Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

Včela medonosná jako biomonitor přítomnosti zlata na lokalitě

Diplomová práce

Zuzana Sýkorová

Ochrana a využívání přírodních zdrojů

Ing. Lukáš Praus, Ph.D.

© 2025 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Včela medonosná jako biomonitor přítomnosti zlata na lokalitě" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 19. 4. 2025 _____

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Lukáši Prausovi, Ph.D. za odborné vedení práce, trpělivost a ochotu věnovat čas konzultacím v průběhu řešení diplomové práce. Velmi si vážím jeho vstřícného a podnětného přístupu, pečlivosti a cenných připomínek, které významně přispěly k finalizaci této práce. Jeho zkušenosti a důslednost mi byly velkou oporou nejen při návrhu experimentální části, ale i při interpretaci výsledků. Děkuji za inspirativní spolupráci, která pro mě byla přínosná jak po odborné, tak po osobní stránce.

Včela medonosná jako biomonitor přítomnosti zlata na lokalitě

Souhrn

Tato diplomová práce se zabývá možností využití včely medonosné (*Apis mellifera*) jako pasivního biomonitoru pro detekci zlata v životním prostředí. Včely, díky svému rozsáhlému kontaktu s vegetací a povrchem krajiny, mohou sloužit jako indikátor přítomnosti anorganických částic, včetně ušlechtilých kovů. Cílem práce bylo ověřit, zda lze obsah Au ve včelím těle stanovit rutinním analytickým postupem a zda takto získaná data mohou diferencovat mezi referenčními a zlatonosnými lokalitami.

V rešeršní části byla zmapována historie těžby zlata v českých zemích, přehled ložisek a současné průzkumné metody. Byla diskutována ekologická zátěž spojená s těžbou i potenciál méně invazivních průzkumných technik. Pro analýzu Au byla optimalizována metodika zahrnující mikrovlnný ohřev (MW) a následnou koncentraci extraktu na topné desce (HP), s využitím Leffortovy lučavky jako extrakčního činidla. Kvantifikace Au byla provedena pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), přičemž byl dosažen detekční limit 0,36 ng/g. V práci byly rovněž identifikovány a eliminovány spektrální interference (např. TaO^+, $HfOH^+$), které mohou ovlivnit přesnost stanovení ^{197}Au.

Výsledky ukázaly, že metoda umožňuje detekci Au ve stopových koncentracích. Zatímco ve vzorcích z referenčních lokalit nebylo Au detekováno (s výjimkou jednoho případu), ze všech čtyř zlatonosných oblastí byly získány hodnoty nad mezí detekce metody (LOD). Práce tak potvrzuje, že stanovení Au ve včelím těle může být efektivním a ekologicky šetrným nástrojem pro předběžný geochemický screening. V kombinaci s dalšími podpůrnými metodami může tato strategie rozšířit možnosti nerušícího průzkumu v zájmových oblastech.

Klíčová slova: včela medonosná, zlato, biomonitoring, ICP-MS, spektrální interference, Leffortova lučavka, zlatonosné oblasti

Using the Honey Bee as a Biomonitor for Gold Detection in Terrestrial Environments

Summary

This thesis explores the potential of the honey bee (*Apis mellifera*) as a passive biomonitor for detecting gold (Au) in the environment. Due to their extensive contact with vegetation and surface structures, honey bees can serve as indicators of the presence of inorganic particles, including noble metals. The aim of the study was to verify whether the gold content in bee tissue can be determined using a routine analytical method and whether the resulting data can be used to differentiate between reference and gold-bearing sites.

The literature review provides an overview of the history of gold mining in the Czech lands, a summary of known deposits, and current exploration techniques. The environmental burden associated with gold mining is discussed, along with the potential of less invasive exploration approaches. For the analysis of Au, a method was optimized that combines microwave-assisted digestion (MW) with subsequent solvent evaporation on a heating plate (HP), using Leffort's aqua regia as the extraction medium. Gold quantification was performed using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS), achieving a method detection limit (LOD) of 0.36 ng/g. Spectral interferences (e.g., TaO^+, $HfOH^+$), which can affect the accuracy of ^197Au determination, were identified and effectively minimized.

The results demonstrated that the method enables the detection of Au at trace levels. While no Au was detected in samples from reference sites (with the exception of one case), measurable values above the LOD were obtained in all four gold-bearing regions. These findings confirm that determining Au content in bee bodies can serve as an effective and environmentally friendly tool for preliminary geochemical screening. When used alongside complementary methods, this approach can enhance the potential for non-invasive mineral exploration in areas of interest.

Keywords: honey bee, gold, biomonitoring, ICP-MS, spectral interferences, Leffort's aqua regia, gold-bearing sites

Obsah

1 Úvod ..... **- 1 -**

2 Vědecká hypotéza a cíle práce ..... **- 3 -**

3 Literární rešerše ..... **- 4 -**

3.1 Význam včely v biomonitoringu ..... **- 4 -**

3.1.1 Ekologie včel medonosných a jejich role v prostředí ..... - 5 -

3.2 Výhody využití včel pro monitoring rizikových prvků ..... **- 5 -**

3.2.1 Význam včelích produktů (pyl, med) a včelích tkání ..... - 6 -

3.2.2 Včela jako biomonitor ..... - 7 -

3.3 Zlato – Au ..... **- 9 -**

3.3.1 Přirozený výskyt a koncentrace Au v zemské kůře ..... - 9 -

3.3.2 Historický význam zlata a jeho současný surovinový potenciál v ČR ..... - 10 -

3.3.3 Způsoby uvolňování Au do životního prostředí – biogeochemický cyklus Au - 11 -

3.3.4 Zlato v České republice: Přehled hlavních zlatonosných lokalit ..... - 13 -

Zlatonosná lokalita – Kašperské Hory ..... - 13 -

Zlatonosná lokalita – Mokrsko ..... - 14 -

Zlatonosná lokalita – Příbramsko ..... - 15 -

Zlatonosná lokalita – Jílové u Prahy ..... - 16 -

3.3.5 Těžba zlata a její vliv na životní prostředí ..... - 17 -

3.3.6 Rýžování ..... - 17 -

3.3.7 Amalgamace ..... - 18 -

3.3.8 Kyanidové loužení ..... - 18 -

3.3.9 Ekologické dopady těžby zlata ..... - 19 -

3.3.10 Biogeochemické metody detekce zlata v environmentálních vzorcích ..... - 20 -

3.3.11 Přehled metod extrakce Au z geologických a environmentálních vzorků - 21 -

3.4 Princip metody ICP-MS ..... **- 23 -**

3.4.1 Interference ..... - 25 -

3.4.2 Spektrální interference ..... - 25 -

Izobarické interference ..... - 26 -

Polyatomické interference ..... - 26 -

3.4.3 Nespektrální interference ..... - 28 -

3.4.4 ICP-MS a stanovení Au ..... - 28 -

4 Metodika ..... **- 30 -**

4.1 Vybrané lokality ..... **- 30 -**

4.1.1 Nová ves pod Pleší ..... - 30 -

4.1.2 Trhové Dušníky ..... - 30 -

4.1.3 Libčice u Nového Knína ..... - 30 -

4.1.4 Zlatá u Kynšperku nad Ohří ..... - 31 -
4.1.5 Referenční lokality ..... - 31 -
4.2 Metodika vzorkování včel v terénu ..... - 31 -
4.3 Optimalizace extrakce Au ..... - 32 -
4.3.1 Nízkotlaká extrakce Au s mikrovlnným ohřevem ..... - 33 -
4.3.2 Extrakce Au s využitím topné desky ..... - 34 -
4.4 Optimalizace extrakce z včelího těla ..... - 34 -
4.4.1 Nízkotlaká extrakce Au s mikrovlnným ohřevem ..... - 35 -
4.4.2 Extrakce Au s využitím topné desky ..... - 36 -
4.5 Výskyt a eliminace spektrálních interferencí v ICP-MS ..... - 37 -
4.6 Stanovení obsahu Au ve vzorcích včel z experimentálních lokalit ..... - 37 -
4.7 Konfigurace ICP-MS ..... - 38 -

5 Výsledky ..... - 39 -
5.1 Signál analytu a potenciálních interferentů z modelové půdní matrice ..... - 39 -
5.1.1 NoGas režim ..... - 39 -
5.1.2 Reakční režim s O_2 ..... - 43 -

6 Diskuze ..... - 55 -

7 Závěr ..... - 60 -

Literatura ..... - 61 -

1 Úvod

Termínem biomonitoring se rozumí využití organismů nebo biologických materiálů k získání informací o vlastnostech biosféry (Markert et al., 2003; Ruschioni et al., 2013). Biosféra, neboli živý obal Země, je vystavena jak přirozeným přírodním procesům (eroze půdy, zvětrávání hornin, sedimentace), tak vlivům vyplývajícím z lidské (antropogenní) činnosti, které mohou narušovat její rovnováhu (těžba fosilních paliv, doprava, odpadové hospodářství, zemědělství) (Bargańska et al., 2016; Bilandžić et al., 2011; Costa et al., 2019; Dżugan et al., 2018).

Význam biomonitoringu spočívá v jeho schopnosti poskytovat komplexní informace o stavu ekosystémů, identifikovat přítomnost látek/imisí a hodnotit účinnost opatření na ochranu životního prostředí. Relevantní informace prostřednictvím biomonitoringu lze získat například analýzou změn v chování sledovaného organismu nebo měřením koncentrací specifických látek v jeho tkáních (Ruschioni et al., 2013).

Pokud se zabýváme biomonitoringem, je téměř nevyhnutelné operovat i s pojmem bioindikátor (Holt & Miller, 2011; Markert et al., 2003). Tyto termíny se často zaměňují či se používají nevhodně jako synonyma.

Bioindikátor je organismus (nebo jeho část, případně celá komunita organismů), který poskytuje informace o kvalitě životního prostředí, tedy indikuje přítomnost určitého faktoru nebo změny v ekosystému (Markert et al., 2003). Na rozdíl od něj biomonitor nejen informuje o kvalitativních aspektech prostředí, ale zároveň umožňuje kvantifikaci znečištění či jiných environmentálních faktorů. To znamená, že biomonitor poskytuje měřitelné údaje o intenzitě a koncentraci látek, což ho činí přímo srovnatelným s instrumentálními metodami analýzy (Conti & Cecchetti, 2001; Markert et al., 2003). Z tohoto důvodu lze konstatovat, že každý biomonitor je zároveň bioindikátorem, ale ne každý bioindikátor splňuje podmínky biomonitoru. Tento rozdíl je zásadní zejména při hodnocení akumulace rizikových prvků v organismech, kde literatura rozlišuje mezi akumulačními indikátory (organismy hromadící látky) a organismy vykazující biologickou reakci na expozici, přičemž obě skupiny lze zahrnout pod širší pojem reakční indikátory (Markert et al., 2003).

Jako bioindikátory prostředí jsou hojně využívané a relativně dobře prozkoumané mechy a lišejníky (Demková et al., 2024). Lišejníky představují široce využívané bioindikátory environmentální kvality, zejména díky své schopnosti akumulovat znečišťující látky z atmosféry. Jejich citlivost na změny v prostředí a schopnost odrážet úroveň znečištění z nich činí cenné nástroje pro biomonitoring (Gombert et al., 2006; Kłos et al., 2018). Mechy, díky

své schopnosti akumulovat těžké kovy (např. izotopy Pb), slouží jako spolehlivé indikátory kontaminace prostředí těmito látkami (Kłos et al., 2018; Oishi, 2022).

Nejen rostliny, ale také zvířata mohou být důležitými bioindikátory např. rizikových prvků (RP) přítomných v životním prostředí, přičemž jejich využití je primárně založeno na jejich přítomnosti/nepřítomnosti, hojnosti zastoupení nebo změnách chování (často ovlivňují kognitivní funkce). Perifyton, bentičtí makrobezobratlí a ryby jsou nejběžnějšími indikátory v říčním biomonitoringu, které lze používat samostatně nebo i současně (Li et al., 2010). Nedávná studie ukazuje, že analýza psí srsti může sloužit jako užitečný nástroj biomonitoringu parabenů u psů, přičemž upozorňuje na jejich potenciální význam ve veterinární toxikologii, a zároveň zdůrazňuje potřebu dalšího výzkumu této problematiky (Makowska et al., 2022).

V posledních letech se biomonitoring vyvinul v multidisciplinární přístup, který zahrnuje nejen tradiční metody hodnocení biologické kvality, ale také moderní techniky, jako je např. analýza funkčních trofických skupin a molekulární metody, což umožňuje přesnější a efektivnější hodnocení ekologické integrity (Li et al., 2010). Tento integrovaný přístup je klíčový pro pochopení komplexních interakcí v ekosystémech a pro efektivní ochranu životního prostředí (Gombert et al., 2006; Moorchilot et al., 2025). Jedním z významných využití biomonitoringu je také sledování přítomnosti a distribuce kovů v životním prostředí.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Přímý kontakt a rozsah interakcí s abiotickými složkami prostředí činí včelu medonosnou unikátním pasivním vzorkovačem rizikových prvků (RP) v terestrických ekosystémech. Analýza obsahu RP ve včelím těle představuje užitečný zdroj informací o zatížení složek životního prostředí jednotlivými RP. Analogicky, prvková analýza včel by mohla najít uplatnění v dalších, dosud neověřených aplikačních oblastech, např. ve screeningu území z hlediska přítomnosti ušlechtilých kovů. Cílem práce je předložení důkazu o platnosti výše popsaného předpokladu, na jehož základě lze rozhodnout o hypotézách:

a) obsah zlata (Au) ve včelím těle je stanovitelný rutinním analytickým postupem kombinujícím mineralizaci vzorku a techniku ICP-MS;
b) stanovený obsah Au ve včelím těle lze využít k odlišení zlatonosné lokality od lokality bez anomálního výskytu Au.

Součástí práce je stručná rešerše zaměřená na výskyt zlatonosných revírů v ČR, těžbu zlata, zvláště s ohledem na její dopady na životní prostředí, a na metody průzkumu nalezišť zlata.

3 Literární rešerše

3.1 Význam včely v biomonitoringu

Biomonitoring pomocí včel medonosných (*Apis mellifera*) představuje účinný nástroj pro získávání klíčových údajů o stavu životního prostředí (Girotti et al., 2020). Tradiční metody monitorování kvality životního prostředí (monitoring půd a stacionární monitorování ovzduší), ačkoliv hrají klíčovou roli, mají své limity. Často vyžadují drahá zařízení a jejich provoz bývá omezen na vybrané lokality, což výrazně redukuje celkové geografické pokrytí a schopnost zachytit komplexní obraz environmentálních podmínek (Girotti et al., 2020; Marcoccia et al., 2024). Tento přístup může vést k mezerám ve sběru dat, zejména v oblastech s omezenou infrastrukturou nebo tam, kde je potřeba monitorování na rozsáhlých územích (Marcoccia et al., 2024).

