoucí k její eliminaci, které je katalyzováno dioxygenasami.
- Degradace se účastní také ligninasy a peroxidasy.

RUST IN VITRO KULTURY



GV

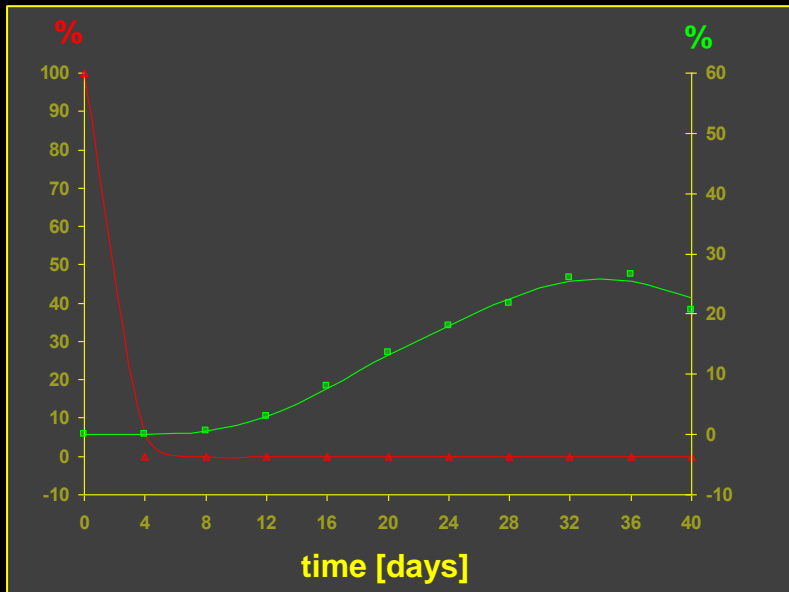


Strombocactus disciformis

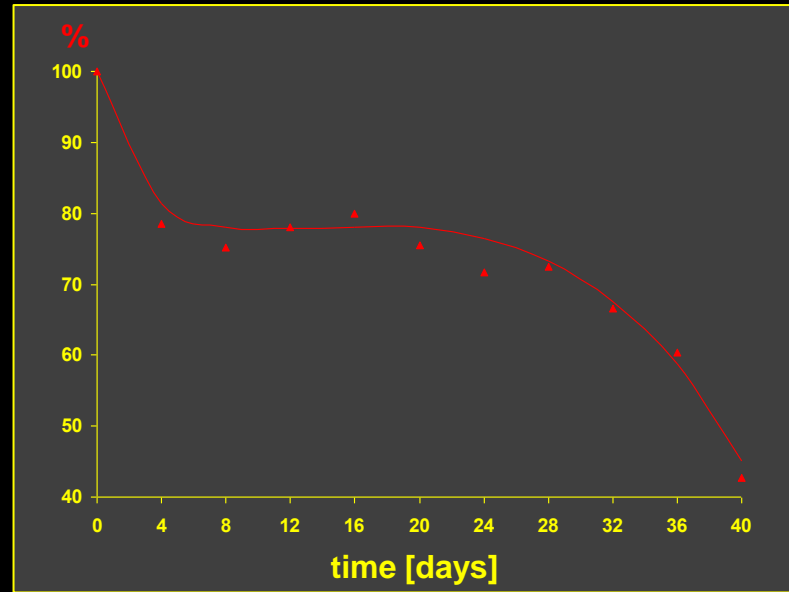


DEGRADACE NSA

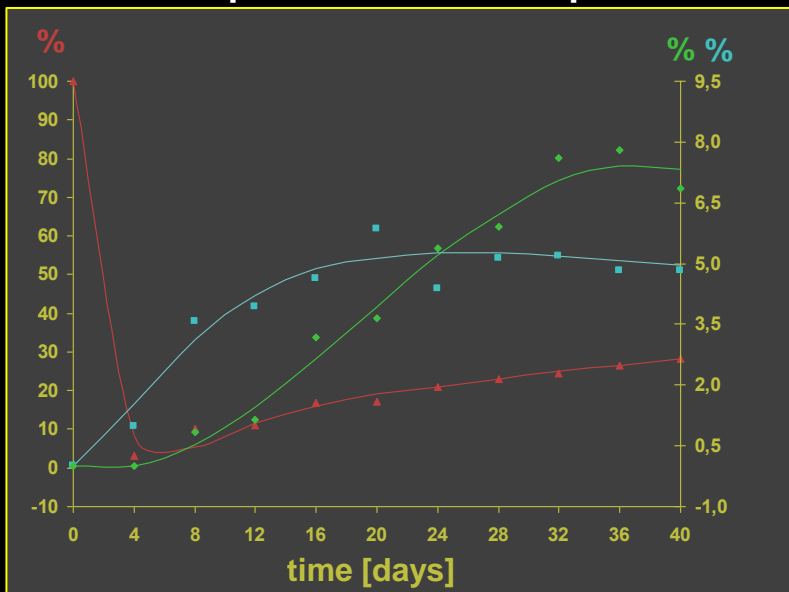
Petr Soudek - Fytoremediace VI.



