

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



Kontaminace životního prostředí arsenem

Bakalářská práce

Iveta Schwarzová

Udržitelné využívání přírodních zdrojů

Vedoucí práce

prof. Ing. Daniela Pavlíková, CSc.

© 2018 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Kontaminace životního prostředí arsenem“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10.4.2018

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala paní profesorce Daniele Pavlíkové za cenné rady, podněty a připomínky k bakalářské práci, dále panu docentu Milanovi Pavlíkovi a doktorce Veronice Zemanové.

Kontaminace životního prostředí arsenem

Souhrn

Arsen je toxický polokov, který se přirozeně nachází v zemské kůře jako součást hornin a minerálů. Jeho toxicita je známa již od starověku a v minulosti byl hojně využívaným jedem. Přítomnost arsenu bylo možno dokázat díky Marshově zkoušce, která byla objevena v roce 1836, dnes se arsen stanovuje spektrofotometricky. Kontaminace životního prostředí arsenem je celosvětovým problémem a může k ní docházet jak v důsledku antropogenní činnosti, tak přirozenou cestou. Mezi přirozené cesty patří například zvětrávání hornin a tato cesta kontaminace je v současné době velkým zdravotním problémem v Bangladéši, kde je silně kontaminována podzemní voda. To má za následek chronickou otravu arsenem desítek milionů lidí, kteří nemají přístup k jinému zdroji pitné vody. Mezi antropogenní zdroje kontaminace patří spalování uhlí, metalurgie či používání pesticidů.

V České republice jsou nejvíce dotčeným územími Severočeská hnědouhelná pánev a okolí Kutné Hory, kde se po stovky let těžilo stříbro. Půda kontaminovaná arsenem rozsáhlým způsobem ovlivňuje rostliny, arsen může inhibovat klíčivost semen, dále způsobovat změny na buněčné úrovni, například poškození buněčné membrány, což způsobuje poruchu rovnováhy příjmu živin a obsahu vody v rostlinných buňkách, to potom druhotně vede k porušení vodivosti průduchů a poklesu transpirace. Dále může docházet k morfologickým změnám chloroplastů, což negativně ovlivňuje produkci energie v průběhu fotosyntézy. Tolerance jednotlivých druhů rostlin vůči kontaminaci arsenem je různá.

V současné době se mnoho výzkumů zabývá hyperakumulátory, což jsou rostliny schopné z půdy absorbovat a akumulovat toxické kovy. Výhodou použití hyperakumulátoru k odstranění toxických prvků z půdy je, že je to ekonomicky nenáročná metoda, nevýhodou to, že řada dosud známých hyperakumulátorů arsenu pochází z tropického podnebí a nejsou pro podmínky České republiky vhodné.

Klíčová slova: arsen; rostlina; toxicita; životní prostředí

The Contamination of Environment by Arsenic

Summary

Arsenic is a toxic metalloid that naturally occurs in Earth's crust as a part of rocks and minerals. The toxicity of arsenic is well known already since antiquity and arsenic was often used as a poison in the past. The presence of arsenic was possible proven by using Marsh test, that was performed in 1836 and nowadays arsenic is detected by using a spectrophotometric method. The contamination of environment by arsenic is a global problem caused as well by anthropogenic activity as by natural ways. One of the natural ways of contamination by arsenic is mineral weathering, that leads to serious health issues in Bangladesh, where the underground water is heavily contaminated. The consequence is, that tens of millions citizens of Bangladesh suffer from chronic poisoning by arsenic, because they do not have access to sources of drinking water. The anthropogenic sources of contamination are carbon burning, metallurgy, using of pesticides.

In the Czech Republic, there the most affected areas are Severočeská hnědouhelná pánev (North Bohemian brown coal basin) and the surroundings of the city Kutná Hora, where silver had been mined for hundreds of years. Soil contaminated by arsenic has extensive consequences for plants, where arsenic can inhibit seed germination, further it can cause changes in cells, e.g. by damaging cell membrane, which causes disbalances in uptake of nutrients and water content in plant cells. This secondarily leads to damage of stomatal conductance and decrease of transpiration. Furthermore, the contamination by arsenic can lead to morphological changes of chloroplasts, which negatively influences level of energy produced by photosynthesis. Tolerance of plants against contamination by arsenic is different.

Nowadays, many researches study plant hyperaccumulators, that are plants being able to absorb and accumulate toxic metals from soil. Advantages of using the hyperaccumulator plants to remove toxic elements from soil consist in their cost-effectivity. Disadvantages consist in the fact, that many of the hyperaccumulators have their origin in tropical areas, hence they are not appropriate and suitable in climate typical for the Czech Republic.

Keywords: arsenic; plant; toxicity; environment

Obsah

1 Úvod	1
2 Základní vlastnosti arsenu	2
2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti	2
3 Historie používání arsenu	4
4 Zdroje kontaminace.....	6
4.1 Přirozené zdroje	6
4.2 Antropogenní zdroje	8
4.2.1 Průmyslové zdroje	8
4.2.2 Zemědělství.....	8
4.3 ČR	9
5 Toxicita.....	13
5.1 Akutní otrava.....	14
5.2 Chronická otrava	15
5.3 Tolerance arsenu.....	16
6 Kontaminace a její důsledky pro metabolismus rostlin	18
6.1 Změny v rostlinách vyvolané arsenem.....	19
6.2 Mykorrhiza.....	21
6.3 Rhizosféra.....	22
7 Hyperakumulátory	24
7.1 Fytoremediace	27
7.2 Známé druhy hyperakumulátorů	27
8 Závěr.....	32
9 Zdroje.....	34

..

1 Úvod

Arsen patří mezi rizikové prvky a jeho toxicita je známa po staletí. Kontaminace životního prostředí arsenem, ať už ve větší či menší míře, je celosvětovým problémem, který je v nejvíce zasažených oblastech i jedním z klíčových problémů pro WHO (World Health Organization – Světová zdravotnická organizace). Jednou z nejpostiženějších oblastí je část Indie a Bangladéš, kde je kvůli geologickému podloží kontaminována pitná voda a miliony lidí nemají přístup k čisté vodě. V menším rozsahu, co do plochy kontaminované arsenem (ve srovnání s problémem v Bangladéši), jsou dotčeny oblasti spojené s těžbou uhlí, metalurgickým průmyslem a zpracováním rud. Mnoho výzkumů se v současné době zabývá tzv. hyperakumulátory, což jsou rostliny, které jsou schopny ve své biomase akumulovat rizikové prvky deponované v půdě. Z půdy akumulovaný arsen (nejčastěji ve formě arsenitanů nebo arseničnanů) rostliny dokáží transformovat na organické methylované formy, které jsou méně toxické. Porozumění mechanismu, kterým rostliny dokáží metabolizovat arsen, je zásadní pro rozvoj opatření vedoucích ke zmírnění či zabránění problému kontaminace potravinového řetězce.

2 Základní vlastnosti arsenu

2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti

Arsen je toxický polokov, příslušící V. A skupině a 4. periodě a jeho atomová konfigurace je $[\text{Ar}] 3d^1 4s^2 4p^3$, atomové číslo je 33, molární hmotnost je 74,92 g/mol a sublimuje při 887 °C (Housecroft, Sharpe, 2014). Ve sloučeninách se vyskytuje v oxidačním čísle -III, III, V. Elementární arsen má čtyři alotropické modifikace: polokovový šedý α -As, amorfní černý nebo hnědý β -As a krystalický (orthorombický) žlutý měkký γ -As. Arsen je široce zastoupen v životním prostředí, jedná se o 20. nejrozšířenější prvek v zemské kůře (Eisler, 2007). Jeho koncentrace nejsou příliš vysoké, v zemské kůře je jeho obsah 2–5 mg/kg, vyvěřelé horniny obsahují arsenu zhruba 1,5 mg/kg, sedimentární horniny až 13 mg/kg. Důležitým faktorem je nejen celková koncentrace arsenu, ale i dostupná koncentrace arsenu. Zatímco v některých oblastech může být celková koncentrace arsenu vysoká, ale jedná se o arsen pevně vázaný jako součást minerálů, tudíž se nedostává do roztoku a nekontaminuje půdu, vodu a rostliny, jinde může být celková koncentrace arsenu v půdě výrazně nižší, ale plně dostupná v roztoku, což je pro životní prostředí mnohem větší problém.

Arsen velmi dobře tvoří sloučeniny se sírou a je součástí mnoha sulfidických minerálů, dále je pro něj typická výrazná vazba na železo (Koplík et al., 1997). Mezi typické minerály obsahující arsen patří realgar As_4S_4 , arsenopyrit FeAsS , löllingit FeAs_2 . V horninách doprovází například rudy niklu, kobaltu, antimonu, stříbra, zlata a železa, dále je také obsažen v uhelných ložiscích. Proto je častý vyšší obsah arsenu v životním prostředí poblíž hutí a metalurgických dolů. Arsen se získává jako vedlejší produkt při zpracování rud, oxid arsenitý, který vzniká při metalurgickém zpracování rud je zachycován na elektrofiltrech a je základem výroby prakticky všech arsenových preparátů (Bencko et al. 1995).

Arsen se používá k dopování polovodičů. Jako polovodič se používá i arsenid gallitý GaAs, jehož struktura odpovídá strukturnímu typu sfaleritu. Jeho nevýhodou je, že na vlhkém vzduchu pomalu hydrolyzuje, proto je důležité zajistit ochranu před atmosférickými vlivy. K tomu se používá např. ochranný plyn N_2 . Výhodou GaAs je ovšem vysoká elektronová vodivost ($8\,500\text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$, zatímco elektronová vodivost křemíku je jen $1\,500\text{ cm}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$) a výborné optické vlastnosti. Nicméně je výrazně dražší než Si, je křehčí a má nižší tepelnou vodivost, což může způsobit přehřívání součástek. Hojně je i využití arsenu ve slitinách, například ve slitinách s olovem zvyšuje pevnost olova. Dále se arsen používá v bateriích

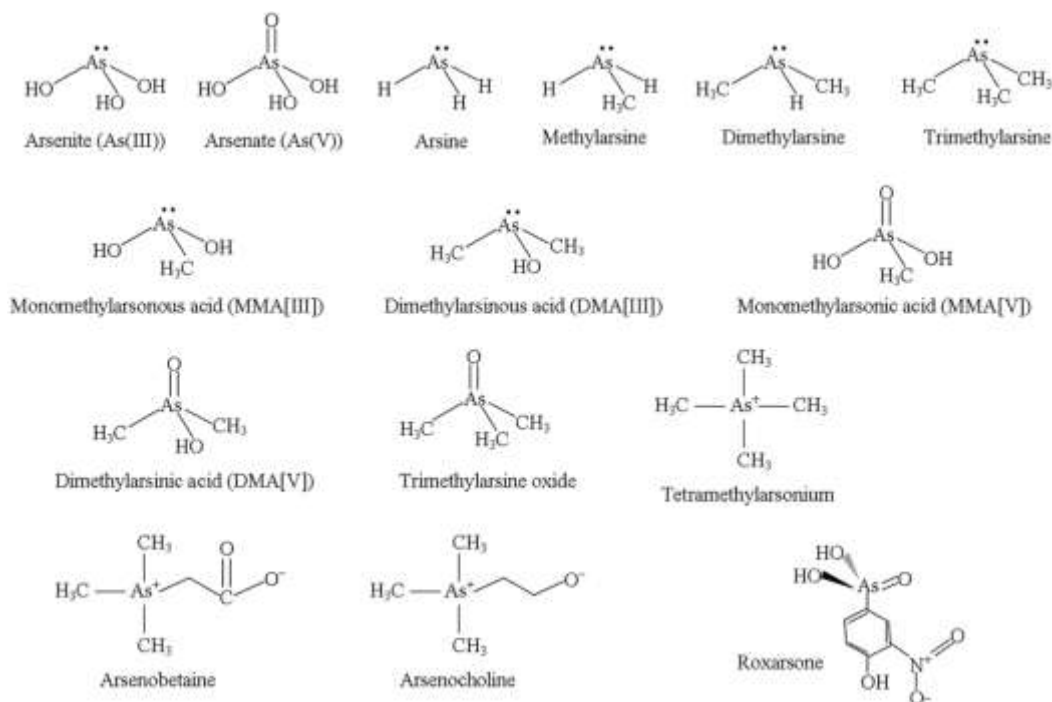
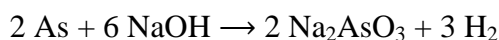
(Housecroft, Sharpe 2014). Ve slitinách se používá kovový elementární arsen, přidává se např. do olova při výrobě broků pro zvýšení povrchového napětí slitiny k dosažení kulového tvaru. Dále zvyšuje odolnost mědi vůči korozi, zlepšuje její mechanické vlastnosti a zvyšuje bod tuhnutí. Krystaly arsenidu gallia se používají jako kvantové generátory světelného záření v laserech (Bencko et al., 2008).