Včela medonosná nabízí inovativní a zároveň efektivní alternativu pro rozšíření monitorovacích sítí. Díky své přirozené biologii a chování, zejména při hledání obživy, se včely pohybují v různorodých krajinách a přicházejí do kontaktu s environmentálními znečišťujícími látkami, jako jsou např. jemné částice, těžké kovy a organické sloučeniny (Badiou-Bénéteau et al., 2013; Cunningham et al., 2022; Zarić et al., 2018). Tyto kontaminanty ulpívají na jejich tělech nebo jsou sbírány spolu s nektarem a pylem. Po návratu do úlu jsou tyto látky deponovány a akumulovány v různých složkách úlu, což umožňuje jejich pozdější analýzu (Cunningham et al., 2022; Girotti et al., 2020; Marcoccia et al., 2024; Zarić et al., 2018).

Jedinečnost tohoto přístupu spočívá v možnosti snadného a opakovatelného odběru vzorků z úlových materiálů (včelích produktů), jako je vosk, med, pyl nebo samotné včely (Girotti et al., 2020; Marcoccia et al., 2024). Tyto vzorky mohou být následně analyzovány moderními analytickými metodami, například spektroskopickými nebo chromatografickými technikami, které umožňují kvantifikaci přítomných kontaminantů. Tento přístup poskytuje cenná data nejen o aktuální úrovni znečištění, ale také o jeho dlouhodobých trendech (Cunningham et al., 2022; Girotti et al., 2020; Marcoccia et al., 2024).

Díky těmto vlastnostem jsou včely mimořádně efektivním nástrojem pro environmentální monitorování, a to nejen ve vysoce urbanizovaných oblastech, ale také na rozsáhlých a odlehlých územích (Cunningham et al., 2022; Girotti et al., 2020; Marcoccia et al., 2024; Zarić et al., 2018). To dokládá i nedávný výzkum na území Chorvatska, který

se zaměřil na inovativní využití včely medonosné při humanitárním odminování zaminovaných oblastí. Studie prokázala, že včely lze efektivně použít jako pasivní nástroj pro sběr stopových množství výbušnin v terénu (Gillanders et al., 2021).

Využití včel může výrazně snížit náklady na provoz monitorovacích sítí a zároveň zvýšit přesnost, pokrytí a bezpečnost sbíraných dat (Gillanders et al., 2021; Girotti et al., 2020). Tímto způsobem mohou včely přispět k dlouhodobému sledování kvality prostředí a poskytnout nezbytné informace pro řešení globálních i lokálních environmentálních problémů (Cunningham et al., 2022; Girotti et al., 2020; Marcoccia et al., 2024; Zarić et al., 2018).

3.1.1 Ekologie včel medonosných a jejich role v prostředí

Včela medonosná (*Apis mellifera*) je jedním z nejvýznamnějších druhů opylovačů na světě. Patří do čeledi včelovitých (*Apidae*) blanokřídlého hmyzu a přirozeně se vyskytuje v širokém spektru ekosystémů, od lesů a luk po zemědělské krajiny (Moreno, 2016; Mortensen et al., 2013). Její ekologická role vychází z vysoce organizovaného sociálního uspořádání a schopnosti efektivního shromažďování potravy (Mortensen et al., 2013).

Avšak intenzivní monokulturní zemědělství může negativně ovlivnit včelí kolonie a tím ohrozit nejen jejich přežití, ale také opylovací služby, které jsou klíčové pro zachování biodiverzity a zemědělské produkce (Paini, 2004).

3.2 Výhody využití včel pro monitoring rizikových prvků

Biologická dostupnost imisí rizikových prvků vyplývající z antropogenní činnosti představuje klíčový rizikový faktor pro organismy v prostředí kontaminovaném těmito látkami, jelikož ovlivňuje míru expozice a následné toxické účinky (Alcorlo et al., 2006; Goretti et al., 2018, 2020). Pro hodnocení kontaminace rizikovými prvky se jako efektivní ekotoxikologický přístup využívá analýza bioakumulace v cílových organismech (Alcorlo et al., 2006; Goretti et al., 2018). Řada studií již byla věnována analýze bioakumulačních vlastností rizikových prvků u včely medonosné, která se osvědčila jako funkční biomonitor environmentální kontaminace (Goretti et al., 2020; Zarić et al., 2017).

Včela medonosná se vyznačuje schopností interagovat s různými složkami prostředí, včetně půdy, vegetace, vzduchu a vody, a při sběru potravy pokrývá široké území (3-5 km) v okolí úlu. V důsledku toho mohou být rostlinné produkty využívané včelami přímo kontaminovány rizikovými prvky přítomnými v prostředí, což vede k jejich akumulaci v organismu včel (Perugini et al., 2011; Zarić et al., 2017).

Díky této charakteristice jsou včely, především létavky, považovány za účinné bioindikátory znečištění rizikovými prvky (jako je např. Hg, Pb, Cd, As nebo Cr) (Conti & Botrè, 2001; Costa et al., 2019; Perugini et al., 2011; Zarić et al., 2017). Jejich citlivost na změny v prostředí umožňuje rychlou detekci kontaminace prostřednictvím přítomnosti znečišťujících látek v jejich tělech nebo včelích produktech, stejně jako zvýšenou mortalitou v případech významného environmentálního stresu (Conti & Botrè, 2001). Tento přístup zdůrazňuje význam včel jako klíčových indikátorů kvality životního prostředí (Perugini et al., 2011).

Podle analýzy Pearsonovy korelace několik studií ukazuje, že nejvyšší závislost mezi kontaminací prostředí a akumulací rizikových prvků v tělech včel byla zaznamenána u Pb. To znamená, že zvýšené koncentrace Pb v prostředí vedou k vyšším hladinám tohoto kovu v organismech včel. Tento vztah je důležitý pro pochopení, jak environmentální znečištění ovlivňuje bioakumulaci toxických látek v opylovačích, což může mít následné dopady na ekosystémy a lidské zdraví (Costa et al., 2019; Perugini et al., 2011; Zarić et al., 2018).

3.2.1 Význam včelích produktů (pyl, med) a včelích tkání

Nárůst vědeckého zájmu o využití včel a včelích produktů jako biomonitoru environmentální kontaminace je patrný z výrazného zvýšení počtu publikací věnujících se této problematice v posledních letech. V této práci se zaměřuji především na analýzu tělesných tkání včel, neboť řada studií potvrdila vyšší citlivost této metody bioindikace ve srovnání s použitím medu či jiných včelích produktů (Ćirić et al., 2020; Lambert et al., 2012; Silici et al., 2013; Zarić et al., 2017).

Jako jeden z prvních na tuto skutečnost poukázal tým profesora Leita, který se zabýval využitím včel medonosných a včelích produktů k posouzení kontaminace těžkými kovy (Leita et al., 1996). Získané výsledky ukázaly, že včelí produkty a analyzované environmentální markery mohou sloužit jako užitečné parametry pro hodnocení přítomnosti environmentálních kontaminantů. Analýza rizikových prvků v tělech mrtvých včel poskytuje vhodný nástroj pro sledování dynamiky akumulace znečišťujících látek v ekosystémech, což umožňuje přesnější detekci environmentálních kontaminantů a spolehlivější hodnocení úrovně znečištění v prostředí (Leita et al., 1996).

3.2.2 Včela jako biomonitor

Vysoká citlivost včel na změny spojené s životním prostředím a krátký životní cyklus z nich činí vhodné organismy pro časově i prostorově přesné sledování kontaminace. V porovnání s jinými biomonitory, jako jsou rostliny nebo sedimenty organismů, poskytují včely výhodu v podobě rychlého přenosu kontaminantů do jejich tělesných tkání, což umožňuje včasnou detekci změn v prostředí.

Využití včel v biomonitoringu se rozšiřuje nejen v oblasti těžkých kovů, ale i pro sledování pesticidů, organických polutantů a radioaktivních látek. Nejnovější přístupy zahrnují např. kombinaci ICP-MS (hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) pro stopovou analýzu kovů a chromatografických technik pro detekci organických polutantů, čímž se dosahuje vyšší komplexnosti při hodnocení environmentálního znečištění.

Díky svému ekologickému významu a dostupnosti se včely stávají klíčovým nástrojem biomonitoringu v městských, průmyslových i venkovských oblastech, přičemž jejich využití je stále častěji součástí legislativně podporovaných monitorovacích programů.
V nedávno publikované studii z roku 2024 (Catalano et al., 2024) byly včely využity jako biomonitory prostředí v okolí zařízení na zpracování odpadu na energii v oblasti Kampánie, Itálie. Cílem bylo zjistit, zda provoz tohoto zařízení přispívá k uvolňování dioxinů a látek jim podobných, a zároveň posoudit přítomnost dalších kontaminantů, jako jsou rizikové prvky, polycyklické aromatické uhlovodíky, kovy a pesticidy. Zjištění ukázala, že koncentrace dioxinů nepřekročily stanovené limity a zároveň potvrdila schopnost včel detekovat širokou škálu látek, což naznačuje jejich vysokou užitečnost při hodnocení environmentální kvality a zdravotních rizik (Catalano et al., 2024).

Další studie (Smith & Weis, 2022) se zaměřila na měření koncentrací kovů a izotopových složení olova v městském prostředí ve Vancouveru v Kanadě. Vzorky horniny a prachových částic, které včely nasbíraly během letů za pylem a nekterem, odhalily výrazné prostorové rozdíly – vzorky z centrálních městských oblastí vykazovaly vyšší koncentrace kovů spojených s antropogenními zdroji. Důležitým zjištěním bylo, že produkty včelstev, například med, vosk a pyl, působí jako stabilizátory, jelikož snižují krátkodobé kolísání hodnot. Tento „vyhlazovací“ efekt přispívá k získání spolehlivějšího přehledu o dlouhodobých trendech znečištění, ovšem zároveň může skrývat lokální extrémy, což je třeba zohlednit při interpretaci dat (Smith & Weis, 2022).

V italské studii (Conti et al., 2022) byl představen alternativní přístup, při kterém byly analyzovány vzorky včel a jejich produktů (vosk, pyl, propolis) získané v Římě. V rámci

rozsáhlého sběru vzorků bylo měřeno až čtrnáct prvků, a výsledky byly interpretovány pomocí nově zavedeného indexu bioakumulace (OBI, Overlap Bioccumulation Index). Tento index umožňuje porovnat schopnost jednotlivých matric bioakumulace kovů. Studie ukázala, že včely a vosk jsou výraznými akumulátory mědi, cínu a manganu, které jsou spojeny s emisemi z dopravy, zatímco med vykazuje nízkou bioakumulaci, což potvrzuje jeho vhodnost jako potravinového produktu, nikoli však jako indikátoru znečištění. OBI tak představuje užitečný nástroj pro včasnou detekci počátečních fází znečištění (Conti et al., 2022).

Dále bych ráda zmínila studii (Ilijević et al., 2021), která se zabývala vlivem různých environmentálních faktorů na obsah esenciálních a neesenciálních prvků ve včelách. Analyzovány byly vzorky hemolymfy (tělní tekutina, která plní funkci oběhového systému u bezobratlých) a celého těla včel odebrané ze tří lokalit s odlišnou mírou urbanizace a industrializace – počínaje venkovskou oblastí, až po hustě osídlené městské a průmyslové oblasti. Výsledky ukázaly, že složení prvků ve včelách výrazně závisí na místních podmínkách, ročním období i úrovni včelí aktivity. Hemolymfa se osvědčila jako zvláště citlivý indikátor, který umožňuje odlišit zdroje znečištění, což dále potvrzuje, že pro porovnání různých lokalit je nezbytné odebrat vzorky ve stejném časovém období (Ilijević et al., 2021).

Na základě výše uvedených studií jasně vyplývá, že použití včel pro detekci kovů je jak racionální, tak i velmi účinné. Včely totiž dokážou shromáždit data z různých environmentálních oblastí, což umožňuje poskytovat komplexní a dlouhodobě stabilní indikátory znečištění. Je třeba zdůraznit, že schopnost akumulovat kontaminanty se u včelích těl a jejich produktů výrazně liší. Zatímco včelí těla, vosk, pyl i propolis vykazují vysokou bioakumulační kapacitu, med se naopak vyznačuje velmi nízkou akumulací, což jej činí vhodným především pro hodnocení potravinové bezpečnosti, nikoli však jako indikátor environmentálního znečištění.

3.3 Zlato – Au

Zlato je kov s jedinečnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, které jej činí mimořádně cenným a všestranně využitelným. Jedná se o chemicky inertní prvek s vysokou odolností vůči oxidaci a korozi, což mu zajišťuje stabilitu v různých prostředích. S hustotou přibližně 19,3 g/cm³ patří zlato mezi nejtěžší kovy. Má mimořádně dobrou elektrickou a tepelnou vodivost, díky čemuž je hojně využíváno v elektrotechnice a mikroelektronice. Jeho kujnost a tažnost jsou bezkonkurenční – gram zlata lze tepáním rozpracovat na fólii o tloušťce méně než 1 μm (Stejskal, 2022; Vojtěch, 2006).

Chemická odolnost zlata pramení z jeho vysokého elektrodového potenciálu, díky čemuž nereaguje s většinou kyselin. Rozpouští se pouze v rtuti, se kterou vytváří amalgám, v kyanidech, kde tvoří komplexní sloučeniny, a také například v lučavce královské. To jej činí ideálním materiálem nejen pro šperkařství, ale také pro aplikace v korozivních prostředích (galvanické zlacení). Avšak čisté zlato snadno podléhá opotřebení, proto se ve většině aplikací dává přednost jeho slitinám – nejčastěji se stříbrem, mědí, niklem, platinou nebo palladiem. Díky své mimořádné chemické odolnosti si zachovává stabilitu i v roztaveném stavu, aniž by docházelo k oxidaci vzdušným kyslíkem, což umožňuje dlouhodobé udržení jeho typického kovového lesku (Stejskal, 2022; Vojtěch, 2006).

Tyto jedinečné vlastnosti předurčují zlato k širokému spektru využití, od tradičního šperkařství přes moderní technologie (výroba polovodičů, medicínské přístroje, nanotechnologie) (Stejskal, 2022; Vojtěch, 2006).

3.3.1 Přirozený výskyt a koncentrace Au v zemské kůře

Zlato je chemický prvek, který se v přírodě vyskytuje především v rudních žilách, ale také ve formě krystalů, plíšků nebo nugetů, krystalizujících v kubické krystalové soustavě (Šupal, 2013). Zároveň je nutné zmínit, že se jedná o nejrozšířenější ryzí kov, který můžeme v přírodě nalézt, se stříbrem tvoří tzv. „pevné roztoky“ (elektrum). Primární ložiska zlata vznikají prostřednictvím hydrotermálních procesů a jsou geneticky spjata s hlubinnými nebo výlevnými vyvřelinami. Hydrotermálně-sedimentární ložiska kyzové formace (resp. vulkanosedimentární ložiska kyzové formace) jsou převážně složena z pyritu (disulfid železa FeS_2), ke kterému se v různém poměru přidružují chalkopyrit, sfalerit a galenit. Některé z těchto akumulací obsahují významné množství stříbra nebo právě zlata (Zimák, 2005). Zlato se v ložiscích často nachází jako vtroušenina (rozptýlený minerál) v křemenných žilách nebo je vrostlé do pyritu.

Sekundární ložiska, známá jako rozsypy, vznikají erozí a transportem zlata z primárních ložisek vodními toky, kde se následně usazuje v říčních náplavech. Zlato z těchto náplavů lze získávat metodou rýžování (Zimák, 2005).

