

Obsah

1. Summary	1
2. Literární přehled	3
2.1 Zdroje rtuti a její koloběh v prostředí	3
2.2 Rtuť a její sloučeniny v půdě	3
2.3 Rtuť vázaná v půdní organické hmotě a vliv obsahu S a pH	4
2.4 Vliv mikroorganismů	5
3. Hypotéza a cíle práce	6
4. Metodika	7
4.1 Materiál	7
4.1.1 Půdy	7
4.1.2 Půdní aditiva	7
4.2 Laboratorní experimenty	7
4.2.1 Frakcionace organické hmoty	7
4.2.2 Inkubační pokusy	8
4.2.3 Sorpční experimenty	8
4.2.4 Vliv mikroorganismů	9
4.3 Analytické metody	9
5. Výsledky a diskuse	10
5.1 Frakcionace a speciace Hg v kontaminovaných půdách	10
5.2 Vliv aditiv na mobilitu Hg v půdě	11
5.2.1 Inkubační pokusy	11
5.2.2 Sorpční experimenty	12
5.3 Vliv půdy kontaminované Hg na společenstva půdních mikroorganismů	13
6. Závěr	14
7. Použitá literatura	15
8. Seznam publikací	18

1. SUMMARY

Mercury and its compounds belong to substances characteristic by their high potential toxicity. Mercury can be found in variety of chemical and physical forms, which have different characteristics and variable influence on the environment. The total Hg content may serve as a basis for the contamination risk assessment. The determination of particular Hg species can; however, be helpful in quantifying the transport, accumulation and bioavailability of Hg. These processes are also strongly influenced by a soil type and soil composition. This was the reason why the soils were thoroughly described in this study, namely the constitution of soil organic matter. The species distribution, mobility and sorption characteristics were described by means of incubation and sorption experiments. Additionally, the influence of chosen organic and inorganic amendments was investigated.

In soil organic matter, humic acids proved to be a major bounding compound of mercury (up to 45 % of the total content). Contrastingly to majority of metals, approximately 40 % of total mercury is adsorbed on fulvic acids. The rest is comprised of complexes with hydrophilic substances. Finally, no more than 0.4 % is bound to hydrophobic neutral organic matter. The experiments revealed that the amount of mercury related to humic acids is indirectly proportional to Mg, Mn, Fe and Cu content (restricted to soil with the mercury content lower than 10 mg.kg⁻¹). Strong positive relation was also found between mercury and sulphur content.

The amount and quality of soil organic matter are important factors controlling mobility of mercury in soil. Incubation experiments demonstrated that the least differences in released mercury from organic and inorganic compounds were observed in the case of Fluvisol. This soil contained the highest amount of organic matter from all inspected soils. In vermicomposts, the most pronounced differences in the mobility of mercury were observed after the amendment of garden bio-waste material, containing the high amount of fulvic acids. Following experiments revealed that the most efficient mercury immobilization agent (out of compounds containing sulphur) was a digestate. Compared to fly ash and ammonium sulphate, the mercury was bound not only due to increased sulphur content in soil but also due to the higher organic matter content.

Rhizobox experiments were used for the determination of the Hg accumulation in microbial community and for the identification of suitable microorganisms for the bioremediation of contaminated soil. The results indicated that *Paenibacillus sp.* is a promising microorganism for this purpose and it would be preferable to conduct further testing of its ability to accumulate, transform, evaporate and bioaugmentation of mercury.

Finally, the sorption experiments confirmed that the adsorption of mercury is a multilayer process and the sorption intensity is higher in soil compared to vermicomposts. The highest amount of adsorbed mercury was found to be related with low pH values and high humic acids content. Soil properties (namely the sorption capacity and organic matter content) were identified as more important factors controlling mercury behaviour in soil compared to sulphur compounds characteristics utilised for the treatment. The influence of vermicompost amendment (decreasing the mobility of mercury) was also not significant until the doses exceeded significantly the ordinary used amount.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Zdroje rtuti a její koloběh v prostředí

Přírodními zdroji rtuti jsou tektonická činnost, zvláště sopečné plyny, a vypařování z oceánů (Fthenakis et al., 1995). Těmi antropogenními jsou spalování fosilních paliv, těžební průmysl a zpracování rud, výroba chloru, spalování komunálního i lékařského odpadu a úprava čistírenských kalů. Poměrně významné zastoupení měly dříve také sloučeniny rtuti používané v zemědělství, jako jsou pesticidy, konzervační prostředky a prostředky používané k moření osiva (Pitter, 1999). Tyto látky jsou většinou založeny na organokovových sloučeninách Hg a z důvodu vysoké toxicity je jejich využívání již ve větší míře zakázáno.

Rtuť se jako polutant vyskytuje ve všech složkách životního prostředí, kde může být transformována, akumulována a snadno se dostává do potravních řetězců. Cyklus rtuti zahrnuje uvolňování elementární Hg a těkavých sloučenin do atmosféry, její transport a transformace. Sloučeniny rtuti jsou z atmosféry uvolňovány s prachovými částicemi, sněhem a deštěm (EPA, 2006) a dostávají se zpět do půd a povrchových vod. Zde jsou sorbovány a mohou být následně adsorbovány a bioakumulovány živými složkami přírody a opět přeměňovány na jiné formy. Cyklus je neustále opakován a jen malé množství Hg je navázáno v nerozpustných sloučeninách. Za silné vazby je zodpovědná zvláště síra v thiolových funkčních skupinách a rozpuštěný uhlík v organické hmotě (Houserová et al., 2006).

2.2 Rtuť a její sloučeniny v půdě

V půdě můžeme nalézt rtuť v anorganických nebo organických sloučeninách, případně jako elementární, ve třech oxidačních stavech Hg^0 , Hg^{+1} a Hg^{+2} . Rozpustné anorganické specie rtuti jsou oproti těm nerozpustným snadněji transportovány přírodními procesy a mohou podléhat methylačním procesům (Miretzky et al., 2005). Právě s alkylovanou rtutí přispívají nejvyšší mírou k potenciální toxicitě Hg v půdě. V organických sloučeninách je rtuť vázaná přímo na uhlík. Jsou více mobilní než anorganické formy, čímž mají i vyšší toxické účinky (Boszke et al., 2003). Koncentrace methylrtuti (CH_3Hg) se většinou pohybuje kolem 1 % celkového obsahu rtuti v půdě (Ullrich et al., 2001). Elementární rtuť se v nekontaminovaných půdách většinou nevyskytuje, v těch kontaminovaných se může její obsah pohybovat až kolem 20 % celkového obsahu Hg (Lechler et al., 1997). Je chemicky více stabilní, a proto méně toxická než například rozpustné anorganické formy (Han et al., 2003).