Hlavním zdrojem získávání arsenu je zahřívání arsenopyritu FeAsS, zahřívání probíhá bez přístupu vzduchu a arsen kondenzuje jako sublimát.



Další metoda spočívá v oxidaci sulfidických rud arsenu a pomocí vzduchu za vzniku As₂O₃, který je následně redukován uhlíkem (Housecroft, Sharpe 2014).

Volný arsen nereaguje s neoxidujícími kyselinami, ale reaguje s koncentrovanou HNO₃ za vzniku H₃AsO₄ (hydratovaného As₂O₅). S koncentrovanou H₂SO₄ vzniká As₄O₆. Na rozdíl od antimonu a bismutu, které mají podobné vlastnosti a nereagují s vodnými roztoky alkalických hydroxidů, arsen reaguje s roztaveným NaOH za vzniku arsenitanu sodného.



Obr.1: Strukturní vzorce některých sloučenin arsenu, zleva: kyselina trihydrogenarsenitá, kyselina trihydrogenarseničná, arsan, monomethylarsan, dimethylarsan, trimethylarsan;

2. řada zleva: kyselina monomethylarsenitá, kyselina dimethylarsenitá, kyselina monomethylarseničnaná; 3. řada zleva: kyselina dimethylarseničnaná, oxid trimethylarseničný, tetramethylarsoniový kation; 4. řada zleva: arsenobetain, arsenocholin, roxarson (Henke, 2009).

3 Historie používání arsenu

Název arsen pochází z řeckého slova „arsenikon“, což znamená *mocný, silný, účinný* (Bencko et al., 1995). Jako první arsen popsal mnich Albert Veliký (1193–1280), redukcí oxidu arsenitého sazemí se mu podařilo připravit elementární arsen. Nicméně arsen a jeho toxické účinky byly známy již o mnoho dříve. Přesný rok dnes nezjistíme, ale jelikož je arsen součástí mnoha rud, byl objeven již ve starověku hutníky, kteří zkoumali vlastnosti látek, které vznikaly při zpracování, nebo doprovázely zpracování rudy. Jelikož je oxid arsenitý bílý prášek bez chuti a zápachu, a navíc se velmi dobře rozpouští jak v alkoholu, tak ve vodě, stal se z něj na několik staletí velmi oblíbený jed. První doloženou obětí otravy arsenem byl ve starém Římě Britannicus, syn císaře Claudia. Právě smrt Britannica, který měl po otcově smrti nastoupit na trůn, uvolnila cestu nevlastnímu bratru Luciovi, který nastoupil na trůn jako císař Nero. Mezi známé historické osobnosti, které používaly oxid arsenitý k otravám, patří Kateřina Medicejská, Rodrigo Borgia neboli papež Alexandr VI. a jeho syn Césare Borgia, rovněž jejich současník, politický a náboženský reformátor Girolamo Savonarola, Alžběta Báthory, markýza de Montespan, která byla milenkou francouzského krále Ludvíka XIV. (Klusoň, 2015). Otrava arsenem rovněž patří mezi oblíbená témata v literatuře, setkáváme se s ní např. v *Maryše bratří Mrštíků* nebo v *Paní Bovaryové* Gustava Flauberta.

Arsen byl ale také používán jako lék. A to již ve starověkém Řecku, zmínku o něm najdeme třeba u Galéna nebo Hippokrata, který jej doporučoval k léčbě vředů již před více než dvěma a půl tisíci lety. Sulfidy arsenu doporučovali jako účinné léky ve formě mastí i Aristoteles, Plinius starší nebo Paracelsus, který popsal i klinický obraz otravy arsenem a její léčbu (Bencko et al., 1995). Sloučeniny arsenu byly později dostupné v podobě roztoku, prášku, tablet i v injekční formě. V 19. století byl široce používán Fowlerův roztok, což je 1% nebo 2% roztok dihydrogenarseničnanu draselného KH_2AsO_3 (Ratnaik, 2003). Poprvé byl připraven v roce 1786 jako přípravek proti bolestem hlavy, horečce a

zimnici. Navrhl jej stanfordský lékař Thomas Fowler a do londýnského lékopisu byl zapsán v roce 1806 (Klusoň, 2015). Fowlerův roztok byl široce používán k léčbě nejrůznějších nemocí, jako je leukémie, kožní onemocnění (lupénka, ekzém, dermatitida), na léčbu syfilis, dále proti padání vlasů. Při dlouhodobém užívání docházelo k chronické otravě a mezi vedlejší účinky Fowlerova roztoku patří cirhóza jater, selhání ledvin, ischemie, poškození nervové soustavy a má také karcinogenní účinky. Během 2. světové války byl arsen používán k léčbě syfilis (Ratnaike, 2003).

Jak již bylo zmíněno, v průběhu staletí byl oxid arsenitý neboli arsenik často využíván k otravám a svého času šlo o nejhojněji používaný jed. Velkým objevem byla analytická zkouška, která umožnila dokázat přítomnost arsenu. O to se v polovině devatenáctého století zasloužil chemik James Marsh. Tímto testem bylo možno prokázat přítomnost arsenu ve tkáních, jednalo se průlom na poli forenzní vědy (Oremland, 2003). Marshova zkouška je založená na vysoce redukční schopnosti vodíku ve stavu zrodu (neboli nascentního vodíku), který vzniká při reakci kyseliny sírové se zinkem. Při experimentu je do baňky se směsí zinku s kyselinou sírovou přikapáván vzorek, který je testován na přítomnost arsenu. Vodík přítomné arseničnany či arsenitany redukuje na plynný arsan AsH_3 , který je jímán z baňky přes filtr s chloridem olovnatým $PbCl_2$, kde dochází k selektivnímu zachycení sulfanu a vzniká černá sraženina sulfidu olovnatého PbS . Konec trubice, která vyvádí arsan z baňky, je zahříván nad kahanem, čímž dochází k termickému rozkladu a vzniku vodíku a elementárního arsenu, který kondenzuje na stěnách trubice a vytváří kovové zrcátko (The Columbia Electronic Encyclopedia, 2012).

V dnešní době se arsen stanovuje spektrofotometricky. Při stanovení veškerého arsenu ve vodě se používá metoda s diethyldithi-okarbaminanem stříbrným. Tato metoda je založena na redukci sloučenin arsenu tetrahydridoboritanem na arsan, který je veden do absorberu obsahujícího roztok diethyldithio-karbaminanu a morfolinu v trichlormethanu. Vzniká roztok červené barvy, které se fotometruje. Arsen lze touto metodou stanovit v koncentračním rozmezí od 0,001 mg/l do 0,1 mg/l, pro vyšší koncentrace arsenu je potřeba vhodné zředění. Tato metoda je vhodná pro stanovení arsenu jak v přírodních vodách, tak i ve vodách odpadních.

Při stanovení arsenu v půdě se používá rovněž spektroskopická metoda, a sice rentgenová fluorescence. Touto metodou je možné stanovit koncentrace většiny prvků a v závislosti na tom, o jaký prvek se jedná, je možné stanovit koncentraci 0,001% - 100%. Pro stanovení koncentrace arseničnanů, arseničnanů, MMA (kyselina monomethylarseničná), DMA

(kyselina dimethylarseničná), arsenocholinu a arsenobetainu se používá ICP-MS-hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Detekční limity pro stanovení arsenu jsou 0,4 - 0,8 mg/l (Integrovaný registr znečišťování, n.d.). V lidském těle lze arsen stanovit třemi metodami, a to již zmíněnou atomovou absorpční spektrometrií, neutronovou aktivační analýzou a RTG fluorescenční analýzou. Neutronovou a fluorescenční analýzou lze sledovat odlišné koncentrace arsenu podél délky vlasu (Klusoň, 2015).

4 Zdroje kontaminace

Zdroje kontaminace životního prostředí arsenem v zásadě můžeme rozdělit na dvě skupiny, a sice na přírodní a antropogenní.

4.1 Přírodní zdroje

Mezi přirozené cesty patří zvětrávání, vulkanická činnost, biologická aktivita. Právě zvětrávání hornin obsahujících arsen je příčinou jednoho z největších kontaminačních problémů na světě, a to arsenu v podzemních vodách Bangladéše. Při vzniku Himálaje, došlo k velmi rychlému zdvihu horniny do 3–4 km a uvolnění velkého množství zvětralin, které byly při monzunových povodních transportovány Gangou až do její delty, kde se dnes nachází Bangladéš. Jádro Himálaje je tvořeno migmatity a granitoidy a při jejich zvětrávání je uvolňován pyrit a arsenopyrit. Z arsenopyritu arsen sice snadno zvětrává, ale vzápětí je adsorbován hydroxidy manganu a železa.

Arsen je tak dlouhodobě vázán a spolu s dalšími sedimenty hluboko uložen. Tyto hluboko uložené sedimenty, které mají vysoký obsah organické hmoty, se octnou v redukčních podmínkách a bakterie, které jsou částečně litotrofní, nemohou využívat kyslík z podzemních vod. Místo toho spotřebovávají při oxidaci organických látek kyslík z hydroxidů železa a v důsledku toho dochází k redukci Fe^{+III} na Fe^{+II} . To způsobuje částečné rozpouštění železa a uvolňování adsorbovaného arsenu.

Pohyb arsenu v jílových sedimentech je velmi pomalý a za normálních podmínek by životní prostředí příliš neohrozil. Bohužel se delta Gangy nachází v Bangladéši, což je jedna z nejlidnatějších zemí na světě a dlouhodobě je zde problém s nedostatkem pitné vody. Voda, která by nebyla kontaminována, se nachází až v pobřežních vodách. Povrchové vody jsou vysoce kontaminovány bakteriemi, a proto bylo vytvořeno tisíce vrtů

k získání podzemních vod. Toto opatření sice snížilo výskyt parazitárních onemocnění, ale protože jsou spodní vody vysoce kontaminovány arsenem, dochází k chronické otravě arsenem. Limitní obsah arsenu v pitné vodě stanovený WHO je 0,01 mg/l, analyzované vzorky v deltě Gangy obsahovaly více než 0,05 mg/l (Cílek, 1998). Kontaminovaná voda s sebou nese nejen zdravotní problémy, je-li používána jako pitná, ale také při použití kontaminované vody jako závlahy rostlin negativně ovlivňuje i další články potravního řetězce.