3.3.2 Historický význam zlata a jeho současný surovinový potenciál v ČR

Zlato, díky svému přirozenému výskytu převážně v ryzí formě a snadné dostupnosti, patří mezi první kovy, které lidstvo objevilo a začalo využívat již přibližně od 10. tisíciletí př. n. l. (Morávek, 2016). V českých zemích hrálo zlato významnou roli již od středověku, kdy se těžilo v oblastech jako Jílové u Prahy, Kašperské Hory či Jáchymov (Morávek, 2016; Strnad et al., 2012). Tyto lokality byly známé bohatými zlatonosnými ložisky, což vedlo k rozvoji hornictví a přispělo k hospodářskému růstu regionu. Historické prameny dokládají, že těžba zlata měla zásadní vliv na ekonomiku a společenský život v těchto oblastech. Města vlivem těžby bohatla a stávala se vlivnější (Kořan, 1988; Litochleb et al., 2007; Morávek, 2009; Strnad et al., 2012).

Těžba zlata na území České republiky byla historicky významná hned v několika obdobích. Během keltského osídlení (2. až 1. století př. n. l.), kdy se z rozsypových ložisek vytěžilo přibližně 40 tun zlata, se zlato používalo zejména na výrobu mincí – tzv. duhovek (Majer, 1991). Keltové zlato s největší pravděpodobností získávali rýžováním náplavů. Ve středověku, zejména během 12. až 14. století, kdy se formovalo české království, těžba zlata výrazně přispěla k hospodářskému rozmachu a celkovému rozvoji zemí Koruny české. V tomto období z primárních ložisek pocházelo zhruba 48 tun zlata. Přičemž nejvýznamnější období hlubinné těžby drahých kovů v Čechách je obecně považováno 13. a 14. století, zejména období panování Lucemburků (Kořan, 1988; Litochleb et al., 2007; Majer, 1991).

Ve 20. století těžba zlata z těchto historických ložisek činila přibližně 9 tun, přičemž ekonomický význam měla pouze těžba v zlatodole Roudný (v okolí Kralup nad Vltavou) (Morávek, 2009). Zlatodůl Roudný se v letech 1904 až 1930 stal významným centrem těžby, kdy z 664 tisíc tun rudy s průměrným obsahem přibližně 10 gramů zlata na tunu se získalo úctyhodných 5 770 kilogramů ryzího zlata (Morávek, 2009).

Intenzivní poptávka po zlatu v neklidné první polovině 20. století podnítila nově vzniklý československý stát i soukromé podnikatele k obnovení těžby v řadě historických zlatonosných revírů, jako byly kašperskohorský (okolí Kašperských Hor na Šumavě), novoknínský (oblast kolem Nového Knína a Mokrska ve středním Povltaví), jílovský (okolí Jílového u Prahy, včetně Dolních Studených a Kamenného Přívozu) či bělčicko-kasejovický (okolí Bělčic a Kasejovic na jihozápadě Čech). Tyto aktivity nabyly na intenzitě zejména po roce 1945, kdy se stát v

rámci snahy o surovinovou soběstačnost zaměřil na průzkum a otvírku těchto ložisek (Morávek, 2009).

Od roku 1994 se v České republice zlato netěží; současná roční spotřeba zlata, odhadovaná na 4–5 tun, je zajišťována výhradně recyklací a dovozem (Morávek, 2009). V současnosti jsou ložiska zlata společně s ložisky rud lithia jedinými rudnými ložisky v České republice, která disponují významnějšími bilančními zásobami (Česká geologická služba, 2023). Podle údajů České geologické služby bylo k roku 2022 evidováno celkem 15 ložisek zlata, s odhadovanými celkovými zásobami, zahrnujícími bilanční prozkoumané, bilanční vyhledané a nebilanční zásoby, ve výši 238,9 t (Česká geologická služba, 2023). Z globálního hlediska dominují těžbě zlata v současné době (data k roku 2024) zejména Čína, Austrálie a Rusko, přičemž každá z těchto zemí produkuje ročně více než 300 tun tohoto vzácného kovu (Belder, 2024; Česká geologická služba, 2023).

Přestože Česká republika disponuje nemalým množstvím zlata v geologických zásobách a prognózních zdrojích primárních ložisek, což představuje jedny z největších zásob v Evropě, na jejím území v současnosti nefunguje žádný aktivní zlatodůl. Při současné ceně zlata na světových trzích je hodnota tohoto surovinového potenciálu odhadována na přibližně 400 miliard Kč. Racionální využívání těchto zdrojů za přísné environmentální kontroly by mohlo zajistit dlouhodobou soběstačnost v domácí spotřebě zlata a přinést významné finanční přínosy obcím i státu (Česká geologická služba, 2023; Morávek, 2013).

Motivace těžebních závodů a společností je zejména hnaná vidinou zisku. Proto výše zmíněná podmínka environmentální kontroly, která musí být zajištěna již v průběhu geologického průzkumu, je na straně státu a je stěžejním pilířem k zachování přírodního bohatství a ochraně obyvatel zasažené lokality (Hnutí Duha, 2014).

3.3.3 Způsoby uvolňování Au do životního prostředí – biogeochemický cyklus Au

Uvolňování zlata (Au) z přirozených geologických zdrojů do životního prostředí není pouhým pasivním procesem rozpouštění, ale představuje složitou interakci mezi biologickými, chemickými a fyzikálními faktory. Současné výzkumy stále častěji naznačují, že mikroorganismy hrají klíčovou roli v mobilizaci a redistribuci zlata, a to jak v podzemních, tak v povrchových prostředích.

Jedním z hlavních faktorů ovlivňujících cyklus zlata je aktivita mikroorganismů, které se podílejí na koloběhu klíčových biogenních prvků, jako jsou uhlík, dusík a síra – procesy, jež jsou úzce propojeny s cyklem zlata. Nedávná studie (Sanyal et al., 2019) poukazuje na to, že

metabolická činnost mikroorganismů může vyvolat tvorbu mobilních komplexů Au(I/III). Tyto komplexy pak mění složení biofilmů na minerálech obsahujících zlato a na *placerových* zlatých částicích – tedy těch, které byly uvolněny erozními procesy a usazené v sedimentech. Tento proces vede k detoxikaci, biomineralizaci a následné agregaci zlatých zrn. Interakce mezi mikrobiálními společenstvy a změněnými fyzikálně-chemickými podmínkami, jako jsou redoxní stav a pH, tak podporuje postupné shlukování zlata, což je spojováno s formováním rozsáhlých ložisek, například v paleo-placer depozitu Witwatersrand v Jihoafrické republice (doposud největší známé paleorýžoviště na světě) (Sanyal et al., 2019).

Další výzkum dále prohlubuje pochopení mikrobiálního vlivu na biogeochemický cyklus zlata. Studie publikovaná v roce 2007 (Reith et al., 2007) ukazuje, že bakterie a archaea aktivně napomáhají rozpouštění a následnému vysrážení zlata. Tento mechanismus se odehrává v několika fázích – počínaje primární mineralizací v hydrotermálních a hlubokých podzemních systémech až po re-koncentraci zlata do formy sekundárního minerálu v povrchových podmínkách. U termofilních a hypertermofilních mikroorganismů byla zaznamenána enzymaticky řízená precipitace (vysrážení Au z roztoku do pevné formy), jež souvisí s tvorbou zlatých a stříbrných sinterů (usazenin) v horkých pramenech. Některé druhy, například sulfát-redukující bakterie, se rovněž podílejí na tvorbě zlato-sulfidových minerálů v hlubokém prostředí, což může v dlouhodobém horizontu přispět k formování ekonomicky významných ložisek. Důležitou roli hraje také vznik stabilních zlatých komplexů, jejichž redukční vysrážení vede ke vzniku bakteriálně zformovaného zlata (tzv. „bacterioform“), jež bylo identifikováno na zlatonosných zrnech v australských lokalitách (Reith et al., 2007).

Na rozdíl od mikrobiálních procesů, které převládají v hluboko uložených geologických vrstvách a na povrchu, studie vedená z počátku devadesátých let (Vasconcelos & Richard Kyle, 1991) se zaměřuje na geochemické procesy uvolňování zlata v rámci oxidace sulfidových a uhličitanových žil za semiaridních podmínek. Tato studie popisuje trojfázový proces, kde se ve spodní části profilu (pod vodní hladinou) vytváří prostředí s nižším redoxním potenciálem, následně se vyvíjí mezifáze v oxidační zóně nad hladinou, přičemž v horní části profilu dochází ke zvýšení redoxního potenciálu, čímž se podporují oxidační procesy. V tomto procesu dochází k rozpouštění primárního zlata a následné reprecipitační (zpětné vysrážení) fázi, během níž vznikají nově vytvořené zlaté krystaly s odlišnou morfologií a chemickým složením od hypogenních krystalů. Studie rozlišuje dva typy sekundárního zlata – jeden spojený se sírany a arseničnany a druhý s oxidy/hydroxidy železa a hliníku či s kaolinitem. Tyto mineralogické rozdíly jsou klíčové pro vyhledávání ložisek zlata v erodovaných terénech a ukazují, jak

fyzikálně-chemické procesy ovlivňují uvolňování a reprecipitaci zlata v přírodě (Vasconcelos & Richard Kyle, 1991).

Celkově lze konstatovat, že uvolňování zlata do životního prostředí je výsledkem komplexního působení mikrobiálních, chemických a geologických procesů. Studie (Reith et al., 2007; Sanyal et al., 2019) zdůrazňují význam mikrobiálních aktivit – ať už jde o tvorbu mobilních Au(I/III) komplexů v biofilmech nebo o aktivní solubilizaci (mikroorganismy aktivně rozpouštějí Au z pevného matrixu, což umožňuje jeho mobilizaci a následnou redistribuci) a precipitaci zlata – jako klíčových mechanismů, které umožňují mobilizaci a redistribuci zlata.

Naopak (Vasconcelos & Richard Kyle, 1991) klade důraz na geochemické aspekty, kdy oxidace a následná reprecipitace zlata vytváří specifické typy sekundárního minerálu, které mají význam jak pro porozumění procesům uvolňování zlata, tak pro průzkum a vyhledávání ložisek.

Integrace poznatků z uvedených studií nám umožňuje získat hlubší vhled do biogeochemického cyklu zlata a otevírá nové možnosti jeho využití v biotechnologických aplikacích – od průzkumu ložisek a zpracování minerálů až po environmentální remediaci kontaminovaných oblastí v důsledku těžby zlata. Díky těmto poznatkům můžeme lépe pochopit mechanismy, kterými se zlato uvolňuje a redistribuuje v akvatických a terestrických systémech, a zároveň efektivněji navrhovat strategie pro jeho následné využití či odstranění kontaminací.

3.3.4 Zlato v České republice: Přehled hlavních zlatonosných lokalit

Zlatonosné revíry na území České republiky se nacházejí především v rozsáhlém pásmu, které zahrnuje oblasti od Jílového u Prahy směrem k Šumavě, dále v jižních Čechách, na Českomoravské vrchovině, a také v horských oblastech Krkonoš a Jeseníků (Kotecký, 1997).

Zlatonosná lokalita – Kašperské Hory

Kašperské Hory představují jeden z historicky nejvýznamnějších zlatonosných revírů v Čechách, jehož těžba dosáhla vrcholu ve 14. století. Zlato bylo v této oblasti těženo převážně z křemenných žil, ve kterých bylo vtroušeno nebo vrostlé do pyritu a jiných minerálů. Historicky byla těžba zahájena pravděpodobně během keltského osídlení a rozšířila se za posledních Přemyslovců. Klíčovým obdobím bylo 13. a 14. století, kdy bylo dolování spojeno s významnými objevy tzv. "bonanzových" (extrémně bohatá ložiska/naleziště zlata) akumulací zlata (Litochleb et al., 2009).

Geologicky je Kašperskohorský revír situován v oblasti šumavského moldanubika, kde se zlatonosné mineralizace vázaly na rozsáhlé žilné zóny s šířkou několika set metrů a délkou

několika kilometrů. Nejvýznamnější zónou bylo jižní pásmo zahrnující lokality jako Suchý vrch nebo Liščí vrch. Zlatonosné žíly byly tvořeny převážně šedým a tmavě modrošedým křemenem, s přítomností grafitu a minerálů bismutu a telluru. Chemická čistota zlata vykazovala obsah stříbra mezi 1,5–10,5 %, což svědčí o různorodosti genetických typů ložisek (Litochleb et al., 2009).

Historické důlní práce byly rozsáhlé, ačkoliv jejich hloubka nepřesahovala většinou 30–50 metrů. Nejvýznamnější štolou byla dědičná štola sv. Jana. V moderní době probíhaly průzkumné aktivity zejména v 80. a 90. letech 20. století, kdy bylo evidováno 189 tun zlata v nebilančních zásobách při průměrném obsahu 3,44 g/t. Významné zlatonosné oblasti byly ale následně ponechány bez další těžby z ekologických i ekonomických důvodů (Litochleb et al., 2009).

Tento revír představuje významný příklad propojení historického dolování, geologické unikátnosti a environmentální ochrany (Litochleb et al., 2009).

Zlatonosná lokalita – Mokrsko

Mokrsko je významná zlatonosná lokalita nacházející se v oblasti Novoknínska, která spadá do středočeské zlatonosné zóny. Oblast Novoknínska se považuje za druhou nejvýznamnější zlatonosnou lokalitu středočeské zlatonosné zóny (hned po jílovském zlatonosném revíru). Zlatonosné revíry této oblasti se dělí na čtyři hlavní úseky: novoknínský, kozohorský, libčický a Psí hory, přičemž Mokrsko se řadí k nejvýznamnějším díky rozsáhlému geologickému a báňskému průzkumu prováděnému v 80. letech 20. století (Litochleb et al., 2011).

Ložiska v Mokrsku jsou geneticky spjata s hydrotermálními procesy variského stáří, přičemž zlatonosná mineralizace je zastoupena především křemennými žilami, obsahujícími minerály jako arsenopyrit, pyrit, sfalerit, galenit a další polymetalické sulfidy. Významnou roli zde hraje rovněž přítomnost zlata ve formě jemně rozptýlených inkluzí v minerálních zrnech. V této lokalitě byla identifikována variabilní ryzost zlata, často obohacená o stříbro, což je typické pro podobné zlatonosné revíry (Litochleb et al., 2011).

Průzkum Mokrska vedl k objevu mineralogicky bohatých zrudněných struktur. Hlavní zlatonosné zóny se nacházejí v kontaktu s metamorfovanými sedimenty a plutonickými horninami středočeského masivu. V průběhu těžební historie byly v oblasti Mokrsko raženy hlubinné štoly a realizovány rozsáhlé povrchové těžební práce. Analytické práce potvrdily

vysoké koncentrace zlata, avšak další těžba byla omezena legislativními a ekologickými faktory, zejména kvůli citlivosti území (Litochleb et al., 2011).

