

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta životního prostředí**

**Katedra geoenvironmentálních věd**



## **Bakalářská práce**

**Frakcionace kovů a polokovů v půdách ošetřených  
elementárním nanoželezem**

Vedoucí práce: Ing. Zuzana Vaňková, Ph.D.

Bakalant: Vilém Bodlák

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Vilém Bodlák

Aplikovaná ekologie

Název práce

**Frakcionace kovů a polokovů v půdách ošetřených elementálním nanoželezem**

Název anglicky

**Fractionation of metals and metalloids in soils amended with nano zerovalent iron**

### Cíle práce

Cílem bakalářské práce je formou literární rešerše shrnout hlavní poznatky týkající se rizikových prvků v životním prostředí a hlavních faktorů řídících frakcionaci a mobilitu těchto prvků v půdě. Bude také shrnuto využití elementárního nanoželeza (nZVI) v půdách kontaminovaných kovy a polokovy.

V experimentální části práce bude nZVI a sulfidované nZVI (S-nZVI) vmícháno do kontaminované půdy a inkubováno v polních podmínkách po dobu 1 den až 5 měsíců. Se vzorky z vybraných časových intervalů bude provedena metoda BCR sekvenční extrakce, na jejímž základě bude vyhodnocena frakcionace přítomných kontaminantů a její změny po přidání zvolených stabilizačních činidel.

### Metodika

1. Rešerše je vypracována na základě ověřených literárních zdrojů.
2. Kontaminovaná půda obohacená o nZVI/S-nZVI je inkubována v polních podmínkách a změny ve frakcionaci kovových kontaminantů jsou zhodnoceny na základě provedených extrakčních testů.
3. Výsledná data jsou zpracována a vyhodnocena. K získaným výsledkům je vypracována odpovídající diskuze a jsou vyvozeny jasně formulované závěry.

## **Doporučený rozsah práce**

30 – 40 stran dle potřeby

## **Klíčová slova**

sekvenční extrakce, stabilizace, imobilizace, kadmium, olovo, zinek

---

## **Doporučené zdroje informací**

- Gleyzes, C., Tellier, S., Astruc., M., 2002. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: A review of sequential extraction procedures. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 21, 451-467.
- Komárek, M., Vaněk, A., Ettler, V., 2013. Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides – A review, *Environmental Pollution* 172, 9-22.
- Nováková, T., Kotková, K., Elznicová, J., Strnad, L., Engel, Z., Grygar, M. T., 2015, Pollutant dispersal and stability in a severely polluted floodplain: A case study in the Litavka River, Czech Republic. *Journal of Geochemical Exploration* 156, 131-144.
- Templeton, D. M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L.-G., Muntau, H., Van Leeuwen, H. P., Łobinski, R., 2000. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and method approaches. *Pure Applied Chemistry* 72, 1453-1470
- Tiberg, Ch., Kumpiene, J., Gustafsson, J. P., Marsz, A., Persson, I., Mench, M., Kleja, D. B., 2016. Immobilization of Cu and As in two contaminated soils with zero-valent iron – Long-term performance and mechanisms. *Applied Geochemistry* 67, 144-152.

---

## **Předběžný termín obhajoby**

2022/23 LS – FŽP

## **Vedoucí práce**

Ing. Zuzana Vaňková, Ph.D.

## **Garantující pracoviště**

Katedra geoenvironmentálních věd

Elektronicky schváleno dne 27. 3. 2023

**prof. RNDr. Michael Komárek, Ph.D.**

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 27. 3. 2023

**prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.**

Děkan

V Praze dne 29. 03. 2023

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma: Frakcionace kovů a polokovů v půdách ošetřených elementárním nanoželezem, vypracoval samostatně a citoval jsem všechny informační zdroje, které jsem v práci použil a které jsem rovněž uvedl/a na konci práce v seznamu použitých informačních zdrojů. Jsem si vědom, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, především ustanovení § 35 odst. 3 tohoto zákona, tj. o užití tohoto díla. Jsem si vědom/a, že odevzdáním bakalářské/závěrečné práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a to i bez ohledu na výsledek její obhajoby. Svým podpisem rovněž prohlašuji, že elektronická verze práce je totožná s verzí tištěnou a že s údaji uvedenými v práci bylo nakládáno v souvislosti s GDPR.

V Praze dne 31.3.2023

\_\_\_\_\_

### **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval své vedoucí Ing. Zuzaně Vaňkové, Ph.D., za vždy vstřícný přístup, ochotu a odborné rady, své rodině, svým blízkých a své milé za podporu v době nejpotřebnější. Tato práce byla podpořena Grantovou agenturou ČR – projekt 21-23794J – „Porovnání účinnosti inovativních nanosorbentů pro kovy a metaloidy v půdách kontaminovaných hutní činností: Geochemický a ekotoxikologický přístup“.

# Frakcionace kovů a polokovů v půdách ošetřených elementárním nanoželezem

## Abstrakt

Aluviální oblast řeky Litavky u Příbrami je vysoce kontaminovaná vlivem intenzivní těžby a zpracování rud během 18. až 20. století. Rizikové prvky jako je kadmium, arsen, zinek, olovo, chrom a rtuť se tak vyskytují ve vysokých koncentracích v půdě. Tyto prvky mohou způsobovat vážné zdravotní problémy, a proto je třeba je stabilizovat. Jelikož se ale prvky vyskytují v různých formách, nelze přímo určit jejich rizikovost z celkové koncentrace v půdě. Jedním ze způsobů stabilizace rizikových prvků je využití elementárního nanoželeza (nZVI). Aplikací tohoto činidla přímo do kontaminované půdy vznikají v krátkém časovém intervalu různé oxidy železa, které mají schopnost na sebe rizikové prvky vázat. Tato práce se zabývá chováním a mobilitou těchto prvků v půdním prostředí, metodou jejich stabilizace a frakcionací těchto prvků podle vazeb v půdě. Experimentální část se zabývá dvěma různými typy nZVI. Jedním je nZVI a druhým sulfidované nZVI (S-nZVI). Tato činidla jsou aplikována do půdy a frakcionace kontaminantů je sledována v pěti inkubačních intervalech od 1 týdne do 5 měsíců. Pro rozdělení prvků do frakcí byla využita BCR sekvenční extrakce. Oba typy nZVI se prokázaly jako vhodná činidla pro stabilizaci kadmia a zinku. Byl zaznamenán pokles koncentrace obou prvků v nejmobilnější frakci a zvýšení koncentrace vazeb na nově vniklé oxidy železa. Po aplikaci činidel se snížilo množství olova vázaného na oxidech železa a manganu. Naopak bylo zaznamenáno zvýšení koncentrace olova v organické hmotě a sulfidech. Obě použitá činidla zapříčinila rozpuštění oxidů manganu v půdě. Z krátkodobého hlediska se projevilo nZVI jako vhodnější stabilizační činidlo než S-nZVI. S narůstajícím časem byl tento trend opačný.

**Klíčová slova:** kontaminace, nZVI, speciace, sekvenční extrakce, rizikové prvky

# Fractionation of metals and metalloids in soils amended with nano zerovalent iron

## Abstract

The alluvial area of Litavka river close to Přebram city is highly contaminated due to intensive mining and ore processing from the 18th to 20th century. Heavy metal(loid)s such as cadmium, arsenic, zinc, lead, chromium, and mercury are highly concentrated in this soil. These metal(loid)s may cause serious health issues, therefore it is necessary to stabilize them. Because these substances are present in many forms, it is impossible to determine their toxicity just based on the total digestion. One option for metal(loid)s stabilization is the use of nano zero-valent iron (nZVI). By applying this amendment straight into the soil, various iron oxides are formed, that can subsequently bind targeted metal(loid)s. This thesis is focused on the behavior and mobility of contaminating metal(loid)s in soils, methods of stabilization, and their fractionation based on the type of bounding in soil. The experimental part is focused on the use of the two types of nZVI. The first one is the standard bare nZVI, while another one is sulfidated nZVI (S-nZVI). Amendments are applied to the soil and let to incubate for five different incubating times ranging from 1 week to 5 months. Standardized BCR sequential extraction was used to separate present metal(loid)s into fractions. Both types of nZVI successfully stabilized cadmium and zinc. A decrease in their concentrations in the most mobile fraction and an increase in fraction bound to iron and manganese oxides were recorded. The concentration of lead in fraction bound to iron and manganese oxides decreased after the application of the amendments. On the other hand, an increase in lead concentration bound to organic matter and sulfides was recorded. Both amendments caused the dissolution of manganese oxides in soil. The nZVI was a more suitable stabilizing agent than S-nZVI in a short time scale. This trend was the opposite with the increasing time of the experiment.

**Keywords:** contamination, nZVI, speciation, sequential extraction, risk elements

# Obsah

<b>1. Úvod.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Cíle práce.....</b>	<b>2</b>
<b>3. Literární přehled.....</b>	<b>3</b>
3.1 Rizikové prvky a jejich vliv na člověka .....	3
3.1.1 Kadmium.....	3
3.1.2 Arsen.....	4
3.1.3 Olovo.....	5
3.1.4 Rtuť .....	5
3.1.5 Chrom .....	6
3.1.6 Zinek .....	6
3.1.7 Měď.....	7
3.2 Mobilita rizikových prvků .....	7
3.2.1 Mechanismy řídicí mobilitu rizikových prvků.....	8
3.2.2 Faktory ovlivňující mobilitu kovů .....	9
3.3 Půdní remediace.....	10
3.3.1 Využití elementárního nanoželeza .....	11
3.3.2 Povrchové úpravy nZVI.....	11
3.4 Frakcionace rizikových prvků.....	12
3.4.1 Celková koncentrace rizikových prvků.....	12
3.4.2 Speciace .....	12
3.4.3 Frakcionace .....	13
3.4.4 Sekvenční extrakce .....	13
<b>4. Experimentální část .....</b>	<b>16</b>
4.1 Materiál a metody .....	16
4.1.1 Sběr půdy .....	16
4.1.2 Základní půdní charakteristiky.....	16
4.1.3 Inkubační experiment.....	16
4.1.4 Sekvenční extrakce .....	17
4.1.5 Statistické vyhodnocení .....	17
4.2 Výsledky .....	17
4.2.1 Kadmium.....	19
4.2.2 Olovo.....	23
4.2.3 Zinek .....	27
4.2.4 Mangan .....	31
4.3 Diskuze .....	32
<b>5. Závěr.....</b>	<b>34</b>
<b>6. Seznam použitých zdrojů .....</b>	<b>35</b>



## 1. Úvod

Rizikové prvky jako je například kadmium, rtuť, olovo nebo zinek se vlivem zemědělství a průmyslové činnosti jako je zpracování rud, těžba či galvanizace uvolňují do okolního prostředí. Tím dochází ke zvýšení koncentrace nebezpečných látek v podzemních vodách, vzduchu a půdě. Důsledkem vyšší koncentrace rizikových prvků dochází k jejich přesunu do živé složky přírody. Účinek těchto prvků v organismech může být od malých až po letální, způsobují poruchy růstu rostlin, omezují funkci enzymů, zapříčiňují vznik rakoviny, poruchy trávicího systému až smrt. Z výše uvedených důvodů je tedy třeba najít efektivní řešení, které tyto rizikové prvky v životním prostředí stabilizuje a zabrání jim tak vstupu do organismů. Jedním z těchto řešení je využití elementárního nanoželeza aplikovaného přímo do kontaminované půdy.

## 2. Cíle práce

Cílem této práce je shrnout vlastnosti rizikových prvků v půdě, příčiny a mechanismy jejich mobility, jejich toxicitu a vliv na životní prostředí. Dále pak popsat remediaci elementárním nanoželezem. Poslední částí literární rešerše je potom shrnutí způsobů stanovení výskytu rizikových prvků v definovaných frakcích dle vazby v půdě. Cílem experimentální části je vyhodnotit vliv stabilizačních činidel nZVI a S-nZVI na imobilizaci rizikových prvků v kontaminované půdě po různých časech inkubace. Pro zjištění frakcionace kontaminujících prvků bude využita standardizovaná sekvenční extrakce.

### 3. Literární přehled

#### 3.1 Rizikové prvky a jejich vliv na člověka

V přírodě se vyskytuje okolo třiceti stěžejních prvků, které hrají klíčovou roli pro biochemické a fyziologické mechanismy živých organismů. Tyto prvky jsou běžně označovány jako esenciální. V případě kovů a polokovů může být jejich příjem problematický. Drtivá většina z nich je pro člověka toxická, a to i kovy esenciální, v případě, že dojde ke zvýšení jejich příjmu. Rizikové prvky mohou narušit fungování biochemických procesů, což vede ke zvýšení rizika v oblasti zdraví pro organismy. Rostliny a živočichové přijímají tyto prvky a jejich sloučeniny z půdy, usazenin, vody, v potravě nebo v podobě vzduchem přenášených částic a kovových par. Příjem stopových prvků jako je železo (Fe), zinek (Zn) nebo měď (Cu) v jejich iontové formě zajišťuje normální tělesné funkce, například syntézu metaloproteinů (hemoglobinu). Jejich předávkováním ovšem dochází k nežádoucím účinkům. Zvýšený příjem železa má u lidí přímou souvislost s depozicí oxidů železa a Parkinsonovou chorobou. Příjem rizikových prvků je také iniciačním krokem vzniku rakoviny u člověka. Mezi rizikové prvky se řadí například kadmium (Cd), olovo (Pb), arsen (As) a rtuť (Hg). Evropské země vydávají velké množství finančních prostředků ke kontrole jídla, pití a jejich balení, aby nedošlo k potenciálnímu pozření většího množství těchto prvků (Mudgal et al., 2010).