Jiné dělení specií rtuti může být podle prvku, na který je Hg v půdě navázaná, a z toho vyplývající vlastnosti a síla vazby.

Ve vodě rozpustné formy rtuti. Jedná se rtuť vyskytující se v kapilární vodě v půdách, většinou vázanou na organickou hmotu, ne však přímo na uhlík (Biester a Scholz, 1997). Jsou snadno transportovány a podléhají methylačním procesům (Boszke et al., 2003). Těchto ve vodě rozpustných forem bývá většinou méně než 1 % z celkového obsahu Hg, navíc bývá jejich absolutní koncentrace vyšší než v nekontaminovaných půdách (Boszke et al., 2008).

Formy rtuti rozpustné v kyselinách. Jsou to silně vázané specie Hg, které lze získat extrakcí kyselinami. Jde o biologicky dostupnou anorganickou rtuť navázanou na sulfidy železa, hydroxidy a uhličitany manganu, nebo Hg navázanou na minerály (Lechler et al., 1997). Obsah v kontaminované půdě bývá kolem 1,5 % (Boszke et al., 2008).

Formy rtuti vázané na huminové látky. Jedná se o Hg^{2+} v komplexech s huminovými kyselinami, fulvokyselinami a aminokyselinami. Rtuť není navázaná přímo na uhlík, většinou však na síru ve funkčních skupinách thiolů, sulfidů a síranů, případně na kyslík a dusík (Xia et al., 1999). Těchto specií bývá 20 – 30 % z celkového obsahu rtuti (Boszke et al., 2008).

Formy rtuti vázané na sulfidy. Rtuť se na sulfidy váže velice pevně za vzniku nerozpustného HgS a nepodléhá procesu methylace. Sulfid se ovšem může oxidovat na síran a Hg^{2+} je uvolňována a následně methylována (Ullrich et al., 2001; Boszke et al., 2003). Z celkového obsahu rtuti může být takto vázáno až 60 % (Boszke et al., 2008).

2.3 Rtuť vázaná v půdní organické hmotě a vliv obsahu S a pH

Z hlediska potenciálního toxického působení rtuti na životní prostředí je důležité popsat a určit míru sorpce Hg v půdě. Tu ovlivňují především fyzikálně-chemické vlastnosti půd a sedimentů jako je minerální složení, velikost pevných částic a pH (Schlüter, 1997; Rodrigues et al., 2006). Z hlediska mobility a biodostupnosti Hg je významné zvláště množství a složení organické hmoty. Ta se skládá z hydrofobních sloučenin s vysokou molekulovou hmotností, které se souhrnně nazývají huminové látky a dělíme je na huminové kyseliny (HA) a fulvokyseliny (FA), a jednodušší hydrofilní sloučeniny (Hy) a hydrofobní neutrální (HON) organická hmota (Stevenson, 1994). Nicméně chemická afinita k jejím jednotlivým frakcím je různá (Milne et al., 2003). Silnou interakci Hg s huminovými kyselinami a stabilitu komplexů vysvětlují Chai et al. (2012) vysokým počtem kyslíkových ligandů přítomných v HA. Naproti tomu vyšší komplexotvornou kapacitu u fulvokyselin zajišťuje relativně vysoké zastoupení karboxylových skupin. Zdá se tedy, že FA hrají důležitou roli na počátku procesu

stabilizace množství Hg v půdě. Obecně lze ovšem říci, že vyšší množství organické hmoty zvyšuje adsorpční kapacitu půdy.

Vedle organické hmoty ovlivňuje množství mobilní rtuti také obsah síry. Vazbu rtuti na sloučeniny síry v organické hmotě blíže popsali Hesterberg et al. (2001) a Remy et al. (2006). Obě tyto práce ukázaly, že rtuť se v půdách váže na sulfidy velmi pevnou vazbou a její množství negativně koreluje právě s obsahem síry.

Dalším rozhodujícím faktorem pro sílu sorpce rtuti v půdě je pH. Na rozdíl od jiných stopových prvků, se množství mobilizovatelné rtuti snižuje při $\text{pH} < 3$ a při $\text{pH} > 12$, vzhledem k extrémně vysoké pufrací kapacitě organické hmoty, a to jak v kyselém, tak alkalickém prostředí (Kabata-Pendias a Pendias, 2001). Nicméně, v kyselých půdách se Hg váže zejména na huminové kyseliny (Schwesig et al., 1999; Zhang et al., 2009).

2.4 Vliv mikroorganismů

Je známo, že pro mobilitu a bioakumulaci je důležitá půdní organická hmota, úloha mikroorganismů v hromadění nebo transformaci rtuti však není zatím podrobněji popsána. Methylační proces s následným transportem Hg přes buněčnou membránu představuje jeden z ochranných mechanismů mikroorganismů (Wood, 1984). Již v nízkých koncentracích představuje rtuť pro mikroorganismy vážné riziko. U anorganických sloučenin rtuti mohou být účinky pozorovány již při koncentraci Hg v kultivačním mediu $5 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Boening, 2000). U organických sloučenin může být vliv pozorován již při koncentracích desetkrát nižších. Ovšem reakce půdních mikroorganismů na zvýšené hladiny Hg v půdě jsou dle dosavadních poznatků nejednoznačné a pro přesnější popis akumulace a transformace důležité.

3. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Transformace mezi jednotlivými speciemi rtuti se liší v antropogenně znečištěných půdách a půdách nekontaminovaných. Míru těchto transformací lze ovlivnit změnami vlastností půdy, fyzikálně chemickými a biologickými, zvláště pak obsahem a druhy půdních mikroorganismů.