Zlatonosná lokalita – Příbramsko

Zlatonosný revír v okolí města Příbram je nutné zmínit samostatně, protože se jedná o specifickou oblast s odlišným typem zrudnění, které má nejčastěji polymetalický charakter nebo obsahuje zlato asociované s uranovými žilami. Povrchové výskyty zlata byly v minulosti zkoumány prostřednictvím starých dobývek a v některých případech bylo zlato získáváno rýžováním. Významnější koncentrace zlata však byly identifikovány až ve 20. století, kdy během těžby uranu byly zjištěny v hloubkách 450 až 1200 metrů (Smola, 2012).

Na Příbramsku se zlato vyskytuje v endogenní formě ve třech typech mineralizací, které se liší významností a dostupností:

- *Křemenné a křemen-sulfidické žíly* – nejvýznamnější zdroj zlata v oblasti, s lokálními zvýšenými obsahy kovů a přítomností makroskopických částic zlata.
- *Stříbronosné polymetalické žíly* – obsahují zlato pouze v nízkých koncentracích.
- *Karbonát-sulfidické žíly* – zlato je regenerované vázané na uranové zrudnění, ale význam je minimální.

Hlavní potenciál těžby zlata v regionu představují křemenné a křemen-sulfidické žíly, díky prokázané vyšší kovnatosti (Smola, 2017).

Na Příbramsku se zlato mimo kompaktní horniny vyskytuje zejména v aluviích potoků a svahových sedimentech (deluviích), které mají vazbu na primární ložiska. Menší výskyty byly prokázány v kambrických sedimentech v okolí obce Láz, kde vrstvy dosahují mocnosti až 12 metrů s obsahem zlata do 1 g/t. Další drobné výskyty se nacházejí jihozápadně směrem k Rožmitálu pod Třemšínem a Březnici (např. Završice, Chrást, Namnice) a severozápadně v blízkosti Příbrami (např. Třemošná, Podlesí, Obecnice). Tyto oblasti jsou pravděpodobně zdrojem rozsypového zlata na horním toku Litavky (Smola, 2017).

Pro účely této diplomové práce byl kladen důraz především na exogenní výskyt zlata na Příbramsku, který je úzce spjat s povodím řeky Litavky, a tvoří tak klíčovou oblast pro studium rozsypového zlata v regionu.

Rýžoviště zlata v povodí řeky Litavky byla historicky nejrozsáhlejší v úseku od obce Láz až po Trhové Dušníky, kde Litavka ústí do Příbramského potoka. Dodnes se

však dochovaly pouze malé fragmenty těchto rýžovnických lokalit. Stopy této činnosti lze stále pozorovat v okolí obce Láz, zejména v podobě několikametrových sejpů podél přilehlých silnic, a také v úseku Litavky mezi Vysokou Pecí a okrajem města Příbram. Menší pozůstatky jsou patrné na levém břehu Litavky u Trhových Dušníků, konkrétně v blízkosti usedlosti „Škrtilka“ (Smola, 2017).

Trhové Dušníky sehrály významnou roli v historické těžbě zlata, zejména díky rýžování zlatonosných rozsypů v údolní nivě řeky Litavky. Tyto rozsypy vznikly v blízkosti zlatonosných křemenných žil a dalších primárních ložisek, přičemž zlato pocházelo mimo jiné z příbramského a březohorského polymetalického revíru. Oblast Trhových Dušníků je důležitým příkladem využití deluviálních a aluviálních sedimentů pro historickou těžbu, která přispěla k rozvoji těžebních aktivit v regionu (Litochleb et al., 2012).

Řeka Litavka pramení v chráněné krajinné oblasti Brdy a protéká regionem Příbramska. Tato oblast je historicky známá intenzivní těžbou a průmyslovou činností, které mohly ovlivnit kvalitu vodního prostředí. Říční niva Litavky, formovaná záplavami, byla v průběhu staletí významně ovlivněna lidskou činností, přičemž docházelo ke kontaminaci rizikovými prvky, jako jsou olovo (Pb), zinek (Zn) a kadmium (Cd). Oblast v okolí Litavky tak představuje nejen geologicky zajímavé prostředí, ale i historicky významnou lokalitu spojenou se zlatonosnými ložisky a těžbou dalších nerostných surovin (EKOLIST, 2020).

Zlatonosná lokalita – Jílové u Prahy

Zlatonosný revír Jílové u Prahy, rozkládající se na ploše přibližně 25 km², představuje nejvýznamnější ložisko zlata v České republice. A to jak z hlediska rozlohy, tak i celkového množství vytěženého drahého kovu. Nachází se cca 25 km jihovýchodně od

Prahy, v kaňonovitém údolí dolního toku řeky Sázavy. Těžba zde probíhala více než 2000 let, přičemž zlato z této lokality sehrálo významnou roli v hospodářském a stavebním rozvoji českého království, například při financování projektů Karla IV.

Jílovský revír je součástí jílovského pásma, které se táhne v délce přibližně 70 km a jeho šířka se pohybuje mezi 1–6 km. Kromě Jílového zahrnuje i další historické těžební lokality, jako jsou Psí hory, Štěchovice-Slapy nebo Smolotely-Horní Líšnice (Litochleb, 2000; Řeháček J, 2016; Váňa, 2017).

Zlato v Jílovském revíru je vázáno na variské přesmykové zóny, které jsou doprovázeny hustou sítí trhlin a žilných systémů. V oblasti bylo identifikováno šest hlavních zlatonosných pásem – Bohulibsko-ostřetínské, Kuklicko-tobolské, Šlojířské, Klobáské, Kocourské a Halířské. Ložisko obsahuje tři základní typy zrudnění (Litochleb, 2000; Váňa, 2017):

- *Rudní žíly* – úzce vázané na poruchové systémy s kovnatostí 3–10 g/t Au.
- *Žilníky* – přítomné ve vulkanických horninách, s průměrnou kovnatostí 2–4 g/t Au.
- *Rozptýlená impregnace v horninách* – tělesa s mocností až 20 m, ale s nižší kovnatostí 1–2 g/t Au.

I zde je hlavní minerální složkou zlatonosných žil bělavý křemen, v němž se zlato často vyskytuje ve spojení s kouřovým či bezbarvým křemenem tzv. mladší generace. Běžnými doprovodnými minerály jsou ankerit, dolomit, kalcit a různé sulfidy, zejména pyrit, arzenopyrit či pyrhotin. Zlato se zde vyskytuje ve volné i vázané formě, přičemž na některých žilách byly nalezeny i makroskopické agregáty, například na Šlojířské žíle o hmotnosti až 1 kg. Průměrná ryzost zlata dosahuje 830–970, což odpovídá vysoké čistotě. V žilnících je hlavní část zlata (78–100 %) vázána na pyrit, jehož obsah zlata se pohybuje od 12 do 158 g Au/t (Litochleb, 2000; Řeháček J, 2016; Váňa, 2017).

Těžba v Jílovém u Prahy byla definitivně ukončena v roce 1969, ačkoli v 50. a 60. letech probíhal rozsáhlý průzkum a pokusy o obnovení těžby. Odhaduje se, že celková produkce zlata v revíru přesáhla 11 tun, což představuje více než třetinu veškerého zlata vytěženého z primárních ložisek na území ČR (Litochleb, 2000; Váňa, 2017).

3.3.5 Těžba zlata a její vliv na životní prostředí

Následující kapitola se zaměřuje na různé metody těžby zlata, zahrnující jak tradiční historické postupy, tak moderní technologicky pokročilé techniky. Text nabízí přehled těžebních technologií, jejich principů, výhod i nevýhod, a také potenciální způsoby minimalizace negativních dopadů těžby zlata na ekosystémy.

3.3.6 Rýžování

Nejstarším a zároveň nejjednodušším způsobem oddělování zlata od doprovodných minerálů je rýžování, které využívá rozdílnou hustotu ryzího zlata a ostatních složek (Kursa & Szurman, 2013). Funguje na principu promývání materiálu v pánvích nebo speciálních žlabech tekoucí vodou v korytu řeky. Hmotnostně těžší částice Au sedimentují na dně, přičemž hmotnostně lehčí horninový materiál je odplavován. Na jednu stranu jednoduchá metoda

nevyžadující složité technologické vybavení, na stranu druhou účinnost je značně limitována na oblasti s vysokým obsahem částic Au ve volné formě. Své popularitě se ale stále těší mezi nadšenci (Kursa & Szurman, 2013).

3.3.7 Amalgamace

Jde o extrakci zlata využívající schopnost rtuti tvořit slitiny se zlatem (amalgámy), díky čemuž poskytuje separaci zlata z rudného materiálu. Tato metoda byla široce využívána především od 16. století až do 20. století, kdy byla postupně nahrazována ekologicky šetrnějšími technologiemi (Kursa & Szurman, 2013). Během tohoto procesu je jemně rozdrcená zlatonosná hornina vystavena kontaktu s elementární rtutí. Rtuť má schopnost na sebe vázat zlato, a to jak drobné částečky, které nejsou viditelné pouhým okem, tak větší úlomky zlata přítomné v hornině. Následně se amalgam zahřeje, což způsobí odpaření rtuti, a jako konečný produkt zůstává zlatý slitek. Páry rtuti jsou následně kondenzovány a znovu použity (Kursa & Szurman, 2013; Stejskal, 2022).

Ačkoli je tato metoda z pohledu výtěžnosti relativně efektivní a ekonomicky výhodná, přináší značná rizika pro životní prostředí, zejména uvolňování toxických výparů rtuti do ovzduší. V současnosti je tento způsob těžby zlata využíván spíše výjimečně, přičemž se preferují postupy, které minimalizují riziko znečištění atmosféry rtutí (Stejskal, 2022). V některých rozvojových regionech ji nelegální těžba zlata stále využívá, což představuje vážný ekologický a zdravotní problém.

3.3.8 Kyanidové loužení

Kyanidový proces, který se stále běžně využívá, je považován za základní metodu získávání zlata z rud a koncentrátů. Tato hydrometalurgická technika je založena na rozpouštění zlata v alkalickém roztoku kyanidů. Vzhledem k tomu, že amalgamace a rýžování jsou již překonané a v současnosti se téměř nepoužívají, podrobnější popis se zaměří na kyanidovou technologii (Kursa & Szurman, 2013).

Tuto metodu vynalezli v roce 1887 skotští chemici John S. MacArthur, Robert W. Forrest a William Forrest. Proces se skládá ze tří hlavních kroků: smísení jemně rozdrcené rudy s kyanidovým roztokem, odstranění pevných částic z roztoku a získání kovů srážením pomocí zinkového prachu.

Stechiometrie této reakce je známá jako Elsnerova rovnice (1846) (Kursa & Szurman, 2013):

$$4Au + 8CN^- + O_2 + 2H_2O \rightarrow 4Au(CN^-)_2^- + 4OH^-$$

Vedle toho existují i další specializované metody, například získávání zlata z anodových kalů, což je vedlejší produkt při výrobě mědi (Cu). Tato technologie je využívána především v metalurgickém průmyslu (Kursa & Szurman, 2013).

3.3.9 Ekologické dopady těžby zlata

Těžba nerostných surovin může mít významné negativní dopady na životní prostředí, včetně devastace ekosystémů, narušení vodního režimu, emisí prachových částic a úniků škodlivých chemických látek. Provoz v dolech ohrožuje zdraví pracovníků chronickou expozicí prachových částic, zplodinám, jako jsou oxid uhelnatý, oxid siřičitý, oxidy dusíku a další emise z těžké techniky. Oxidace některých příměsných minerálů, například pyritu často doprovázejícího ložiska zlata, může vést ke vzniku kyselin a jejich následnému šíření do okolního prostředí. Vzhledem k potenciálně dlouhodobým a obtížně napravitelným následkům je ochrana životního prostředí zabezpečována řadou preventivních opatření (Šupal, 2013).

Těžba zlata, zejména v moderním pojetí jako je amalgamace a kyanidové loužení, má významné ekologické důsledky, které mohou významně narušit ekosystém a zdraví dotčených komunit. Následující text shrnuje hlavní negativní dopady spojené s těžbou zlata (Stenson, 2006).

- *Znečištění vodních zdrojů* – chemické látky používané při loužení (kyanidy, rizikové prvky) mohou kontaminovat podzemní vody a vodní toky, což ohrožuje ekosystémy i místní komunity.
- *Degradace půdy* – těžební činnost narušuje přirozené vrstvy půdy a způsobuje její erozivní degradaci, což vede k nevratným změnám krajiny.
- *Ztráta biodiverzity* – odlesňování a destrukce přírodních habitatů vede k úbytku flóry a fauny v těžebních oblastech.
- *Akumulace toxických látek*

  Projekt „Investigation of the Risk of Cyanide in Gold Leaching on Health and Environment in Central Asia and Central Europe“ (IRCYL), byl zaměřen na hodnocení rizik kyanidového loužení zlata, jeho dopadů na lidské zdraví a životní prostředí. Tento proces těžby zlata je považován za potenciálně neudržitelný právě kvůli rizikům spojeným s úniky kyanidu (Stenson, 2006). Projekt se zabýval dvěma zásadními haváriemi. První z nich se odehrála v roce 1998 na zlatém dole Kumtor v Kyrgyzstánu, kde došlo k úniku 100 tun kyanidu do 100 000 m³ odpadní vody. Projekt analyzoval historické ekologické katastrofy spojené s těžbou zlata, přičemž jako nejvýznamnější

byly identifikovány incidenty v Kyrgyzstánu (1998) a Rumunsku (2000). Protržení hráze vedlo k úniku kyanidu do systému řeky Dunaj, což způsobilo rozsáhlou ekologickou katastrofu s dopadem na celou střední Evropu (Stenson, 2006).

Výstupy projektu zahrnují aktualizované krizové plány zaměřené na prevenci a zmírnění rizik spojených s používáním kyanidu při těžbě zlata. Získané poznatky přispěly k odborné diskuzi na úrovni EU o zpřísnění regulací kyanidového loužení a posílení environmentální ochrany (Stenson, 2006).

3.3.10 Biogeochemické metody detekce zlata v environmentálních vzorcích

Tato kapitola se věnuje biogeochemickým metodám detekce zlata, jejich principům a využití v geologickém průzkumu s důrazem na současné trendy v oblasti výzkumu.

Jednou z moderních metod detekce zlata v environmentálních vzorcích je biogeochemická analýza, která využívá vlastností rostlin a hub (bioakumulace, mykorhizní symbióza, biolixiviace) k identifikaci přítomnosti zlata v horninách a půdách. Tato metoda je obzvláště užitečná v oblastech, kde geologické podmínky, například přítomnost glaciálních sedimentů, komplikují tradiční prospekci. Ta zahrnuje zejména povrchové odběry hornin a sedimentů, geochemické mapování, geofyzikální měření nebo vrtný průzkum. Na rozdíl od těchto konvenčních přístupů se tato práce soustředí na netradiční formy geologického průzkumu, které využívají živé bioindikátory – především rostliny, houby a živočichy, jako jsou například včely, jejichž tělesné tkáně mohou odrážet přítomnost stopových množství zlata v prostředí (Borovička et al., 2010; Lintern & Anand, 2017; Närhi et al., 2013).