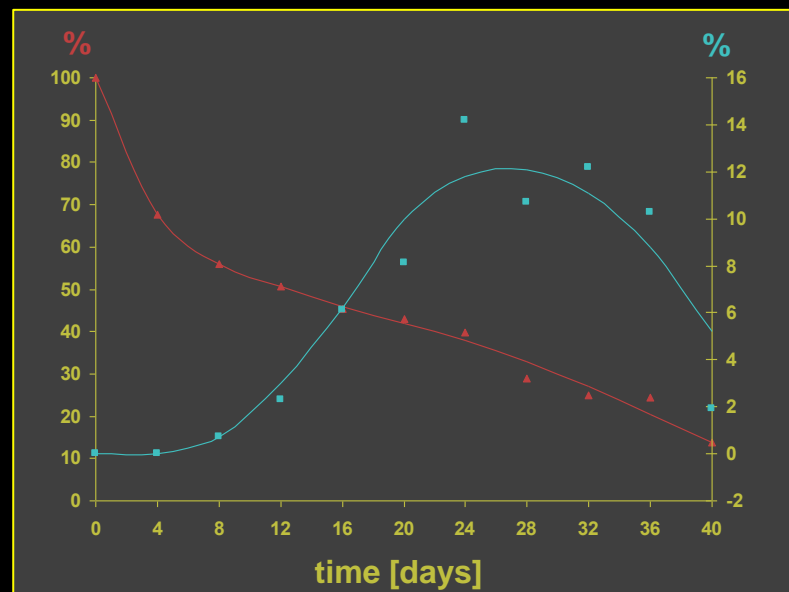
1-diazo-2-naphthol-6-nitro-4-sulphonic acid



2-chloro-5-nitrobenzene-sulphonic acid



1-diazo-2-naphthol-4-sulphonic acid



2-amino-4-nitro phenol

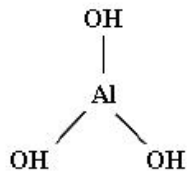
BROMOVANÉ RETARDANTY HOŘENÍ

Bromované retardanty hoření jsou v rámci této skupiny nejvíce zastoupeny. Jsou velmi efektivní při výrobě plastů a textílií. Aplikují se jako prevence požárů elektroniky, oblečení a nábytku.

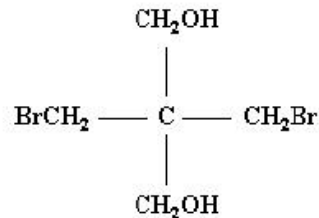
Polymer	Content [%]	Substances
Polystyrenová pěna	0,8–4	HBCD
Tvrzený polystyren	11–15	DecaBDE, bromovaný polystyren
Epoxydové pryskyřice	0-0,1	TBBPA
Polyamidy	13–16	DecaBDE, bromovaný polystyren
Polyolefiny	5–8	DecaBDE, propylen dibromo styren
Polyurethany	n/a	nejsou dostupné BRH
Polyterephthalaty	8–11	bromovaný polystyren
Nenasycené polyestery	13–28	TBBPA
Polycarbonaty	4–6	bromovaný polystyren
Styrenové kopolymery	12–15	bromovaný polystyren