Obsah toxických prvků v sedimentech vodních toků a nádrží odráží celkovou kontaminaci dané lokality lépe než okamžitá koncentrace těchto prvků ve vodě, proto je rozbor právě těchto vzorků častým analytickým úkolem (Koplík et al., 1997). V přírodních vodách se setkáváme s arsenem v oxidačním čísle +III a +V, tyto ionty jsou ve vodě dobře rozpustné v širokém rozpětí pH i redox potenciálu. V oxidujícím prostředí jsou specíe As^{+V} převládající a také jsou stabilnější než As^{+III} , zatímco v redukčním prostředí převládá As^{+III} (Duker et al., 2004). Adsorpce arseničnanu v půdě klesá s rostoucím pH, na rozdíl od arsenitanu, kde adsorpce roste s rostoucím pH (Adriano, 2001). V anaerobních podmínkách může být půdními mikroorganismy arsenitan redukován až na arsan, což je nejtoxičtější forma arsenu. Arsen může být i součástí organických sloučenin, ale obvykle nejsou toxické (Duker et al., 2004). Ve vodách převažuje As^{+V} jako $HAsO_4^{2-}$. Pětimocný arsen se může snadno srážet jako arseničnan železitý, chromitý nebo barnatý. As^{+III} ve formě arsenitanu se vyskytuje ve vodách zejména v blízkosti hladiny. Ve větších hloubkách jezer nebo moří může za anaerobních podmínek vznikat málo rozpustný As_2S_3 . Metabolickou činností vodních organismů vznikají z anorganických sloučenin metylované formy, jako je dimethylarsinová kyselina $(CH_3)_2AsO(OH)$ neboli DMA^{+V} a monomethylarsonová kyselina $(CH_3)AsO(OH)$ neboli MMA^{+III} (Koplík et al., 1997).

MMA i DMA jsou produkty interbuněčné metylace. Její účinnost je závislá na druhu rostliny, zatímco u některých rostlin může tvořit MMA nebo DMA méně, než 1 % celkového obsahu arsenu, u jiných může být metylováno na DMA až 90 % veškerého přijatého arsenu. Lokalizace a enzymatická dráha metylace v rostlině zatím není příliš objasněna (Lešková et al., 2012). Arsenové sloučeniny mohou být rovněž metylovány prostřednictvím mikroorganismů, jako jsou bakterie, houby a řasy (Naidu et al., 2006).

4.2 Antropogenní zdroje

Arsen se do životního prostředí dostává rovněž v důsledku lidské činnosti. Mezi hlavní odvětví kontaminující životní prostředí arsenem patří zejména průmysl a zemědělství.

Význam arsenu ve společnosti se neustále mění. Zatímco v některých oblastech jeho použití prudce pokleslo (např. pesticidy nebo použití arsenu pro ochranné nátěry dřeva, v jiných odvětvích nadále zůstává (např. polovodiče, pigmenty) a potenciál jeho využití (medicína, veterinární lékařství, chemické zbraně) je předmětem nejrůznějších výzkumů. (Lešková et al., 2012)

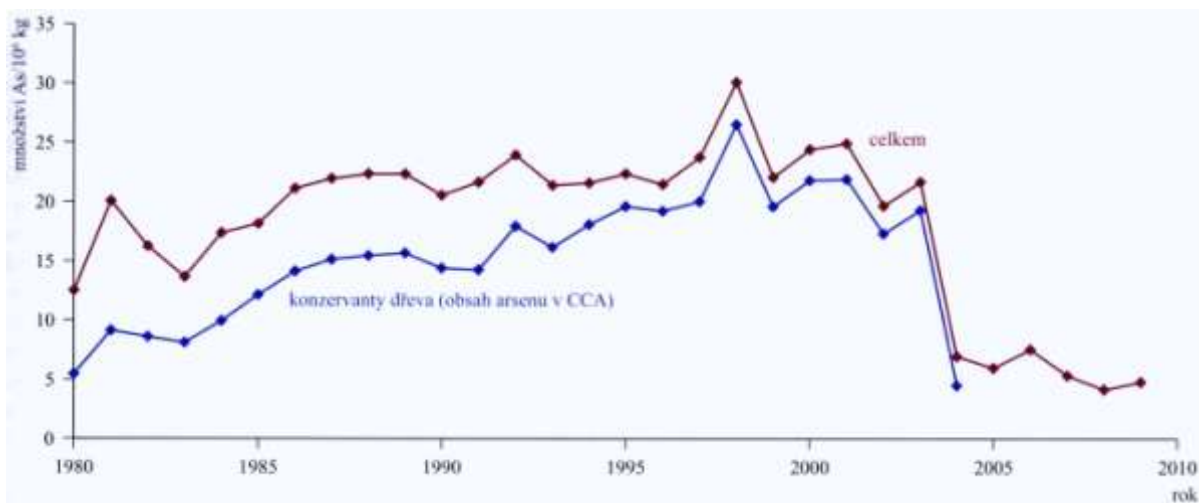
4.2.1 Průmyslové zdroje

Mezi průmyslové zdroje znečištění patří zejména důlní činnost a zpracování těžkých kovů (výsypky a odkaliště, dále při transportu rudy, tavení a povrchových úpravách kovů). Nicméně emise rizikových prvků je různá v závislosti na typu důlní činnosti. Například těžba uhlí je velkým zdrojem arsenu, železa, kadmia a dalších prvků, které kontaminují půdu v okolí uhelné pánve (Lacerda 1997 in Nagajyoti, 2010). Metalurgické procesy, které probíhají za vysokých teplot, jako tavení nebo odlévání, způsobují emisi kovových částic ve formě páry. Pára obsahující prvky, jako jsou arsen, kadmium, měď, olovo, selen a zinek, v kombinaci s vodou v atmosféře následně vytváří aerosol, který je rozptýlen buď větrem (suchá depozice) nebo dešťovými srážkami (mokrý depozice), což způsobuje kontaminaci půdy a vod. Dále ke kontaminaci půdy může dojít odtokem z eroze důlních odpadů, z prachu vzniklého při přepravě surových rud, při korodování kovů a vyluhování těžkých kovů do půdy a podzemních vod (Nagajyoti, 2010).

4.2.2 Zemědělství

Ačkoliv byla toxicita arsenu dobře známá, jeho sloučeniny byly v zemědělství jako pesticidy používány až do druhé poloviny dvacátého století, kdy byly nahrazeny efektivnějšími organickými sloučeninami. Nicméně i když se od použití ustupovalo, v letech 1980–2000 došlo k nárůstu v důsledku používání chromem dopovaného arseničnanu měďnatého (chromated copper arsenate, CCA). CCA se používalo k moření dřeva, které bylo určené ke stavebním účelům, protože díky namoření bylo odolné vůči napadení hmyzem a larvami. 1 m³ takto ošetřeného dřeva obsahuje 0,8 kg arsenu, což není zanedbatelné množství a vzhledem k celkovému množství dřeva použitého ve stavebnictví a v zahradnictví se jedná o velké riziko pro životní prostředí. Pokud se dřevo spálí, popel z

něj obsahuje vysoké koncentrace arsenu, a, jak již bylo zmíněno, srážkami nebo větrem dochází k roznosu a kontaminaci vod a půdy. Nebezpečné je i hnití dřeva, kdy rovněž dochází k uvolnění arsenu do půdy. Navíc obsažený chrom a měď jsou rovněž toxickými prvky. V roce 2002 byl objeven nový přípravek ke konzervaci dřeva, který je šetrnější k životnímu prostředí. Jedná se o měďnatý komplex a kvartérní amoniou sůl. Jeho zavedení na trh proběhlo v roce 2003. Na níže uvedeném grafu, je znázorněno celkové množství arsenu a množství arsenu používaného v CCA. Po přechodu k šetrnějšímu konzervantu dramaticky pokleslo celkové množství arsenu používaného ve všech průmyslových a zemědělských odvětvích, z čehož je na grafu vidět, že při výrobě v minulých letech většina arsenu byla používána právě k výrobě CCA (Housecroft, Sharpe 2014).



Obr.2: Množství arsenu použitého v USA v tisících tun celkové množství arsenu zahrnuje použití v konzervantech dřeva, zemědělských chemikáliích, skle, neželezných slitinách a elektronice (US Geological Survey in Housecroft, Sharpe 2014)

4.3 ČR

Zvýšený obsah arsenu v půdě doprovází těžbu uhlí a metalurgii. Arsen je chalkofilní prvek a je pro něj typická výrazná vazba na železo, v uhlí se často vyskytuje jako příměs v sulfidech železa. Arsen je často součástí sirných sloučenin, nejrozšířenější je u nás arzenopyrit FeAsS , dále pak auripigment As_2S_3 , realgar As_4S_4 . Oblasti se zvýšeným obsahem arsenu v ČR najdeme v okolí Kutné Hory a v severočeské hnědouhelné pánvi. V severočeské hnědouhelné pánvi se nachází realgar a auripigment a v celé oblasti Krušných hor se vyskytují sulfidy arsenu a arseničnany. Hnědé uhlí v severních Čechách je bohaté na

pyrit FeS_2 , při jehož spalování dochází k rozkladu a uvolňuje se oxid siřičitý SO_2 , který se pak v atmosféře dále oxiduje na oxid sírový SO_3 .

Pyrit i další železné rudy mají charakteristické minerály, které je doprovázejí. Mezi doprovodné minerály pyritu patří i arsenopyrit FeAsS a löllingit FeAs_2 . Obsah arsenu sice není procentuálně příliš vysoký, přesto se při spalování uhlí uvolňuje do prostředí oxid arsenitý As_2O_3 , který vzniká právě z löllingitu a arsenopyritu, a to již při poměrně nízké teplotě. Technologie je založená na rozprašování mletého vápence do proudu horkých spalin (Horák et al., 2007). Dochází k reakci s oxidem siřičitým a oxidem sírovým a vzniká sádrovec ($\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Oxid arsenitý se spolu se sádrovcem přenáší do navazující výroby sádrokartonových desek a dalšího stavebního materiálu, kde je deponován. Vzhledem k velkému množství odpadu vznikajícího při zpracování hnědého uhlí není toto množství arsenu zanedbatelné a představuje riziko pro životní prostředí i lidské zdraví (Koplík et al., 1997). Pro stanovení stopových prvků, mezi které patří i arsen, je důležité určit jejich zdroj, což vždy není jednoduché. Podle Boušky (1980) a Šefrny (1994) je několik významných zdrojů kontaminace. Prvním z nich je přenos toxických látek, které vznikají při spalování uhlí, z atmosféry do pedosféry. Tato cesta kontaminuje pouze povrch terénu a není tolik významná. Mnohem více kontaminované produkty vznikají při vyluhování odpadů, které vznikly při spalování uhlí. Ačkoliv je v těchto produktech vyšší koncentrace rizikových prvků, co do plochy se jedná o poměrně malá území skládky a jejího bezprostředního okolí. Významným zdrojem v půdě je přítomnost uhelné hmoty a na ní vázaných minerálů (např. sulfidy železa). Kontaminace prostřednictvím splachů metamorfovaných hornin nebyla dosud jednoznačně prokázána.

V letech 1995–2004 probíhal rozsáhlý geologický výzkum, kdy bylo z vrtných jader odebráno cca 600 vzorků horniny. Vzorky byly odebrány v různých lokalitách: těžební lokality (Doly Bílina, Doly Nástup Tušimice, Velkolom Československé armády, Lom Vršany) a dále na výsypkách Radovesice, což je nejrozsáhlejší výsypka v ČR a byla rekultivována slínem, dále výsypka Střimice, na kterou byl aplikován bentonit a výsypky Růžodol, Václav, Fučík, Jirásek a Březno, na které byla použita přímá biologická rekultivace. Jako srovnávací lokalita byla použita zemědělská půda z oblasti Koštice.

