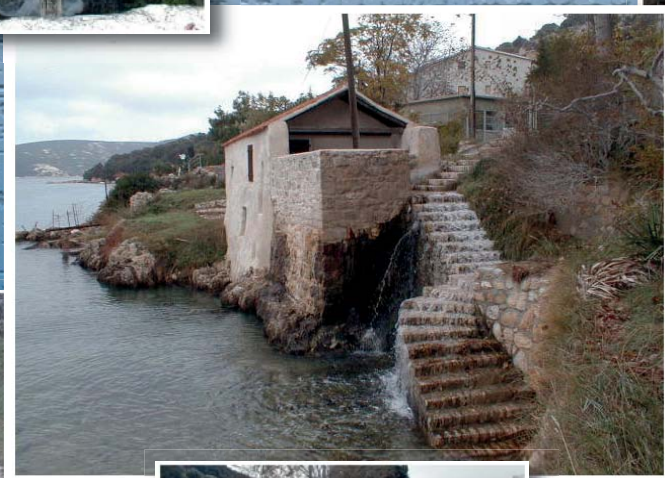


HRVATSKI ZAVOD ZA JAVNO ZDRAVSTVO I ŽUPANIJSKI ZAVODI ZA JAVNO ZDRAVSTVO

Pod pokroviteljstvom Ministra zdravlja
Prof. dr. sc. Rajka Ostojića, dr. med.

XVII ZNANSTVENO - STRUČNI SKUP VODA I JAVNA VODOOPSKRBA



1. - 4. listopada 2013.

T.N. „San Marino”
Lopar - otok Rab

TRAGOVI METALA U VODENOM STUPCU ANHIJALINIŠ ŠPILJA

Neven Cukrov*, Vlado Cuculić*, Źeljko Kwokal*, Marina Mlakar*, Dario Omanović*

SAŹETAK

Anihijaline špilje nalazimo na morskoj obali, s ulazom iznad morske razine. Akumulacija slatke vode na površini i stratificirani vodeni stupac s izraženom haloklinom, te povezanost s morem kroz okršene i porozne karbonatne stijene čine ove podzemne objekte jedinstvenim prirodnim sustavima. Na svjetskoj razini anihijaline špilje su zadnjih desetak godina stekle status vrlo zanimljivog vodenog okoliša zbog kombiniranih značajki podzemnog estuarija (stratificirano vodeno tijelo) i velikih dubina otvorenog oceana (nedostatak svjetla i kisika, kemosinteza, spora izmjena vode).

U Hrvatskoj je do sada uz Jadransku obalu i na otocima pronađeno i djelomično istraženo 87 anihijalinih špilja od kojih su mnoge tijekom povijesti služile kao važan izvor pitke vode za lokalno stanovništvo. Tijekom 7 godina za potrebe analize tragova metala uzorkovano je pet anihijalinih špilja (Urinjska špilja, Špilja pod Orljakom, Źiva voda, Lenga i Bjeajka). U njima su po prvi puta određene stvarne koncentracije ukupnih i otopljenih tragova metala (Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, Ni i Co) i njihove raspodjele u vodenom stupcu. Analize su obavljene metodama visoke preciznosti i ponovljivosti u Laboratoriju za fizičku kemiju tragova, Zavoda za istraživanje mora i okoliša, Instituta Ruđer Bošković u Zagrebu. Dobiveni rezultati su pokazali da se u nekim špiljama toksični metali nakupljaju u vrlo visokim koncentracijama bez direktnog antropogenog utjecaja, dok u drugima uz izraziti antropogeni utjecaj te koncentracije ostaju niske.

Ključne riječi: anihijaline špilje, tragovi metala

TRACE METALS IN WATER COLUMNS OF ANCHIALINE CAVES

Anchialine caves are located at sea coast with their entrances above the sea level. Their uniqueness is characterized accumulations of fresh water above stratified water column with sharp halocline and underground communication with sea through the porous carbonate rocks. They have been widely recognized as significant aquatic environments due their combination of subterranean estuary and deep sea environments.

Until now, 87 anchialine caves have been registered along the Croatian coast and on the numerous islands. The fresh water layer at such caves represented a significant resource of potable water for the ancient inhabitants of the Eastern Adriatic coast.