Detekce zlata v environmentálních vzorcích je náročná kvůli jeho nízkým koncentracím a omezené rozpustnosti v přírodních podmínkách. Tato metoda je založena na principu akumulace Au do živé biomasy (např. rostlin), které tímto způsobem fungují jako biomonitory přítomnosti Au v prostředí (obdobně jako včely). Po akumulaci lze Au ve vzorcích rostlinného materiálu dále kvantitativně stanovit standardními analytickými technikami. Přidání chelatačních činidel do živného média však výrazně zvyšuje biologickou dostupnost zlata pro rostliny, což umožňuje jeho akumulaci a následnou analytickou detekci (Lasat, 2002; Žůrek, 2015). Studie na modelové rostlině tolice vojtěška *(Medicago sativa)* ukázaly, že zlato je rostlinami absorbováno převážně ve formě Au(0), přičemž pouze malá část zůstává ve formě Au(III) (Lasat, 2002). Zlato přijaté v oxidačním stavu Au(III) je v kořenovém pletivu redukováno na elementární formu, což ovlivňuje jeho distribuci v rostlině (Lasat, 2002; Žůrek, 2015). Kvantifikace zlata v rostlinných pletivech, půdách a dalších environmentálních vzorcích

se provádí pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) nebo jiných pokročilých analytických metod s vysokou citlivostí.

Dále stojí za zmínku rovněž biogeochemická metoda využívající dřeviny, která byla testována v oblasti Suurikuusikko střižné zóny ve finském Laponsku. Tato oblast byla vystavena tektonické aktivitě způsobené postglaciálním zdvihem. Studie se zaměřila na dvě rostlinné druhy: jalovec obecný (*Juniperus communis*) a smrk ztepilý (*Picea abies*). Výsledky ukázaly, že jalovec dokáže akumulovat zlato v koncentracích až 54 μg/kg, zatímco smrk vykazoval výrazně nižší hodnoty (0,53 ± 0,79 μg/kg). Anomální koncentrace zlata v jalovci byly spojeny s pohybem podzemní vody skrze tektonické poruchy v horninách, což naznačuje, že chemická analýza jalovce může být účinnou metodou pro biogeochemickou prospekci zlata v oblastech se zlomy hornin (Närhi et al., 2013).

Analýza hub představuje další inovativní přístup k detekci zlata. V okolí zlatého ložiska Mokrsko byla provedena studie zaměřená na makromycety. Výsledky ukázaly, že saprobní houby, jako například *Lycoperdon perlatum*, akumulují zlato v koncentracích dosahujících až 7739 μg/kg suché hmotnosti, což je nejvyšší zjištěná hodnota pro přirozeně se vyskytující houby a cévnaté rostliny. Ektomykorhizní houby vykazovaly nižší hodnoty (0,88–564 μg/kg), přesto však byly koncentrace zlata v jejich mykorhizních strukturách 4–10krát vyšší než v jemných kořenech rostlin. Výzkum potvrzuje významnou roli hub v biogeochemickém cyklu zlata, přičemž saprobní druhy mají větší schopnost akumulace zlata, pravděpodobně díky interakcím s mikroorganismy a přirozeně se vyskytujícími látkami (Borovička et al., 2010).

Tyto studie naznačují, že biogeochemické metody, včetně analýzy rostlin, hub a dalších organismů, mohou být efektivním nástrojem pro identifikaci ložisek zlata v environmentálních vzorcích (Borovička et al., 2010; Närhi et al., 2013). Vzhledem k jejich schopnosti akumulovat zlato z prostředí se otevírá i potenciál pro inovativní přístupy, jako je využití včel ke screeningovým metodám detekce zlatonosných lokalit. Takový přístup by mohl představovat šetrnou, dostupnou a účinnou alternativu k tradičním geochemickým metodám průzkumu, jako jsou chemické analýzy půdy a vody nebo mineralogické a geofyzikální metody.

3.3.11 Přehled metod extrakce Au z geologických a environmentálních vzorků

Kvantitativní převedení Au z pevné matrice do kapalné fáze je klíčovým krokem pro následné přesné a reprodukovatelné stanovení jeho koncentrací pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Volba vhodné extrakční metody velmi ovlivňuje nejen účinnost uvolnění Au, ale také míru spektrálních interferencí a

analytickou výtěžnost. V této části jsou shrnuty současné přístupy využívané pro rozklad geologických a půdních vzorků.

Česká studie z roku 2016 (Strnad et al., 2016) představuje metodu přímé extrakce zlata z komplexních matric pomocí směsi anorganických kyselin $HClO_4$–HBr–HI a lučavky královské. Tato směs kyselin umožnila účinnou extrakci Au z matric typu geologických referenčních materiálů při teplotě 200 °C bez nutnosti použití HF. Metoda také prokázala vysokou přesnost (RSD - Relative Standard Deviation pod 5 %) a spolehlivost i při zpracování prachových vzorků z elektroodpadu. Dále byla její aplikace rozšířena na vzorky půdy. Výhodou tohoto přístupu je jednoduchost, nízká spotřeba činidel a možnost přesného stanovení bez předkoncentračních kroků.

Alternativní přístup byl již v roce 1992 popsán (Reddi et al., 1992). Tato metoda využila extrakci Au z hornin a říčních sedimentů za studena pomocí kombinace HCl a Br_2 po dobu 24 hodin. Au bylo poté vysráženo spolu s Te a přeneseno do organické fáze (toluen). Následně bylo reextrahováno do lučavky královské a stanoveno metodou AAS (atomová absorpční spektrometrie). Tato metoda se ukázala jako vhodná pro hromadné zpracování velkých vzorků (až 40 g), což minimalizuje chyby způsobené heterogenitou a umožňuje vysokou propustnost analýz.

Inovativní přístup kombinující mikrovlnný rozklad, obohacení pomocí polyuretanové pěny a desorpci pomocí thiomočoviny (CH_4N_2S) byl popsán ve studii z roku 2020 (Tang et al., 2020). Tato metoda vedla k selektivnímu zachycení Au, eliminaci interferencí a výraznému zlepšení detekčních limitů. Navíc ve srovnání s tradičním rozkladem na elektrické topné desce vykazoval mikrovlnný ohřev (uzavřený systém) celou řadu výhod (menší dávkování vzorku a činidel, kratší dobu zpracování, vyšší míru automatizace, důkladnější rozklad matrice, vyšší bezpečnost a environmentální šetrnost). Metoda byla úspěšně testována při analýze půd z reálné oblasti těžby Au a má značný potenciál jako rutinní laboratorní metoda.

Z uvedených studií vyplývá, že efektivní extrakce Au z půdních a geologických vzorků vyžaduje pečlivě optimalizovanou kombinaci rozkladného prostředí, teplotního režimu a případně i následné prekoncentrace. Trend posledních let ukazuje, že je kladen důraz nejen na analytickou výtěžnost, ale také na ekologické aspekty a bezpečnost práce. Tento posun reflektuje celkový směr vývoje k udržitelným, efektivním a prakticky aplikovatelným analytickým metodám vhodným pro rutinní použití.

Níže je uvedena přehledová tabulka (Tabulka 1) porovnávající tři vybrané metody extrakce Au z geologických vzorků. Obsahuje informace o použitých činidlech, způsobu ohřevu, prekoncentračních krocích, výhodách a analytické metodě použité pro stanovení Au.

Tabulka 1 - Přehledová tabulka metod extrakce Au z geologických vzorků

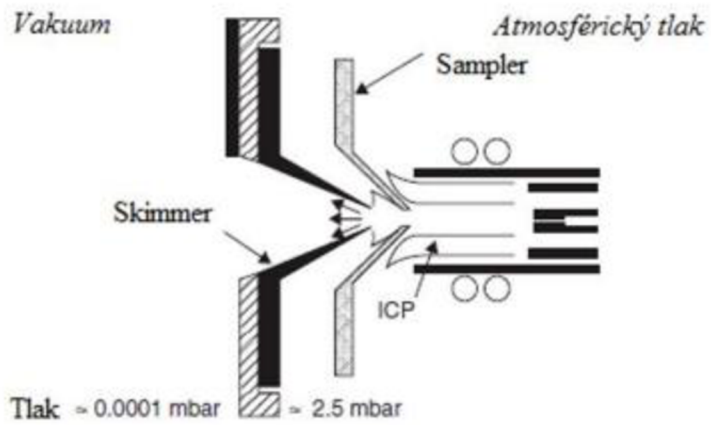
Studie Autor	Použité činidlo	Ohřev	Prekoncentrace	Výhody	Detekční metoda
Strnad et al. (2016)	$HClO_4$–HBr–HI + lučavka královská	200 °C (topná deska)	Ne	Vysoká výtěžnost, žádná potřeba HF	ICP-MS
Reddi (1986)	HCl + Br_2, reextrakce do lučavky	Ne (extrakce za studena)	Srážení s Te, organická extrakce	Nízké náklady, vhodné pro velké vzorky	AAS
Tang et al. (2020)	Lučavka královská + PU pěna + thiomočovina	Mikrovlnný ohřev	Polyuretanová pěna + thiomočovina	Ekologické, selektivní obohacení Au	ICP-MS

3.4 Princip metody ICP-MS

Metoda hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS - Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry) byla vyvinuta před téměř 50 lety, původně pro geologické a oceánografické laboratoře. Dnes se však využívá v různých oborech, včetně průmyslové kontroly kvality, medicíny a akademického výzkumu (Mestek, 2010; Strnad et al., 2008). Princip metody spočívá v kombinaci zdroje iontů, tvořeného indukčně vázaným plazmatem, a hmotnostního spektrometru, který analyzuje ionty podle jejich hmotnostně-nábojového poměru (m/z) (Mestek, 2010; Nelms S. M., 2005; Strnad et al., 2008).

ICP-MS využívá ICP jako zdroj iontů, které jsou následně vedeny do hmotnostního analyzátoru. Z ICP hlavice vystupuje směs iontů, atomů, fragmentů molekul a argonu. Plazmová hlavice je obvykle v horizontální poloze a RF cívka (Radio Frequency coil), většinou vyrobená z mědi, generuje vysokofrekvenční elektromagnetické pole, které ionizuje plyn (obvykle argon) a vytváří plazmat (Mestek, 2010; Nelms S. M., 2005; Strnad et al., 2008). Plazma je vysoce energetický stav hmoty, ve kterém jsou atomy ionizovány a uvolňují se elektrony. Ionty vznikají přibližně po 10 ms od vstupu aerosolu do plazmové hlavice, přičemž největší výskyt iontů je asi 8 mm nad cívkou, kde je umístěn interface. Jedná se o klíčovou

součást přístroje, která slouží jako přechodová zóna mezi plazmovou hlavicí (kde se generuje plazma a ionizují vzorky) a hmotnostním spektrometrem (k analyzování iontů). Jeho hlavním úkolem je přenést ionty z plazmatu (při atmosférickém tlaku) do vakua hmotnostního spektrometru, aniž by došlo k významné ztrátě iontů nebo narušení analýzy (viz Obrázek 1). (Mestek, 2010; Nelms S. M., 2005; Strnad et al., 2008).



Obrázek 1 - Interface a jeho schéma (Thomas, 2003)

Vznik plazmatu je zajištěn pomocí radiofrekvenčního generátoru pracujícího na frekvencích 27 či 40 MHz a indukční cívky, která generuje vysokofrekvenční elektromagnetické pole, čímž se dosahuje vysokoteplotního argonového plazmatu o teplotě přibližně 7000 až 8000 K, s možností dosažení teplot až 10 000 K. Kapalný vzorek je prostřednictvím zmlžovače a mlžné komory (Scottova dvouplášťová nebo cyklonická) převeden na jemný aerosol, přičemž vzniklé částice menší než 5 μm jsou dále vedeny do plazmového hořáku (Mestek, 2010; Nelms S. M., 2005; Strnad et al., 2008).

Expanzní komora slouží k přechodu ionizovaného materiálu z prostředí s atmosférickým tlakem do části přístroje, kde je zajištěno vysoké vakuum (až 10^{-5} Pa) (Strnad Ladislav, 2008). Toto zařízení využívá dva kovové děliče tlaku tzv. kónusy, obvykle z niklu nebo platiny, které vytvářejí potřebný tlakový gradient, jenž umožňuje vznik soustavy ionizovaných částic směřujících do analyzátoru. Po vstupu do vakuové části je iontový svazek upraven iontovou optikou, která nejprve zajistí jeho rozostření, aby se předešlo kolizím s pohlcovačem fotonů, a poté jej opět zaostří a urychlí směrem k separátoru. V běžně používaném kvadrupólovém analyzátoru, sestávajícím ze čtyř molybdenových tyčí, dochází k selektivnímu průchodu iontů na základě jejich hmotnostně-nábojového poměru (Nelms S. M., 2005; Strnad et al., 2008). Ionty, které úspěšně projdou kvadrupólem, jsou následně detekovány elektronovým násobičem, jenž zesiluje a digitalizuje signál generovaný kaskádovitým tokem

elektronů. Metoda ICP-MS umožňuje simultánní stanovení širokého spektra prvků (v rozsahu 5 až 250 atomových hmotnostních jednotek) a je vhodná jak pro izotopovou analýzu, tak pro detekci velmi nízkých koncentrací analytů (Strnad et al., 2008). Je však nezbytné brát v úvahu omezení vyplývající z vlastností analyzovaného vzorku, neboť vysoké koncentrace kyselin mohou způsobovat korozi kónusů a degradaci vakuových pump. Zatímco nadměrné množství solí či organických sloučenin může vést k usazování na kritických komponentech přístroje a následným změnám v analytických podmínkách, což se projevuje tzv. paměťovým efektem. Tento jev se projevuje tím, že zbytky předchozích vzorků mohou ovlivnit výsledky následných analýz, což může vést k chybným měřením (Mestek, 2010; Nelms S. M., 2005; Strnad et al., 2008).

Mezi zásadní výhody ICP-MS patří možnost multielementární analýzy včetně izotopického zastoupení a výrazně nižší pozadí ve srovnání s ICP-OES, což umožňuje dosažení lepších limitů detekce (LOD - Limit of Detection). LOD označuje nejnižší koncentraci analytu, kterou je přístroj schopen detekovat s určitou mírou jistoty. V případě ICP-MS je ve většině případů LOD velmi nízký, což znamená, že tato technika je schopna detekovat i extrémně malá množství prvků ve vzorku. ICP-MS navzdory vysoké produktivitě metody je provoz, obsluha a údržba spojeny s významnými náklady.

3.4.1 Interference

Interference v ICP-MS představují nežádoucí vlivy, které ovlivňují především správnost analytických výsledků. Obvykle k nim dochází, když se na stejné hodnotě hmotnostního poměru m/z (kde z je náboj) vyskytuje nejen analyt (přesněji kation daného izotopu), ale i další ionty nebo molekulární fragmenty, které mohou způsobit falešný signál či ovlivnit přesné stanovení koncentrace analytu (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018; Thomas, 2003).

Interference lze rozdělit do dvou skupin – spektrální a nespektrální (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018; Thomas, 2003). Jejich hlavní principy přiblíží následující podkapitoly.

3.4.2 Spektrální interference

Spektrální typ interferencí vznikají přítomností atomových nebo molekulárních iontů s hmotností blízkou hmotnosti analytu, což může vést k překrytí signálu (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018; Thomas, 2003).