Odebrané vzorky uhlí byly mineralizovány v mikrovlnné peci roztokem kyseliny dusičné, chloristé a fluorovodíkové v poměru 4:1:1. Vzorky hornin byly rozpuštěny v lučavce královské. Mineralizace je proces používaný v analytické chemii, kdy se organické sloučeniny rozkládají např. kyselinou nebo spálením a následně lze stanovit anorganické látky obsažené v organickém vzorku. Následně byly stopové vzorky stanovené metodou

atomové absorpční spektrometrie (Šafářová, Řehoř, 2006). Podle Soudka (2006) se arsen v půdě přirozeně vyskytuje v koncentraci 0,009 - 1,5 mg/kg a nad 1,5 mg/kg je půda považována za kontaminovanou arsenem. Adriano (2001) považuje půdu za kontaminovanou již při koncentraci arsenu nad 1 mg/kg. Ve vzorcích hnědého uhlí byl průměrný obsah arsenu 14,6 mg/kg, minimum bylo 0,1 mg/kg a maximum 1290 mg/kg.

Lokalita	Obsah As mg/kg
Střimice	3,64
Růžodol	4,77
Václav	4,11
Fučík	3,92
Radovesice	2,75
Jirásek	3,25
Březno	3,14
Koštice	5,83

Tab.1: Průměrný obsah arsenu ve skrývkových horninách (Šafářová, Řehoř, 2006).

Jak již bylo zmíněno, dalšími oblastmi se zvýšeným obsahem arsenu jsou lokality, kde docházelo k těžbě kovů. V ČR je další oblastí s velkou kontaminací arsenu Kutná Hora a její okolí v důsledku těžby stříbra. Hlavním zdrojem kontaminace je arsenopyrit a další sekundární minerály. Dále je na arsen bohatá oblast Mokrsko na Příbramsku, kde se nachází velké zásoby zlata (800-1000 tun), v rudě je obsaženo až 1 % arsenu, který je součástí arsenopyritu (Száková et al, 2007). V Kutné Hoře probíhala těžba stříbra již od středověku a na dole Kaňk byla ukončena až v roce 1991. Právě okolí Kaňku je spojeno s velkou kontaminací arsenem, a to právě díky minerálu kaňkitu, který je pojmenován podle svého výskytu v okolí dolu Kaňk. Jeho vzorec je $\text{FeAsO}_4 \cdot 3,5 \text{H}_2\text{O}$. Kaňkit se nacházel v haldách, které byly tvořeny důlními odpady a různými odpady z rud, a následnou manipulací s těmito kontaminovanými haldami, zarovnáním půd a podobně. Navíc však vytvořením stavebních pozemků atd. došlo k rozšíření i na místa, která buď kontaminována nebyla vůbec, anebo jen v nízké koncentraci. (Drahota, Filippi 2009)



Obr. 3: Kaňkit, (www.sberatemineralu.cz, n.d.)

Minerál	Koncentrace As (mg/kg)
<i>Sulfidické minerály</i>	
Pyrit	100-77 000
Pyrrhotit	5-100
Sfalerit	5-17 000
Chalkopyrit	10-5 000
Galenit	5-10 000
Markazit	20-126 000
<i>Oxidy</i>	
Hematit	až 160
Fe oxidy	až 2000
Fe (III) oxyhydroxidy	až 76 000
Magnetit	2,7-41
<i>Silikáty (křemičitany)</i>	
Křemen	0,4-1,3
Amfibol	1,2-2,3
Olivín	0,08-0,17
Pyroxen	0,05-0,8
<i>Karbonáty (uhličitany)</i>	
Kalcit	1-8

Dolomit	<3
Siderit	<3
<i>Sulfáty (sírany)</i>	
Jarosit	34-1000
<i>Ostatní</i>	
Apatit	<1-1000
Halit	<3-30
Fluorit	<2

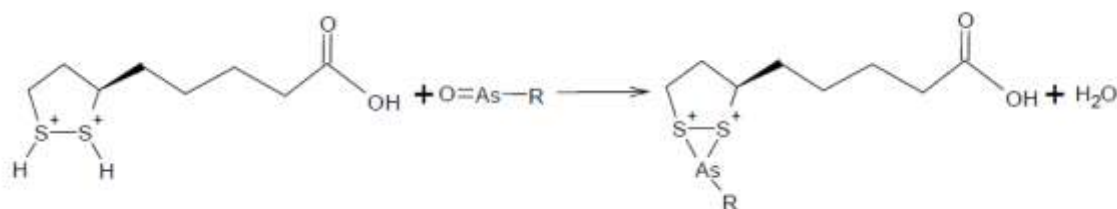
Tab. 2: Koncentrace arsenu v horninotvorných minerálech (Smedley, Kinniburgh 2002)

5 Toxicita

Arsen patří mezi vysoce toxické látky, v lidském organismu způsobuje inaktivaci více než 200 enzymů, zejména těch, které ovlivňují buněčnou energii, replikaci, opravy DNA a substituci v ATP (Ratnaïke, 2003). Smrtelná dávka pro člověka je již okolo 130 mg. Elementární arsen, tedy As^0 , je málo toxický, při jeho požití téměř nedochází k absorbování a je z lidského těla ve velké míře vyloučen (Duker et al., 2004). Nicméně elementární arsen velmi snadno oxiduje na As^{III} nebo As^V , trojmocný arsen je extrémně toxický, pětimocná forma je rovněž toxická, i když nedosahuje toxicity arsenu trojmocného. Nejjedovatější formou arsenu je arsan AsH_3 , kde se arsen vyskytuje v oxidačním čísle -III (Hughes, 2002). Arsen v oxidačním čísle +III je asi šedesátkrát toxičtější než arsen v oxidačním čísle +V (Ratnaïke 2003).

Různá toxicita arsenu v oxidačním čísle +III a +V je způsobena odlišným mechanismem navázání ve sloučenině. Sloučeniny obsahující oxid arsenitý mají vysokou afinitu k síře, respektive k thiolové skupině -SH. Thiolová skupina je součástí asi 200 enzymů a biokatalyzátorů v lidském těle. V těchto sloučeninách dochází k selektivnímu navázání arsenu na síru a enzym pak nadále není schopen plnit svou funkci. Výrazný vliv má tato změna zejména na enzymatický pyruvátdehydrogenázový komplex (PDH), na jehož správném fungování je závislá glykolýza. Velmi důležitým kofaktorem je kyselina

α -lipoová, jejíž dvě thiolové skupiny snadno interagují s arsenem, což způsobuje inhibici PDH komplexu. To následně vede k rozvratu v hospodaření buněk s energií a dochází k zániku buněk. Kofaktory jsou sloučeniny, které spolu s bílkovinou tvoří konečnou strukturu enzymu a bez kofaktoru enzym nevykazuje žádnou aktivitu (Klusoň, 2015).



Obr. 4: Reakce kofaktoru kyseliny α -lipoové s metabolitem $R-As=O$ (R je alkyl). Interakcí thiolových skupin s As^{+III} způsobuje inhibici funkce PDH komplexu (Klusoň, 2015).

U pětimocného arsenu je mechanismus odlišný. Zde dochází k vytěsnění pětimocného fosforu a nahrazení arsenem. To způsobuje mimo jiné rychlou hydrolyzu vazeb v ATP, který je zásadní pro ukládání a uvolňování energie v organismu. Arsen byl po staletí používán jako jed, a právě díky vysoké afinitě k síře se dá otrava arsenem poměrně dobře diagnostikovat. Jednou ze stavebních bílkovin organismů je keratin, který obsahuje disulfidické můstky, na které se pevně vážou atomy arsenu. V důsledku toho je možné diagnostikovat arsen ve vlasech a nehtech. Rentgenovou fluorescenční analýzou lze potom určit období, kdy došlo k otravě, a množství podaného arsenu (Klusoň, 2015).

5.1 Akutní otrava

Otravy arsenem nejsou vzácné, v historii byl arsen velmi často používán k otravám, v současné době k nim dochází spíše nedopatřením v důsledku pozření pesticidu. V roce 1955 bylo v USA požití pesticidu příčinou 900 úmrtí a většina pesticidů byly arsenové preparáty. Toxicky začíná arsen působit v dávkách 30-50 mg, nejnižší letální dávka pro člověka se uvádí 60-80 mg a průměrné letální dávky pro člověka se pohybují okolo 200-300 mg (Bencko et al., 1995). Nicméně jsou známy i případy, kdy člověk přežil mnohem větší dávky, konkrétně 54 g oxidu arsenitého, což je více než dvěstě násobek smrtelné dávky (Duenas-Laita, 2005). Příznaky otravy se začínají nejprve projevovat v gastrointestinálním traktu jako nevolnost, zvracení, břišní kolika, silný průjem. Ten má za důsledek zvýšení propustnosti cév. Dalšími příznaky mohou být akutní psychóza, vyrážka,

kardiomyopatie a záchvaty. K selhání ledvin dochází čtyři až osm hodin po otravě. V dýchacím systému dochází k plicnímu edému a selhání dýchání (Ratnaïke, 2003).

5.2 Chronická otrava

Arsen je karcinogenní látka, studie dokazují, že expozice anorganickým formám arsenu zvyšuje riziko rakoviny kůže, plic, jater, lymfatického systému a poruchy krvetvorby (Eisler, 2007) a dále výrazně snižuje metabolickou spotřebu kyslíku (Bencko et al., 1995). Při dlouhodobém vystavení působení arsenu klinické příznaky postihují všechny orgánové systémy. Absorbovaný arsen je akumulován v ledvinách, játrech, srdci a plicích, menší množství může být obsaženo i ve svalech, nervovém systému, gastrointestinálním traktu a ve slezině (Ratnaïke, 2003).

Riziko rakoviny je vysoké zejména u osob, které byly dlouhodobě vystaveny arsenu, tedy u horníků v dolech, kde jsou rudy doprovázeny výskytem arsenu, nebo při používání pesticidů obsahujících arsen, a to již pokud je koncentrace arsenu v ovzduší vyšší než 54,6 $\mu\text{g As/m}^3$. Arsen jakožto teratogen může způsobit i různá postižení a defekty již v prenatálním období (Eisler, 2007). Jak již bylo uvedeno, sulfidickými můstky se arsen snadno váže na keratin, a proto se ukládá v místech bohatých na keratin, tedy ve vlasech, nehtech a v pokožce. Dále jsou typické tzv. Mee's lines, což jsou bílé pruhované linie na nehtech rukou i nohou. Mezi typické kožní onemocnění patří keratóza. Solar keratosis neboli aktinická keratóza je typická šupinami a tmavými skvrnami na kůži a je to předstupeň rakoviny kůže.

V některých oblastech Indie je až 60 % dětí ve věku od čtyř do deseti let postiženo arsenovou melanózou kvůli arsenu obsaženému v pitné vodě. Omezení konzumace kontaminované vody by samozřejmě výrazně snížilo mortalitu zaviněnou rakovinou jater, plic, ledvin a kůže, a to zejména v oblastech, kde je „blackfood disease” endemickým onemocněním (Eisler, 2007). Jako „black food disease” označujeme dermatologické změny, kdy na dlaních a ploskách nohou dochází ke změně pigmentace. Nicméně v těchto oblastech není zajištění čisté vody jednoduchým úkolem, právě kvůli již zmíněnému geologickému podloží.