BROMOVANÉ RETARDANTY HOŘENÍ

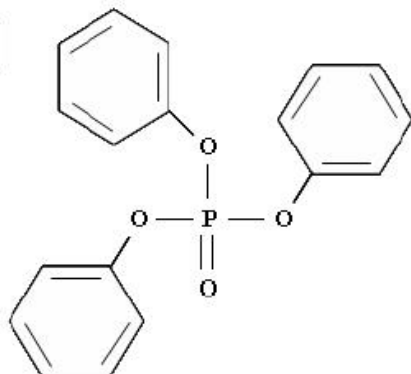
A



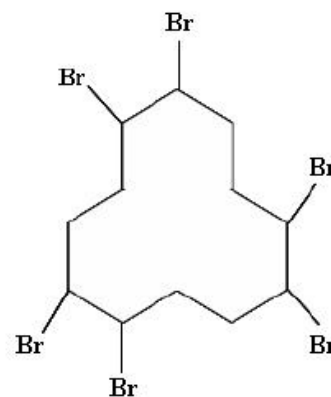
D



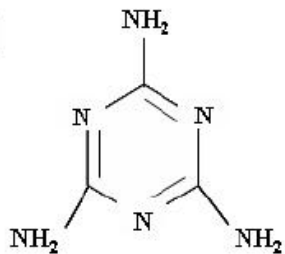
B



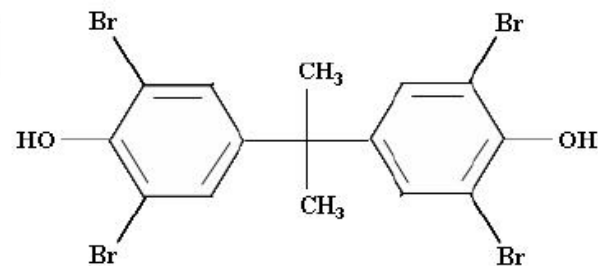
E



C

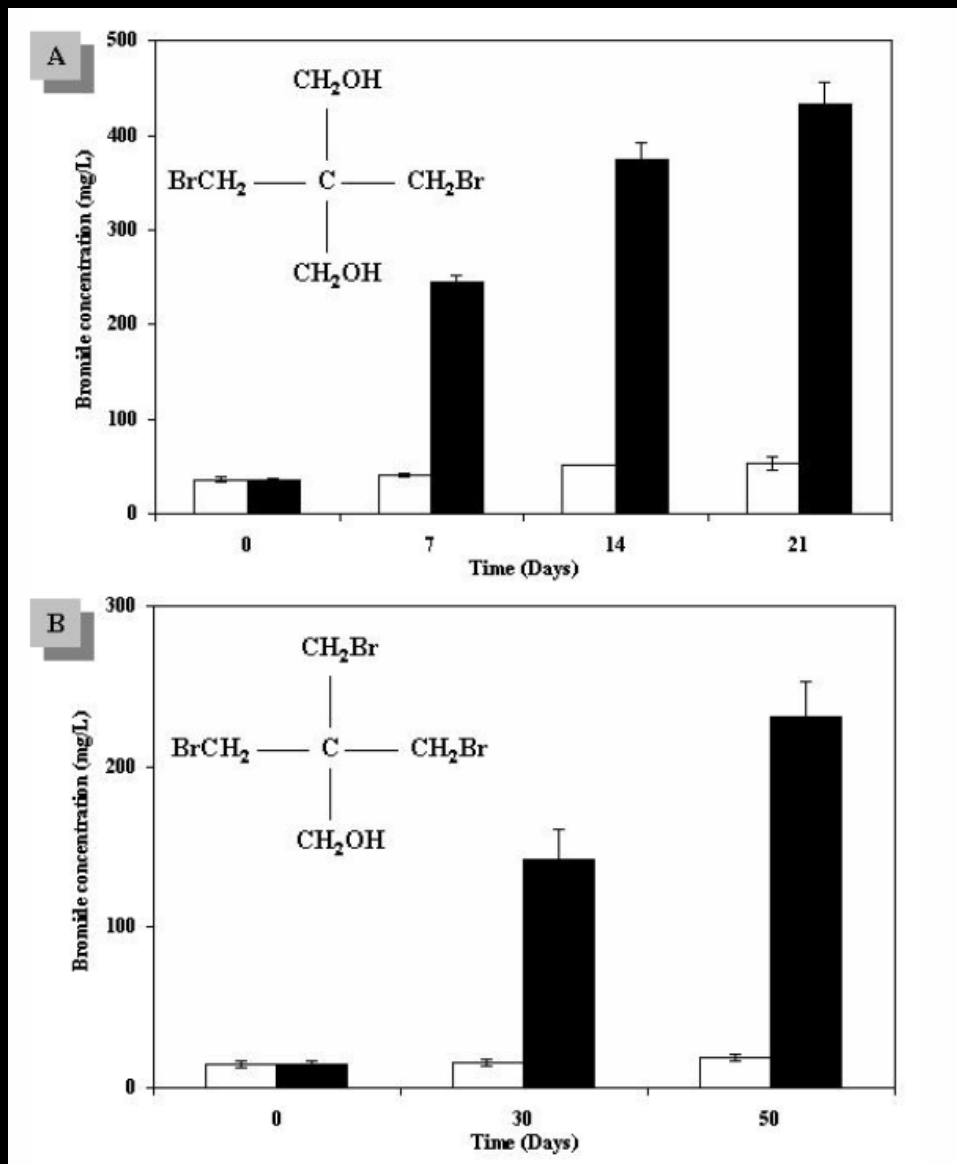


F



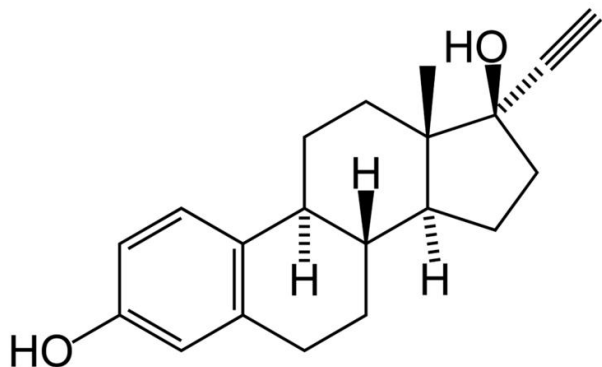
BROMOVANÉ RETARDANTY HOŘENÍ

Debromace DBNPG a TBNPA pomocí bakteriálního konsorcia. Nárůst koncentrace bromu v obou kulturách



HORMONÁLNÍ ANTIKONCEPCE

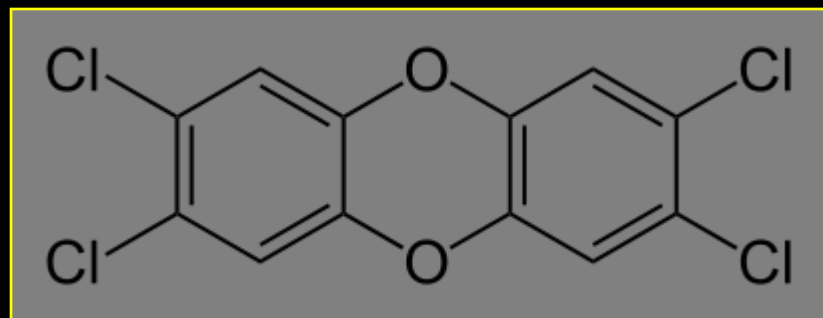
- Přírodní estrogény, estron (E1) a estradiol (E2), a syntetický estrogen ethinylestradiol (EE2) vylučovány ženami v moči a stolici do odpadních vod.
- Hormony odcházejí přes čističky odpadních vod do životního prostředí.
- V prostředí způsobují endokrinní disrupci, která zahrnuje ovlivnění sexuálního vývoje a reprodukce u rybí populace.
- Průměrné odstranění estrogenů v aktivovaném kalu se pohybuje okolo 78% pro estron, 91% pro estradiol a 76% pro ethinylestradiol.



Ethinylestradiol



DIOXINY



Jako dioxiny je souhrnně označováno 210 chemických látek ze dvou skupin - polychlorované dibenzo-p-dioxiny (PCDDs) a polychlorované dibenzofurany (PCDFs).

Jako vedlejší produkt při výrobě herbicidů, resp. jejich polotovarů jako 2,4,5-trichlorofenolu a 2(2,4,5-trichlorofenoxy)propionové kyseliny.

Byl například významnou nežádoucí příměsí postřiku Agent Orange, Dioxin také zamořil v 60. letech 20. století areál podniku Spolana Neratovice, který vyráběl a dodával dioxinem kontaminovanou složku pro výrobu Agent Orange.

Dioxin je prakticky nerozpustný ve vodě. Přijat potravou se hromadí v tukových tkáních živočichů včetně člověka.