##### 3.1.1 Kadmium

Všechny sloučeniny kadmia jsou pro člověka toxické. Vznikají při industriálních procesech jako je galvanické pokovování oceli, výroba nikel-kademnatých baterií, kontrolních tyčí a štítů v jaderných reaktorech nebo jako součást stabilizátorů PVC. Absorpce kadmia se zvyšuje působením vápníku (Ca) a vitamínu D. Vnitřní orgány, jako jsou například játra, obsahují nejvíce kadmia. Člověk absorbuje zhruba 5 % přijatého kadmia. Denní příjem kadmia činí 25-60  $\mu\text{g}$  na 70 kg živé váhy člověka. Tabák (*Nicotiana*) a tabákové výrobky obsahují vysoké množství kadmia. Obsah kadmia v tabáku je zhruba 1-2  $\mu\text{g/g}$ . Přibližně 10 % inhalovaného oxidu kademnatého ( $\text{CdO}$ ) se ukládá v plicní tkáni a dalších 30–40 % se absorbuje do krevního řečiště. Uživatelé tabáku mají čtyřikrát až pětkrát vyšší obsah kadmia v krvi než nekuřáci. Kadmium je kumulativní a karcinogenní kov, který ovlivňuje funkci

ledvin, má různé toxické efekty v lidském metabolismu, poškozují pohlavní orgány a endokrinní žlázy. Dlouhodobá expozice kadmíem má za následek morfolopatologické změny v ledvinách. Vystavení kadmia má také za následek vyšší vylučování vápníku (Ca), což vede k postupnému křehnutí kostí. Zvýšený příjem zinku (Zn) zmírňuje renální toxicitu kadmia. Kadmium a jeho sloučeniny jsou klasifikovány IARC (International Agency for Research on Cancer) ve Skupině 1 karcinogenů pro člověka (Mudgal et al., 2010).

### 3.1.2 Arsen

Arsen je ve své elementární formě (As<sub>0</sub>) považován za polokov. Arsen je hojně využíván v nejrůznějších oblastech, jako je například pyrotechnika, výroba solárních panelů, polovodičů, světelných diod, laserů nebo pesticidů. Arsen se vyskytuje v krevním řečišti v rozsahu od 1,5 do 2,5 µg/l, v moči mezi 20 až 50 µg/l. V přírodě se běžně nachází ve sloučeninách s ostatními látkami jak v organické, tak anorganické formě. Anorganické sloučeniny jsou považovány za jedovatější než organické. Oxid arsenitý (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) je nejběžnější anorganická sloučenina As ve vzduchu. Arseničnany (AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, soli kyseliny trihydrogenarseničné) a arsenitany (AsO<sub>2</sub><sup>-</sup>, soli kyseliny arsenité) se vyskytují ve vodě, půdě a v jídle. Arsen má největší koncentraci v tělech mořských živočichů. U ryb na vrcholu potravního řetězce dosahuje As koncentrace až 250 µg/g. Zhruba 80-95 % celkového arsenu je přítomno ve formě organických sloučenin (arsenolipidy, arsenosacharidy apod.), a proto nepůsobí žádné nežádoucí účinky. Otrava arsenem u lidí je spojena nejčastěji s náhodným pozřením prachových sloučenin arsenu nebo jeho roztokem, vypitím kontaminované vody nebo pozřením kontaminovaného jídla, případně úmyslnou otravou. Otrava arsenem se projevuje hypertenzí, vážnými dopady na kardiovaskulární systém a při vysokých dávkách poškozením jater. Existuje spojitost mezi vystavením arsenem a cukrovkou 2. typu. Anorganický arsen se projevuje také kožními ekzémy, otokem v oblasti očí, nevynuceným potracením a poškozením nervového systému (Mudgal et al., 2010).

### 3.1.3 Olovo

Olovo (Pb) je využíváno hojně k výrobě baterií, v zubním lékařství na výrobu plomb, ve zbrojním průmyslu jako munice, v nemocničním zařízení jako ochrana před RTG zářením, v jaderných reaktorech, barvách, historicky také k produkci tetraethylolova jako antidetonačního činidla v pohonných hmotách. Oxidy olova jsou používány v achromatických čočkách. Olovo se do organismů dostává mnohými způsoby, např. vdechnutím olověného prachu z barev, či zbytkového odpadu z výfukových plynů. Olovo je přijímáno rostlinami z půdy, může se šířit i kontaminovat vodu, kde vchází do akvatického potravního řetězce. Kosmetický průmysl je dalším zdrojem kontaminace olovem. Olovo je toxický kov a většina lidí a zvířat přijímá největší dávku v potravě. Do jídla se dostává olovo z výroby (plechovky, konzervy apod.). Množství absorbovaného olova závisí na věku člověka. Nejvíce náchylnými jsou děti do šesti let v důsledku neúplného vývinu mozku. Hematologické a neurologické poruchy se proto objevují častěji u mladších jedinců. Olovo způsobuje poruchy erythropoézy (vzniku a vývinu červených krvinek) a hemoglobinu. Chronické vystavení olovem má rakovinotvorný účinek na člověka, způsobuje rozmnožovací problémy u mužů, snižuje inteligenci a dochází ke vzniku anémie (Mudgal et al., 2010).

### 3.1.4 Rtuť

Rtuť (Hg) a její sloučeniny jsou vysoce jedovaté, mezi nejkritičtější sloučeniny patří methylrtuť, která je silným neurotoxinem. Rtuť je kvůli svému širokému rozšíření v atmosféře považována za globální polutant. Rtuť se používá k výrobě amalgámů (sloučeniny rtuti s jinými kovy), jako náplň do teploměrů a barometrů a k produkci PVC. V přírodě se vyskytuje jako minerál cinabarit (rumělka, HgS). Nemoc Minamata, způsobená methylrtutí, zapříčinila smrt tisíců jedinců v Japonsku po pozření kontaminovaných ryb v 50. a 60. letech minulého století. Elementární rtuť se oxiduje na rtuťnaté ionty ( $\text{Hg}^{2+}$ ), které se snadno ukládají v ledvinách (Mudgal et al., 2010).

### 3.1.5 Chrom

Chrom (Cr) je jedním z esenciálních prvků pro člověka. Existovat může v různé mocnosti od  $\text{Cr}^{-2}$  až do  $\text{Cr}^{+6}$ . V přírodě se ovšem vyskytuje ve dvou mocnostech – těmi jsou  $\text{Cr}^{3+}$  a  $\text{Cr}^{6+}$ . Zatímco trojmocný chrom se vyskytuje přirozeně, výskyt šestimocného chromu v životním prostředí je z největší části zapříčiněn lidskou činností. Chrom se hojně využívá ve vícero průmyslech – například textilním, galvanickém a metalurgickém. Největší využití má chrom jako součást legovaných ocelí (Shekhawat et al., 2015). Do lidského těla se dostává chrom více způsoby – orálně, dermálně či inhalací. Jako esenciální se považuje pouze  $\text{Cr}^{3+}$ , zatímco  $\text{Cr}^{6+}$  je toxický. Trojmocný chrom je součástí mnoha doplňků stravy a multivitaminů (Desmarias a Costa, 2019). Šestimocný chrom má silné oxidační vlastnosti a snadno se dostává do krevního řečiště. Zde se redukuje a vytváří v okolí takzvaný oxidativní stres, který poškozuje okolní tkáně, lipidy i DNA. Důsledkem poškození DNA dochází ke zvýšení pravděpodobnosti vzniku rakoviny. Největší riziko představuje inhalace a s ním spojená rakovina plic (Shekhawat et al., 2015).

### 3.1.6 Zinek

Zinek (Zn) se taktéž považuje v menším množství za esenciální prvek pro člověka. Zinek je hojně využíván v textilním, metalurgickém a chemickém průmyslu. Zinek se využívá k pokovování jiných kovů za účelem snížení koroze, na výrobu mosazi a dnes již méně často i galvanických článků. Získává se především ze sulfidu zinečnatého (sfalerit). V přírodě se vyskytuje běžně v oxidačním stavu  $\text{Zn}^{2+}$ . Zinek je nezbytnou součástí správného fungování mnoha proteinů v lidském těle. Zajišťuje správnou funkci imunitního systému, pohlavních orgánů a zraku. Doručená denní dávka zinku je 5 až 13 mg/den. Vyšší dávky zinku mohou ovšem být pro člověka toxické. Do lidského těla se zinek může dostat více způsoby – inhalací, dermálně, orálně. Vdechnutí zinku není příliš běžné, dochází k němu například při inhalaci industriálních par, projevuje se horečkami, dušností, bolestí hrudníku apod. Přímý kontakt s kůží může vyvolat korozivní efekt, který má za následek vytvoření nejrůznějších vředů a puchýřů. Pozření zinku nemá přílišný negativní vliv na člověka, při větších koncentracích dochází ke zvracení, závratím a průjmu. Větší problémy může způsobit například fosfid zinku ( $\text{Zn}_3\text{P}_2$ ), který se využívá jako rodenticid.

V žaludku reaguje s vodou a kyselinami za vzniku fosfanu ( $\text{PH}_3$ ), který při velkých dávkách může způsobit i smrt (Nrigau, 2007).

### 3.1.7 Měď

Měď (Cu) je považována za esenciální prvek. Je využívána v metalurgickém průmyslu, jako součást slitin, kosmetice, zbrojním průmyslu, elektroprůmyslu nebo jako součást „kočičího zlata“, které se využívá jako náhražka ve šperkařství (Gaetke et Chow, 2003). Přirozeně se vyskytuje ve dvou oxidačních stavech  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Cu}^{1+}$ . Rostliny ji v menší míře potřebují ke správnému růstu a vývoji, ať už v morfologických, fyziologických nebo biochemických procesech. Měď zajišťuje správné fungování enzymů, fotosyntézy a dýchání. Na druhou stranu, pokud je mědi příliš mnoho, má negativní vliv například na klíčení, růst a vývoj rostlin (Mír et al., 2021). U člověka je taktéž potřebná pro vitální procesy, například správné fungování enzymů. V menší míře se vyskytuje v nejrůznějších buňkách a tkáních, nejvyšší koncentrace mědi je potom v játrech. Příjem mědi u člověka je silně ovlivněn dietou, bohaté na měď jsou například játra, ústřice, ořechy nebo sušené ovoce. Absorpce mědi závisí na mnoha faktorech, především na oxidačním stavu a příjmu jiných kovů. Zinek, železo, molybden, vápník nebo fosfor narušují absorpci mědi. Ačkoliv se měď běžně váže na proteiny, může se uvolnit a katalyzovat tvoření reaktivních hydroxyl radikálů, které způsobí oxidativní stres v těle. Zvýšený příjem mědi postihuje nejdříve játra, kde se měď ukládá a způsobuje cirhózu, následně zasahuje ledviny, mozek a jiné orgány (Gaetke et Chow, 2003).

## 3.2 Mobilita rizikových prvků

Aby se rizikové prvky mohly dostat do živé sféry, musí se vyskytovat v určitých formách. Kovy se v přírodě vyskytují v nejrůznějších formách a jen některé jsou pro člověka dostupné a vstřebatelné. Mobilita rizikových prvků v půdním prostředí závisí na mnoha jeho fyzikálně-chemických charakteristikách, jako jsou sorpční vlastnosti, oxidační stav, redoxní potenciál i hodnota pH (Violante et al., 2010). Kovy a polokovy jsou taktéž obsaženy v organické části půdy jako zbytek po organickém rozkladu. Voda poskytuje vhodné prostředí pro pohyb kovů ve formě roztoků mezi půdou a organismy v ní. Mobilita rizikových prvků se řídí čtyřmi základními mechanismy. Těmi jsou – kationtová výměna, adsorpce, srážení a komplexace (Rieuwerts et al., 1998).

## 3.2.1 Mechanismy řídící mobilitu rizikových prvků

### 3.2.1.1 Kationová výměna

Kationová výměna je závislá na velikosti záporného náboje na povrchu koloidních roztoků půdy. Záporně nabitá část půdy přitahuje pomocí elektrostatických sil kladné ionty prvků, ty se vyměňují s kationy v okolí. Jedná se tedy o výměnu kladně nabitých část z okolí a půdního roztoku. Poprvé byl tento jev popsán již v roce 1850. Byl využit jednoduchý princip protékání síranu amoného ve vodném roztoku skrz půdu a na konci byl detekován síran vápenatý. Půda tedy vstřebala amonné ionty a naopak uvolnila iony vápenaté. Tento proces bývá reversibilní (Thompson, 1850, Evans, 1989).