CÍLE PRÁCE

- Vývoj analytických metod stanovení anorganických a organických specií rtuti.
- Sledování pohybu a transformace rtuti v půdním prostředí při různých podmínkách daných vlastnostmi půdy.
- Zpřesnění a kvantifikace sorpce Hg na organickou složku půdy.
- Zhodnocení vlivu obsahu a složení půdní mikroflóry na transport a přeměny jednotlivých specií rtuti.
- Modelování různých půdních vlastností a sledování případných změn v zastoupení jednotlivých specií.

4. METODIKA

4.1 Materiál

4.1.1 Půdy

Byly odebrány vzorky půd z okolí bývalé spalovny odpadů u Hradce, ve kterých byly stanoveny některé půdní parametry, například $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$ (Novozamsky et al., 1993), obsah organické hmoty (Sims a Haby, 1971) a kationtová výměnná kapacita (ISO, 1994). Byly změřeny také celkové obsahy vybraných prvků, Hg za použití jednoúčelového atomového absorpčního spektrometru AMA-254 (LECO model, Altec, Česká republika), S a Mg rentgenovou fluorescenční spektrometrií (XRF, Spectro IQ, Kleve, Germany) a ostatní prvky jako je Mg, Fe, Cu, Zn a Pb pomocí emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, Varian, VistaPro, Australia).

Pro experimenty zaměřené na půdní mikroorganismy byly odebrány vzorky půd u Příbramy, Česká republika. Toto území je známo výskytem ložisek nerostných surovin, zvláště Pb-Ag-Zn, jejich těžbou a tavením. Také u těchto vzorků byly stanovovány vybrané půdní parametry.

Inkubační experimenty byly prováděny na vzorcích půd s rozdílnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi z oblastí, které nebyly znečištěny antropogenními zdroji rtuti. Konkrétně luvizem z Hněvčevse, fluvizem z Píšťan a černozem z okolí České zemědělské univerzity v Praze.

4.1.2 Půdní aditiva

Během inkubačních experimentů byly k půdám přidávány anorganické a organické látky, které ovlivňovaly mobilitu rtuti v jednotlivých vzorcích. Jednalo se o digestát z anaerobní fermentace bioodpadu, konkrétně směs cukrové drti (50 %), ovoce (42 %) a kukuřice (8 %), dále popílek ze spalování štěpky a síran amonný.

Dále byly ve speciálních fermentorech na pokusné stanici Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU na Červeném Újezdě připraveny tři vermikomposty (Pilař, 2011) s vysokým obsahem organické hmoty, které se lišily skladbou výchozích surovin na bázi bioodpadů. Prvním byl digestát, druhý byl reprezentován směsí sídlištního bioodpadu a štěpky a třetí byl připraven ze zahradního bioodpadu.

4.2 Laboratorní experimenty

4.2.1 Frakcionace organické hmoty

Jednou z oblastí, kterou se tato disertační práce zabývá, je detailnější popis sorpce rtuti na organickou hmotu, a to konkrétně na jednotlivé její frakce. Pro tento účel byla provedena frakcionace organické hmoty podle van Zomerena a Comanse (2007) za použití pryskyřice DAX-8 (SUPELCO Analytical, USA) na huminové kyseliny (HA), fulvokyseliny (FA), hydrofilní sloučeniny (Hy)

a hydrofobní neutrální organickou hmotu (HON). Docházelo k sorpci na zmíněnou pryskyřici a pomocí slabých roztoků HCl, KOH a NaOH k následné desorpci. V každém extraktu byly poté měřeny obsahy vybraných prvků pomocí ICP-OES, v případě rtuti pak ICP-MS.

4.2.2 Inkubační pokusy

Pro posouzení intenzity sorpce rtuti na jednotlivé složky půdy byly provedeny inkubační pokusy na těchto půdách. K těm byly ve třech dávkách přidávány vermikomposty, jako kontrolní vzorky byly využity půdy bez přídatku. Vzorky byly uměle kontaminovány dvěma různými sloučeninami Hg, anorganickým chloridem rtuťnatým a organickým chloridem fenylrtuťnatým. Koncentrace přidávané Hg byla 12 mg.kg^{-1} . Inkubační pokusy probíhaly při konstantní teplotě 25°C po dobu 56 dní a během pokusu byly vzorky pro následné analýzy odebírány desetkrát.

Další fáze experimentů byla zaměřena na vliv síry na mobilitu Hg. Použity byly dvě nekontaminované půdy, luvizem a černoze jako v předchozích experimentech, které byly uměle kontaminovány HgCl_2 na koncentraci rtuti 440 mg.kg^{-1} . K takto upraveným půdám byly dodány anorganické a organické látky, digestát z anaerobní fermentace bioodpadu, popílek ze spalování štěpky a síran amonný tak, aby celkové množství S byl ve všech případech stejný. U kontrolních vzorků nebyly tyto přídatky využity. Inkubační pokusy probíhaly za konstantních podmínek při teplotě 28°C po dobu 21 dní a vzorky byly odebrány sedmkrát. V obou případech bylo hodnoceno množství biodostupné formy rtuti.

4.2.3 Sorpční experimenty

Pro podrobnější popis sorpce rtuti v půdě a vermikompostech použitých při inkubačních pokusech byly provedeny ještě sorpční experimenty. Nejprve byly provedeny loužící experimenty, které slouží k popsání kinetiky sorpce Hg na jednotlivé vzorky. Půdy i vermikomposty byly louženy v roztoku Hg s koncentrací 12 mg.kg^{-1} po dobu od 10 minut do 36 hodin. Ve všech případech bylo k 40 ml roztoku Hg přidáno 0,4 g vzorku a mícháno (250 ot/min) při pokojové teplotě po požadovanou dobu. Jako základní elektrolyt byl použit 0,01 M roztok NaNO_3 .