During 7 years for trace metal analyses water columns were sampled in 5 anchialine caves (Urinjska špilja, Špilja pod Orljakom, Źiva voda, Lenga i Bjeajka). Concentrations of total and dissolved trace metals (Hg, Cd, Pb, Cu, Zn, Ni and Co) and their distribution through the water column were determined for the first time. All analyses were performed in Laboratory of Physical Chemistry of Traces (Ruđer Bošković Institute, Division for marine and environmental research, Zagreb) by using highly precise and reproducible methods. Obtained concentrations show that some caves contains huge amount of toxic metal without notable anthropogenic influence. On the other hand, cave located in industrial area has very low metal concentrations.

Key words: Anchialine caves, trace metals

*Institut Ruđer Bošković, Zavod za istraživanje mora i okoliša, Zagreb

UVOD

Pojam „anhialin“ definiran je na Međunarodnom simpoziju o biologiji morskih špilja (Bermuda, 1984) i označava tip staništa u kojem je stratificirano vodno tijelo podzemno povezano sa okolnim morem (slatka i/ili boćata voda leži na sloju morske vode). Na svjetskoj razini anhijaline špilje su zadnjih desetak godina stekle status vrlo zanimljivog vodenog okoliša zbog kombiniranih značajki podzemnog estuarija (stratificirano vodeno tijelo) i velikih dubina otvorenog oceana (nedostatak svjetla i kisika, kemosinteza, spora izmjena vode). Tako je u studenom 2009. godine u Palma de Mallorci održan je Prvi svjetski simpozij o anhijalnim sustavima (Anchialine ecosystems: Reflection and prospects), a prošle godine u organizaciji Instituta Ruđer Bošković i Hrvatskog biospeleološkog društva, a pod pokroviteljstvom predsjednika Republike Hrvatske prof.dr.sc. Ive Josipovića i Državnog zavoda za zaštitu prirode, u Cavtatu održan je 2. Međunarodni simpozij o anhijalnim ekosustavima (2nd International Symposium on “Anchialine Ecosystems”). Jedan od bitnih zaključaka simpozija je odluka o potrebi promjene dosadašnjeg pojma „Anhijalini ekosustavi“, te je na okruglom stolu prihvaćena nova, za sada radna definicija /www.anchialine.com/.

Anhijalini objekti (špilje, jame, jezera) prepoznati su i u Republici Hrvatskoj kao jedinstveni tip staništa i prema Pravilniku o vrstama stanišnih tipova, karti staništa, ugroženim i rijetkim stanišnim tipovima te o mjerama za očuvanje stanišnih tipova (N.N. 7/2006) kategorizirani su oznakom H.1.4. Navedenim Pravilnikom zahtijeva se provođenje mjera njihova očuvanja, jer se radi o ugroženom i rijetkom stanišnom tipu u kraškom području.

U Hrvatskoj je do sada uz Jadransku obalu i na otocima pronađeno i djelomično istraženo 87 anhijalinih špilja od kojih su mnoge tijekom povijesti služile kao važan izvor pitke vode za lokalno stanovništvo. Prvi zapis o anhijalinoj špilji na našoj obali potječe od Stjepana Vuksana iz 1909. godine u njegovom opisu anhijaline špilje Pijavica, a 11 godina kasnije hrvatski geolog Josip Poljak je opisao Urinjsku špilju, posebno naznačivši da je voda u njoj boćata, što su potvrdila i novija istraživanja u toj špilji (Cukrov i sur., 2009; Cuculić i sur., 2012).

U zadnjih desetak godina istraživanja anhijalinih špilja u Hrvatskoj su se intenzivirala suradnjom znanstvenika Instituta za oceanografiju i ribarstvo iz Splita, Prirodoslovnog muzeja iz Zagreba i Instituta Ruđer Bošković iz Zagreba. To je rezultiralo opisom više novih vrsta i rodova planktonskih račića (Kršinić 2005, 2005a, 2008, 2012). Uz to opisane su i iznimno zanimljive raspodjele kemijskih vrsta anorganskog joda u sedam anhijalinih sustava duž obale Jadrana (Žic i sur., 2008), te raspodjele ukupnog joda i hranjivih tvari u vodnom stupcu špilje Bjeajka na otoku Mljetu (Žic i sur., 2011). Istraživane su raspodjele koncentracija tragova metala u više anhijalinih špilja (Cuculić i sur., 2009; Cuculić i sur., 2011; Cuculić i sur., 2012.; Cukrov i sur., 2006; Cukrov i sur., 2007; Cukrov i sur., 2008; Cukrov i sur., 2010; Cukrov i sur., 2011; Cukrov i sur., 2012), a započeta su i multidisciplinarna istraživanja (Klanjšček i sur., 2012, Geček i sur., 2012). Izmjena podzemne vode između kopna i mora je jedna od najvažnijih komponenti hidrološkog ciklusa. Ta izmjena nazvana „submarine groundwater discharge“ obuhvaća miješanje kopnene podzemne vode i morske vode koja se je infiltrirala u obalne vodonosnike (Moore, 2012), koji se odnedavna zajednički zovu podzemni estuariji („subterranean estuary“).