Rozlišujeme několik kategorií spektrálních interferencí (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018):

- *Izobarické interference*

- *Polyatomické interference*
- *Dvojnásobně nabité ionty*

Izobarické interference

Izobarické (někdy též označovány jako monoizotopické) interference vznikají v důsledku přítomnosti izotopů různých prvků s velmi podobnými hodnotami m/z. Víme, že neexistují dva izotopy s totožnou m/z, přesto například překryv mezi Ar^+ (m/z = 39,95) a Ca^+ (m/z = 40,08) je závažnou interferencí znemožňující stanovení vápníku na hmotě 40 na přístrojích s nízkou rozlišovací schopností (low resolution; typicky kvadrupólové hmotnostní analyzátory). Obecně na izobarické ani na polyatomické interference netrpí analyzátory s vysokým rozlišením (high resolution, např. SF-MS – sektorový analyzátor, TOF-MS – průletový analyzátor). Řešením tohoto problému může být také využití jiného izotopu daného prvku, pokud je dostupný – což je možné u přibližně 70 % prvků, které se v přírodě vyskytují jako směs izotopů. Nevýhodou tohoto přístupu však bývá nízké relativní zastoupení alternativního izotopu, což může vést k nižší citlivosti analýzy. Tento typ interferencí je dnes dobře popsán, tudíž lze snadno předvídat a v některých případech lze jejich vliv eliminovat pomocí matematických korekcí (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018).

Polyatomické interference

Polyatomické interference jsou složitěji predikovatelné, neboť jejich vznik závisí na složení vzorku i nastavení přístrojových parametrů (Šídová, 2017). Vznikají reakcemi mezi atomy přítomnými v plazmovém plynu (Ar), složkami matrice (např. O, C, N, H, Cl, S, Na, Ca, Mg, P) a rozpouštědlem. Mimoto do této reakce může vstoupit kyslík či dusík z okolní atmosféry (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018). Nejčastěji se objevují v oblasti do m/z 80 a jejich vznik lze přisuzovat třem hlavním mechanismům: kondenzačním reakcím v expanzním prostoru, kolizním procesům na povrchu sampleru a reakcím probíhajícím přímo v plazmatu (Šídová, 2017).

Mezi běžně pozorované polyatomické interference patří asociáty kyslíku s argonem (např. $^{40}Ar^{16}O^+$), čímž se komplikuje analýza izotopu ^{56}Fe. Asociát chloru s argonem ($^{40}Ar^{35}Cl$) ztěžuje analýzu ^{75}As. Často se objevují interference způsobené vápníkem, které komplikují analýzu prvků jako $^{57}Fe^+$, $^{58}Ni^+$ nebo $^{59}Co^+$. Fosfor zase vytváří polyatomické ionty $^{31}P^{16}O^+$, $^{31}P^{16}O_2^+$ a $^{31}P^{16}O_2H^+$, které zasahují do měření $^{47}Ti^+$, $^{63}Cu^+$ a $^{64}Zn^+$ (Šídová, 2017; Szkanderová,

2018). Tabulka 2 znázorňuje vybrané interference polyatomických iontů, které byly pozorovány během analýzy různých vzorků (Šídová, 2017).

Tabulka 2 - Interference vybraných polyatomických iontů pozorovaných při analýze reálných vzorků dle Šídové, 2017

Matriční prvek	Analyt	Polyatomický iont	Matrice	Typ analyzátoru
Cl	$^{75}As^{+}$	$^{40}Ar^{35}Cl^{+}$	Moč	Q
	$^{52}Cr^{+}$	$^{35}Cl^{16}O^{1}H^{+}$	Mořská voda	Q
	$^{51}V^{+}$	$^{35}Cl^{16}O^{+}$	Mořská voda	Q
	$^{54}Fe^{+}$	$^{37}Cl^{16}O^{1}H^{+}$	Moč	TOF
	$^{77}Se^{+}$	$^{40}Ar^{37}Cl^{+}$	Krevní sérum	Q
Ca	$^{57}Fe^{+}$	$^{40}Ca^{16}O^{1}H^{+}$	Krevní sérum	Q
	$^{58}Ni^{+}$	$^{40}Ca^{18}O^{+}$	Mořská voda	HR
	$^{59}Co^{+}$	$^{43}Ca^{16}O^{+}$	Mořská voda	Q
	$^{65}Cu^{+}$	$^{40}Ca^{16}O^{+}$	Mořská voda	Q
Mg	$^{59}Co^{+}$	$^{40}Ar^{25}Mg^{+}$	Rostliny	Q
	$^{24}Mg^{+}$	$^{24}Mg^{35}Cl^{+}$	Moč	TOF
P	$^{47}Ti^{+}$	$^{31}P^{16}O^{+}$	Moč	Q
	$^{63}Cu^{+}$	$^{31}P^{16}O_2^{+}$	Moč	HR
	$^{64}Zn^{+}$	$^{31}P^{16}O_2{}^{1}H^{+}$	Biologické vzorky	Q
S	$^{64}Zn^{+}$	$^{32}S^{16}O_2^{+}$	Vzorky krve	Q
	$^{48}Ti^{+}$	$^{32}S^{16}O^{+}$	Mořská voda	Q, HR
C	$^{52}Cr^{+}$	$^{40}Ar^{12}C^{+}$	Kal a sediment	Q

Využití ICP-MS s kolizními-reakčními celami (CRC – Collision/Reaction Cell) umožňuje selektivní odstranění rušivých iontů před jejich detekcí v kvadrupólovém analyzátoru, čímž předchází zkreslení výsledků (Szkanderová, 2018; Yim et al., 2012). Kvadrupólové hmotnostní spektrometry samy o sobě nedisponují dostatečným rozlišením k efektivnímu odlišení většiny interferencí, a proto je mezi iontovou optikou a hmotnostním analyzátorem integrována kolizně-reakční cela, která některé interference eliminuje (Szkanderová, 2018).

Fungování kolizních-reakčních cel je možné na dvou principech:

- *Kolizní režim* – Využívá se inertního plynu jako je He (ovšem je možné využít i Ne, Ar, Xe), který má schopnost snižovat energii interferujících iontů prostřednictvím selekce na základě rozdílu kinetické energie (těžší polyatomické ionty během četnějších srážek

s He ztrácejí celkově více energie než ionty analytu, což umožňuje jejich odstranění před detekcí) (Yim et al., 2012).

- *Reakční režim* – v tomto případě se pracuje s reaktivními plyny jako je kyslík jako je kyslík (O_2) či vodík (H), který zprostředkovává chemickou přeměnu interferujících iontů na nové asociáty/sloučeniny s odlišným m/z, což vede k relokaci signálu jinde ve spektru (Yim et al., 2012).

3.4.3 Nespektrální interference

Kromě spektrálních interferencí mohou být výsledky měření ICP-MS také ovlivněny nespektrálními interferencemi. Složky matrice mohou způsobit jak zvýšení, tak snížení signálu analytu, přičemž jejich vliv se zvyšuje s rostoucí variabilitou matrice. Nespektrální interference jsou tedy důsledkem vlivu matrice vzorku, která často způsobuje potlačení signálu analytu (Nelms S. M., 2005; Šídová, 2017; Szkanderová, 2018). Mezi hlavní faktory ovlivňující rozsah těchto interferencí patří účinnost transportu vzorku, ionizace, extrakce a fokusace iontů. Nejvýraznější rušivý efekt mají matriční prvky s nízkým ionizačním potenciálem nebo vyšší atomovou hmotností než analyzovaný prvek. Au má relativně vysoký ionizační potenciál (9,23 eV), což znamená, že v přítomnosti silně ionizovatelných prvků (např. Na, K, Ca, Fe) může dojít ke snížení signálu Au. Důležitou roli hraje také poměr mezi koncentrací analytu a interferujících složek. Intenzita nespektrálních interferencí je dále ovlivněna parametry nastavení přístroje (Šídová, 2017; Szkanderová, 2018; Thomas, 2003).

Nespektrální interference lze rozdělit do několika kategorií. Nejčastěji se klasifikují na fyzikální a chemické (Šídová, 2017). Alternativní klasifikace rozlišuje vratné a nevratné interference. Vratné interference se projevují jako změny signálu způsobené matricí (jeho zeslabení nebo zesílení), které přetrvávají pouze po dobu zavádění matrice. Nevratné interference vznikají v důsledku usazování solí nebo oxidů v hmotnostním interface, což vede k postupné ztrátě signálu, která přetrvává i po ukončení zavádění vzorku (Nelms S. M., 2005; Šídová, 2017; Szkanderová, 2018; Thomas, 2003).

3.4.4 ICP-MS a stanovení Au

Při analýze stopových prvků, jako je Au, v geologických vzorcích je metoda ICP-MS široce využívána pro svou vysokou citlivost a přesnost. V případě analýzy zlata (Au) pomocí ICP-MS dochází také k polyatomickým interferencím. Au je monoizotopickým prvkem (^{197}Au). Což znamená, že tvoří pouze jediný možný izotop, který je často interferován polyatomickými ionty $^{181}Ta^{16}O^{+}$ a $^{180}Hf^{16}O^{1}H^{+}$ (Yim et al., 2012).

Pokrok v instrumentaci ICP-MS v posledních letech umožnil snížit závažnost některých typů interferencí. Například ředění aerosolu vzorku dodatečným proudem argonu před vstupem do plazmatu v kombinaci s přídavným proudem methanu do plazmatu umožnilo účinné zeslabení interferencí způsobených ionty TaO^+ a $HfOH^+$, což vedlo ke zlepšení správnosti stanovení Au a celkové kvality analytických výsledků pro geologické vzorky (Tao et al., 2017).

Uvažujeme-li ICP-MS analýzu ^{197}Au, je typicky využíván režim reakční. Během ICP-MS analýzy mohou ionty Ta a Hf v plazmatu reagovat s kyslíkem nebo hydroxylovými skupinami, což vede k tvorbě oxidových (v případě ^{181}Ta – $^{181}Ta^{16}O^+$) a hydroxidových (v případě ^{180}Hf – $^{180}Hf^{16}O^1H^+$) interferujících iontů. Jejich vznik závisí na složení matrice vzorku, podmínkách přípravy vzorku, a na instrumentálních parametrech analýzy (Thomas, 2022).

V reakčním režimu dochází k přeměně interferujících iontů TaO^+ a $HfOH^+$ na jejich oxidované formy (např. TaO_2^+, TaO_3^+, HfO_2H^+, HfO_3H^+), které se vyznačují vyšším hmotnostním poměrem (m/z) a nezasahují do stanovení ^{197}Au (Tao et al., 2017; Yim et al., 2012).

Další výzvou, zejména při ultra-stopové analýze Au, je zajištění dostatečné citlivosti při minimalizaci šumu pozadí. K tomu přispívá použití metanu (CH_4) v ICP plazmatu, což výrazně zlepšuje citlivost pro Au a současně snižuje pozadí, čímž umožňuje analýzu při velmi nízkých koncentracích. Uvedené řešení má potenciál stát se vhodnou rutinní metodou pro stanovení stopových koncentrací Au v různých geologických vzorcích (Tao et al., 2017).

4 Metodika

Následující kapitola představuje čtyři vybrané lokality na území České republiky, které byly na základě literární rešerše vytipovány a naznačují možný výskyt Au v geologickém podloží. Kromě nich byly zahrnuty čtyři referenční lokality, kde rovněž proběhl terénní odběr živých včel. Během praktické části byla provedena příprava a optimalizace metody pro extrakci Au z půdních částic pomocí mikrovlnné extrakce (MW, uzavřený systém) a metodou topné desky (HP, otevřený systém) před analytickým stanovením pomocí ICP-MS.

Hlavní důraz byl kladen na extrakční účinnost Au z referenčního materiálu (říční sediment – Metranal 01 (Analytika, ČR), dále na procedurální detekční limit (LOD metody) a minimalizaci spektrálních interferencí potenciálně způsobených environemntální matricí, zvláště půdou.

4.1 Vybrané lokality

4.1.1 Nová ves pod Pleší

První písemná zmínka o Nové Vsi pod Pleší pochází ze 14. století, kdy byla založena jako osada horníků těžících zlato na hoře Pleš. Tato oblast byla součástí rozsáhlého knínského zlatonosného revíru, který se táhl od Čisovic až po Mokrsko. Lokální názvy jako "Jamky", "Jámy" a "V struhách" dokládají propojenost této lokality s historickou těžbou zlata. Sběr živých včel probíhal zhruba 1,5 km od Nové Vsi pod Pleší na mírně svažité louce v blízkosti lesa (49.8316583N, 14.2992914E).

4.1.2 Trhové Dušníky

Lokalita kolem obce Trhové Dušníky se nachází v oblasti s bohatou hornickou historií, zejména v souvislosti s těžbou Au a Ag (Příbramsko). V bezprostřední blízkosti obce se nachází několik historických důlních děl, která svědčí o intenzivní těžbě. Sběr včel probíhal v okolí Příbramského potoka (49.7104614N, 14.0127778E). Z dochovaných pramenů víme, že se historicky Au získávalo z náplavů tohoto potoka.

4.1.3 Libčice u Nového Knína

Libčice byly součástí novoknínského zlatonosného revíru, kde těžba Au probíhala minimálně od středověku do konce 16. století. Odběr včelích vzorků probíhal na louce severně od vesnice, přibližně 3 km severovýchodně od Nového Knína, v oblasti s otevřenou krajinou a

potenciálním spadem částic pocházejících z historicky těžených ložisek (49.7612047N, 14.3180086E).

4.1.4 Zlatá u Kynšperku nad Ohří

Osada Zlatá se nachází 2,5 km východně od Kynšperku nad Ohří na hranici CHKO Slavkovský les. Nejstarší písemné doklady o těžbě drahých kovů v této lokalitě pocházejí z poloviny 14. století. Zlato zde doprovází olovnaté a stříbronosné žíly. Vesnice Zlatá (Golddorf) je odkazem na historické rýžování zlata v prostoru potoka Velká Libava. Vzorky včel byly odebrány na rozhraní lesa a zarostlé paseky, přibližně 200 m od zmíněného potoka (50.1182067N, 12.5753867E).

4.1.5 Referenční lokality

Referenční lokality byly zvoleny na základě dostupných geologických údajů a mapových podkladů s ohledem na absenci historicky či geochemicky doloženého výskytu Au. Tyto oblasti sloužily jako kontrolní místa při porovnávání obsahu Au ve včelím homogenátu se zlatonosnými lokalitami.

Lokalita Šlovice (49.6764269N, 13.3540647E) se nachází v Plzeňském kraji, jihozápadně od obce Spálené Poříčí. Jde o klidnou zemědělskou oblast bez průmyslové zátěže nebo těžební historie.

Louny (50.3495003N, 13.8275311E) leží v severozápadních Čechách a jsou známy především svou zemědělskou a chmelařskou tradicí. V blízkosti odběrného místa nebyly nikdy hlášeny ani evidovány žádné mineralogické anomálie spojené se zlatem.

Sudovo Hlavno (50.2612292N, 14.6862706E) se nachází v okrese Mladá Boleslav, na okraji Polabské nížiny. Území je charakteristické svou intenzivní rostlinnou výrobou, bez známek jakékoli metalogenetické aktivity.