Na základě výsledků z loužících pokusů byly zvoleny nejvhodnější podmínky pro následující vsádkové sorpční testy. K 0,4 g každého vzorku bylo přidáno 40 ml roztoku o různých koncentracích Hg v rozmezí 1 - 21 mg.kg^{-1} . Na ICP-MS byly poté měřeny koncentrace Hg v roztoku po sorpci a vypočítány obsahy Hg v kg půdy nebo vermikompostu. Ze získaných dat byly sestrojeny dva základní modely sorpčních izoterm – Langmuirův a Freundlichův model, a porovnány maximální sorpční kapacity jednotlivých materiálů.

4.2.4 Vliv mikroorganismů

V rámci ucelenějšího popisu transformace a hromadění rtuti v půdě a její transformaci půdními mikroorganismy byly výsledky doplněny o analýzy provedené na Mikrobiologickém ústavu AV ČR, kde bylo stanoveno zastoupení jednotlivých kmenů mikroorganismů. Pro hodnocení akumulční schopnosti půdních mikroorganismů byly využity tzv. upravené rhizoboxy. V půdě z jednotlivých segmentů půdy byly stanoveny celkové obsahy rtuti, množství biodostupné Hg a ve spolupráci s Masarykovou univerzitou i zastoupení jednotlivých specií rtuti.

4.3 Analytické metody

K popisu rozložení Hg ve vzorcích odebraných u Hradce Králové bylo provedeno několik jednoduchých extrakcí a na Masarykově univerzitě v Brně jedna sekvenční, která je založena na pracích Bloom et al. (2003) a Boszke et al. (2008).

K získání mobilních frakcí byly použity tři extrakční činidla, CH₃COOH, EDTA a Na₂S₂O₃. Byl také proveden mikrovlnný rozklad v HNO₃ pomocí MLS ultraCLAVE IV (Milestone, Germany). Tímto postupem bylo získáno množství potenciálně mobilizovatelných specií rtuti.

Sekvenční extrakce se skládá z několika kroků a jako první je použit chloroform, kterým získáme množství organických sloučenin Hg. Následuje destilovaná voda – rtuť extrahovatelná vodou, 0,5 M HCl – rtuť uvolňovaná v kyselých podmínkách, 0,2 M KOH – rtuť vázaná na organickou hmotu a 50 % HNO₃, které uvolní elementární rtuť a Hg navázanou v komplexech. Reziduální Hg je vázán zvláště na S a Si. V případě sekvenční extrakce byl pro získání koncentrací Hg v roztocích využit analyzátor AMA-254.

Byla vyvinuta a ověřena analytická metoda stanovení rtuti pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Agilent 7700x, Agilent Technologies Inc., USA). Pro detekci obsahů rtuti v roztocích po jednotlivých extrakcích, bylo využito právě ICP-MS. Měření bylo vždy izotop Hg(202) a Pt(195) o koncentraci 100 µg.kg⁻¹ byl použit jako interní standard.

5. VÝSLEDKY A DISKUSE

5.1 Frakcionace a speciace Hg v kontaminovaných půdách

Extrahovatelnost Hg závisela na použitém extrakčním činidle. Pomocí HNO_3 bylo u 8 vzorků z 10 získáno 50 % z celkového obsahu Hg, v případě dvou nejvíce kontaminovaných pak 70 % a dokonce 96 %. Jednalo se o množství potenciálně mobilizovatelných specií rtuti. Také při použití $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ byl výtěžek nejvyšší u dvou nejkontaminovanějších vzorků, a to přibližně 20 % z celkového obsahu Hg. U ostatních vzorků se hodnoty pohybovaly mezi 1,2 a 3,4 %. Z toho lze usuzovat, že v místech s vyšší antropogenní kontaminací je množství rtuti vázané na S vyšší než v místech méně kontaminovaných.

Při použití chelatačního činidla EDTA se množství získané rtuti pohybovaly od 0,5 do 2 % ve všech vzorcích. Tato nízká variabilita naznačuje, že podíl Hg, která by potenciálně mohla být dostupná rostlinám, je velice podobný v místech s vysokou i nízkou mírou kontaminace Hg. Také v případě roztoku CH_3COOH byly výtěžky extrakce ve všech případech velice podobné a nepřekračovaly 0,15 % z celkového obsahu rtuti. Nízká dostupnost Hg extrakcí simulující půdní roztok nasvědčuje tomu, že rtuť je v půdě silně vázaná na sloučeniny síry nebo případně nerozpustné jílové minerály a organické látky (Rodrigues et al., 2010). Výtěžky sekvenční extrakce potvrzují výsledky jednoduchých extrakcí.

Dále bylo sledováno rozložení rtuti a některých vybraných prvků (S, Mg, Mn, Fe, Cu, Zn a Pb) v jednotlivých frakcích organické hmoty a případné korelace mezi nimi. Množství rtuti vázané na organickou hmotu nepřesáhlo u žádného vzorku 8 %. Organická hmota byla rozdělena na 4 frakce, huminové kyseliny (HK), fulvokyseliny (FK), hydrofilní sloučeniny (HS) a hydrofobní neutrální organickou hmotu (HN). Přes 45 % Hg bylo vázáno na HK, téměř 40 % na FK a 15 % na HS. V případě HN nepřesáhlo množství navázané rtuti ani ostatních sledovaných prvků 0,4 % z celkového obsahu, většinou to však bylo méně než 0,1 % a pro korelace nebyla tato frakce hodnocena.

Při hledání korelací mezi množstvími prvků navázaných v organické hmotě celkově byl nalezen významný vztah mezi rtutí a Pb nebo Zn, kde korelační koeficienty (r) dosahovaly hodnot 0,95 - 0,99. Také v případě síry byla zaznamenána silná závislost, kde $r = 0,84$. To koresponduje s faktem, že v organické hmotě není Hg vázaná přímo na uhlík, ale síru (Xia et al., 1999). U ostatních prvků (Mg, Mn a Fe) byly r se rtutí nižší než 0,5, pokud ovšem byly z výpočtů vyloučeny dva prvky s nejvyšší mírou znečištění, korelační koeficienty se zvýšily na hodnoty v rozmezí od 0,82 do 0,87 a vztahy byly nepřímě úměrné. Množství síry významně korelovalo s již zmíněnou Hg, ale také Cu, Zn a Pb. Korelační koeficienty byly vyšší než 0,8, což odpovídá tomu, že tyto prvky jsou vázány především na S (Thornton, 1981).