Najjednostavniji pristup podzemnom estuariju je putem istraživanja anhijalinih špilja.

Materijali i Metode

Tijekom 7 godina istraživano je pet anhidralnih špilja (Urinjska špilja, Špilja pod Orljakom, Živa voda, Lenga i Bječajka). Uzorkovanje špiljske vode za potrebe analize tragova metala obavio je speleoroničar metodom autonomnog ronjenja (Kniewald i sur., 1987). Odabrane špilje (slika 1) pokrivaju različite tipove obale s obzirom na mogući antropogeni utjecaj.

Uzorkovanje špiljske vode za analizu tragova metala (osim žive) izvršeno je ručno u boce od fluoriranog etilen propilena (FEP) od 1 L, dok su uzorci vode za analizu žive uzeti u SIMAX boce od borosilikatnog stakla (Sázava, Češka Republika) od 1 L.

Živa je određivana metodom atomske apsorpcijske spektrometrije hladnih para (CVAAS) s granicom određivanja $0,005 \text{ ng L}^{-1}$ u uzorcima morske vode.

Određivanje koncentracije metala (filtriranih - otopljeni metal i nefiltriranih - ukupni metal) voltametrijskim tehnikama izvedeno je na uređaju ECOChemie μ AUTOLAB multimode potenciostatu (Utrecht, Nizozemska) uz korištenje troelektrodnog sustava Metrohm 663 VA STAND (Herissau, Švicarska). Kao radna elektroda korištena je živina kap, referentna elektroda bila je Ag|AgCl (zas. NaCl), a za protuelektrodu upotrijebljena je Pt-žica.

Koncentracije kadmija (Cd), olova (Pb), bakra (Cu) i cinka (Zn) određene su metodom diferencijalno pulsne voltametrije s anodnim otapanjem (DPASV). Metoda se temelji na predkoncentriranju metala iz otopine u živinu kap procesom redukcije (primanje elektrona) uz stvaranje amalgama. Vrijeme i potencijal akumulacije podešava se prema očekivanoj koncentraciji i metalu koji se određuje. Nakon procesa predkoncentriranja, u malom volumenu živine kapi sakupljena je koncentracija metala za nekoliko redova veličine veća nego što je u otopini. U slijedećem koraku se metali iz živine kapi ponovno vraćaju u otopinu procesom oksidacije (otpuštanje elektrona) pri čemu se registriraju karakteristični signali koji svojim položajem označavaju o kojem se metalu radi. Visina tih signala u direktnoj je vezi s koncentracijama metala u uzorku. Granica određivanja ove metode iznosi od 1 do 10 ng/L, ovisno o metalu.



Slika 1. Mapa s položajima i nacrtima 5 anhidralnih objekata.

Koncentracije nikla (Ni) i kobalta (Co) određene su metodom adsorptivne voltametrije s katodnim otapanjem (AdCSV). Kod ove se metode u uzorak dodaje organski ligand (nioksim) poznate koncentracije koji s Ni i Co selektivno stvara jaki spoj (kompleks). Karakteristika nastalog spoja je da se jako adsorbira na površinu živine kapi. Stoga se i kod ove metode primjenjuje faza predkoncentriranja tijekom koje se Ni i Co nakupljaju na površini živine kapi. Nakupljeni (adsorbirani) kompleksi se potom reduciraju, te se mjere karakteristični signali. Mjerenje se vrši u puferiranoj otopini na oko pH ~ 9. Kao pufer korištena je boratna otopina pripremljena od posebno čistih kemikalija.

Za određivanje koncentracija metala korištena je metoda dodatka standarda, koja uključuje postupno dodavanje poznate količine metala u otopinu i mjerenje, te kreiranje kalibracijskih pravaca koji služe za konačni izračun koncentracija.