### 3.2.1.2 Adsorpce

Adsorpce je proces, při kterém se chemická substance kumuluje na rozhraní dvou fází. Pokud je jedna fáze pevná a druhá kapalná, pevná fáze se nazývá adsorbent a kapalná adsorbát. Adsorpce může vznikat buď pomocí elektrostatických přitažlivých sil nebo chemicky (sdílením elektronů). Adsorpci můžeme rozdělit na dva typy – jedním je nespecifická adsorpce a druhým specifická. Nespecifická adsorpce funguje na principu hromadění ionů na fázovém rozhraní díky slabým přitažlivým silám (vodíkové můstky, Van der Waalsovy síly). K tomuto jevu dochází velice rychle a stejně tak mohou tyto slabé vazby rychle zmizet a může opět dojít k uvolnění ionů do prostředí. Specifická adsorpce funguje ovšem na principu pevnější, kovalentní vazby. K povrchu se přiblíží látka a pomocí správného prostorového uspořádání molekul dojde k fixaci na dané místo pomocí chemické vazby. Ke specifické adsorpci tedy dochází pouze na určitých, prostorově omezených místech. Tento proces bývá stálý a pro jeho zrušení by bylo třeba vynaložit množství energie (Sposito, 2004).

### 3.2.1.3 Srážení

Kovy se mohou imobilizovat v půdě také srážením s anionty (nejčastěji fosforečnany, uhličitany nebo sírany). Další z možností je vytvoření kovového hydroxidu odstraněním  $\text{OH}^-$  skupiny z roztoku (Basta et Tabatabai, 1992).



#### 3.2.1.4 Komplexace

Poslední z možností je komplexace kovového iontu s organickými či anorganickými ligandy. Komplexní organické ligandy jsou například kyselina šťavelová, kyselina citronová a huminové látky. Huminové látky efektivně vážou například měď a olovo. Anorganické ligandy jsou nejčastěji hydroxidy a chloridové iony (Evans, 1989, Alberts et Filip, 1998).

### 3.2.2 Faktory ovlivňující mobilitu kovů

#### 3.2.2.1 pH

Hodnota pH se považuje za jeden z nejdůležitějších faktorů ovlivňující mobilitu kovů. Obecně se sloučeniny kovů stávají při nízkém pH rozpustnější a při vyšším naopak. V kyselém prostředí převažuje adsorpce nad srážením. V neutrálním pH je jako dodatečný imobilizační způsob považována komplexace (Alloway et al., 1988). V případě polokovů, především arsenu, je mobilita vlivem pH také ovlivněna. Při vysokém pH dochází ke stabilizaci arsenu, zatímco při nižší hodnotě pH se arsen značně mobilizuje a stává se dostupnějším pro organismy (Bednar et al., 2005, Prieto et al., 2018).

#### 3.2.2.2 Redoxní potenciál

Redoxní reakce jsou reakce, při nichž dochází k výměně elektronů mezi látkami. Jedna látka elektron dává (oxiduje se) a druhá elektron přijímá (redukuje se). Půdy s nedostatkem vody a dostatečným přístupem kyslíku mají vysoký redoxní potenciál, zatímco vlhké půdy s vysokým obsahem organické hmoty mají redoxní potenciál nižší (Evans, 1989). Redoxní potenciál přímo ovlivňuje mobilitu arsenu. Při nízkém redoxním potenciálu má arsen tendenci vytvářet nebezpečnější formy s oxidačním stavem  $As^{3+}$  (Ascar et al., 2008). Například mobilita kadmia je také ovlivněna velikostí redoxního potenciálu. Nízký redoxní potenciál zapříčiňuje rozpouštění oxidů železa a manganu, které na sebe vážou kadmium a tím pádem dochází s jejich rozpouštěním k uvolnění navázaného kadmia (Kulsum et al., 2023).

### 3.2.2.3 Struktura půdy

Rozpustnost a mobilita kovů je dána i typem půdy. Typ půdy se určuje dle velikosti částic a jejich propustnosti. Jedná se o jílovité, hlinité a písčité půdy. Jílovité půdy mají největší schopnost adsorpce. Například kadmium je v písčitých půdách dostupnější pro rostliny než v jílovitých (Eriksson, 1989).

### 3.2.2.4 Obsah organických sloučenin

Organická hmota se nejvíce nachází na povrchu půdy, především kvůli rozkladu rostlin. Přestože je v poměru organické hmoty v půdě malé množství, má velký vliv na vázání kovů. Organické sloučeniny v půdě jsou huminy, huminové kyseliny a fulvonové kyseliny.

Kovy v půdách se na tyto látky vážou jak pomocí iontové výměny (adsorpce), tak i pomocí komplexace (Rieuwerts et al., 1998).

### 3.2.2.5 Přítomnost oxidů železa a manganu

Oxidy železa a manganu se v půdách vyskytují buď na povrchu fylosilikátů nebo jako krystaly. Jedná se o důležité sloučeniny, schopné na sebe vázat a tím imobilizovat většinu rizikových prvků pomocí sorpce. V půdách se obecně vyskytuje větší množství oxidů železa než manganu, přesto jsou oxidy manganu efektivnější v imobilizaci rizikových prvků (Chao et Theobald, 1976, Phuengprasop et al., 2011).

## 3.3 Půdní remediace

Pojem remediace je odvozen z latinského „remediere“, což lze přeložit jako léčit či napravit. V praxi se jedná o snahu imobilizovat, stabilizovat či jiným způsobem zabránit dostupnosti nebezpečných látek pro organismy. Půdní systém je ovšem složitý, rizikové prvky jsou zastoupeny v různých oxidačních formách, v různých koncentracích, mění se typ půdy, svažitost apod. Z těchto důvodů je třeba použít efektivní systém remediace (Cundy et al., 2008).

Způsobů remediace je více – fyzikálně-chemické či biologické. Biologické využívají schopnosti organismů snížit mobilitu nebezpečných látek (například změnou oxidačního stavu), je jednoduchá, levná, ale velmi specifická. Příkladem fyzikálně-chemické metody může být např. remediace pomocí nanočástic elementárního železa ( $Fe^0$ ). Tyto postupy jsou využívány v oblastech, kde se rizikové prvky vyskytují ve

větších koncentracích a mohou ohrozit zdraví lidí i rostlin. Kontaminace půdy rizikovými prvky je zapříčiněna především lidskou činností, ale také přirozeným rozkladem hornin a sopečnou činností (Tiberg et al., 2016).

### 3.3.1 Využití elementárního nanoželeza

Elementární nanoželezo (nZVI – z anglického nano zero valent iron) je využíváno ve formě částic či suspenzí a je aplikováno přímo do kontaminované půdy. Zde dochází k prudké reakci za vzniku (hydr)oxidů železa (např. ferihydrit), které mají velký povrch a vysokou sorpční kapacitu. Díky jejich různému povrchovému napětí a vysokému počtu reaktivních hydroxylových skupin jsou schopny adsorbovat jak kationty, tak anionty. Tato sorpce je závislá na pH, při nižším pH jsou snáze navázány anionty, při vyšším pH pak kationty. Při střední hodnotě pH dochází k sorpci kationtů i aniontů. Dále pak mohou být rizikové prvky vysráženy pomocí nově vzniklých (hydr)oxidů železa. Základní faktory ovlivňující tyto reakce, a tím stabilizační kapacitu nZVI, jsou pH, redoxní potenciál, množství přítomné vody, mikrobiální aktivita a krystalinita vzniklých oxidů železa (Komárek et al., 2013).

### 3.3.2 Povrchové úpravy nZVI

Samotné elementární nanoželezo je vysoce reaktivní, což může mít i negativní důsledek při remediaci. Kvůli vysoké reaktivitě dochází k příliš rychlým reakcím a nemusí dojít k úplné stabilizaci nežádoucích rizikových prvků. Ke zpomalení oxidace nZVI je proto využíváno různých povrchových úprav (Dong et al., 2014).

Povrch může být upraven například organickými stabilizátory (polyelektrolyty, biopolymery, emulzifikátory, konkrétně třeba kyselinou polyakrylovou, polymeru karboxymethylcelulózy, škrobu, guarové gumy apod.), které ve výsledku poskytují sterické stabilizace a elektrostatické odpuzování (Dong et al., 2014). Tyto úpravy vedou ke zlepšení mobility, a tím i zabránění hromadění nZVI na malém prostoru po aplikaci do půdy či vodních roztoků (Saleh et al., 2008).

Jednou z možností je i sloučení síry a nZVI. Vzniklý sulfid železnatý je využíván k odstranění rizikových prvků jako je arsen, chrom a rtuť z kontaminovaných vod a půd. Oba prvky v sulfidu železnatém ( $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{S}^{2-}$ ) se chovají jako redukční činidla, čímž akcelerují redukci rizikových prvků. Sulfidace nZVI

thiosíranem sodným, síranem sodným nebo dithioničitanem sodným zvyšuje elektronovou vodivost, zpomaluje rychlost oxidace železa a tím prodlužuje životnost nZVI (Jie et al., 2018).

### **3.4 Frakcionace rizikových prvků**

#### **3.4.1 Celková koncentrace rizikových prvků**

Pro stanovení celkové koncentrace rizikových prvků v půdě je běžně využíván rozklad půdy pomocí lučavky královské (směs kyseliny chlorovodíkové a dusičné). Tato kombinace kyselin však nerozloží půdu celkově, byla by potřeba využít směs kyseliny fluorovodíkové, dusičné, sírové a chloristé pro kompletní rozklad. Pro různé typy půdy jsou využívány různé postupy a směsi kyselin pro co nejpřesnější celkový rozklad. Využití správné metody rozkladu může mít tedy vliv na finální výsledek celkové koncentrace (Hseu et al., 2002).

#### **3.4.2 Speciace**

Protože se chemické prvky vyskytují v různých izotopech, oxidačních stavech, přechodných stavech, různých konformacích, jsou součástí komplexních sloučenin, ať už organických i anorganických apod., mají také různé vlastnosti. Rozložení těchto forem v přírodě se říká speciace prvku, jednotlivým formám potom specie. Z těchto důvodů nelze jednoznačně určit toxicitu rizikových prvků pouze z celkové koncentrace v půdě. Zjistit ovšem koncentraci jednotlivých specií prvku může být obtížné. Samotný proces analýzy často ovlivňuje rozložení koncentrací specií, například úprava pH, potřebná k analýze, mění prostředí, a tím mění i zastoupení specií prvků. Dalším příkladem je situace, kdy je potřeba zkoumaný vzorek oddělit nebo převést do komplexu, aby byl změřen. Dokonce i v idealizovaném prostředí, kde je komplexační reakce velmi selektivní, může dojít k chybám, pokud se ve vzorku objevují specie, které se mohou přeměnit na zkoumanou formu.

V některých případech jsou specie dostatečně stabilní, aby byly přímo zjištěny (například tetraethylolovo či arsenobetain). To ovšem neznamená, že je speciace prvku ve zkoumaném vzorku známa, pouze koncentrace konkrétních specií. Pro přímou determinaci labilních specií v přirozeném prostředí je zapotřebí neinvazivní metoda jako je přímá spektroskopie nebo potenciometrické měření, které nenarušuje vzorek (Templeton et al., 2000).

### 3.4.3 Frakcionace

V mnoha případech je ovšem nemožné určit koncentraci jednotlivých specií. Proto je využíváno postupů, kdy se uplatní frakcionace do jednotlivých tříd, které mají podobné vlastnosti. Těmi mohou být velikost, rozpustnost, elektronová afinita, náboj, hydrofobie apod.

Frakcionace může být například pouhá filtrace či chromatografie. Stávající metody frakcionace poskytují jako výsledek koncentraci prvků ve frakcích, kterými jsou frakce volné, oxidovatelné, redukovatelné.... Zbylá část (reziduální) je měřena pomocí celkového rozkladu. Pro frakcionaci kovů a polokovů v půdách je používána speciální analýza (Templeton et al., 2000, Fujian et al., 2018).

Přestože přímé koncentrace specií prvků nejsou z praktického hlediska dosažitelné, využití frakcionačních metod poskytuje užitečné informace ke stanovení reálného rizika přítomnosti toxických prvků.

### 3.4.4 Sekveční extrakce

Techniky používané pro porozumění frakcionaci prvků v půdách jsou založeny na aplikaci postupných selektivních chemických extrakcí, nazývaných také „speciální schémata“. Tyto metody jsou založeny na použití vícero vybraných reaktantů za účelem cíleně rozložit různé mineralogické frakce, které jsou zodpovědné za zadržování větších částí rizikových prvků. Tato schémata byla ale kritizována pro svou nejednotu v postupech, nedostatečně selektivní reaktanty, výsledky závislé na využití metodě apod.