Poslední referenční vzorek pochází z oblasti obce Hluboš (49.7433514N, 14.0129556E), konkrétně na mírně svažité louce poblíž místního kostela. Tato lokalita leží v podhůří Brd, kde se vyskytují převážně sedimentární horniny bez prokázaného výskytu ušlechtilých kovů.

4.2 Metodika vzorkování včel v terénu

Vzorkování včel bylo realizováno na předem stanovených lokalitách s cílem získat reprezentativní materiál pro následnou analýzu obsahu Au v tělech včel. Odběr probíhal během

vegetační sezóny 2024, kdy je aktivita včel maximální, což umožnilo získat dostatečný počet vzorků v krátkém časovém horizontu.

Pro odchyt včel byl využit jednoduchý a efektivní sběrný systém skládající se z upraveného plastového kanystru (dno bylo odstraněno) a uzavíratelných PE sáčků. Kanystr byl ponechán otevřený, aby bylo možné snadno manipulovat se vzorky. Na jeho vrchní část byl připevněn PE sáček, do kterého byly včely odchyceny.

Samotný proces odchytu spočíval v přiblížení kanystru k podkladu tak, aby se včela dostala dovnitř a nemohla uniknout. Přirozenou reakcí se snažila vzlétnout vzhůru, čímž vletěla přímo do připraveného sáčku. Jakmile byla včela uvnitř, sáček byl rychle uzavřen, aby se zabránilo jejímu úniku. Tento postup byl opakován, dokud nebylo získáno minimálně 30 včelích dělnic na každé lokalitě.

Bezprostředně po odchytu byly uzavřené PE sáčky se včelami umístěny do přenosného chladicího boxu, kde byly okamžitě vystaveny nízkým teplotám. Tento krok snížil jejich metabolickou aktivitu a zabránil degradaci vzorků. Po transportu do laboratoře byly vzorky skladovány v mrazáku při teplotě -20 °C až do provedení analýz.

Přísné dodržování standardizovaných postupů při odchytu, transportu a uchovávání vzorků bylo klíčové pro zachování integrity biologického materiálu a zajištění spolehlivých výsledků při následné chemické analýze obsahu zlata.

4.3 Optimalizace extrakce Au

Návrh optimalizačních experimentů vycházel z předpokladu, že hlavním zdrojem Au ve včelách jsou pevné částice ryzího Au rozptýlené v půdním materiálu nebo v prašném aerosolu, které se mohou zachytit na povrchu včely nebo být přijaty vdechnutím či ústním ústrojím. Z tohoto důvodu byla optimalizace extrakčního procesu provedena s využitím půdní matrice, konkrétně referenčního materiálu říčního sedimentu (Metranal 01, Analytika, ČR), který se vyznačuje vysokou jemností a homogenitou. Tato vlastnost zajišťuje vysokou reprodukovatelnost a spolehlivost při stanovení obsahu běžných rizikových prvků v tomto materiálu. Je však nutné doplnit, že refereční materiál Metranal 01 nemá certifikovaný obsah Au. Extrakční metoda tak byla validována až na vzorcích referenčních včelích homogenátů (viz kapitola 6.4), tj. před stanovením Au ve včelách z pokusných lokalit. Z důvodu nedostupnosti referečního materiálu s certifikovanou hodnotou obsahu Au ve včelím těle či podobné matrici, byla použita alespoň validace metody testem výtěžnosti (recovery test) pomocí přídavku standardu Au (tzv. spiking).

Cílem bylo vyhodnotit, která kombinace metod poskytuje nejvyšší účinnost extrakce Au z říčního sedimentu (Metranal 01):

- Nízkotlaká extrakce Au s mikrovlným ohřevem,
- Extrakce Au s využitím topné desky,

Současně bylo cílem porovnat tři varianty složení extrakčních směsí:

1. Lučavka královská (HCl : HNO_3 = 3:1)
2. Leffortova lučavka (HCl : HNO_3 = 1:3)
3. Směs HCl a HNO_3 (v poměru 1:1)

Tento přístup umožnil vyhodnotit účinnost jednotlivých směsí, optimalizovat podmínky rozkladu a zvolit nejvhodnější variantu pro následné stanovení obsahu zlata ve vzorcích.

4.3.1 Nízkotlaká extrakce Au s mikrovlnným ohřevem

Vzorky říčního sedimentu (Metranal 01) o hmotnosti 200 mg byly s přesností 0,1 mg naváženy do křemenných zkumavek o objemu 35 ml. Dále bylo přidáno po 6 ml směsi kyselin, a to:

1. Lučavka královská (HCl : HNO_3 = 3:1)
2. Leffortova lučavka (HCl : HNO_3 = 1:3)
3. Směs HCl a HNO_3 (v poměru 1:1)

Obě kyseliny (HCl, HNO_3) byly použity ve vysoké čistotě (Analpure®, Analytika, ČR). Pro každou variantu bylo zároveň připraveno odpovídající slepé měření (tzv. blank), tedy vzorek bez navážky říčního sedimentu, obsahující pouze danou směs kyselin. Všechny varianty pokusu, včetně blanků, byly provedeny ve třech opakováních.

Po uzavření zkumavek teflonovým víčkem byly vzorky podrobeny mikrovlnné extrakci pomocí rozkladného systému Discover SP-D (CEM Corp., USA), přičemž extrakce probíhala podle následujícího teplotního programu. První fáze ohřevu byl nastavena na 130 °C po dobu 5 minut, následné udržení této teploty po dobu dalších 5 minut, poté zvýšení teploty na 160 °C po dobu 5 minut a její udržení po dobu dalších 5 minut. Po ochlazení byly získané kyselé extrakty doplněny ultračistou vodou (≥ 18,2 MΩ/cm; Milli-Q systém, Millipore, SAS, Francie)

na konečný objem 40 ml a následně před vlastní analýzou ICP-MS ředěny ještě 1:1 ultračistou vodou.

4.3.2 Extrakce Au s využitím topné desky

Do skleněných kádinek bylo naváženo 500 mg referenčního materiálu říčního sedimentu (Metranal 01) s přesnostní 0,1 mg. Následně bylo ke vzorku pipetou přidáno 6 ml směsi kyselin HCl a HNO_3, přičemž byly testovány tři různé poměry těchto kyselin:

1. Lučavka královská (HCl : HNO_3 = 3:1)
2. Leffortova lučavka (HCl : HNO_3 = 1:3)
3. Směs HCl a HNO_3 (v poměru 1:1)

Pro každou variantu byla zároveň připravena slepá kontrola (blank), obsahující pouze příslušné kyseliny bez přídavku sedimentu. Všechny varianty pokusu, včetně blanků, byly provedeny ve třech opakováních.
Vzorky sedimentu byly následně zahřívány na topné desce při teplotě 95 °C po dobu dvou hodin, přičemž byly přikryty hodinovým sklíčkem. Po ukončení tepelné úpravy byl kyselý výluh kvantitativně převeden do plastové zkumavky (50 ml) a doplněn na objem 40 ml Milli-Q vodou. Před stanovením koncentrace Au pomocí ICP-MS byl dále vzorek ředěn 1:1 ultračistou vodou.

4.4 Optimalizace extrakce z včelího těla

Před analýzou včel z experimentálních lokalit bylo nutné ověřit vhodnost zvolené analytické metody i pro biologickou matrici. Vzhledem k tomu, že není dostupný certifikovaný referenční materiál s definovaným obsahem Au ve včelím těle, byla validace provedena alespoň pomocí tzv. recovery testu. Tato metoda spočívá v přídavku známého množství standardního roztoku Au (spiking) do reálného vzorku včelího homogennátu, jenž slouží k ověření účinnosti extrakce.

Pro tento účel byl připraven včelí homogenát. Konkrétně se jednalo o včely, které byly odchyceny v roce 2023 v lokalitách, kde se anomální výskyt Au nepředpokládá a následně byly uchovávány v mrazáku při konstantní teplotě -20 °C.
Následně po vyjmutí z mrazáku byly vzorky sušeny po dobu 24 hodin při teplotě 60 °C. Dále byly vysušené včely rozdrceny pomocí třecí misky s tloučkem, aby byla zajištěna homogenita

vzorků. Takto připravený homogenát byl následně použit jako testovací matrice pro optimalizaci extrakčních podmínek.

Veškeré laboratorní sklo a kádinky byly před analýzou dekontaminovány ponořením do 8% roztoku kyseliny dusičné po dobu minimálně 24 hodin, poté důkladně propláchnuty ultračistou vodou Milli-Q a vysušeny, aby se minimalizovala možnost kontaminace nežádoucími kovy.

Vzhledem k tomu, že se jednalo o odlišný typ vzorku než u referenční matrice (říční sediment), byla extrakční účinnost posuzována ve stejném rozsahu jako při optimalizaci na referenčním materiálu (Metranal 01). Tedy za použití dvou metod rozkladu (mikrovlný ohřev vs. topná deska) a třech různých poměrů kyselin HCl a HNO_3 (3:1, 1:1 a 1:3), viz kapitola 6.3.

4.4.1 Nízkotlaká extrakce Au s mikrovlnným ohřevem

Pro extrakci Au z včelích těl byla využita metoda nízkotlakého mikrovlnného ohřevu (MW) spolu s optimalizací složení extrakčního média. Již výše zmíněný včelí homogenát byl navážen v množství 120 mg do křemenných zkumavek. Ke vzorku bylo následně přidáno 6 ml směsi kyselin HCl a HNO_3 pomocí pipety. Byly testovány tři různé objemové poměry těchto kyselin:

1. Lučavka královská (HCl : HNO_3 = 3:1)
2. Leffortova lučavka (HCl : HNO_3 = 1:3)
3. Směs HCl a HNO_3 (v poměru 1:1)

K zajištění homogenního rozkladu bylo do každé zkumavky přidáno teflonové míchátko. Všechny varianty pokusu byly opět provedeny ve třech opakováních. Vzorek homogenátu byl podroben spikování přídavkem roztoku o koncentraci 100 µg/l Au. Do vzorku bylo přidáno 100 µl roztoku Au, což odpovídá přídavku 0,01 µg Au na vzorek.

Další tři vzorky sloužily jako kontrolní – do každého bylo přidáno 9,9 ml základního roztoku a 0,1 ml roztoku o koncentraci 100 µg/l Au, což odpovídá přídavku rovněž 0,01 µg Au na vzorek. Tento postup umožnil ověřit výtěžnost stanovení Au při známé koncentraci a zároveň sledovat případné ztráty nebo interference v různých extrakčních podmínkách.

Byl použit režim ohřevu již popsaný v části *„4.3.1 Nízkotlaká extrakce Au s mikrovlnným ohřevem“*, zahrnující dvoufázový nárůst teploty se stabilizací.

Při přelévání extraktů na konečný objem 40 ml byly ve všech testovaných variantách kyselin – tedy lučavce královské (3:1), směsi 1:1 a Leffortově lučavce (1:3) – pozorovány jemné

organické voskové částice, které se staly patrnými až po naředění ultračistou vodou. Výskyt těchto částic byl nejvýraznější u lučavky královské, nižší u směsi 1:1 a nejméně nápadný při použití Leffortovy lučavky, což lze přičíst jejímu vyššímu oxidačnímu účinku díky většímu podílu HNO_3. Tento faktor se ukázal jako rozhodující při zajištění co nejúplnějšího rozkladu organické matrice.

Pro minimalizaci možného přenosu těchto částic do měřeného vzorku byl extrakt následně ředěn v poměru 1:1 (5 ml extraktu + 5 ml Milli-Q vody) ve 15ml zkumavkách. Při opatrném odběru alikvotu ze středu zkumavky se voskové částice nepřenášely, neboť zůstávaly lipofilně navázané na stěny plastové nádoby. Tato jednoduchá úprava umožnila provést analýzu bez filtrace a zároveň přispěla k rozhodnutí upřednostnit Leffortovu lučavku jako finální extrakční médium pro stanovení Au ve vzorcích včel, a to na základě její vyšší účinnosti a nižší kontaminace organickými zbytky ve srovnání s ostatními variantami. Je třeba doplnit, že tvorba organických povlaků byla ještě výraznější při použití topné desky, kde byl rozklad biologické matrice méně účinný. Tento faktor, vedle jiných parametrů, přispěl k rozhodnutí zvolit metodu mikrovlnného ohřevu (MW) jako preferovaný přístup pro extrakci Au z biologických vzorků. Výsledky porovnání obou metod z hlediska výtěžnosti a analytické přesnosti jsou dále rozvedeny v následujících kapitolách.

4.4.2 Extrakce Au s využitím topné desky

Již výše zmíněný včelí homogenát byl navážen v množství 150 mg do skleněných kádinek a podroben rozkladu v:

1. Lučavce královské ($HCl : HNO_3 = 3:1$)
2. Leffortově lučavce ($HCl : HNO_3 = 1:3$)
3. Směs HCl a HNO_3 (v poměru 1:1)

Tři vzorky byly podrobeny spikování standardním roztokem o koncentraci 100 µg/l Au. Do každého vzorku bylo přidáno 100 µl roztoku Au.

Další tři vzorky sloužily jako kontrolní a byly připraveny smícháním 9,9 ml základního roztoku s 0,1 ml roztoku standardu o koncentraci Au 100 µg/l, čímž bylo dosaženo 100násobného ředění standardu a výsledné koncentrace 1 µg/l Au. Tento postup umožnil ověřit přesnost přídavku a výtěžnost extrakce za standardizovaných podmínek.

Všechny vzorky homogenátů byly následně vystaveny ohřevu na topné desce při teplotě 95 °C po dobu 2 hodin, přičemž byly zakryty hodinovým sklíčkem, aby se minimalizovalo

odpařování a zajistila konzistentní extrakce analytu. Po ukončení tepelné úpravy byl kyselý extrakt opět kvantitativně převeden do plastové zkumavky (50 ml) a doplněn na objem 40 ml Milli-Q vodou. Před analýzou obsahu Au pomocí ICP-MS byl dále vzorek ředěn 1:1 ultračistou vodou.

Během extrakce pomocí topné desky (HP) byla rovněž zaznamenána výraznější tvorba organických povlaků na stěnách nádob (jak již bylo zmíněno v podkapitole věnující se MW). Tato skutečnost naznačuje nižší účinnost rozkladu biologické matrice touto metodou. Přítomnost těchto reziduí může negativně ovlivnit kvantitativní výtěžnost analytu a přispět ke zhoršení přesnosti měření. Tento faktor sehrál klíčovou roli při rozhodování o upřednostnění mikrovlnného rozkladu (MW) jako vhodnějšího přístupu pro extrakci Au z biologických vzorků. Podrobné porovnání obou metod je také popsáno v následující kapitole.

4.5 Výskyt a eliminace spektrálních interferencí v ICP-MS

Za účelem optimalizace stanovení Au pomocí ICP-MS byl zkoumán potenciální výskyt spetrálních interferencí. Měření probíhalo ve dvou provozních režimech spektrometru – NoGas mód (bez použití reakčního/kolizního plynu) a O_2 mód (s přídavkem kyslíku jako reakčního plynu). Dílčím cílem bylo posoudit riziko nežádoucí přítomnosti v literatuře popsaných relevantních interferencí způsobených oxidovými a hydroxidovými ionty, zejména TaO^+ a $HfOH^+$, které mohou ovlivnit signál izotopu $^{197}Au^+$.