V případě huminových kyselin byly nalezeny velice podobné vztahy jako při hodnocení organické hmoty celkově. Pouze korelace rtuti se sírou byla méně silná (0,53). Naproti tomu u fulvokyselin byl nalezen vztah Hg pouze se S, jednalo se ovšem o zápornou korelaci (-0,86). Málo vztahů rtuti s ostatními prvky bylo objeveno také v hydrofilních sloučeninách organické hmoty. Významný byl pouze s mědí (0,85), u ostatní prvků nepřekročil 0,5.

Porovnáním korelací mezi celkovými obsahy jednotlivých prvků byl zjištěn vztah mezi Hg a Cu, Zn a Pb s korelačním koeficientem $r = 0,83$, v případě olova dokonce $r = 0,99$. Stejně vztahy byly nalezeny taky v pracích Salizzato et al. (1998) a Calace et al. 2005).

5.2 Vliv aditiv na mobilitu Hg v půdě

5.2.1 Inkubační pokusy

Byly provedeny dvě sady inkubačních pokusů. První studie byla zaměřena na vliv jednotlivých složek organické hmoty na mobilitu rtuti v půdě a vliv zdroje kontaminace, ta druhá pak hodnotila zvláště vliv síry.

Vliv zdroje kontaminace rtutí byl nejvíce patrný ve vzorcích půd bez přídavku vermikompostu. Nejmenší rozdíl v mobilní frakci rtuti uvolněné z organických nebo anorganických látek byl pozorován u fluvizemě. Je to půda s nejvyšším obsahem uhlíku a zároveň jílu. Na tuto frakci s velikostí zrna menší než 2 μm se váže nejvíce rtuti (Boszke et al. 2004). U černozemě byly rozdíly naměřeny, ovšem na konci experimentu byly obsahy mobilní rtuti velmi podobné.

Během experimentů množství mobilní rtuti stoupalo a poté klesalo. Ve většině kombinací půd a vermikompostů byl však obsah rtuti vázané v půdě stabilní po 21 dnech. Podobný časový průběh pozorovali také Bower et al. (2008) v práci, která byla zaměřena na adsorpci rtuti na pyrit. Rozdíl mezi anorganickým a organickým zdroje rtuti se projevil také v posunu maxima uvolněné rtuti. V případě organické sloučeniny k němu docházelo o několik dní později. Navíc byly na konci pokusu pozorovány nižší obsahy mobilní rtuti právě v případě organického zdroje. Lze to vysvětlit různými reakcemi jednotlivých specií Hg v půdě. Zatím co mobilita anorganické rtuti je závislá především na tvorbě komplexů s organickou hmotou, rozpustnost organické Hg závisí více na iontové výměně (Schlüter, 1997).

Při porovnávání jednotlivých vermikompostů na mobilitu rtuti byl nejvyšší vliv pozorován u vermikompostu ze zahradního bioodpadu (V3), který obsahoval nejvíce huminových kyselin a to 57,3 %. Naproti tomu u vermikompostu V2 (kuchyňský odpad a štěpka) byly nalezeny nejmenší rozdíly. Tento vermikompost obsahoval jen 45,4 % HA. To lze vysvětlit jak rozdělením rtuti mezi jednotlivé frakce organické hmoty, tak vlastnostmi těchto frakcí. Významný je především vyšší podíl

biologického rozkladu u sloučenin s nižší molekulovou hmotností a nízkou mobilitou huminových kyselin (Milne et al., 2003).

Ve druhé studii byly hodnoceny změny v mobilitě rtuti v půdě s přidavkem sloučenin obsahujících síru. U černozemě byl obsah extrahovatelné Hg nízký ve všech variantách bez ohledu na přidané látky, a to na začátku i na konci experimentu. V případě luvizemě klesal obsah extrahovatelné rtuti v průběhu pokusu a na jeho konci se dostal na úroveň dosaženou u černozemě. Znečištění půdy rtutí může snížit mikrobiální biomasu, nicméně některé bakterie se dokáží na tyto podmínky přizpůsobit (Muller et al., 2001).

Po přidání digestátu bylo pozorován nejrychlejší pokles mobility Hg, a to již během prvního dne, u popílku byl vliv nižší. V případě síranu amonného nebyl ve srovnání s neošetřenou půdou zaznamenán významný rozdíl. U černozemě byl vliv přísadků na mobilitu rtuti nižší než vliv samotné půdy, která má vyšší sorpční kapacitu a obsah organické hmoty. Z těchto výsledků plyne, že obsah S v přidaných sloučeninách nebyl řídicím faktorem imobilizace rtuti.

5.2.2 Sorpční experimenty

V rámci loužících experimentů byla pozorována velice rychlá sorpce, první fáze trvala řádově minuty a během ní byla nasorbována většina Hg. Ve druhé fázi byla sorpce pozvolná a po 12 až 18 hodinách již sorpce téměř neprobíhala, bylo dosaženo rovnovážného stavu. V případě fluvizemě a luvizemě byla rovnováha pozorována již během prvních hodin. Vysvětlením může být, že v rychlé počáteční fázi ionty Hg snadno obsadí volný prostor a naváží se na funkční skupiny. V následující pomalejší fázi mohou být ionty Hg zpomalovány difúzí do hlubších pórů (Zeroual et al., 2003; Wang et al., 2006). Výsledky naznačují, že reakce pseudo-druhého řádu popisuje kinetická data ve všech případech lépe. Tento model předpokládá, že chemická sorpce je proces omezující rychlost a že reakční rychlost je přímo úměrná počtu aktivních míst na povrchu adsorbentu (Bayramoğlu et al., 2006; Farooq et al., 2010). Druhá fáze byla výraznější u vermikompostů. Doba dosažení rovnováhy byla přibližně 18 hodin. Z použitých vermikompostů byla nejnižší sorpční schopnost zjištěna u V2 (kuchyňský odpad a dřevěné štěpky), u kterého byla změřeno nejméně TOC. Zbývající dva měly přibližně stejné TOC, nicméně u vermikompostu V3 (zahradní biologický odpad) byla pozorována silnější sorpce Hg. Tento vermikompost obsahuje nejvíce huminových kyselin. V případě půd bylo rovnovážné koncentrace Hg dosaženo po přibližně 12 hodinách, což naznačuje, že při vyšším obsahu organické hmoty je čas potřebný k dosažení rovnováhy delší (Yin et al., 1997). Nejméně navázané rtuti bylo pozorováno v případě Luvizemě s nejnižším obsahem organických látek. Naopak, nejvyšší sorpční schopnost byla zjištěna u Chernozemě s nejvyšším CEC a vysokým obsahem organických látek.