Jednou z nejvíce využívaných metod frakcionace je schéma dle Tessiera et al. (1979). Tato metoda rozděluje přítomné rizikové prvky do pěti základních geochemických frakcí. Těmi jsou vyměnitelná frakce, frakce vázaná na uhličitany (rozpuštná v kyselinách), frakce vázaná na oxidy železa a manganu (redukovatelná), frakce vázaná na organickou hmotu (oxidovatelná) a reziduální frakce (Gleyzes et al., 2002).

#### 3.4.4.1 Vyměnitelná frakce

Rizikové prvky extrahované v tomto kroku zahrnují slabě sorbované specie, především ty, které byly vázány slabými přitažlivými silami nebo ty, které byly mobilizovány kationtovou výměnou. Reaktanty pro tuto frakci bývají především roztoky solí silných kyselin a zásad nebo slabých kyselin a slabých zásad při hodně pH 7. Nejvíce populární reaktant je chlorid hořečnatý, kdy  $Mg^{2+}$  iony mají silnou vyměnitelnou kapacitu, zatímco  $Cl^-$  má slabou komplexační schopnost. Tento reaktant nerozkládá organickou hmotu, křemičitany ani sulfidy. Octan amonný je další z možností k uvolnění vyměnitelné frakce. Aby ovšem nedošlo k přílišné změně pH, je využíván jen v nízké koncentraci (Gleyzes et al., 2002).

#### 3.4.4.2 Frakce rozpustná v kyselinách

Tato frakce je citlivá na změny pH a uvolňuje kovy při pH okolo 5. Běžně využívaná je proto pufrovaná kyselina octová/octan sodný. Rizikové prvky v této frakci jsou přítomny jako specificky sorbované látky na jílových částicích, organické hmotě, oxyhydroxidech železa a manganu nebo jako součást uhličitanů. Snížením pH z původních 7 na 5 se také uvolní zbylé specificky adsorbované rizikové prvky v předchozí frakci. Pokud je ovšem ve vzorku větší množství uhličitanů, nedochází k jeho úplnému rozpuštění a je třeba upravit poměr vzorku nebo koncentraci reaktantu. V případě vysoké kontaminace olovem je v této frakci možnost použít – namísto kyseliny octové – EDTA (kyselinu ethylendiamintetraoctovou), protože je schopna lépe rozpustit organickou hmotu, na kterou se olovo váže (Gleyzes et al., 2002).

#### 3.4.4.3 Frakce vázaná na (oxy)hydroxidy železa a manganu (redukovatelná)

Protože tyto (oxy)hydroxidy mají vlastnost na sebe vázat rizikové prvky, jejich rozpuštěním se rizikové prvky jednoduše uvolňují. Pomocí úpravy Eh a pH reaktantů může být rozpuštěna většina těchto (oxy)hydroxidů. Reaktant musí tedy mít schopnost rozpustit různé typy oxidů železa a manganu, ať už amorfni, tak i krystalické. Nejčastěji používaným reaktantem je hydroxylamin s úpravou pH pomocí kyseliny dusičné či kyseliny octové. Další z možností je využití kyseliny šťavelové namísto hydroxylaminu, která má taktéž uvolnit rizikové prvky, díky své vysoké komplexační schopnosti s železem. Poslední z možností je využití dithioničitanu sodného jako reaktantu. Tento reaktant velice dobře rozpouští oxidy železa při pH 7-8. Jelikož je ale

dithioničitan často znečištěn zinkem při komerční výrobě, je třeba ho před použitím ještě složitě vyčistit (Gleyzes et al., 2002).

#### 3.4.4.4 Oxidovatelná frakce

Rizikové prvky se vyskytují taktéž v organické složce půdy nebo jako kation sulfidů. V půdních systémech jsou nejčastěji tyto prvky přítomny v komplexních huminových látkách, ale mohou se také vyskytovat v peptidech, proteinech, aminokyselinách, tucích nebo voscích. V oxidačních podmínkách mají organické látky tendenci se degradovat, což vede k uvolnění rizikových prvků. Jako běžné reaktanty se používají peroxid vodíku nebo chlornan sodný. Peroxid vodíku je použit v kombinaci se zředěnou kyselinou dusičnou a je zahříván po několik hodin. Protože má peroxid vodíku redukční vlastnosti, mohl by redukovat oxid manganičitý. Z tohoto důvodu se využívá peroxid až po rozpuštění kovových oxidů ve frakci redukovatelné. Chlornan sodný jako oxidační činidlo má dobrou schopnost rozložit organickou hmotu a sulfidy v zásaditém prostředí. Jelikož je ale velmi nestabilní a reaguje velice rychle, je potřeba tento rozklad udělat vícekrát za sebou (Gleyzes et al., 2002).

#### 3.4.4.5 Reziduální frakce

Minerály, které obsahují rizikové prvky ve své krystalické mřížce, spadají do této frakce. Jejich rozpuštění se provádí pomocí silných kyselin – kyselina dusičná, chloristá, fluorovodíková, chlorovodíková (Gleyzes et al., 2002).

#### 3.4.4.6 BCR sekvenční extrakce

Protože existuje mnoho různých způsobů frakcionace rizikových prvků v půdách, mnoho reaktantů a všechny přinášejí odlišné výsledky, vznikla standardizovaná metoda frakcionace – BCR (European Community Bureau of Reference). V prvním kroku je využita 0,11 mol/L kyselina octová, ve druhém 0,5 mol/L hydroxylamoniumchlorid okyselený 2 mol/L kyselinou dusičnou, ve třetím kroku 8,8 mol/L peroxidu vodíku a ve čtvrtém se provede celkový rozklad lučavkou královskou (Gleyzes et al., 2002).

## **4. Experimentální část**

### **4.1 Materiál a metody**

#### **4.1.1 Sběr půdy**

Aluviální oblast kolem řeky Litavky v okrese Příbram je kontaminovaná historickou těžbou a zpracováním a tavením rud (hlavně v 18. až 20. století). Jedná se především o stříbro, olovo, zinek. Lokální kontaminace je velmi dobře zdokumentována (Nováková et al., 2015). Protože v době industriální revoluce nebyl přílišný zájem a znalosti o enviromentálních dopadech, patří tato oblast k lokalitám nejvíce postiženým kontaminací půd a vod v Evropě (Kotková et al., 2019). Vzorky půdy pro experiment byly odebrány z aluvia řeky Litavky severně od vesnice Trhové Dušníky.

#### **4.1.2 Základní půdní charakteristiky**

Půda byla odebrána z vrchní vrstvy (0-25 cm) a následně přenesena do laboratoře České zemědělské univerzity v Praze na Suchdole. Část půdy byla zhomogenizována, vysušena a proseta skrze 2 mm nerezové síto za účelem zjištění základních fyzikálně-chemických vlastností. Celkový obsah uhlíku (TOC – total organic carbon) byl změřen uhlíkovým analyzátozem TOC-L CPH (Shimadzu, Japonsko) a rovnal se 2,15%. Pro zjištění pseudocelkového obsahu prvků byl vzorek rozložen lučavkou královskou (9 mL HNO<sub>3</sub> + 3 mL HCl) s použitím mikrovlnného záření (Multiwave PRO, Anton Paar, Rakousko) (USEPA 3052) a následně byl změřen celkový obsah prvků pomocí optické emisní spektrometrie indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES; Agilent 730, Agilent Technologies, Spojené státy americké). Standardní referenční materiál 2710a Montana Soil I (NIST, USA) byl použitý pro kontrolu kvality. Všechny použité chemikálie byly v analytické kvalitě.

#### **4.1.3 Inkubační experiment**

Inkubační experiment byl proveden za účelem studia vlivu dvou materiálů na bázi nZVI na imobilizaci kovů a polokovů v kontaminovaných půdách. Aluviální půda určená pro experiment byla nejprve přesunuta na experimentální pole na Praze 6 - Suchdol. Zde byla půda smíchána se suspenzí povrchově neupraveného nZVI (Nanofer 25, NANOIRON, Česká republika) nebo sulfidovaného nZVI (S-nZVI,



Nanofer 25S, NANOIRON, Česká republika) v poměru 2,5 % (hmotnost nZVI/hmotnost suché půdy). Byla také připravena kontrolní varianta bez přídavku nZVI. Vzorky s přídavkem i bez přídavku nZVI byly inkubovány v terénních podmínkách po různou dobu od jednoho dne až po pět měsíců. Pro každý časový interval bylo zhruba 2,5 kg čerstvě připravené směsi vloženo do plastových trubek o výšce 25 cm a průměru 10 cm. Tyto trubky byly ve vertikální poloze naplněny půdou a dolní část byla překryta přichyceným kouskem geotextilie. Pro každý inkubační interval byla připravena samostatná nádoba, celkově tedy 15 nádob – tři druhy úpravy (kontrolní, nZVI a S-nZVI) a 5 inkubačních intervalů (1 den, 1 týden, 1 měsíc, 3 měsíce a 5 měsíců). Naplněné nádoby byly zakopány do půdy tak, aby povrch směsi byl ve stejné úrovni jako okolní půda.

Po uplynutí jednotlivých intervalů byly nádoby opět vyjmuty, půda zhomogenizována a vzorky byly vysušeny a uloženy pro pozdější zkoumání. Aktivní a výměnné pH bylo změřeno v roztoku s vodou nebo 1M KCl (ISO 10390:2005).

#### **4.1.4 Sekvenční extrakce**

Pro zjištění vlivu aplikovaných stabilizačních činidel na frakcionaci kovů a polokovů v ošetřených půdách byla použita hojně používaná BCR sekvenční extrakce (Rauret et al., 2000). Toto extrakční schéma je určeno k rozdělení kovových fází do čtyř frakcí, závislých na jejich rozpustnosti a typu vazby v půdě – těmi jsou 1) frakce vyměnitelná, rozpustná ve vodě a kyselinách, 2) redukovatelná frakce, 3) oxidovatelná frakce a 4) reziduální frakce.

#### **4.1.5 Statistické vyhodnocení**

Výsledky z extrakcí byly dále statisticky vyhodnoceny pomocí programu SigmaPlot 14.0 (StatSoft Inc., USA). Získaná data byla zpracována pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) při  $p < 0,05$  s využitím Tukeyho testu.

### **4.2 Výsledky**

Cílem experimentu bylo zjistit efektivitu imobilizace a stabilizace rizikových prvků v kontaminovaných půdách pomocí dvou různých činidel (nZVI a S-nZVI) v pěti různých inkubačních dobách. Následně byly výsledky uspořádány do jednotlivých frakcí podle jejich vazby v půdním prostředí.

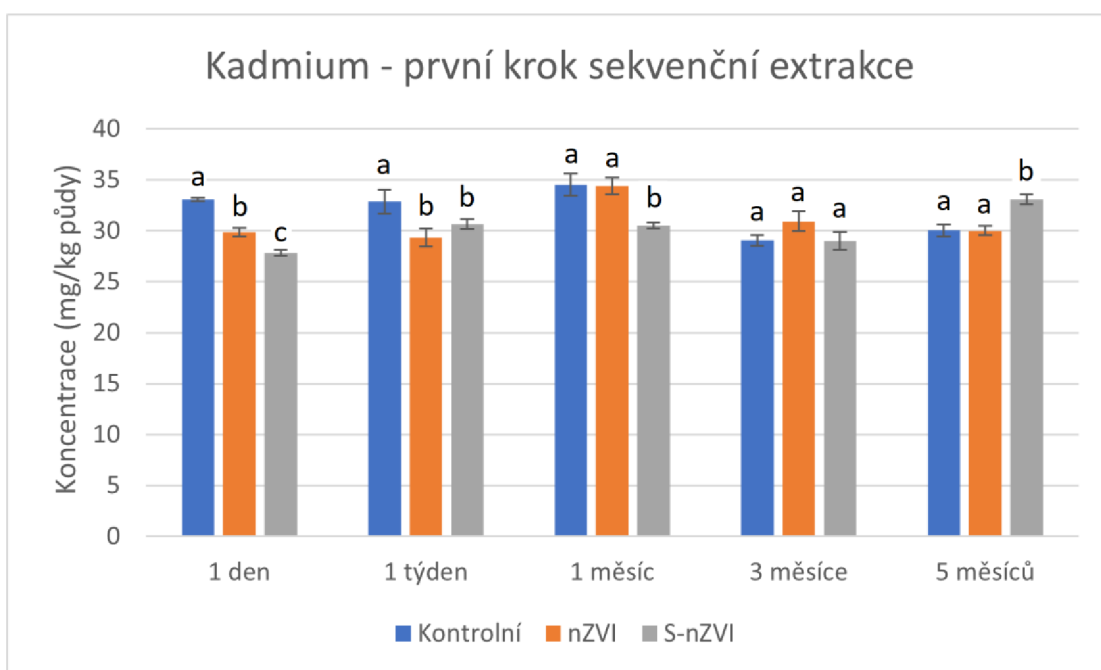
V první řadě byla půda rozložena lučavkou královskou pro zjištění celkových koncentrací a tyto hodnoty byly následně porovnány s limitními koncentracemi rizikových prvků v půdách podle vyhlášky Ministerstva životního prostředí č. 437/2016 Sb. Z výsledků (Tab. 1) vyplývá, že ve zkoumané lokalitě je mnohonásobně vyšší koncentrace arsenu, kadmia, olova a zinku. Lehce vyšší je přítomna koncentrace mědi a v limitních mezích jsou zastoupeny nikl, kobalt a vanad. Chování prvků v koncentracích pod limitem proto nebylo zkoumáno.