Rezultati i diskusija

U tablici 1. prikazan je raspon koncentracija otopljenih tragova metala u vodenom stupcu pet anhidralnih objekata iz Hrvatske. Iako su koncentracije žive izmjerene u samo tri špilje kod njih je u morskom dijelu uočen raspon koncentracija od dva reda veličine (5,8 do 920 ng/L). Najviše koncentracije žive pronađene su u špilji Bjeajka smještenoj u Nacionalnom parku Mljet u kojem nije uočen značajan antropogeni utjecaj. U istoj su špilji pronađene i najviše koncentracije kadmija (300 ng/L). Najviše koncentracije bakra (4800 ng/L) pronađene su u drugoj špilji (Lenga) također smještenoj na području nacionalnog parka Mljet. U istoj špilji pronađene su i visoke koncentracije cinka (7400 ng/L), ali su najviše ipak pronađene u Jami pod Orljakom (9569 ng/L) smještenoj u estuariju rijeke Krke. Koncentracije olova, nikla i kobalta su ujednačene u svim istraživanim anhidralnim objektima.

Tablica 1. Raspon koncentracija (ng/L) otopljenih metala u bočatoj i morskoj vodi u 5 anhidralnih objekata.

	Urinjska špilja		Orljak		Živa Voda		Lenga		Bjeajka	
	bočata	morska	bočata	morska	bočata	morska	bočata	morska	bočata	morska
Hg					0.8-2.7	4.9-5.8	1.7-5.7	3.4-15	1.8-2.6	198-920
Cd	8-18	12-22	1-12	3-26	12-30	11-20	15-27	4-40	26-44	31-300
Pb	2-14	13-200	60-418	13-195	213	56-126	13-32	8-151	10-350	7-143
Cu	32-177	174-590	186-430	174-338	587	161-280	1200-1900	4000-4800	800-3800	100-1500
Zn	314-1446	690-2613	490-1338	370-9569	482-1600	595-883	2000-3000	1500-7400	896-1071	327-520
Ni	99-319	198-319	161	268-449	289-368	138-257			409-455	259-508
Co	10-32	8-17	30	20-49	10-18	6-7			20-22	10-17

U dvije anhidralne špilje smještene na području Nacionalnog parka Mljet, daleko od antropogenog utjecaja pronađene su visoke koncentracije toksičnih metala (tablica 1). Nasuprot tome, u špilji Urinj, smještenoj uz samu ogradu Urinjske rafinerije nafte izmjerene su značajno niže koncentracije metala. Špilja Živa Voda smještena u vrlo sličnom okolišu i geološkoj podlozi kao i mljetske špilje također ima značajno niže koncentracije tragova toksičnih metala. Za povišene koncentracije bakra i cinka (tablica 1) u Lengi još bi se mogao i naslutiti mogući antropogeni utjecaj, dok to kad kadmija i žive u Bjeajci još nije moguće. Za povišene koncentracije kadmija predložen je prirodni uzrok (Cuculić i sur., 2011).

S obzirom da su anhidralni objekti dio podzemnog estuarija, to bi moglo značiti da u podzemnim estuarijima imamo sličnu situaciju s povišenim koncentracijama toksičnih metala, a da se ne zna razlog tome. Kako je podzemni estuariju s jedne strane u neprestanom kontaktu s obalnim vodonosnicima, a s druge s morskom vodom, time je problem značajniji.

ZAKLJUČAK

Raspon koncentracija tragova metala u anhijalnim objektima duž naše obale varira i dva reda veličine. Za povišenje koncentracija tragova metala u nekim anhijalnim špiljama odgovoran je antropogeni utjecaj, dok u drugima najvjerojatnije prirodan tj. način unosa zagađivala u podzemlje je prirodan.

S obzirom na važnost podzemnih estuarija za obalno more i zalihe pitke vode u priobalju istraživanje anhijalnih objekata treba nastaviti većim intenzitetom.

Zahvala

Zahvaljujemo se speleoroniocu Branku Jalžiću što nam je odškrinuo vrata u taj čudesni podzemni svijet anhijalnih špilja.