Výsledky vsádkových experimentů ukázaly, že pro naše vzorky se lépe hodí Freundlichův model a adsorpce Hg na povrch sorbentů probíhala ve více vrstvách. Intenzita sorpce byla vyšší u vzorků vermikompostů, což odpovídá také rychlejší kinetice pozorované i u loužících pokusů. Nicméně sorpce Hg na složky organické hmoty může být ovlivněna řadou faktorů. Ma et al. (2015) ukázaly, že pro tvorbu komplexů Hg v organické hmotě jsou dominantní složky obsahující aromatický C, O-alkyl C, alkyl C a karboxyl C. Velikost částic vermikompostů a půd také patří k faktorům ovlivňujícím sorpci Hg. Zatímco vzorky půdy byly homogenizovány a prosévány sítím o průměru 2 mm, vermikomposty byly rozemleté na jemné částice s nedefinovanou velikostí. Tyto rozdíly by mohly vést také k rozdílným sorpčním parametrům půd a vermikompostů. Určujícím faktorem je také množství thiolových skupin ve vzorcích, které mohou ovlivnit pohyblivost Hg (Száková et al., 2016). Jednotlivé vermikomposty se lišily obsahem síry, kdy množství S se pohybovalo mezi 0,335 a 0,590 %. V případě půd bylo nejvíce síry zjištěno v případě fluvizemě (0,128 %).

5.3 Vliv půdy kontaminované Hg na společenstva půdních mikroorganismů

V poslední práci byl hodnocen vliv mikroorganismů na mobilitu rtuti. Celkový obsah Hg v jednotlivých segmentech rhizosferní půdy se nelišil u obou úrovní kontaminace, u varianty s nižším obsahem Hg pak ani množství mobilní rtuti, extrahovatelné kyselinou octovou. Nicméně v experimentu s vyšším obsahem rtuti byl pozorován mírný pokles směrem k agarové vrstvě. Frakcionace Hg v jednotlivých segmentech rhizosferní půdy pak byla ovlivněna obsahem Hg v jednotlivých půdách. U experimentu 1, s nižším obsahem Hg, byla převládající frakcí F3, tedy semimobilní rtuť vázaná na huminové kyseliny. Ve více znečištěné půdě byla rtuť rozdělena především mezi frakce $F4 > F3 > F5$. Nejvíce tedy bylo rtuti elementární a vázané na komplexy, což bývá pozorováno u vysoce kontaminovaných průmyslových půd (Covelli et al., 2009). Vysoký podíl Hg byl také vázán na sulfidy. V experimentu 2 byla nalezena také fenylrtuť, jejíž obsah klesal se vzdáleností od agarové vrstvy. To by mohlo být vysvětleno vlivem mikrobiálních exudátů na mobilizaci organické Hg. Dále byla u pokusu s vyšší obsahem Hg zjištěna těkavá frakce rtuti, jejíž koncentrace se pohybovala mezi 13 a 20 ng.m³.

Na konci experimentu byla analyzována vrstva agaru a bylo zjištěno, že mikroorganismy dokázaly akumulovat Hg zejména v půdách s vysokou mírou kontaminace. V našem pokusu byl podrobnou analýzou společenstva mikroorganismů jako převládající kmen identifikován *Firmicutes*, kde 42 % bylo *Paenibacillus sp.* následované *Acetivibrio sp.*, *Brevibacillus sp.*, *Cohnella sp.*, *Lysinibacillus sp.*, a *Clostridium sp.*. V rámci rodu *Paenibacillus* byl nejhojnější *Paenibacillus agaridevorans*.

6. ZÁVĚR

V této práci bylo zkoumáno rozložení rtuti v půdách, její mobilita a míra sorpce a také vliv některých anorganických a organických aditiv. Dále byla zkoumána distribuce rtuti v organické hmotě, kde je rtuť vázána především na huminové kyseliny, a to až 45 % z celkového obsahu. Na rozdíl od většiny kovů je z velké části, přibližně 40 %, vázána také na fulvokyseliny, zbytek pak na hydrofilní sloučeniny. Jen méně než 0,4 % je vázán na hydrofobní neutrální organickou hmotu. Výsledky analýz ukázaly, že množství rtuti vázané na huminové kyseliny je nepřímo úměrné obsahu Mg, Mn, Fe a Cu, ovšem pouze v půdách s množstvím rtuti do 10 mg.kg⁻¹. V případě fulvokyselin byla nalezena záporná korelace mezi Hg a S ($r = -0,86$), ovšem při hodnocení organické hmoty jako celku měl vztah mezi těmito prvky pozitivní korelaci ($r = 0,84$).

Množství a kvalita organické hmoty hrají důležitou roli v mobilitě rtuti v půdě. Z výsledků inkubačních pokusů se ukázalo, že nejmenší rozdíly v množství rtuti uvolněné z anorganický a organický sloučenin byly pozorovány v případě fluvizemě. Tato půda obsahovala nejvíce organické hmoty. Z porovnání jednotlivých vermikompostů byly pak největší rozdíly v mobilitě rtuti změřeny po přidání vermikompostu ze zahradního bioodpadu, nejmenší u vermikompostu z kuchyňského odpadu a štěpky. Jednalo se o vermikomposty s nejvyšším a nejnižším obsahem huminových kyselin.

V dalších experimentech hodnotících vliv síry na sorpci rtuti bylo zjištěno, že největší imobilizační účinek z hodnocených sloučenin obsahujících S mělo přidání digestátu. Na rozdíl od popílku a síranu amonného zde k navázání Hg došlo nejenom díky zvýšení množství S v půdě, ale také vysokému obsahu organické hmoty.