Tabulka 1 – Limitní koncentrace rizikových prvků (v mg/kg půdy) (n=3)

	Běžné půdy	Zkoumaná oblast
Arsen	20	164 ± 67
Kadmium	0,5	47,3 ± 1,7
Chrom	90	68,9 ± 2,9
Měď	60	71,6 ± 1,8
Nikl	50	20,0 ± 0,7
Olovo	60	4620 ± 148
Zinek	120	4580 ± 20
Kobalt	30	18,5 ± 0,4
Vanad	130	73,4 ± 0,2

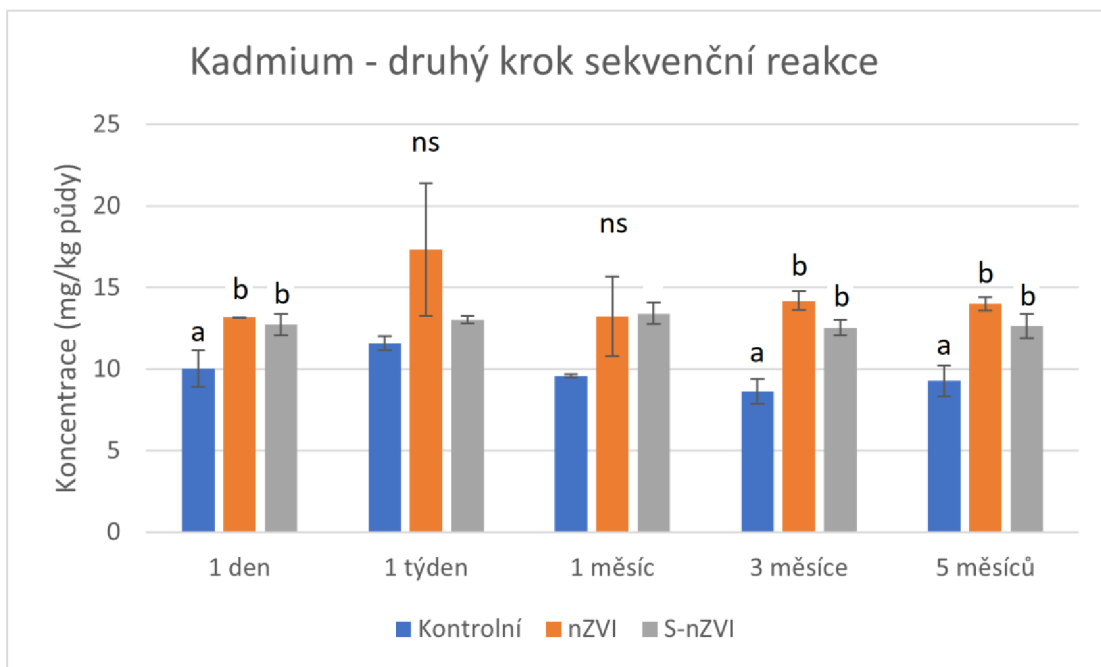
### 4.2.1 Kadmium

V první frakci – frakce vyměnitelná, rozpustná ve vodě a kyselinách – byl zjištěn pozitivní vliv nZVI i S-nZVI na stabilizaci kadmia (Obr.1). Jak nZVI, tak i S-nZVI efektivně imobilizuje tuto nejvíce rizikovou frakci především v prvním dni až jednomu měsíci po aplikaci. S delší dobou inkubace jejich účinnost ovšem slábne. Po třech měsících inkubace je v této frakci po aplikaci nZVI mírně vyšší koncentrace kadmia než kontrolní vzorek, S-nZVI vykazuje podobný trend až v měsíci pátém.



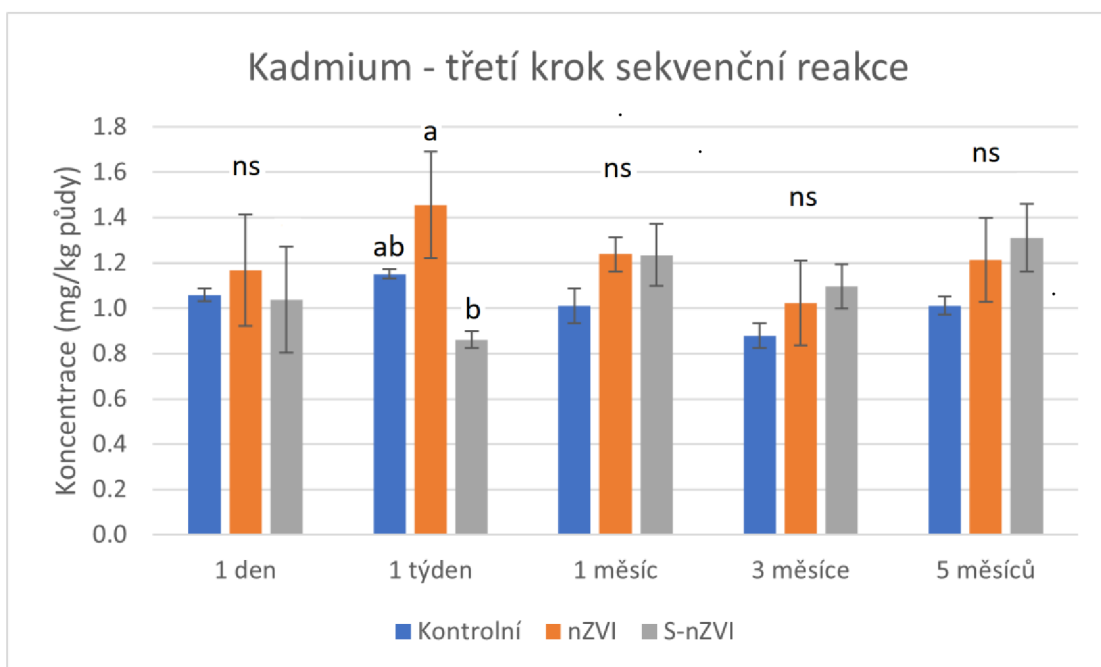
Obrázek 1 – Množství kadmia ve frakci vyměnitelné, rozpustná ve vodě a kyselinách. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

V druhém kroku – frakce redukovatelná – (Obr. 2) je vidět, že se značná část kadmia úspěšně navázala na nově vzniklé (oxy)hydroxidy železa. Tím došlo ke stabilizaci kadmia v půdě. I po delší době inkubace je tento trend stabilní. Samotné nZVI vykazuje mírně vyšší množství kadmia v redukovatelné frakci oproti S-nZVI.



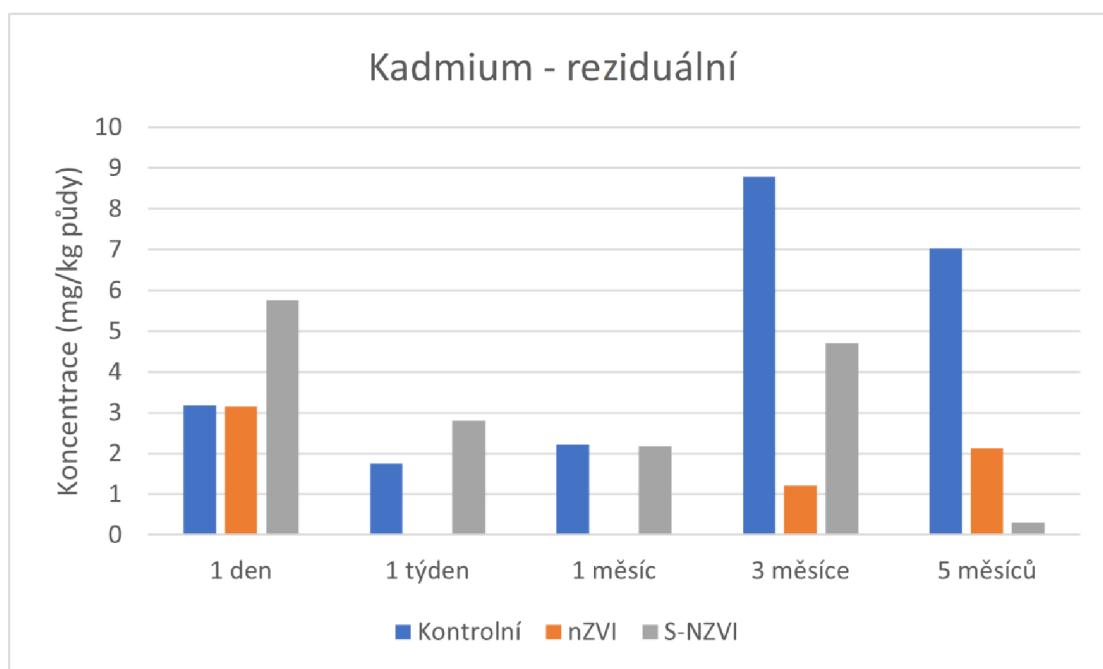
Obrázek 2 – Množství kadmia v redukovatelné frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

Ve třetí frakci – frakce oxidovatelná – (Obr. 3) opět dochází k imobilizaci při aplikaci nZVI i S-nZVI. Kadmium vázané na organickou hmotu se při extrakci uvolnilo, především s rostoucí dobou experimentu. Z dlouhodobého hlediska je S-nZVI efektivnější pro stabilizaci kadmia přítomném v organické části půdy.



Obrázek 3 – Množství kadmia v oxidovatelné frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

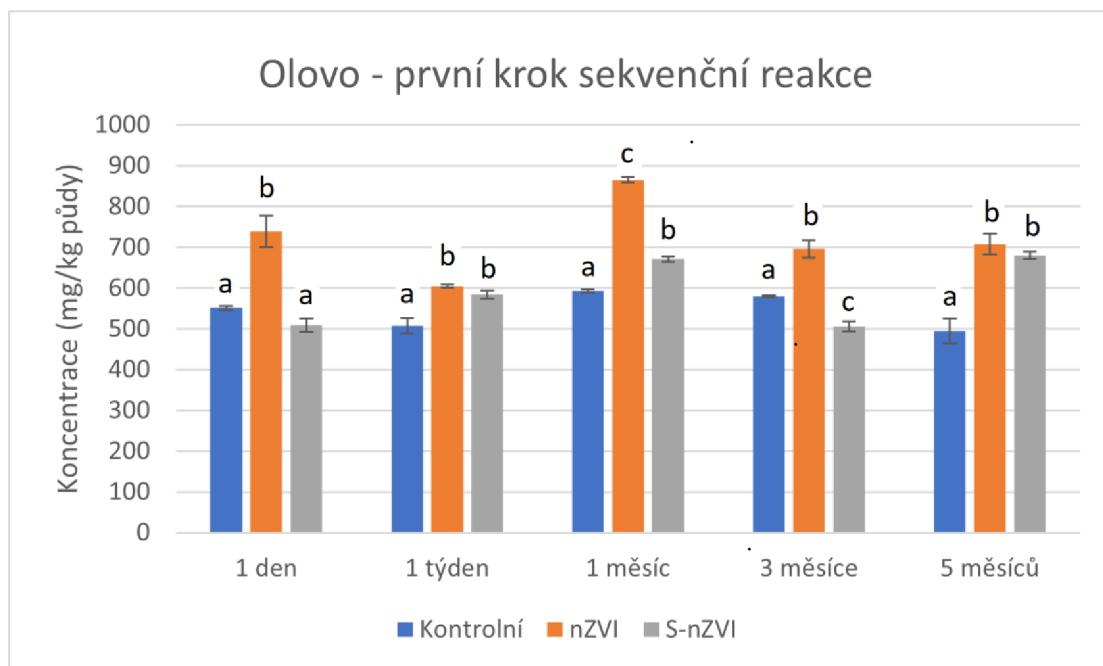
V reziduální frakci (Obr. 4) se kadmium v této půdě nevyskytuje téměř vůbec, jediný nárůst byl pozorován ve třetím a pátém měsíci experimentu.



Obrázek 4 – Množství kadmia v reziduální frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo.