Chronickou otravu arsenem lze rozdělit do tří stádií:

- Počáteční stádium: dermatitida, keratóza, bronchitida, gastroenteritida, zánět spojivek
- Druhé stádium: periferní neuropatie, hepatopatie, melanóza, depigmentace a hyperkeratóza
- Poslední stádium: gangréna končetin, maligní bujení (Adriano, 2001)

5.3 Tolerance arsenu

Tolerance arsenu

Pro velikost dávky a délku latence, která je pro otravu arsenem charakteristická, jsou značné individuální rozdíly. Od expozice do projevení se prvních klinických známek otravy často uplyne několik měsíců až let. Udává se, že k vyvolání chronické otravy arsenem stačí trvalý přísun 10 mg arsenu denně, nicméně u některých osob bylo zaznamenáno, že ani po třech 20 mg dávkách denně k projevům chronické otravy nedošlo (Bencko et al., 1995).



Obr. 5: Mee's lines, (Stanford Medicine, n.d.)

Mezi nejzávažnější následky dlouhodobého vystavení působení arsenu ovšem patří maligní změny, které mohou postihnout všechny orgány. Dále se zvyšuje riziko diabetes mellitus a onemocnění postihující kardiovaskulární, cévní a dýchací systém.



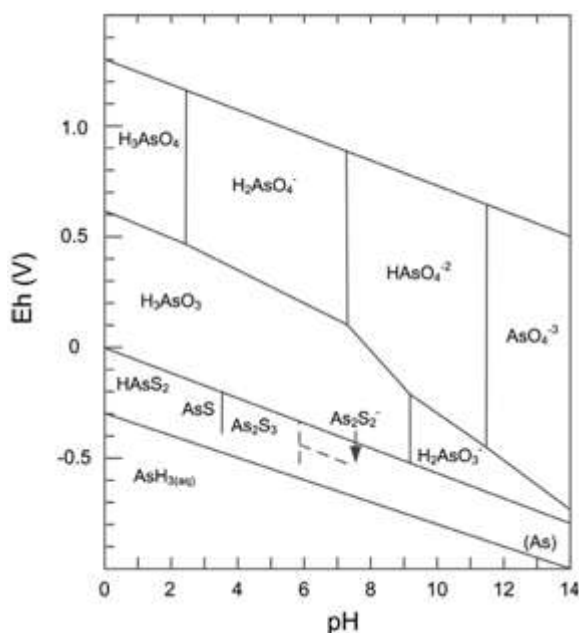
Obr 6.: a) non-pitting edém (typ edému, který nelze vytlačit prstem), b), c), d) melanóza, e), f), g) keratóza, h) pacient s rozsáhlou keratózou, který zemřel na rakovinu plic (Chakraborti, 2017)



Obr. 7: Blackfoot disease, (Institute of Hazard, Risk and Resilience Blog, n.d.)

6 Kontaminace a její důsledky pro metabolismus rostlin

Jak již bylo zmíněno, toxicita a příjem arsenu nejsou závislé pouze na koncentraci arsenu, ale také na speciích, tedy v jakém oxidačním čísle a v jaké sloučenině se arsen nachází. To ovlivňují i různé další chemické a fyzikální podmínky, jako je např. pH. V biologických vzorcích bylo stanoveno kolem 25 sloučenin arsenu, většinou z mořského ekosystému. Je tedy nutné přesně stanovit, jaké sloučeniny arsenu jsou přítomny.



Obr. 8. : Výskyt specií arsenu v závislosti na pH a redox potenciálu v půdě (Couture and Van Cappellen 2011 in McSweeney, Forbes 2014)

Za netoxickou hladinu arsenu v rostlinách je považováno 0,01-1 mg/kg, 3-10 mg/kg jsou považovány za fytotoxické (Chaney, 1985 in Száková et al., 2006). Na účinky arsenu jsou ze zemědělských plodin nejcitlivější luskoviny. Fytotoxicita arsenu se projevuje plasmolýzou pletiv kořenů a žloutnutím listů, které vede k nekróze špiček a okrajů listů (Száková et al., 2006). Při experimentu, kdy byla do půdy dodána kyselina arseničná v množství 100 mg/kg arsenu se obsah arsenu v zelenině pěstované na kontaminované půdě pohyboval mezi méně než 0,01 mg/kg u kukuřice a zelí a 3 mg/kg u brambor (Pyles, 1982 in Száková et al., 2006). Kontaminace půd rizikovými prvky je narůstající problém, který má důsledky jak pro lidské zdraví, tak i pro živočichy. Při posuzování fytotoxicity arsenu hraje důležitou roli, zda se jedná o anorganické nebo organické sloučeniny arsenu. Anorganický As^{+III} reaguje s dithiolovými skupinami proteinů, což způsobuje inhibici

enzymových reakcí, které vyžadují volné sulfhydrylové skupiny, což vede k membránové degradaci a buněčné smrti. Arseničnan As^{+V} soupeří s fosfátem kvůli jejich podobným chemickým vlastnostem a působí jako odpojovač, a to vede k nedostačující dodávce buněčné energie. Pro rostliny je As^{+III} mnohem toxičtější než As^{+V} , což může být zapříčiněno lepší mobilitou a rozpustností As^{+III} . Fytotoxicita zapříčiněná kontaminací As^{+V} nebo As^{+III} může vést k vadnutí listů, zbarvení do fialova, ztrátu barvy kořene, plasmolýzu buněk a snížení růstu, které může vést až k úhynu. Mechanismy fytotoxicity organických sloučenin arsenu nejsou prozatím zcela jasné, předpokládá se, že při použití arseno-organických herbicidů by nejvíc dotčeným místem byla meristematická pletiva (Naidu, 2006)

6.1 Změny v rostlinách vyvolané arsenem

Zásadním ukazatelem toxicity rizikových prvků je klíčivost rostlin, protože v počátečních stádiích růstu rostliny ještě nemají dostatečně vyvinuté obranné mechanismy a jsou silně citlivé vůči rizikovým prvkům. Inhibice klíčivosti je vyšší v případě As^{+III} v porovnání s As^{+V} . Porovnáme-li stejnou koncentraci arsenu, ale rozdíl bude v tom, zda se jedná o As^{+V} nebo o As^{+III} , tak se u As^{+V} inhibice klíčivosti většinou neprojeví (Li et al., 2007 in Lešková et al., 2012).

Další prokázanou změnou vzniklou působením arsenu na rostlinu je snížení obsahu vody v biomase, což může souviset se zvýšením propustnosti cytoplazmatické membrány. Poškození membrány vede k poruše příjmu rovnováhy příjmu živin a obsahu vody v rostlinných buňkách. Následně pak dochází k porušení vodivosti průduchů a transpirace klesá (Garg, Singla 2011 in Lešková et al., 2012).

Dále v důsledku vystavení působení arsenu u rostlin dochází k strukturálním změnám na buněčné úrovni, např. u chloroplastů může docházet k zaoblování a zkracování podél svíslé osy. Tyto morfologické změny pak mohou mít za následek snížení obsahu fotosyntetických pigmentů. Po dobu fotosyntézy může docházet k negativnímu ovlivnění produkce energie kvůli již zmiňované analogii As^{+V} s fosforem, který způsobuje vznik nestabilní molekuly, která je na buněčné úrovni energeticky nevyužitelná. K ovlivnění dochází nejen ve světelné fázi fotosyntézy, ale i v temnostní, kdy kvůli přítomnosti arsenu docházelo ke snížení efektivity fixace CO_2 . (Lešková et al. 2012). Pro interakci s aniontem arsenu je zásadní fosfátový iont, a to právě pro svou chemickou podobnost. Předpokládá se, že As^{+V}

je rostlinou přijímán přes fosfátový systém a následně interaguje s fosfátovou výživou. Při hydroponických experimentech bylo zjištěno, že přidavek fosforu do roztoku snižuje sorpci As^{+V} i As^{+III} rostlinou a v důsledku snížení příjmu arsenu rostlinou dochází ke zmírnění projevu fytotoxicity. Nicméně u experimentů prováděných v půdním substrátu bylo zjištěno, že při přidavku fosforu dochází k soupeření As-P o sorpční místa, což vede k větší přístupnosti arsenu, a tím i k větší koncentraci arsenu v rostlinách. U hyperakumulátorů se nepředpokládá, že by přidavek fosforu měl vliv na projevy fytotoxicity. Většina pokusů s interakcí arsen-fosfor se prováděla na půdách uměle kontaminovaných a předpokládá se, že chování bude významně odlišné na půdě, která byla vystavena dlouhodobé kontaminaci antropogenní činností, výzkumy totiž dokazují, že se arsen v půdě rychle stává nepřístupným, což vede ke snížené toxicitě (Soudek et al., 2006).

Arsen byl v různých částech rostlin stanoven především ve formě As^{+III} , nikoliv jako As^{+V} , jak by se dalo očekávat vzhledem k interakci As-P. Je tomu proto, že přijatý As^{+V} je okamžitě redukován enzymatickou redukcí, za kterou je u vyšších rostlin zodpovědný ACR2 gen, který kóduje arseničnanreduktázu. Vypnutí tohoto genu vede k poklesu redukce As^{+V} na As^{+III} a ve srovnání s rostlinami, které mají gen ACR2 aktivní, dochází i ke zvýšenému transportu As^{+V} do nadzemní části rostlin. (Lešková et al., 2012). Tolerance rostliny vůči arsenu záleží jak na specii arsenu, tak na druhu rostliny a na strategii nepřijetí arsenu nebo akumulace arsenu. Při nepřijetí dochází k zabránění nebo omezení příjmu arsenu rostlinou do nadzemní biomasy. Tuto strategii uplatňuje např. orobinec širokolistý (*Typha latifolia*), který hojně roste na půdách kontaminovaných arsenem. Při akumulační strategii dochází k velké akumulaci arsenu v rostlině. Tato strategie je typická např. pro rostliny, které rostou na haldách po těžbě, na místech, kde je půda hodně kontaminovaná arsenem. Příkladem takové rostliny je např. psineček obecný (*Agrostis tenuis*). Při akumulaci arsenu může dojít buď k jeho depozici v kořenech, anebo k přenosu do nadzemní biomasy. Dosavadní výzkumy ukazují, že dvouděložné rostliny přesouvají do nadzemní biomasy více arsenu než rostliny jednoděložné (Soudek et al., 2006).