Pro odhad akumulace Hg v mikrobiální biomase a nalezení vhodných mikroorganismů pro bioremediaci kontaminované půdy byly provedeny pokusy s upravenými rhizoboxy. Výsledky experimentu ukázaly, že u *Paenibacillus sp.* by bylo vhodné dále testovat jejich schopnost akumulovat, transformovat, odpařovat Hg a případně využít k bioremediacím formou bioaugmentace půdy těmito organismy.

Našimi experimenty bylo potvrzeno, že adsorpce Hg na povrch adsorbentů probíhá ve více vrstvách a u půd je intenzita sorpce rtuti vyšší než v případě vermikompostů. Na množství navázané rtuti mělo vliv také pH. Největší množství vázaného rtuti bylo zjištěno při nízkých hodnotách pH a vysokém obsahu huminových kyselin. Ukázalo se, že na chování rtuti v půdách mají větší vliv jednotlivé parametry půdy než sloučeniny obsahující síru použité k jejich ošetření, zejména sorpční kapacita půdy a obsah organické hmoty. Také vliv přídatku vermikompostu byl výraznější až po přidání násobných dávek, než jsou obecně přidávány, mobilita rtuti však díky nim byla snížena.

7. POUŽITÁ LITERATURA

- Bayramoğlu G., Tuzun I., Celik G., Yilmaz M., Arica M.Y. (2006): Biosorption of Mercury (II), Cadmium (II) and Lead (II) ions from aqueous system by microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* immobilized in alginate beads. *Int J Min Process*, 81: 35.
- Biester H., Scholz C. (1997): Determination of mercury phase in contaminated soils. Mercury pyrolysis versus sequential extractions. *Environ Sci Technol*, 31: 233.
- Boening D.W. (2000): Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review. *Chemosphere*, 40: 1335.
- Boszke L., Kowalski A., Głosińska G., Szarek R., Siepak J. (2003): Selected factors affecting the speciation of mercury in the bottom sediments: an overview. *Pol J Environ Stud*, 12: 5.
- Boszke L., Kowalski A., Siepak J. (2004): Grain size partitioning of mercury in sediments of the middle Odra River (Germany/Poland). *Wat Air Soil Pollut*, 159: 125.
- Boszke L., Kowalski A., Astel A., Barański A., Gworek B., Siepak J. (2008): Mercury mobility and bioavailability in soil from contaminated area. *Environ Geol*, 55: 1075.
- Bower J., Savage K.S., Weinman B., Barnett M.O., Hamilton W.P., Harper W.F. (2008): Immobilization of mercury by pyrite (FeS₂). *Environ Pollut*, 156: 504.
- Calace N., Ciardullo S., Petronio B.M., Pietrantonio M., Abbondanzi F., Campisi T., Cardellicchio N. (2005): Influence of chemical parameters (heavy metals, organic matter, sulphur and nitrogen) on toxicity of sediments from the Mar Piccolo (Taranto, Ionian Sea, Italy). *Microchem J*, 79: 243.
- Covelli S., Acquavita A., Piani R., Predonzani S., De Vittor C. (2009): Recent contamination of mercury in an estuarine environment (Marano lagoon, Northern Adriatic, Italy). *Estuar Coast Shelf S*, 82: 273.
- Chai X., Liu G., Zhao X., Hao Y., Zhao Y. (2012): Complexion between mercury and humic substances from different landfill stabilization processes and its implication for the environment. *J Hazard Mater*, 209: 59.
- EPA (2006): Mercury in the Environment: Sources and Health Risks, RL32420. U.S. Environmental Protection Agency.
- Farooq U., Kozinski J.A., Khan M.A., Athar M. (2010): Biosorption of heavy metal ions using wheat based adsorbents – A review of the recent literature. *Biores Technol*, 101: 5043.
- Fthenakis V.M., Lipfert F.W., Moskowitz P.D., Saroff L. (1995): An assessment of mercury emissions and health risks from a coal-fired power plant. *J Hazard Mater*, 44: 267.
- Han Y., Kingston H.M., Boylan H.M., Rahman G.M.M., Shah S., Richter R.C., Link D.D., Bhandari S. (2003): Speciation of mercury in soil and sediment by selective solvent and acid extraction. *Anal Bioanal Chem*, 375: 428.

- Hesterberg D., Chou J.W., Hutchison K.J., Sayers D.E. (2001): Bonding of Hg(II) to reduced organic sulfur in humic acid as affected by S/Hg ratio. *Environ Sci Technol*, 35, 2741.
- Houserová P., Janák K., Kubáň P., Pavlíčková J., Kubáň V. (2006): Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech – vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení. *Chem Listy*, 100: 862.
- ISO 11260 (1994): Standard of Soil Quality – Determination of Effective cation Exchange Capacity and Base Saturation Level Using Barium Chloride Solution. International Organization for Standardization.
- Kabata-Pendias A., Pendias H. (2001): Trace Elements in Soils and Plants. (3. ed.). CRC Press, USA.
- Lechler P.J., Miller J.R., Hsu L.C., Desilets M.O. (1997): Mercury mobility at the Carson River superfund site, west-central Nevada, USA interpretation of mercury speciation data in mill tailing, soils, and sediments. *J Geochem Explor*, 58: 259.
- Ma W., Zhang M., Wang R., Xin B., Guo W., Dai J. (2015) Mercury (II) Adsorption on three contrasting Chinese soils treated with two sources of dissolved organic matter: II. Spectroscopic characterization, *Soil Sediment Contam*, 24: 719.
- Milne C.J., Kinniburgh, D.G., van Riemsdijk, W.H., Tipping E. (2003): Generic NICA-Donnan model parameters for metal-ion binding by humic substances. *Environ Sci Technol*, 37: 958.
- Miretzky P., Bisinoti M.C., Jardim W.F. (2005): Sorption of mercury (II) in Amazon soils from column studies. *Chemosphere*, 60: 1583.
- Mueller A.K., Westergaard K., Christensen S., Sørensen S.J. (2001): The effect of long-term mercury pollution on the soil microbial community. *FEMS Microbiol Ecol*, 36: 11.
- Novozamsky J., Lexmond T.M., Houba V.J.G. (1993): A single extraction procedure of soil for evaluation of uptake of some heavy metals in plants. *International J Environ Anal Chem*, 51: 47.
- Pitter P. (1999): Hydrochemie. Vydavatelství VŠCHT: Praha, Česká republika.
- Remy S., Prudent P., Probst J.L. (2006): Mercury speciation in soils of the industrialised Thur River catchment (Alsace, France). *App Geochem*, 21, 1855.
- Rodrigues S., Pereira M.E., Duarte A.C., Ajmone-Marsan F., Davidson C.M., Grčman H., Hossack I., Hursthouse A.S., Ljung K., Martini C., Otabbong E., Reinoso R., Ruiz-Cortés E., Urquhart G.J., Vrščaj B. (2006): Mercury in urban soils: A comparison of local spatial variability in six European cities. *Sci Total Environ*, 368: 926.
- Rodrigues S.M., Henriques B., Coimbra J., Ferreira da Silva E., Pereira M.E., Duarte A.C. (2010): Water-soluble fraction of mercury, arsenic and other potentially toxic elements in highly contaminated sediments and soils. *Chemosphere*, 78: 1301.