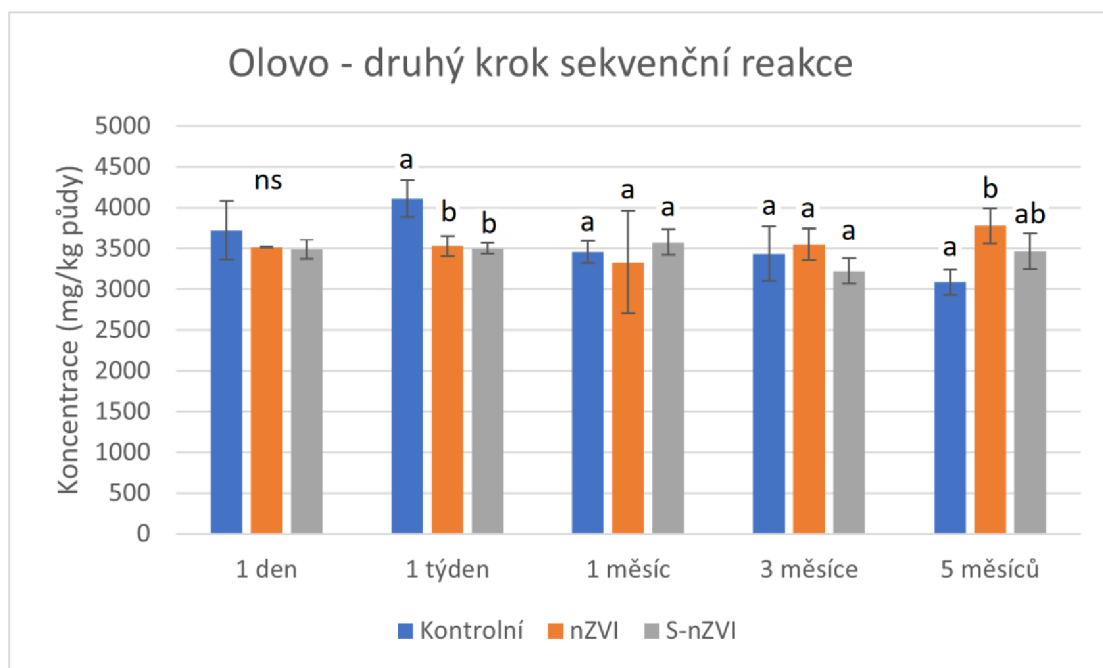
## 4.2.2 Olovo

Ve frakci rozpustné ve vodě a kyselinách (Obr. 5) byly zaznamenány mírně vyšší koncentrace olova při ošetření půdy nZVI a S-nZVI. Z dlouhodobého hlediska je tento trend stabilní.



Obrázek 5 – Množství olova ve frakci vyměnitelné, rozpustná ve vodě a kyselinách. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

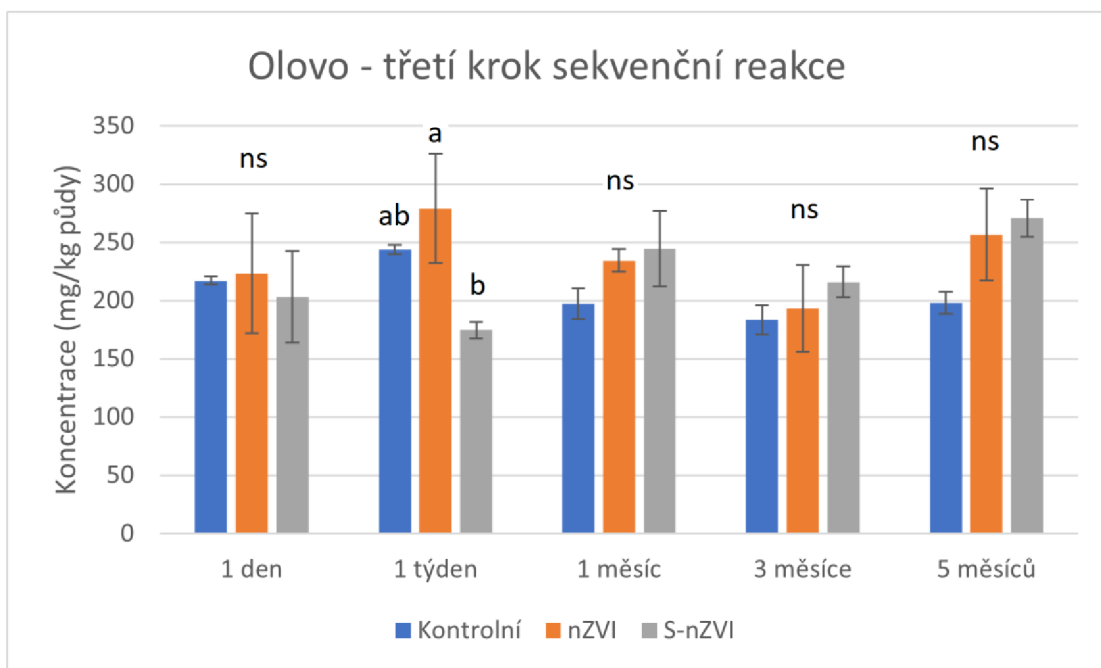
Ve frakci redukovatelné (Obr. 6) došlo v prvním týdnu k poklesu koncentrace olova adsorbovaného na oxidy železa a manganu při ošetření nZVI i S-nZVI, což značí, že se přesunulo do jiné frakce. S pozdější dobou inkubace se tento trend obrací.



Obrázek 6 – Množství olova v redukovatelné frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

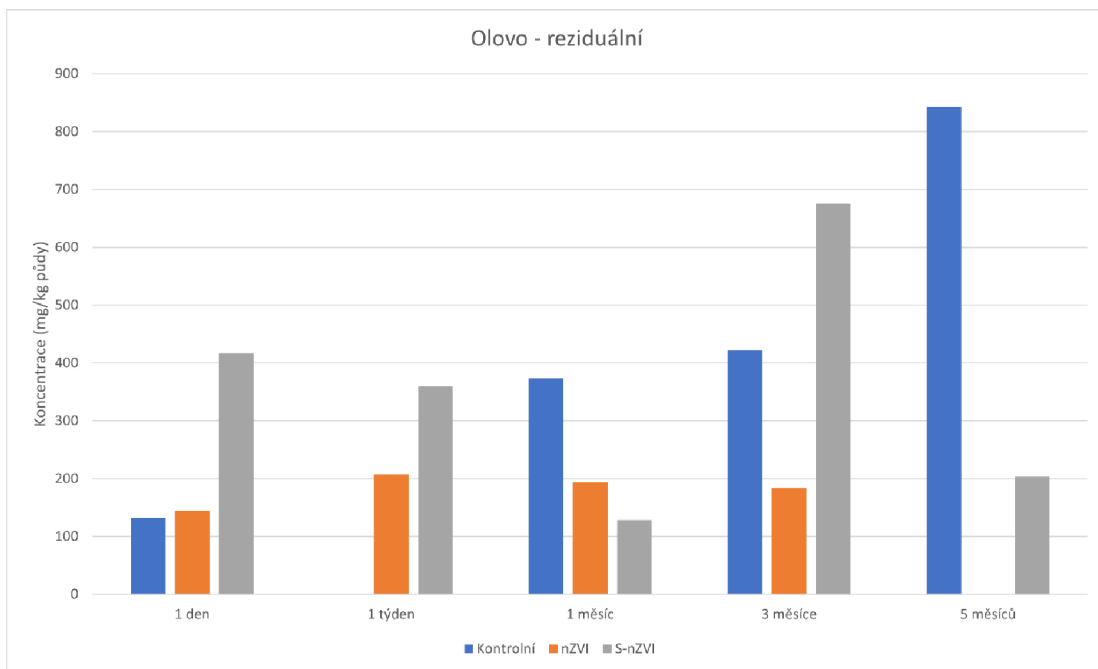


Olovo v oxidovatelné fázi (Obr. 7) se stabilizovalo na organickou hmotu v půdě a sulfidy. Tento jev je patrný především v delším časovém intervalu. S-nZVI poskytuje lepší schopnost poutat olovo, zřejmě díky vytvoření sulfidů.



Obrázek 7 – Množství olova v oxidovatelné frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

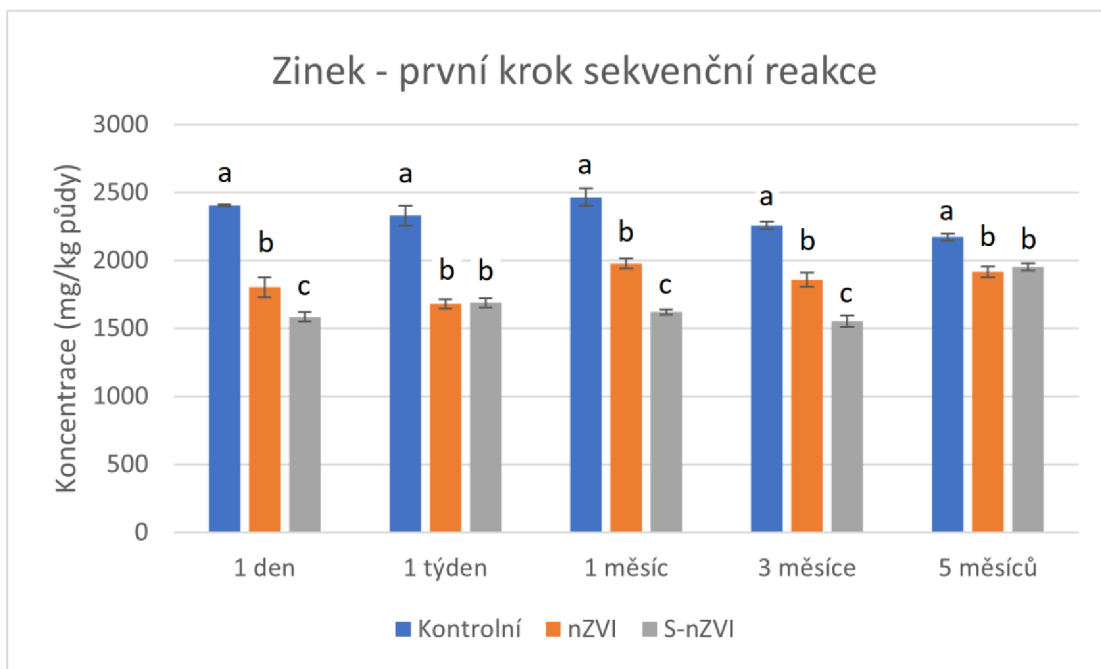
V reziduální frakci (Obr. 8) byl zaznamenán velký nárůst koncentrace olova v třetím a pátém měsíci v kontrolní části. V inkubaci jednoho dne byl zaznamenán nárůst koncentrace olova při aplikaci S-nZVI oproti kontrole. Naopak žádné olovo se nevyskytovalo v reziduu v inkubační době jednoho týdne pro kontrolu a pěti měsících v půdě, ošetřené nZVI.



Obrázek 8 – Množství olova v reziduální frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo.

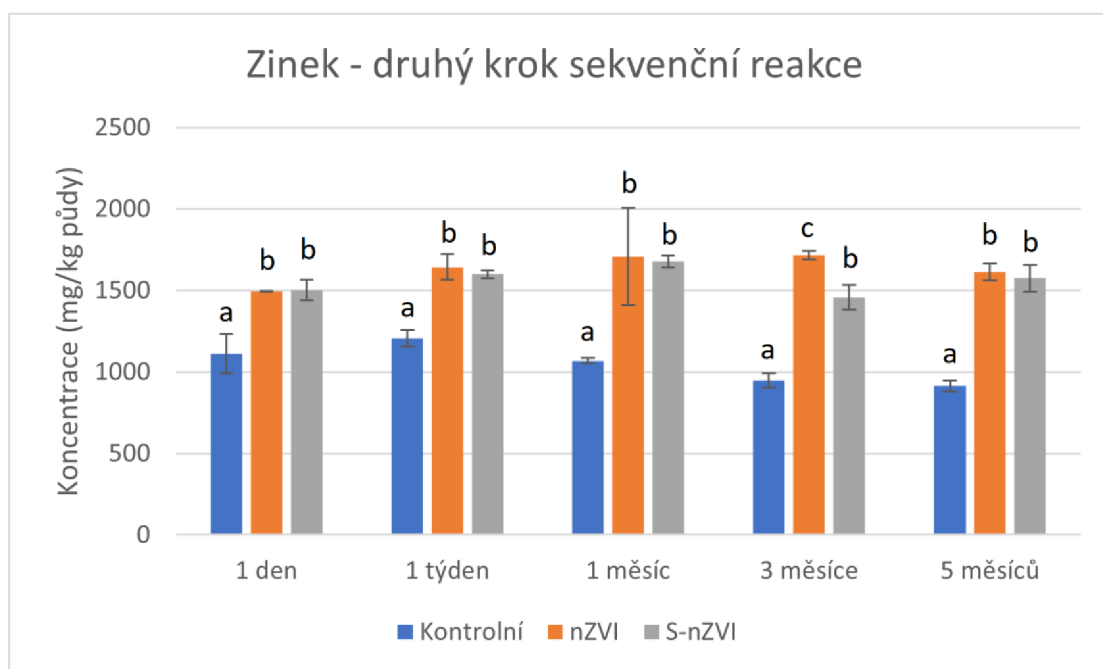
### 4.2.3 Zinek

V první frakci (Obr. 9) je viditelná imobilizační schopnost obou použitých činidel, po aplikaci S-nZVI se snížila koncentrace zinku více než u nZVI, vyjma prvního týdne a pátého měsíce.