Tolerantní	Středně tolerantní	Málo tolerantní	Tolerantní	Středně tolerantní	Málo tolerantní
	Ovoce			Pícniny	
Jabloně	Třešně	Meruňky	Lipnice roční	Bojínek	Jetel
Hrušně	Jahodníky	Broskvoně	Jílek mnohokvětý		Vojtěška
Grepy			Lipnice luční		
Maliníky			Kostřava luční		

	Zelenina a polní plodiny	
Žito	Řepa	Hrách
Máta	Kukuřice	Okurka
Chřest	Dýně	Cibule
Zelí	Ředkev	Fazole
Mrkev		Sója
Rajčata		Rýže
Brambory		Špenát
Pšenice		
Oves		
Bavlna		
Tabák		
Arašíd		

Tab. 3: Srovnání citlivosti rostlin vůči arsenu (Adriano, 2001)

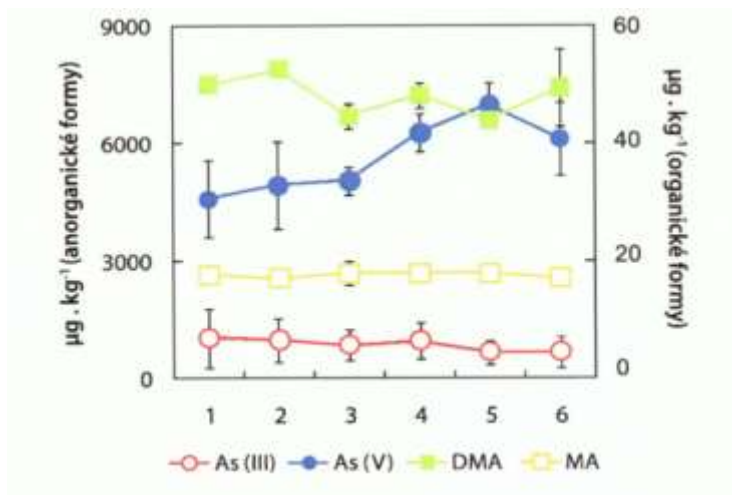
6.2 Mykorhiza

Mykorhiza je velmi rozšířeným symbiotickým spojením mezi mikroorganismy a vyššími rostlinami. Pro hostitelskou rostlinu může být toto spojení zásadní z hlediska minerální výživy. Kromě pozitivních efektů na výživu rostlin má mykorhizní spojení i další efekty projevující se na kontaminované půdě (Soudek et al., 2006). Symbióza mezi mykorhizálními houbami a rostlinami pomáhá hostitelským rostlinám tím, že zvyšuje získávání živin, zvláště pak fosforu (Zhao et al., 2002). Biodostupnost arsenu pro rostliny ovlivňují i mykorhizní houby, které mohou působit jako selektivní bariéra pro příjem arsenu. (Sharpes et al. 2000 in Lešková et al. 2012). Většina kapradin vykazuje mykorhizu,

nicméně u hyperakumulátorů není role mykorhizy zatím dostatečně objasněna. Velká část hyperakumulátorů kovů je z čeledi *Brassicaceae*, která zpravidla nevykazuje mykorhizní spojení. Z prováděných experimentů lze říci, že obecně mykorhizní houby omezují přenos polutantu k rostlině a zároveň zlepšují rostlinnou výživu (Soudek et al., 2006).

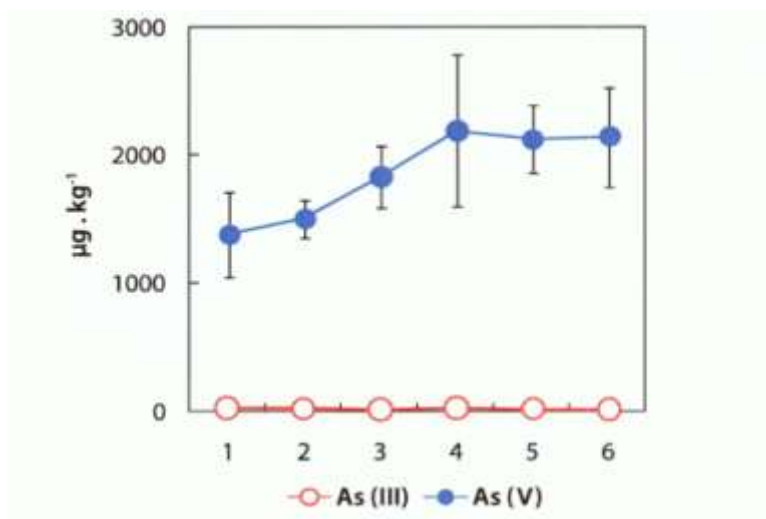
6.3 Rhizosféra

Při studiu pohybu prvků v oblasti rhizosféry je potřeba volit takové rostliny, které kumulují velké množství toxického prvku, což vede k signifikantním změnám v půdním roztoku v oblasti rhizosféry. Arsen však patří mezi prvky, které jsou vyššími rostlinami přijímány pouze omezeně. Při experimentu s rhizoboxy (Száková et al., 2008 in Balík et al., 2008) byly pěstovány rostliny fazolu obecného (*Phaseolus vulgaris* L.), máty vodní (*Mentha aquatica*) a kapradiny (*Pteris cretica*). Koncentrace sloučenin arsenu byla značně rozličná v závislosti na vzdálenosti od povrchu kořene fazolu a mobilita arsenu se rovněž neměnila v závislosti na vzdálenosti od rhizosféry. Převažující sloučeninou v rhizosféře byl arseničnan, z celkového extrahovatelného množství As^{+V} tvořil 90 %, zatímco As^{+III} byl zastoupen ve výrazně menším množství. Rovněž byla na konci experimentu stanovena kyselina monometyhlarseničná (MMA) a dimethylarseničná (DMA), ačkoliv na počátku experimentu v půdě přítomny nebyly. Zapříčiněno to může být kořenovými exudáty, nebo mikrobiální aktivitou, která je zásadní zejména na kontaminovaných půdách, kde je potlačen růst kořenů a patrně proto měla v tomto experimentu mikrobiální aktivita významnější vliv. Mikrobi značně ovlivňují redox procesy arsenu v půdě, a tím i specii v půdním roztoku. Půdní bakterie redukují arseničnan As^{+V} na arsenitan As^{+III} a metylací vytváří DMA, rovněž houby mohou přeměnit anorganické i organické sloučeniny arsenu na MMA (Balík et al., 2008).



Obr. 9: Obsahy sloučenin arsenu v půdě v oblasti rhizosféry stanovené v extraktu 0,05 mol/l $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ v závislosti na vzdálenosti od kořenu fazolu (*Phaseolus vulgaris* L.) (Száková et al., 2008 in Balík et al., 2008).

Stanovené sloučeniny arsenu v půdě u vzorku fazolu v závislosti na vzdálenosti od kořene hrachoru jsou znázorněny na obrázku 9. Z koncentračních křivek nelze stanovit vliv na mobilitu arsenu v rhizosféře, což je patrně zapříčiněno malým odběrem arsenu rostlinami. U téhož experimentu s kapradinou *Pteris cretica* byly ve srovnání s fazolem zcela odlišné výsledky. Z celkového extrahovatelného množství arsenu tvořil arseničnan As^{+V} více než 90 %. Z grafu je patrné, že nižší koncentrace arseničnanu byla v těsné blízkosti povrchu kořene rostliny, což je dáno vyšším příjmem arsenu rostlinou. Organické formy (tedy MMA nebo DMA) se ve vzorku nevyskytovaly.



Obr. 10: Obsahy sloučenin arsenu v půdě v oblasti rhizosféry stanovené v extraktu 0,05 mol/l (NH₄)₂SO₄ v závislosti na vzdálenosti od kořenu *Pteris cretica*. (Száková et al., 2008 in Balík et al., 2008)

7 Hyperakumulátory

Termínem hyperakumulátor označujeme rostliny, které patří do různých vzdáleně příbuzných rodů, ale mají společné vlastnosti, a sice rostou na půdách kontaminovaných toxickými prvky jsou schopny akumulovat neobvykle vysoké množství toxických prvků v nadzemní části biomasy. Jako hyperakumulátory jsou označovány rostliny, které jsou schopny akumulovat více než 1000 mg prvku na 1 kg sušiny (Brooks in Soudek et al., 2006) a dále musí být biokoncentrační faktor větší než 1. Biokoncentrační faktor je poměr mezi obsahem arsenu v sušině rostliny v mg/kg a obsahem arsenu v mg/kg ve vysušeném vzorku půdy (Soudek, 2006). U kapradiny *Pteris vittata* byl stanoven biokoncentrační faktor větší než 10 (Zhao et al., 2002).

Z chemického hlediska řadíme mezi těžké kovy takové kovy, jejichž molární hmotnost je vyšší než 20 g/mol. Z biologického hlediska se však tento termín používá pro skupinu kovů a polokovů, které jsou pro rostliny a/nebo zvířata toxické již při velmi nízkých dávkách. Některé prvky jsou pro rostliny esenciální, tzn. jsou důležité pro růst a metabolismus rostliny, např. kobalt, měď, železo, mangan, molybden, nikl nebo zinek. Tyto

prvky ale také snadno způsobí otravu, protože k tomu, aby se staly toxickými, stačí nárůst koncentrace nad běžné hodnoty.

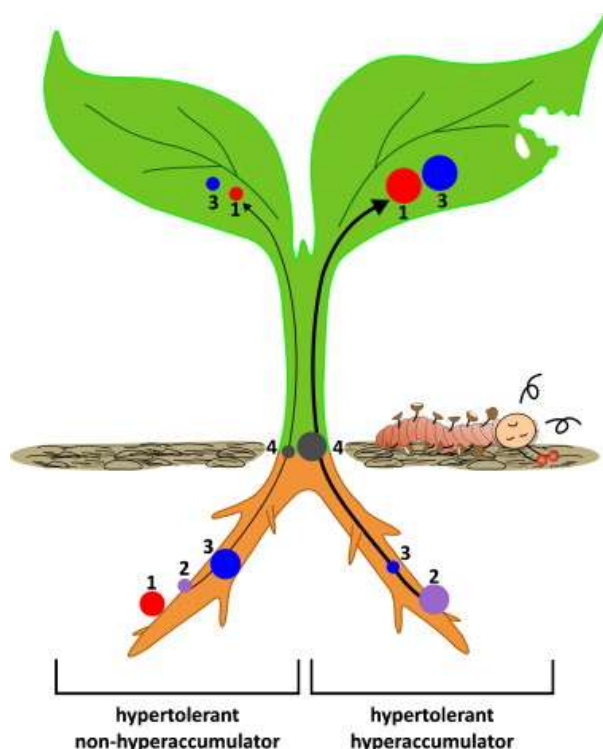
Fytotoxicita způsobená těžkými kovy může být důsledkem fyziologických změn, na buněčné a molekulové úrovni může docházet k inaktivaci enzymů, blokování funkčních skupin nebo metabolicky důležitých molekul, přemístění nebo nahrazení esenciálních prvků nebo porušení polopropustné rostlinné membrány.

Tři základní znaky, kterými se odlišují hyperakumulátory od rostlin, které jsou příbuzné, ale schopnost hyperakumulace nemají:

- 1) vysoká úroveň přijímání těžkých kovů
- 2) rychlejší přesun z kořenů do nadzemní biomasy translokace
- 3) velká schopnost detoxikovat a izolovat těžké kovy v listech

K průlomů došlo při srovnání výsledků fyziologické a molekulární analýzy hyperakumulátorů a rostlin se standardním příjmem toxických prvků, kde bylo zjištěno, že pro hyperakumulaci je klíčová odlišná regulace a exprese genů, které se nacházely v obou druzích rostlin. Zejména tato odlišnost hrála roli v příjmu, přesunu do listů a sekvestraci do vakuol nebo buněčné stěny, kde dochází k ukládání velkých dávek rizikových prvků silnou expresí genů kódujících transmembránové přenašeče.

Podle některých hypotéz by hyperakumulace mohla být i formou obrany proti přirozeným nepřítelům, jako jsou herbivorové (Rascio, Navari-Izzo, 2010).



Obr. 11: Rozdíl mezi rostlinou se standardním příjmem toxických prvků (vlevo) a hyperakumulátorem (vpravo)

- 1) Těžké kovy se naváží do buněčných stěn a/nebo buněčných exudátů
- 2) Příjem kořeny
- 3) Chelatace v cytosolu a/nebo sekvestrace ve vakuolách
- 4) Přesun z kořenu do nadzemní biomasy

(Rascio, Navari-Izzo, 2010).

U hyperakumulátoru je mnohem vyšší podíl navázaných toxických prvků v buněčných stěnách v nadzemní části rostliny, u nehyperakumulátoru k tomu z větší části dochází v kořenech a pouze malá část je navázána v buněčných stěnách v nadzemní části. Hyperakumulátor má mnohem větší absorpci As kořeny, chelatace a sekvestrace probíhá z větší části v listech a z menší části v kořenech, zatímco u nehyperakumulátorů je tomu naopak, přesun z kořenů do nadzemní biomasy je u hyperakumulátoru mnohem větší.