- Salizzato M., Pavoni B., Ghilardini A.V., Ghetti P.F. (1998): Sediment toxicity measured using *Vibrio fischeri* related to the concentrations of organic (PCBs, PAHs) and inorganic (metals, sulphur) pollutants. *Chemosphere*, *36*: 2949.
- Schlüter K. (1997): Sorption of inorganic mercury and monomethyl mercury in an iron–humus podzol soil of southern Norway studied by batch experiments. *Environ Geol*, *30*: 266.
- Schwesig D., Ilgen G., Matzner E. (1999): Mercury and methylmercury in upland and wetland acid forest soils of a watershed in Ne-Bavaria, Germany. *Wat Air Soil Pollut*, *113*: 141.
- Sims J.R., Haby V.A. (1971): Simplified colorimetric determination of soil organic matter. *Soil sci*, *112*: 137.
- Stevenson F. J. (1994): *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions* (2. ed.). New York, NY, USA.
- Thornton I. (1981). Geochemical aspects of the distribution and forms of heavy metals in soil. In N. W. Leep (Ed.), *Effect of heavy metal pollution on plants: metals in the environment*, vol. II. UK: London and New Jersey: Applied Sciences Publishing.
- Ullrich S.M., Tanton T.W., Abdrashitowa S.A. (2001): Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Crit Rev Environ Sci Technol*, *31*: 241.
- van Zomeren A., Comans R.N.J. (2007): Measurement of Humic and Fulvic Acid Concentrations and Dissolution Properties by a Rapid Batch Procedure. *Environmen Sci Technol*, *41*: 6755.
- Wang Y., Mu Y., Zhao Q. B., Yu H. Q. (2006): Isotherms, kinetics and thermodynamics of dye biosorption by anaerobic sludge. *Sep Purif Technol*, *50*: 1.
- Wood J.M. (1984): Alkylation of metals and the activity of metal-alkyls. *Toxicol Environ Chem*, *7*: 229.
- Xia K., Skyllberg U.L., Blead W.F., Bloom R.P., Nater E.A., Helmke P.A. (1999): X-ray absorption spectroscopic evidence for the complexation of Hg(II) by reduced sulfur in soil humic substances. *Environ Sci Technol*, *33*: 257.
- Yin Y., Allen H.E., Huang C.P. (1997): Kinetics of Mercury(II) Adsorption and desorption on Soil. *Environ Sci Technol*, *31*: 496.
- Zeroual Y., Moutaouakkil A., Dzairi F.Z., Talbi M., Chung P.U., Lee K., Blaghen M. (2003): Biosorption of mercury from aqueous solution by *Ulva lactuca* biomass. *Biores Technol*, *90*: 349.
- Zhang J., Dai J., Wang R., Li F., Wang W. (2009): Adsorption and desorption of divalent mercury (Hg²⁺) on humic acids and fulvic acids extracted from typical soils in China. *Colloid Surfaces A*, *335*: 194.

8. SEZNAM PUBLIKACÍ

- Šípková A., Száková J., Coufalík P., Tlustoš P. (2012): The effectivity of various extraction agents to release mercury from anthropogenically contaminated soils. 5th International Symposium on Biosorption and Bioremediation (BioBio) 41-44.
- Šípková A., Száková J., Tlustoš P. (2013): Affinity of Selected Elements to Individual Fractions of Soil Organic Matter. *Water, Air and Soil Pollution*, 225: 1802. DOI: 10.1007/s11270-013-1802-z.
- Šípková A., Száková J., Coufalík P., Zvěřina O., Kacálková L., Tlustoš P. (2014): Mercury distribution and mobility in contaminated soils from vicinity of waste incineration plant. *Plant, Soil and Environment*, 60: 87-92.
- García-Sánchez M., Šípková A., Száková J., Kaplan L., Ochečová P., Tlustoš P. (2014): Applications of organic and inorganic amendments induce changes in the mobility of mercury and macro- and micronutrients of soils. *The Scientific World Journal*. DOI: 10.1155/2014/407049.
- Száková J., Havlíčková J., Šípková A., Gabriel J., Švec K., Baldrian P., Sysalová J., Coufalík P., Červenka R., Zvěřina O., Komárek J., Tlustoš P. (2016): Effects of the soil microbial community on mobile proportions and speciation of mercury (Hg) in contaminated soil. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 51: 364-370. DOI: 10.1080/10934529.2015.1109413.
- Šípková A., Száková J., Hanč A., Tlustoš P. (2016): Mobility of mercury in soil as affected by soil physicochemical properties. *Journal of Soils and Sediments*, 16: 2234-2241. DOI: 10.1007/s11368-016-1420-7.
- Šípková A., Šillerová H., Száková J., Tlustoš P. (2017): The sorption abilities of soils 1 and vermicomposts for mercury. Podáno do *Environmental Earth Sciences*.