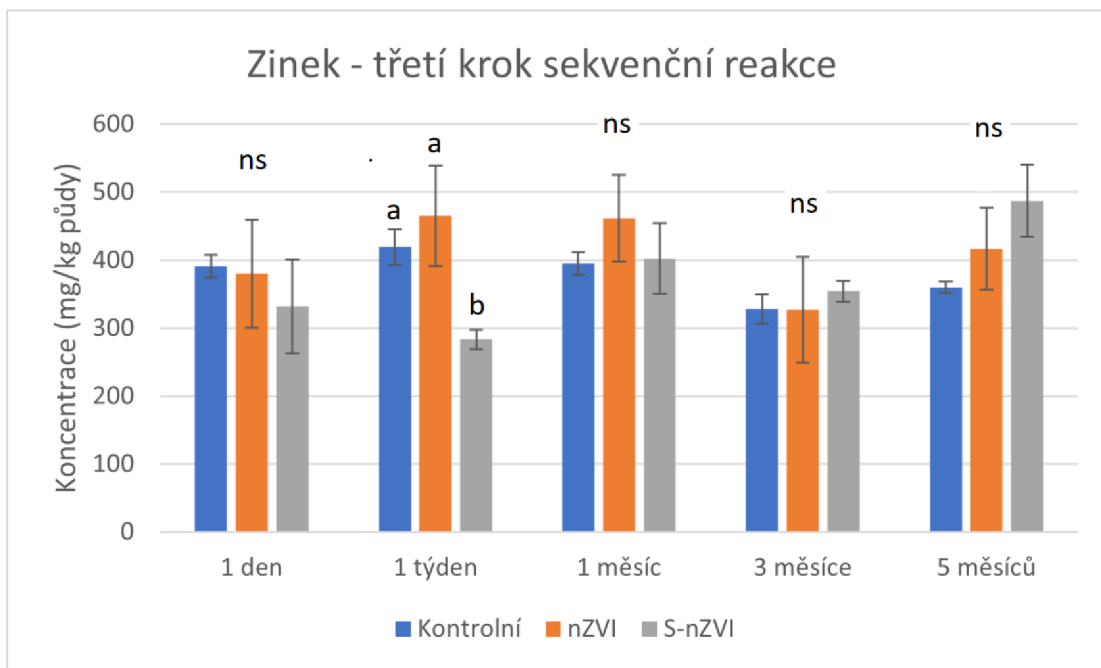
Obrázek 9 – Množství zinku ve frakci vyměnitelné, rozpustná ve vodě a kyselinách. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

V redukovatelné frakci (Obr. 10) došlo k výraznému vzrůstu koncentrace zinku při použití nZVI i S-nZVI, nově vzniklé oxidy železa adsorbovaly mobilní zinek.



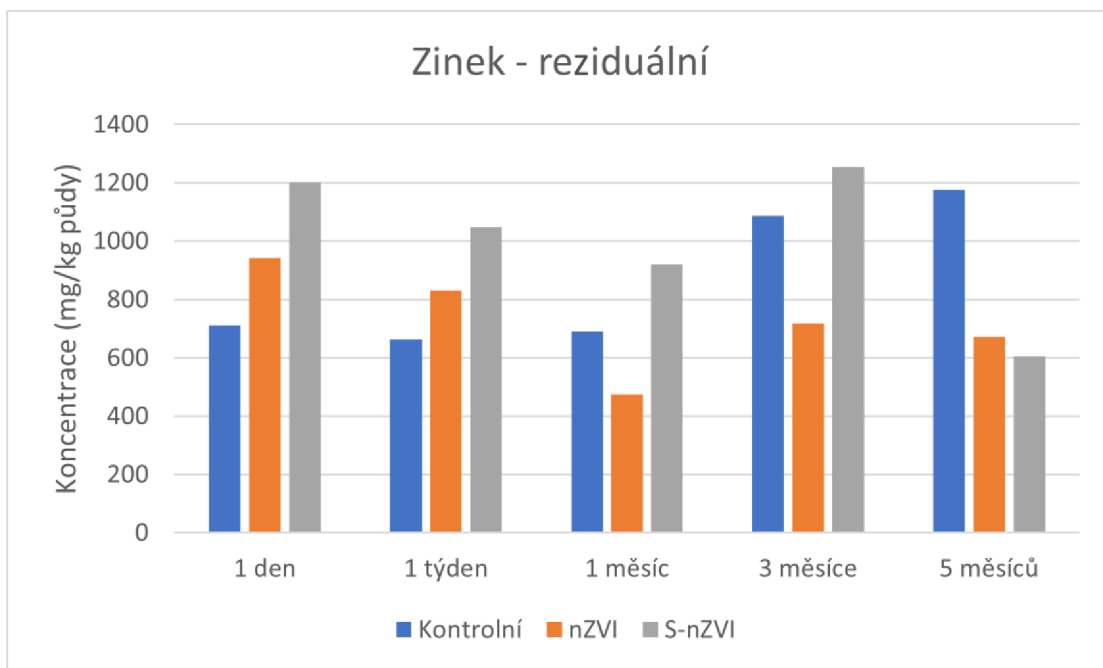
Obrázek 10 – Množství zinku v redukovatelné frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

I ve třetí frakci (Obr. 11) došlo ke zvýšení koncentrace zinku navázaného na organické hmotě a sulfidech. V inkubační době do jednoho měsíce je nZVI efektivnější, od jednoho měsíce potom S-nZVI.



Obrázek 11 – Množství zinku v oxidovatelné frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

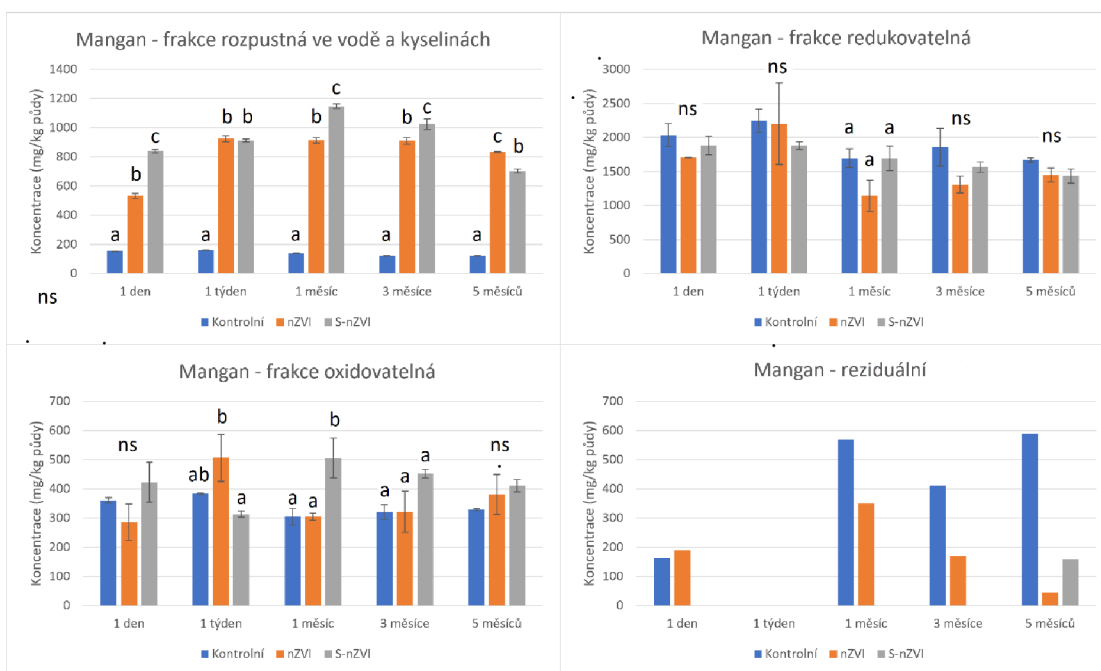
Reziduální zinek (Obr. 12) se vyskytuje v relativně vysokých koncentracích, s délkou experimentu jeho koncentrace silně kolísá. Až na pět měsíců inkubace se zvýšila jeho koncentrace po aplikaci S-nZVI. Při ošetření nZVI se koncentrace zinku zvýšila v době inkubace jednoho dne a jednoho týdne, následně byl trend opačný.



Obrázek 12 – Množství zinku v reziduální frakci. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo.

## 4.2.4 Mangan

Po aplikaci činidel na bázi nZVI došlo k výrazným změnám frakcionace manganu (Obr. 13). V redukovatelné frakci došlo k poklesu přítomného manganu, zvýšilo se množství manganu ve frakci rozpustné ve vodě a kyselinách, nejspíše kvůli redukčním vlastnostem přidaného nZVI a S-nZVI. Ve frakci oxidovatelné došlo ke vzniku nových vazeb na sulfidy nebo organickou hmotu po aplikaci S-nZVI.



Obrázek 13 – Frakcionace manganu. nZVI – elementární nanoželezo, S-nZVI – sulfidované nanoželezo. Sloupce představují průměrné hodnoty, chybové úsečky směrodatnou odchylku. Statistické vyhodnocení bylo provedeno jednotlivě pro každý časový interval. Údaje s rozdílným písmenem představují statisticky odlišné hodnoty, „ns“ značí nevýznamný rozdíl dle ANOVA ( $P < 0,05$ ) ( $n=3$ ).

### 4.3 Diskuze

Kadmium je ve zkoumané půdě nejvíce zastoupeno v první a druhé frakci (Obr. 1 a Obr. 2), což značí, že se jedná o velice mobilní prvek s výraznou vazbou na oxyhydroxidy železa a manganu. V oxidovatelné frakci není přítomno téměř vůbec. Celkově lze vidět pozitivní vliv na stabilizaci kadmia při aplikaci jak nZVI, tak i S-nZVI. Koncentrace kadmia se snížila v nejmobilnější, první frakci, a zvýšila se koncentrace kadmia vázaného na oxidy železa a manganu, organickou hmotu a sulfidy. K podobnému rozložení koncentrací kadmia v těchto frakcích v půdě došli i Narwal et al. (1999). Schopnost stabilizace kadmia pomocí nZVI se zdá být větší než u S-nZVI, což může být zapříčiněno poměrem síry a železa v suspenzi S-nZVI. Při větším poměru síry ku železu Su et al. (2015) prokázali naopak vyšší schopnost stabilizace kadmia u S-nZVI než samotného nZVI.

Největší část olova je v této kontaminované půdě vázána na oxidy železa a manganu (Obr. 6). Po aplikaci nZVI a S-nZVI došlo ke zvýšení koncentrace olova v první a třetí frakci (Obr. 5 a Obr. 7) a naopak k poklesu ve frakci vázané na oxidy železa a manganu. K úplně opačnému závěru došli Liu et al. (2023), kde po aplikaci nZVI a S-nZVI došlo ke zvýšení koncentrace ve frakci redukovatelné a k poklesu koncentrace ve frakci rozpustné ve vodě a kyselinách a oxidovatelné. Příčinou může být například to, že po aplikaci nZVI do půdy se rapidně změní pH a Eh, což může mít za následek rozpouštění oxidů manganu, které mají taktéž schopnost stabilizovat rizikové prvky (Michálková et al., 2017). Tento efekt může být pozorován na Obr. 13, kde je patrný úbytek oxidů manganu v redukovatelné frakci a jeho nárůst ve frakci rozpustné ve vodě a kyselinách.

Z výsledků je patrné, že zinek se vyskytuje převážně v prvních dvou frakcích, nejméně je potom přítomný v oxidovatelné frakci. Jelikož se jedná o esenciální prvek, musí být mobilní pro schopnost organismů ho přijmout. V takto vysokých koncentracích je ovšem potřeba ho stabilizovat, aby nebyl toxický. Zinek se navázal jak na nově vzniklé oxidy železa, tak na organickou hmotu a sulfidy. Stejný závěr při práci s půdou ze stejné lokality zaznamenali Mitzia et al. (2020) při použití nZVI a/nebo biocharu.



Sekvenční extrakce použitá pro frakcionaci prvků v experimentu je velice obecná a není vhodná pro zkoumání chování všech kovů a polokovů. Vzhledem k jeho odlišným geochemickým vlastnostem by bylo třeba pro speciaci arsenu využít jiné extrakční schéma (Wenzel et al., 2001).

Dalším problémem sekvenčních extrakcí může být fakt, že rozdělení do frakcí nemusí odpovídat reálnému stavu. Využitá nespecifická činidla také mohou pozměnit povrchové a chemické vlastnosti vzorku a uvolnit tak místo pro navázání rizikových prvků do jiných, nežádoucích frakcí (Cifuentes et al., 2010).

Odchylka od standardní sekvenční reakce BCR v jakémkoliv kroku má za následek rozdílná výstupní data. Ať už je to změna doby reakce, použití jiné rychlosti centrifugy nebo různá teplota v laboratoři, všechny tyto faktory mají za následek rozdílný výsledek v koncentracích v jednotlivých frakcích (Sutherland, 2010).