Stupeň/úroveň hyperakumulace se výrazně liší v závislosti na tom, o jakou specii se jedná. Při hydroponických experimentech s rýží bylo zjištěno, že dostupnost arsenu pro rostlinu stoupala v tomto pořadí $\text{DMA}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{V}} < \text{MMA}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{III}}$. Při jiném experimentu na mokřadních druzích získali autoři následující pořadí: $\text{DMA}^{\text{V}} < \text{MMA}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{V}} < \text{As}^{\text{III}}$. Oba experimenty se shodují v tom, že anorganické formy arsenu a MMA byly nejvíce akumulovány v kořenech, zatímco DMA byla transportována do nadzemní části (Soudek et al., 2006).

Arsen vstupuje do kořenů ve formě arseničnanů přes přenašeče chemických analogů fosfátů (Zhao, 2009).

V kořenových buňkách kapradiny *Pteris vittata* má plazmatická membrána větší hustotu fosfáto-arseničnanových přenašečů než u nehyperakumulátoru *Pteris tremula*, což je způsobeno zvýšenou expresí genu. U kapradin je příjem arsenu hyperakumulací závislý na afinitě arseničnanů v přenašečových systémech, stejně jako schopnost rostlin zvýšit biologickou přístupnost arsenu v rhizosféře redukcí pH přes kořenové exudáty, které obsahují velké množství rozpuštěného organického uhlíku. Pokles pH zlepšuje rozpustnost arsenu, který tak může být přijat kořeny (Rascio, Navari-Izzo, 2010).

7.1 Fytoremediace

Princip fytoremediace spočívá ve schopnosti rostlin detoxikovat životní prostředí přesouváním kontaminantu z půdy a/nebo podzemních vod a tyto látky transformovat ve stabilnější a méně toxické komplexy, které jsou uloženy v rostlinné biomase, která může být sklizena a skladována, nebo vhodným způsobem zlikvidována (McSweeney, Forbes 2014). Vzhledem k tomu, že problematika arsenem kontaminovaných podzemních vod a půd je značně rozšířená, ať už v důsledku důlních činností, zvětrávání hornin nebo používání pesticidů, je zkoumána řada technologií fytoremediace. Její výhodou je šetrnost k životnímu prostředí a její nízká ekonomická náročnost, což je důležitý faktor zejména pro rozvojové země (Wang, Zhao 2009 in McSweeney, Forbes 2014).

7.2 Známé druhy hyperakumulátorů

Pteris vittata

Kapradina *Pteris vittata* je jedním z nejznámějších hyperakumulátorů arsenu a pochází z oblasti Floridy. Zdomácněla na mnoha místech mírného pásma, je mrazuvzdorná, preferuje slunečné a zásadité prostředí, je vytrvalá a má velký nárůst biomasy. Je schopna tolerovat koncentraci arsenu v půdě až do 1500 mg/kg, přičemž koncentrace arsenu v rostlině samotné může být až 2,3 % sušiny. *Pteris vittata* potvrzuje mechanismy hyperakumulátorů, které byly uvedeny výše, a sice že k depozici arsenu dochází v nadzemní části rostliny (až 95 % veškerého arsenu v rostlině). Nejvyšší obsah arsenu byl při měřeních stanoven v kořenech, zatímco nejvyšší byl zjištěn v listech. Více arsenu se nacházelo ve starších listech než v mladších (Soudek et al. 2006). Tuto tendenci potvrzuje i

Fitz et al. (2003) v jejichž experimentu byla *Pteris vittata* pěstována na půdě o koncentraci arsenu 2270 mg/kg a obsah arsenu v jednotlivých částech rostliny klesal v této řadě mladé listy>staré listy >>oddenky>kořeny.

Zhao et al. (2002) prováděli experiment, jehož cílem bylo zjistit, zda se schopnost hyperakumulace vyskytuje i u ostatních druhů kapradin a zda *Pteris vittata* akumuluje arsen stejně z kontaminovaného i nekontaminovaného životního prostředí. Pro tento experiment byly použity tři odrůdy *Pteris vittata*, dva kultivary *Pteris cretica* – Albo-lineata a Wimsetti, *Pteris longifolia* a *Pteris umbrosa*, které byly pěstovány na substrátu, který obsahoval 0-500 mg/kg arsenu.



Obr. 12: *Pteris vittata* L., (<http://www.mississippiferns.com>, n.d.)



Obr. 13: *Pteris cretica* Albo-lineata, (<http://gardenbreizh.org/>, n.d.)



Obr. 14: *Pteris cretica* Wimsetti, (<http://gardenbreizh.org/>, n.d.)

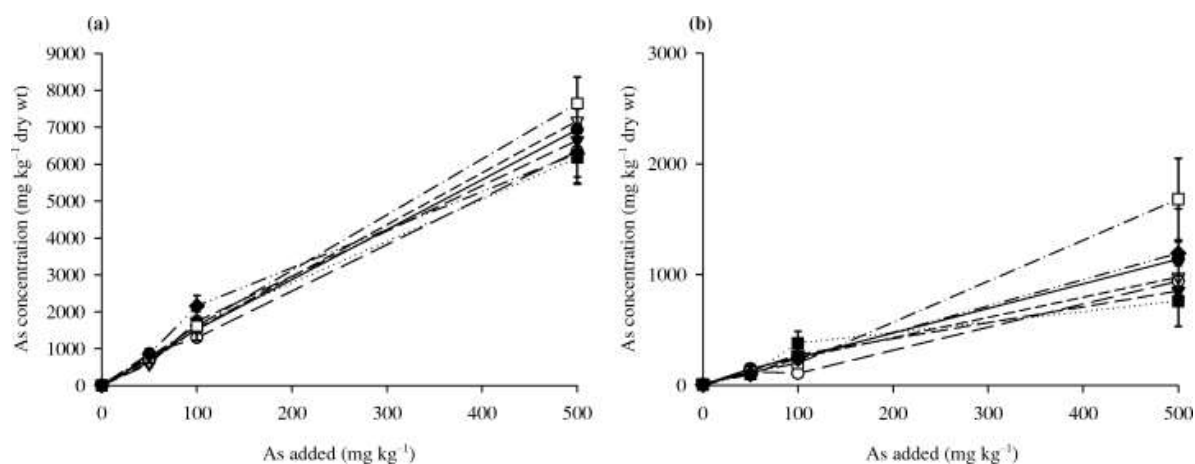


Obr. 15: *Pteris longifolia*, (<https://www.heatonsferns.com.au>, n.d.)



Obr. 16: *Pteris umbrosa*, (<https://alchetron.com/>, n.d.)

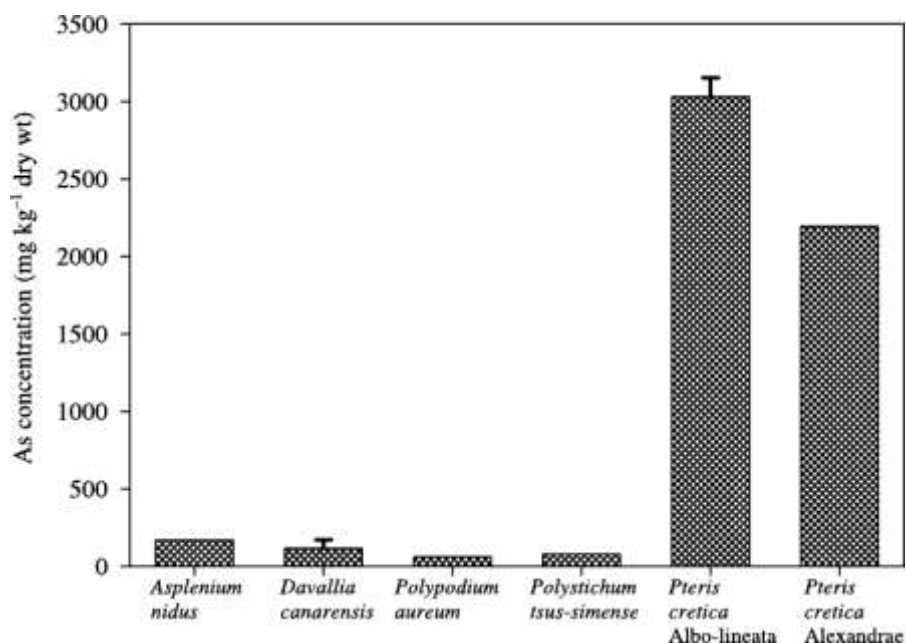
Druhý experiment srovnával příjem arsenu u běžných kapradin, které byly zakoupeny u komerčního dodavatele. V době, kdy tento experiment prováděli, bylo známo zhruba 400 druhů hyperakumulátorů, z nichž přibližně tři čtvrtiny akumulovaly nikl, a arsen byl u většiny druhů rezistentní. Výsledky prováděného experimentu ukazují, že při koncentraci arsenu 500 mg/kg vzorky vykazovaly příznaky fytotoxicity a docházelo k nekróze listů. U všech tří druhů *Pteris vittata*, obou kultivarů *Pteris cretica* i u *Pteris longifolia* a *Pteris umbrosa* byla zjištěna hyperakumulace arsenu v listech. Koncentrace arsenu v listech lineárně stoupala v závislosti na přídávku arsenu do substrátu a dosahovala až 6200-7600 mg/kg arsenu v sušině při obsahu 500 mg/kg arsenu v substrátu. Nebyly zjištěny významné rozdíly v akumulaci u jednotlivých druhů, zjištěné hodnoty biokoncentračního faktoru byly v rozmezí od 11,7 do 21,6 (průměr 14,9). Koncentrace arsenu v kořenech rovněž stoupala lineárně se zvyšující se koncentrací arsenu v substrátu, ale byla mnohem nižší než koncentrace arsenu v listech (průměrně byla koncentrace arsenu v listech 6,8x vyšší než v kořenech). Stanovené hodnoty jsou v níže uvedeném grafu. Experiment potvrdil, že *Pteris cretica*, *Pteris longifolia* a *Pteris umbrosa* rovněž patří mezi hyperakumulátory arsenu, jelikož jejich biokoncentrační faktor byl vysoký. U *Pteris vittata* byly použity tři druhy: Florida, B&T a Oxford, přičemž vzorek Florida pocházel z kontaminované půdy, zatímco zbylé dva druhy pocházely z nekontaminovaných půd. Zjištěné hodnoty u všech tří vzorků byly velmi podobné, experiment tedy nepotvrdil závislost hyperakumulace na původu druhu z kontaminované, respektive nekontaminované půdy. Dále bylo při analýze vysokotlakou kapalinovou chromatografií zjištěno, že arsen obsažený v listech byl přítomen jako arsenitan.



Obr. 17: Koncentrace As v listech (a) a kořenech (b) různých druhů *Pteris*. Uzavřený kruh, *Pteris vittata* (Florida); otevřený kruh, *Pteris vittata* (B & T); uzavřený trojúhelník, *Pteris*

vittata (Oxford); otevřený trojúhelník, *Pteris cretica* Albo-lineata; uzavřený čtverec, *Pteris cretica* Wimsetti; otevřený čtverec, *Pteris longifolia*; diamant, *P. umbrosa*. Na ose y je uvedena koncentrace As v mg/kg v sušině (Zhao et al., 2002).