LITERATURA

- Cuculić, V., Cukrov, N., Kwokal, Ž., Jalžić, B. (2009) Distribution of Hg, Cd, Pb, Cu and Zn in water columns and sediments of two anchialine caves in Mljet National Park – Croatia. *Anchialine ecosystems: Reflection and prospects*. 17-18.
- Cuculić, V., Cukrov, N., Kwokal, Ž., Mlakar, M. (2011) Distribution of trace metals in anchialine caves of Adriatic Sea, Croatia. *Estuarine, coastal and shelf science*. 95, 1; 253-263.
- Cuculić, V., Cukrov, N., Omanović, D., Jalžić, B. (2012) Preliminary study of trace metal distribution in the water column of Urinjska špilja anchialine cave (Croatian Adriatic coast). *Natura Croatica*, Vol.21 No.suppl. 1. 28-31.
- Cukrov, M., Ozimec, R., Cukrov, N., Bedek, J., Jalžić, B. (2012) Sumporače – preliminary results from research into unique anchialine sulphur caves in Croatia. *Natura Croatica*, Vol.21 No.suppl. 1. 36-42.
- Cukrov, N., Cuculić, V., Kwokal, Ž., Mlakar, M., Jalžić, B. (2011) Raspon koncentracija ekotoksičnih metala u anhijalnim objektima NP Mljet. *ZBORNİK RADOVA SIMPOZIJA DANI BRANIMIRA GUŠIĆA – MLJET 2010*, 305-313.
- Cukrov, N., Blatarić, A., Cuculić, V., Garniér, C., Jalžić, B., Omanović, D. (2010) A preliminary study of trace metals and physico-chemical parameters in water column of anchialine cave Orljak, Croatia. *Rapport du 39e Congres de la CIESM*. CIESM, Monaco, str. 238.
- Cukrov, N., Jalžić, B., Bilandžija, H., Cukrov, M. (2009) Research history and anchialine cave characteristic in Croatia, *Anchialine ecosystems: Reflection and prospects*, 19-20.
- Cukrov, N., Cukrov, M., Jalžić, B., Omanović, D. (2008) Koncentracije ekotoksičnih metala (Cd, Pb, Cu i Zn) u vodenom stupcu špilje Živa voda na otoku Hvaru. *Subterranea Croatica*. 10, 28-32.
- Cukrov, M., Cukrov, N., Jalžić, B., Cuculić, V. (2007) Geokemijska istraživanja voda anhihaline jame u uvali Bjejjajka, otok Mljet. *Subterranea Croatica*. 8; 16-19.

- Cukrov, M., Jalžić, B., Omanović, D., Cukrov, N. (2006) Tragovi metala u vodenom stupcu Urinjske špilje. *Subterranea Croatica*. 7; 25-30.
- Geček, S., Klanjšček, T., Cukrov, M., Legović, T., Cukrov, N. (2012) Water and temperature dynamics in the anchialine cave Jama pod Orljakom in the function of the recent introduction of invasive species *Ficopomatus enigmaticus* (Annelida, Polychaeta). *Natura Croatica : periodicum Musei historiae naturalis Croatici*. 21, 1; 47-50.
- Klanjšček, T., Cukrov, N., Cukrov, M., Geček, S., Legović, T. (2012) Using bioenergetic models to estimate environmental conditions in anchialine caves. *Natura Croatica : periodicum Musei historiae naturalis Croatici*. 21, 1; 71-73.
- Kniewald, G., Kwokal, Ž., Branica, M. (1987) Marine sampling by scuba diving. 3. Sampling procedure for measurement of mercury concentrations in estuarine waters and seawater. *Mar. Chem.*, 22, 343.
- Kršinić, F. (2012) Description of *Stephos boettgerschnackae* sp. nov., a new copepod (Calanoida, Stephidae) from an anchialine cave in the Adriatic Sea. *Crustaceana (Leiden)*. 85, 12-13; 1525-1539.
- Kršinić, F. (2008) Description of *Speleophria mestrovi* sp. nov., new copepod (Misophrioida) from an anchialine cave in the Adriatic Sea. *Marine Biology Research*. 4, 304-312.
- Kršinić, F. (2005) *Speleohvarella gamulini* gen. et sp. nov., a new copepod (Calanoida, Stephidae) from an anchialine cave in the Adriatic Sea. *Journal of plankton research*. 27, 6, 607-615.
- Kršinić, F. (2005) *Badijella jalzici* - a new genus and species of calanoid copepod (Calanoida, Ridgewayiidae) from an anchialine cave on the Croatian Adriatic coast. *Marine biology research*. 1, 4, 281-289.
- Moore, W.S. (2012) The recent history and future of the subterranean estuary. *Natura Croatica*, Vol.21 No.suppl. 1. 80-82.
- Žic, V., Truesdale, W., Cuculić, V., Cukrov, N. (2011) Nutrient speciation and hydrography in two anchialine caves in Croatia: tools to understand iodine speciation. *Hydrobiologia* 677, 129-148.
- Žic, V., Truesdale, W., Cukrov, N. (2008) The distribution of iodide and iodate in anchialine cavewaters - evidence for sustained localised oxidation of iodide to iodate in marine water. *Marine chemistry* 112, 168-178.