Dále je třeba poznamenat, že tato použitá sekvenční extrakce využívá silná činidla. Hned v prvním kroku je využita zředěná kyselina octová, která výrazně mění pH zkoumaných vzorků, což může mít za následek nepřesné rozdělení do frakcí. V ideálním případě by bylo vhodné využít před prvním krokem ještě extrakci destilovanou vodou pro zjištění nejvíce mobilních specií rizikových prvků (Gleyzes et al., 2002).

Dlouhodobý efekt a chování nZVI pro půdní a vodní remediaci není zcela dobře zdokumentován a měl by být taktéž předmětem dalších výzkumů (Bhat et al., 2023).

## 5. Závěr

Kontaminace na Příbramsku je důsledkem dlouholeté těžby a zpracování rud dlouho před tím, než byly enviromentální dopady známy a řešeny. Na toto téma bylo vytvořeno mnoho prací a studií, lokální kontaminace je dobře prozkoumána a jeví se tak jako vhodné místo pro výzkum chování a způsobů stabilizace rizikových prvků.

Způsobů imobilizace rizikových prvků je mnoho, od využití rostlin jako přírodních stabilizátorů, přes vápnění půdy, až po moderní technologie využívající sorpčních vlastností některých kovů. Tato práce byla zaměřena na stabilizaci těchto prvků v půdním systému pomocí dvou činidel. Prvním bylo samotné nZVI, druhým poté S-nZVI. Experiment byl proveden v pěti různých inkubačních dobách pro porovnání funkčnosti těchto činidel v čase.

Z výsledků je patrné, že oba způsoby ošetření půdy mají schopnost imobilizovat některé rizikové prvky. V případě kadmia a zinku došlo především k jejich navázání na nově vzniklé oxidy železa po aplikaci činidel. V případě olova došlo po aplikaci činidel k poklesu koncentrace olova vázaného na oxidy železa a manganu a naopak k nárůstu koncentrace olova přítomného jako součást organické hmoty a sulfidů. Byl zároveň zaznamenán silný vliv nZVI a S-nZVI na chování manganu v půdě. Po jejich aplikaci dochází k rozpuštění oxidů manganu a naopak ke zvýšení koncentrace manganu v mobilnější frakci.

Do prvního měsíce trvání experimentu se u všech rizikových prvků projevila lepší schopnost stabilizace pomocí nZVI. S narůstající dobou experimentu se tento trend obrátil a po pěti měsících trvání experimentu byla vyzorována lepší schopnost stabilizace kovů a polokovů pomocí S-nZVI, pravděpodobně kvůli novým vazbám na sulfidy. Vzhledem k rozdílným výsledkům v časovém horizontu by bylo vhodné chování stabilizačních činidel nZVI a S-nZVI prozkoumat v dlouhodobém měřítku, jestli jsou skutečně stabilizační efekty trvalé či jen dočasné.

## 6. Seznam použitých zdrojů

Alberts J. J., Filip Z., 1998, Metal binding in estuarine humic and fulvic acid: FTIR Analysis of humic acid-metal complexes, *Environmental Technology* 19, 923-931

Alloway, B. J., Thornton, I., Smart, G. A., Sherlock, J. C., Quinn, M. J., 1988, Metal availability, *The Science of the Total Environment* 75, 41–69

Ascar L., Ahumada I., Richter P., 2008, Influence of redox potential (Eh) on the availability of arsenic species in soils and soils amended with biosolid, *Chemosphere* 72, 1548-155

Basta, N. T., Tabatabai, M. A. 1992. Effect of cropping systems on adsorption of metals by soils, *Soil Science* 153, 195–204

Bednar J. A., Garbarino J. R., Ranville J. F., Wildeman T. R., 2005, Effects of iron on arsenic speciation and redox chemistry in acid mine water, *Journal of Geochemical Exploration* 85, 55-62

Bhat M. A., Gedik K., Gaga O. E., 2023, Chapter 23 – Environmental impact of nanoparticles: pros, cons, and future prospects, *Micro and Nano Technologies* 2023, 493-528

Cifuentes A., Zimmerman A. J., Weindorf D. C., 2010, Heavy Metal and Trace Metal Analysis in Soil by Sequential Extraction: A Review of Procedures, *International Journal of Analytical Chemistry* 2010, 387-394

Cundy A. B., Hopkinson L., Whitby R. L. D., 2008, Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: a review, *Science of The Total Environment* 400, 42-51

Davidson M. C., Duncan A. L., Littlejohn D., Ure A. M., Garden L. M., 1998, A critical evaluation of the three-stage BCR sequential extraction procedure to assess the potential mobility and toxicity of heavy metals in industrially-contaminated land, *Analytica Chimica Acta* 363, 45-55

DesMarias T. L., Costa M., 2019, Mechanism of chromium-induced toxicity, *Current Opinion in Toxicology* 14, 1-7

Dong H., Lo I. M. C., 2014, Transport of Surface-Modified Nano Zero-Valent Iron (SM-NZVI) in Saturated Porous Media: Effects of Surface Stabilizer Type, Subsurface Geochemistry, and Contaminant Loading, *Water, Air & Soil Pollution* 225, 2107

Eriksson, J. E., 1989, The influence of pH, soil type and time on adsorption and uptake by plants of Cd added to the soil, *Water, Air and Soil Pollution* 48, 317–335

Evans, L. J., 1989, Chemistry of metal retention by soils, *Environmental Science and Technology* 23, 1046–1056

Gaetke L. M., Chow C. K., 2003, Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients, *Toxicology* 189, 147-163

Gee G.W., Or D., 2000, Particle Size Analysis, *Methods of Soil Analysis* 4, 255-293

Gleyzes Ch., Tellier S., Astruc M., 2002, Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures, *Trends in Analytical Chemistry* 21, 451-467

Hseu Z.-Y., Chen Z.-S., Tsai Ch.-Ch., Tsui Ch.-Ch., Cheng S.-F., Liu Ch.-L., Lin H.-T., 2002, Digestion methods for total heavy metals in sediments and soils, *Water, Air & Soil Pollution* 141, 198-205

Chaitali V. M., Jayashree D., 2013, Review of heavy metals in drinking water and their effect on human health, *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology* 2, 2992-2996

Chao T. T, Theobald P. K., 1976, The significance of secondary iron and manganese oxides in geochemical exploration, *Economic Geology* 71, 1560-1569

Isrealachvili J. N., 1974, Nature of van der wals forces, *Contemporary Physics*, 15, 159-174

Jarvis, S.C., Jones, L.H.P. 1980. The contents and sorption of cadmium in some agricultural soils of England and Wales. *Journal of Soil Science* 31, 469–479

Jie G., Lizhe Y., Yingying L., Fengli S., Qianjiahua L., Jingge S., 2018, Scavenging of Cr(VI) from aqueous solutions by sulfide-modified nanoscale zero-valent iron supported by biochar, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 91, 449-456

Komárek M., Vaněk A., Ettler V., 2013, Chemical stabilization of metals and arsenic in contaminated soils using oxides – A review, *Environmental Pollution* 172, 9-22

Kotková K., Nováková T., Tůmová Š., Kiss T., Popelka J., Faměra M., 2019, Migration of risk elements within the floodplain of the Litavka River, the Czech Republic, *Geomorphology* 329, 46-57

Kulsum P. G. P. S., Khanam R., Das S., Nayak A. K., Tack F. M. G., Meers E., Vithanage M., Shahid M., Kumar A., Chakraborty S., Bhattacharya T., Biswas J., K., 2023, A state-of-the-art review on cadmium uptake, toxicity, and tolerance in rice: From physiological response to remediation process, *Environmental Research* 220, 115-129

Lefevre E., Bossa N., Wiesner R. M., Gunsch C. K., 2016, A review of the environmental implications of in situ remediation by nanoscale zero valent iron (nZVI): Behavior, transport and impacts on microbial communities, *Science of The Total Environment* 565, 891-901

Liu Y., Qiao J., Sun Y., 2023, Enhanced immobilization of lead, cadmium, and arsenic in smelter-contaminated soil by sulfidated zero-valent iron, *Journal of Hazardous Materials* 447, 130-139

Micháلكová Z., Martínez-Fernández D., Komárek M., 2017, Interactions of two novel stabilizing amendments with sunflower plants grown in a contaminated soil, *Chemosphere* 186, 374-380

Mir R. A., Pitchel J., Hayat S., 2021, Copper: uptake, toxicity and tolerance in plants and management of Cu-contaminated soil, *Biometals* 34, 737-759

Mitziá A., Vítková M., Komárek M., 2020, Assessment of biochar and/or nano zero-valent iron for the stabilisation of Zn, Pb and Cd: A temporal study of solid phase geochemistry under changing soil conditions, *Chemosphere* 242, 125-137

Mudgal V., Madaan N., Mudgal N., R.B. Singh, Mishra S., 2010, Effect of Toxic Metals on Human Health, *The Open Nutraceuticals Journal* 3, 94-99

Narwal R. P., Singh B. R., Salbu B., 1999, Association of cadmium, zinc, copper, and nickel with components in naturally heavy metal-rich soils studied by parallel and sequential extractions, *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 30, 1209-1230

Nováková T., Kotková K., Elznicová J., Strnad L., Engel Z., Grygar M. T., 2015, Pollutant dispersal and stability in a severely polluted floodplain: A case study in the Litavka River, Czech Republic, *Journal of Geochemical Exploration* 156, 131-144

Nrigau J., 2007, Zinc Toxicity in Humans, School of Public Health, University of Michigan

Phuengprasop T., Sittiwong J., Unob F., 2011, Removal of heavy metal ions by iron oxide coated sewage sludge, *Journal of Hazardous Materials* 186, 502-507

Prieto-Martina D., Cancelo-González J., Barral M. T., 2018, Arsenic Mobility in As-Containing Soils from Geogenic Origin: Fractionation and Leachability, *Journal of Chemistry* 2018, 14-20

Rauret G., Lopez-Sanchez J. F., Sahuquillo A., Barahona E., Lachica M., Ure A. M., Davidson C., Gomez A., Luck D., Bacon J., Yli-Halla M., Muntau H., Quevauviller P., 2000, Application of a modified BCR sequential extraction (three-step) procedure for the determination of extractable trace metal contents in a sewage sludge amended soil reference material (CRM 483), complemented by a three-year stability study of acetic acid and EDTA extractable metal content. *Journal of Environmental Monitoring* 2, 228-233

Rieuwerts, J.S, Thornton, I., Farago M.E., Ashmore, M.R., 1998, Factors influencing metal bioavailability in soils: preliminary investigations for the development of a critical loads approach for metals, Centre for Environmental Technology, T H Huxley School of the Environment, Earth Sciences and Engineering, Imperial College, London

Saleh N., Kim H. J., Phenrat T., Matyjaszewski K., Tilton R. D., Lowry G. V., 2008, Ionic strength and composition affect the mobility of surface-modified Fe<sub>0</sub> nanoparticles in water-saturated sand columns, *Environmental Science & Technology* 42, 3349–3355

Shekhawat K., Chatterjee S., Joshi B., 2015, Chromium Toxicity and its Health Hazards, *International Journal of Advanced Research* 3, 167-172

Sposito G., 2004, *The Surface Chemistry of Natural Particles*, Oxford University Press, New York

Su Y., Adeleye A. S., Keller A. A., Huang Y., Dai Ch., Zhou X., Zhang Y., 2015, Magnetic sulfide-modified nanoscale zerovalent iron (S-nZVI) for dissolved metal ion removal, *Water Research* 74, 47-57

Sutherland R. A., 2010, BCR®-701: A review of 10-years of sequential extraction analyses, *Analytica Chimica Acta* 680, 10-20

Templeton D. M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L-G., Muntau H., Van Leeuwen H. P., Łobinski R., 2000, Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and method approaches, *Pure Applied Chemistry* 72, 1453-1470

Thompson H. S., 1850, *Agrarian Society English*, 11, 68-74

Tiberg Ch., Kumpiene J., Gustafsson J. P., Marsz A., Persson I., Mench M., Kleja D. B., 2016, Immobilization of Cu and As in two contaminated soils with zero-valent iron – Long-term performance and mechanisms, *Applied Geochemistry* 67, 144-152

Violante A., Cozzolino V., Perelomov L., Caporale A. G., Pigna M., 2010, Mobility and Bioavailability of Heavy Metals and Metalloids in Soil Environments, *Journal of soil science and plant nutrition* 10, 268-292

Vyhláška 437/2016 Sb., v platném znění

Wenzel W. W., Kirchbaumer N., Prohaska T., Stingeder G., Lombi E., Adriano D. C., 2001, Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure, *Analytica Chimica Acta* 436, 309-323

Xu F., Hu J., Zhang J., Hou X., Jiang X., 2018, Nanomaterials in speciation analysis of mercury, arsenic, selenium, and chromium by analytical atomic/molecular spectrometry, *Applied Spectroscopy Reviews* 53, 333-348