Druhý experiment srovnával akumulaci arsenu u předpěstovaných zakoupených druhů kapradin, včetně dvou kultivarů *Pteris cretica*, jejichž kontrolní vzorek listů neobsahoval žádný arsen. Při přidavku 100 mg/kg arsenu do substrátu dva kultivary *Pteris cretica* (Albolineata a Alexandrae) ve svých listech akumulovaly arsen v koncentraci 2200–3030 mg/kg sušiny, zatímco u zbylých čtyř druhů (*Asplenium nidus*, *Davallia canarensis*, *Polypodium aureum*, *Polystichum tsus-simense*) k hyperakumulaci nedocházelo a zjištěné koncentrace arsenu se pohybovaly v rozpětí 60-168 mg/kg sušiny.



Obr. 18: Graf stanovené koncentrace arsenu v sušině listů různých druhů předpěstovaných kapradin (Zhao et al., 2002).

Dalším známým druhem kapradiny schopné hyperakumulace je *Pityrogramma calomelanos*. Tato kapradina byla objevena v Thajsku a na půdě, která je kontaminovaná arsenem, prosperuje ještě lépe než *Pteris vittata*. Arsen akumuluje převážně v listech (až 8350 mg/kg sušiny) (Francesconi, 2002) a koncentrace arsenu byla přibližně stejná ve všech druzích listů, ať už se jednalo o listy staré, nové, nebo listy bez spor (Soudek et al., 2006). Francesconi (2002) odebral pět vzorků kapradiny v různých lokalitách Ron Phibun v Thajsku, a následně byla stanoveny koncentrace arsenu v různých částech kapradin. Kapradiny rostly na půdě hlinito-písčité, pH půdy bylo 4,6-5,1, koncentrace arsenu v půdě

byla 135-510 mg/kg. Zjištěné hodnoty v níže uvedené tabulce rovněž potvrzují, že nebyla zjištěna přímá souvislost mezi koncentrací arsenu v biomase a stářím, respektive typem listů.

Místo	Půda	Řapík	Staré listy	Mladé listy	Rhizosféra	Listy bez pórů
1	380	380	4390	5610	370	5420
2	390	350	2760	-	96	-
3	370	290	5390	5440	-	5590
4	510	230	3920	5130	180	3820
5	135	150	8000	5210	88	8350

Tab. 4: Koncentrace arsenu v půdě a částech rostliny, mg/kg sušiny.

Místo	Vzorek	mg/kg As	Extrahovatelný As (% celku)	As V (%)	As III (%)	MA (%)
4	Půda	510	6,1	97	3	
5	Půda	135	12	98	2	
4	Řapík	230	80	77	23	
5	Řapík	150	68	70	29	0,7
4	Mladé listy	5130	93	40	60	
5	Mladé listy	5210	86	28	72	
4	Rhizosféra	180	64	96	4	
5	Rhizosféra	88	57	95	5	

Tab. 5: Specie arsenu a jejich procentuální zastoupení v jednotlivých částech rostlin

8 Závěr

Kontaminace životního prostředí rizikovými prvky je velmi aktuálním a kosmopolitním problémem a v případě arsenu je složitě řešitelná zejména kontaminace v důsledku přirozených zdrojů, jelikož geochemické jevy nemůžeme ovlivnit. U antropogenních zdrojů kontaminace v některých oblastech dochází ke značnému omezení používání zdrojů kontaminace, jako jsou nejrůznější zemědělské chemikálie. Pro to, aby nedocházelo ke zhoršování současného stavu, je důležité právě omezení dalších vstupů kontaminantu do životního prostředí. Rekultivace území v okolí uhelných a metalurgických dolů je složitým problémem, neboť arsen obsažený v půdě má velmi nepříznivý vliv na rostliny, a to již na

buněčné úrovni. Pro rostliny jsou nebezpečné zejména lehčí písčité půdy kontaminované arsenem, protože je kontaminant snáze dostupný v rozpustné formě ve vodě, zatímco například u jílu je dostupnost As v roztoku pro rostliny mnohem nižší. Velkým průlomem v odstraňování arsenu (a jiných rizikových prvků) z půdy byl objev hyperakumulátorů, který má velkou budoucnost. V současné době většina známých hyperakumulátorů arsenu pochází z tropických oblastí, takže nejsou vhodné pro klima ČR.

Současný výzkum zaměřuje na metabolismus hyperakumulátorů a porozumění zjištění důvodu, jakými mechanismy se tyto rostliny vyrovnávají s toxickým působením rizikových prvků.

9 Zdroje

Adriano D. C. 2001. Trace elements in terrestrial environments. Springer-Verlag. New York. 866 s. ISBN: 0-387-98678-2

Balík, J. Pavlíková, D., Tlustoš, P., Vaněk, V., Pavlík, M. 2008. Mobilita prvků a látek v rhizosféře. Česká zemědělská univerzita, 150 s. ISBN: 978-80-213-1861-8

Bencko, V., Cikrt, M., Lener, J. 1995. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. 2. vyd. Praha. Grada, 282 s., ISBN: 80-7169-150-X

Bouška V., Jakeš P., Pačes T., Pokorný, J. 1980. Geochemie. Academia. Praha. 556 s.

Drahota, P., Filippi, M. 2009. Secondary arsenic minerals in the environment: a review. Environment International. 35(8). 1243-1255.

Dueñas-Laita, A., Pérez-Miranda, M., González-López, M., Martín-Escudero, J., Ruiz-Mambrilla, M., Blanco-Varela, J. 2005. Acute arsenic poisoning. The Lancet. 365(9475). 1982.

Duker, A. A., Carranza, E., Hale, M. 2005. Arsenic geochemistry and health. Environment International. 31(5). 631-641.

Eisler R. 2007. Eisler`s encyclopedia of environmentally hazardous priority chemicals. Elsevier. Amsterdam. 950 s. ISBN: 978-0-444-53105-6

Fitz, W. J., Wenzel, W. W., Zhang, H., Nurmi, J., Štípek, K., Fischerova, Z., Stinger, G. 2003. Rhizosphere characteristics of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. and monitoring of phytoremoval efficiency. Environmental Science & Technology. 37(21). 5008-5014.

Francesconi, K., Visoottiviseth, P., Sridokchan, W., Goessler, W. 2002. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential

phytoremediator of arsenic-contaminated soils. *Science of the Total Environment*. 284(1-3). 27-35.

Henke, K. R. 2009. Arsenic in natural environments. *Arsenic: Environmental Chemistry, Health Threats and Waste Treatment*. 69-235.

Housecroft, C. E, Sharpe A. G. 2014. *Anorganická chemie*. Praha. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 1152 s. ISBN: 978-80-7080-872-6

Hughes, M. F. 2002. Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicology Letters*. 133(1). 1-16.

Chakraborti, D., Rahman, M., Das, B., Chatterjee, A., Das, D., Nayak, B., Sengupta, M. K. 2017. Groundwater arsenic contamination and its health effects in India. *Hydrogeology Journal*. 25(4). 1165-1181.

Klusoň, P. 2015. *Jedová stopa*. Academia. Praha. 264 s. ISBN: 978-80-200-2438-1

Koplík, R., Čurdová, E., Mestek, O. 1997. Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech *Chemické Listy*. 91. 38-47.

Lešková, A., Molnářová, M., Fargašová, A. 2012. Biochemický pohľad na príjem, metabolismus a toxické účinky zlúčenin arzénu na rastliny. *Chemické Listy*. 106. 1110-1115.

Nagayoti, P. C., Lee, K. D., Sreekanth, T. V. M. 2010. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 8(3). 199-216.

Naidu, R., Smith, E., Owens, G., Bhattacharya, P., Nadebaum, P. 2006. *Managing arsenic in the environment*. CSIRO Publishing, Australia, 654 s.

McGrath, S. P., Zhao, F. J. 2003. Phytoextraction of metals and metalloids from contaminated soils. *Current Opinion in Biotechnology*. 14(3). 277-282.

- McSweeney, N. J., Forbes, L. 2014. Arsenic-interacting plant proteins as templates for arsenic specific flotation collectors? A review. *Minerals Engineering*. 64. 67-77.
- Oremland, R. S., Stolz, J. F. 2003. The ecology of arsenic. *Science*. 300(5621). 939-944.
- Ratnaike, R. N. 2003. Acute and chronic arsenic toxicity. *Postgraduate Medical Journal*. 79. 391-396.
- Rascio, N., Navari-Izzo, F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: How and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Science*. 180(2). 169-181.
- Smedley, P. L., Kinniburgh, D. G. 2002. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*. 17. 517-568.
- Soudek, P., Víchová, L., Valenová, Š., Podlipná, R., Malá, J., Vaněk, T. 2006. Arsen a jeho příjem rostlinami. *Chemické Listy*. 100. 323-329.
- Szaková, J., Mihaljevič, M., Tlustoš, P. 2007. Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách. *Chemické Listy*. 101(5). 397-405.
- Šafářová, M., Řehoř, M. 2006. Stopové prvky v uhelných a neuhelných sedimentech severočeské pánve a zeminách rekultivovaných lokalit. *Chemické Listy*. 100(6). 462-466.
- Šefrna, L. 1994. Rizikové prvky v půdách severočeské hnědouhelné pánve a přilehlé části Krušných hor. Výzkumná zpráva, Landinfo. Praha.
- Zhao, F. J., Ma, J. F., Meharg, A. A., McGrath, S. P. 2009. Arsenic uptake and metabolism in plants. *New Phytologist*. 181(4). 777-794.
- Zhao, F. J., Dunham, S. J., McGrath, S. P. 2002. Arsenic hyperaccumulation by different fern species. *New Phytologist*. 156(1). 27-31.

Webové zdroje:

Anon-Garden Breizh, [online], [cit. 2018-03-18], dostupné z
<http://gardenbreizh.org/modules/pix/cache/photos_760000/GBPIX_photo_768890.jpg,
http://gardenbreizh.org/modules/pix/cache/photos_550000/GBPIX_photo_550139.jpg >

Anon, Heaton's Wholesale Fern Nursery, [online], [cit. 2018-03-18], dostupné z
<https://www.heatonsferns.com.au/pteris/pteris500/pteris_longifolia.jpg>

Anon-Ferns of Mississippi, [online], [cit. 2018-03-18], dostupné z
<http://www.mississippiferns.com/images/large/Pteris_vittata_L_200_800.jpg>

Anon-Sběratel minerálů, [online], [cit.2018-02-08], dostupné z
<www.sberatelmineralu.cz>

Anon-Turn It Tropical - Discover a World Plans, [online], [cit. 2018-03-18], dostupné z
<<http://www.turn-it-tropical.co.uk/wp-content/uploads/2016/06/Pteris-umbrosa.jpg> >

Cílek, V. 1998. Arzen v podzemních vodách Bangladéše, [online], [cit.2017-10-03],
dostupné z <<https://vesmir.cz/cz/casopis/archiv-casopisu/1998/cislo-11/arzen-podzemnich-vodach-bangladese.html>>

Integrovaný registr znečišťování, Arsen-Metody měření znečišťujících látek, [online], [cit.
2018-02-25], dostupné z < <https://www.irz.cz/node/118>>

Institute of Hazard, Risk and Resilience Blog, [online], [cit.2018-01-30], dostupné z
<<http://ihrrblog.org/2010/06/17/groundwater-arsenic-poisoning-in-bangladesh-an-interview-with-dr-manzurul-hassan/>>

Stanford Medicine, [online], [cit. 2017-11-20], dostupné z
<<http://stanfordmedicine25.stanford.edu/the25/hand.html>>

The Columbia Electronic Encyclopedia, 6th ed. Copyright © 2012, Columbia University Press, [online], [cit.2018-02-07], dostupné z <https://www.infoplease.com/encyclopedia/science-and-technology/chemistry/chemistry-general/marsh-test>>