Pro tuto část experimentu byly využity zkoumané vzorky z předchozí optimalizace extrakce Au z říčního sedimentu, konkrétně:

- Vzorky extrahované mikrovlnným ohřevem (MW),
- Vzorky extrahované pomocí topné desky (HP).

ICP-MS měření bylo provedeno v režimu skenu hmotnostního spektra v rozsahu m/z 177–245, což zahrnuje oblast pro izotop ^{197}Au, ale také stabilní izotopy Ta a Hf, což jsou potenciální prekurzory interferujících iontů, např. $^{181}Ta^{16}O^+$ (m/z 197) a $^{178}Hf^{16}OH^+$ (obojí m/z = 197).

4.6 Stanovení obsahu Au ve vzorcích včel z experimentálních lokalit

Na základě předchozích optimalizačních experimentů provedených s referenčním materiálem (říční sediment Metranal 01) a referenčním biologickým materiálem (včelí homogenát), které zahrnovaly porovnání variant ohřevu (nízkotlaká extrakce Au s mikrovlnným ohřevem vs. extrakce Au s využitím topné desky) a složení extrakčních směsí,

byla pro vlastní analýzu včel z pokusných lokalit zvolena kombinovaná metodika. Výsledky těchto optimalizací, včetně diskuze výběru konkrétního postupu, jsou detailně rozebrány v kapitole věnující se výsledkům.

Včely byly naváženy (0,15 g) s přesností 0,1 mg do křemenných zkumavek (35 ml). Ke vzorkům byla přidána lučavka Leffortova (tj. směs 4,5 ml HNO_3 a 1,5 ml HCl; obě Analpure®, Analytika, ČR) a magnetické teflonové míchadlo. Vzorky byly následně uzavřeny teflonovým víčkem a podrobeny mineralizaci v mikrovlnném rozkladném zařízení (Discover SP-D, CEM Corp., USA). Pro mineralizaci byl aplikován tento teplotní program: ohřev na 130 °C v průběhu 5 min, udržení této teploty po dobu 5 min, další ohřev na teplotu 160 °C v průběhu 5 min a udržení této teploty po dobu 5 min. Vychladlé mineralizáty včel byly naředěny ultračistou vodou (≥ 18,2 MΩ/cm; Milli-Q systém, Millipore, SAS, Francie) na konečný objem 20 ml. Z tohoto objemu bylo odpipetováno 15 ml vzorku do čisté borosilikátové kádinky. Vzorek byl následně odpařen na přibližný objem 1–2 ml na topné desce při 200 °C. Nakonec byl vzorek kvantitativně převeden pomocí ředícího roztoku (1% HNO_3 v 0,5% HCl) do finálního objemu 20 ml v polypropylenové zkumavce a analyzován technikou ICP-MS.

4.7 Konfigurace ICP-MS

Konfigurace ICP-MS (Agilent 8900, Agilent Technologies, USA) zahrnovala autosampler SPS 4, koncentrický zmlžovač MicroMist, dvouplášťovou Scottovu mlžnou komoru, oktapólovou kolizní/reakční celu a kvadrupólový hmotnostní analyzátor. Izotop ^{197}Au byl měřen v reakčním režimu s O_2, přičemž se předpokládá, že Au se kyslíkem neoxiduje, zatímco potenciálně interferující polyatomické kationty se posouvají v hmotnostním spektru o +16, případně +32 AMU. Přístroj byl kalibrován metodou externí kalibrace v rozmezí 0,002–0,2 µg/l Au s využitím jednoprvkového standardu (10,00 ± 0,05 mg/l Au, Analytika, ČR). Pro korekci vlivu matrice a driftu signálu v čase byla použita metoda interního standardu s využitím víceprvkového roztoku obsahujícího 100 µg/l Lu a Bi (ASTASOL-MIX, Analytika, ČR), který byl kontinuálně přiváděn do zmlžovače spolu se vzorky.

5 Výsledky

5.1 Signál analytu a potenciálních interferentů z modelové půdní matrice

Pro posouzení intenzity signálů analytu a potenciálních interferentů byly pořízeny skeny hmotnostního spektra v rozsahu 177–245 AMU, a to v režimu NoGas a O_2. Pozornost byla věnována především hmotám 197 (analyt ^{197}Au), 180 (^{180}Hf, prekurzor polyatomického kationtu $^{180}Hf^{16}O^{1}H^{+}$) a 181 (^{181}Ta, prekurzor polyatomického kationtu $^{181}Ta^{16}O^{+}$).

5.1.1 NoGas režim

Na základě výsledků v režimu měření NoGas bylo provedeno vyhodnocení signálu na třech klíčových hmotnostních poměrech: m/z = 197 (analyt Au), m/z = 180 (prekurzor interferencí od hafnia – Hf) a m/z = 181 (prekurzor interferencí od tantalu – Ta), a to u slepých vzorků včetně jednotlivých činidel a procesních blanků. Režim NoGas posloužil především k ověření přítomnosti samotných prvků, které by mohly tvořit interferující polyatomické ionty. Jejich výskyt je důležitý z hlediska možnosti tvorby spektrálních interferencí, neboť mohou způsobit falešně pozitivní signál analytu.

V tomto režimu lze efektivně monitorovat, zda jsou tyto prvky přítomny ve slepých nebo reálných vzorcích, a posoudit rizika vytvoření polyatomických kationtů, které by znemožnily využití standardního NoGas režimu měření, který se vyznačuje vysokou citlivostí. Intenzita signálu pro Au ve slepých a procesních vzorcích se ve všech případech pohybovala pod hranicí 100 CPS. Nejnižší hodnoty byly zaznamenány u Milli-Q vody (36 CPS) a HNO_3 (56 CPS), zatímco nejvyšší signál vykazoval procesní blank ohřevu na topné desce (93 CPS). HCl dosáhla hodnoty 91 CPS a procesní blank po extrakci pomocí mikrovlnného ohřevu (MW) 84 CPS. Tyto výsledky naznačují, že kontaminace Au z činidel i z celého extrakčního procesu je zanedbatelná. Riziko významného falešně pozitivního nálezu Au způsobeného nečistotami v použitých reagenciích je tedy relativně velmi nízké.

Na rozdíl od Au byly u Hf zaznamenány výraznější rozdíly mezi jednotlivými slepými vzorky. Nejvyšší signál vykazoval procesní blank po mikrovlnném ohřevu (MW) (2 632 CPS), což upozorňuje na možnou přítomnost Hf ve slepém extrakčním systému, avšak nelze identifikovat jeho zdroj. Výskyt zvýšeného signálu Hf v procesním slepém vzorku lze totiž vysvětlit signálem Hf v čisté HCl (978 CPS) a HNO_3 (682 CPS) pouze částečně. Procesní blank po ohřevu na topné desce vykázal nižší hodnotu (529 CPS), zatímco Milli-Q voda zůstala na zanedbatelné úrovni (10 CPS). Výsledky tedy naznačují, že stopové množství Hf může být

přítomno v použitých anorganických kyselinách, a zejména v systému MW. Tyto poznatky podtrhují význam pravidelného sledování slepých vzorků při hodnocení rizika kontaminace.

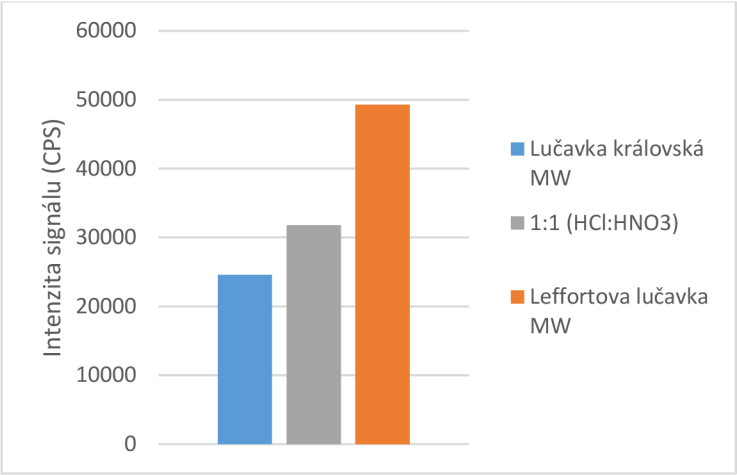
Signály Ta byly obecně nízké, nicméně určité rozdíly mezi vzorky byly také zaznamenány. Nejvyšší hodnota byla opět zjištěna u procesního blanku po mikrovlnné extrakci (MW) (759 CPS), výrazně nižší pak u blanku po ohřevu na topné desce (HP) (179 CPS). Čistá HNO_3 měla 93 CPS, zatímco Milli-Q voda (33 CPS) a HCl (13 CPS) vykazovaly velmi nízké hodnoty. Přítomnost Ta je tedy zřejmě vázána převážně na procesní fáze, zejména v systému mikrovlnné extrakce. Přesto však detekované hladiny zůstávají dostatečně nízké, aby výrazně nenarušovaly analytickou spolehlivost při stanovení Au.

Na základě výsledků získaných v režimu NoGas byly vyhodnoceny intenzity signálu pro tři klíčové hmotnostní poměry – m/z = 197 (Au), m/z = 180 (Hf) a m/z = 181 (Ta) – u vzorků referenčního půdního materiálu Metranal 01, extrahovaných pomocí různých kombinací kyselin a dvou metod extrakce: mikrovlnné s ohřevem (MW) a ohřevu na topné desce (HP).

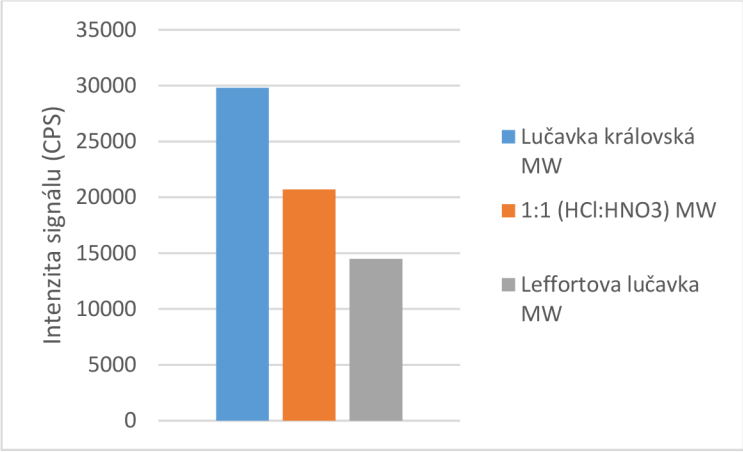
V případě mikrovlnné extrakce (MW) referenčního půdního materiálu Metranal 01 byly signály pro ^{197}Au vyrovnané napříč všemi použitými extrakčními systémy. Nejvyšší hodnota byla zaznamenána u směsi $HCl:HNO_3$ v poměru 1:1 (6 779 CPS), následovaná lučavkou královskou (6 631 CPS) a Leffortovou lučavkou (6 577 CPS). Rozdíly mezi jednotlivými variantami byly tedy minimální. Nízká hodnota RSD (1,57 %) potvrzuje velmi dobrou reprodukovatelnost výsledků mezi jednotlivými extrakčními činidly, a tím i obdobnou účinnost těchto systémů pro uvolnění zlata z referenční půdní matrice (viz Graf 3).

Zcela jiná zjištění byla učiněna u izotopu ^{180}Hf, kde se signál zvyšoval v pořadí: lučavka královská (24 568 CPS) < směs $HCl:HNO_3$ 1:1 (31 769 CPS) < Leffortova lučavka (49 287 CPS). Tento vývoj potvrzuje, že silně oxidační podmínky (vyšší koncentrace HNO_3 v lučavce Leffortově) výrazně zvyšují efektivitu extrakce hafnia (viz Graf 1).

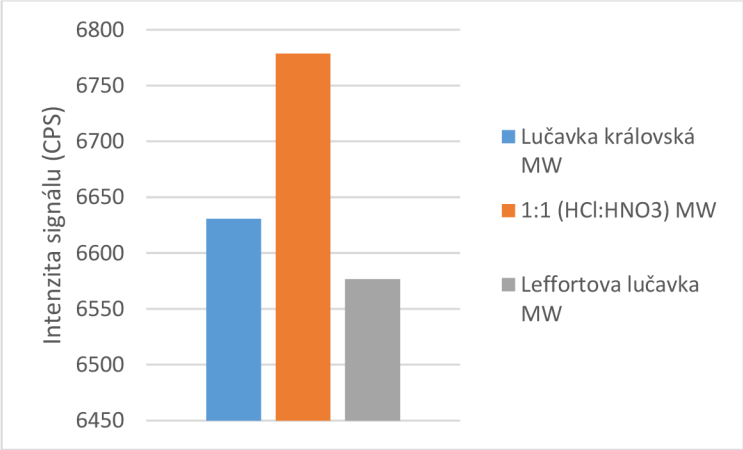
Pro izotop ^{181}Ta byl pozorován odlišný trend – nejvyšší signál vykazovala lučavka královská (29 800 CPS), zatímco nižší hodnoty byly naměřeny u směsi 1:1 (20 869 CPS) a Leffortovy lučavky (14 485 CPS). Tyto výsledky naznačují, že složení extrakční směsi preferenčně ovlivňuje extrakci tantalu jiným způsobem než u hafnia, a přítomnost HCl (vyšší koncentrace v lučavce královské) může hrát klíčovou roli v jeho vyšší mobilizaci (viz Graf 2).



Graf 1 - Porovnání signálu m/z 180 (Hf) v režimu NoGas



Graf 2 - Porovnání signálu m/z 181 (Ta) v režimu NoGas



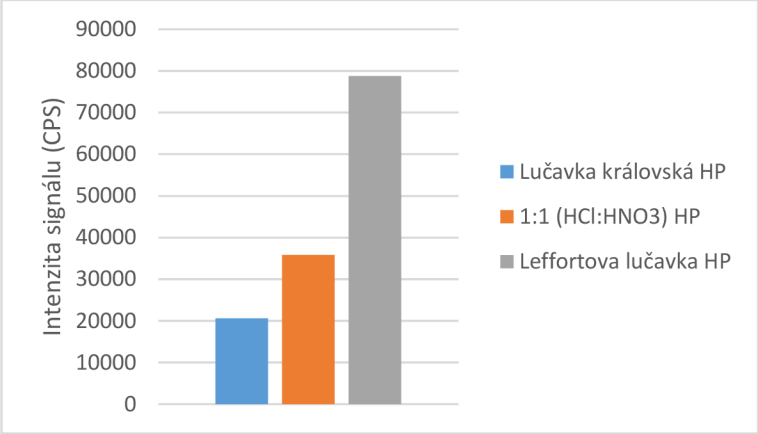
Graf 3 - Porovnání signálu m/z 197 (Au) v režimu NoGas

Při extrakci referenčního materiálu Metranal 01 metodou ohřevu na topné desce (HP) byly naměřené signály pro ^{197}Au výrazně variabilní mezi jednotlivými extrakčními systémy. Nejnižší hodnoty vykázala lučavka královská (12 901 CPS), následovaná Leffortovou lučavkou (28 301 CPS). Extrémně vysoký signál 344 574 CPS byl zaznamenán u směsi HCl:HNO_3 (1:1),

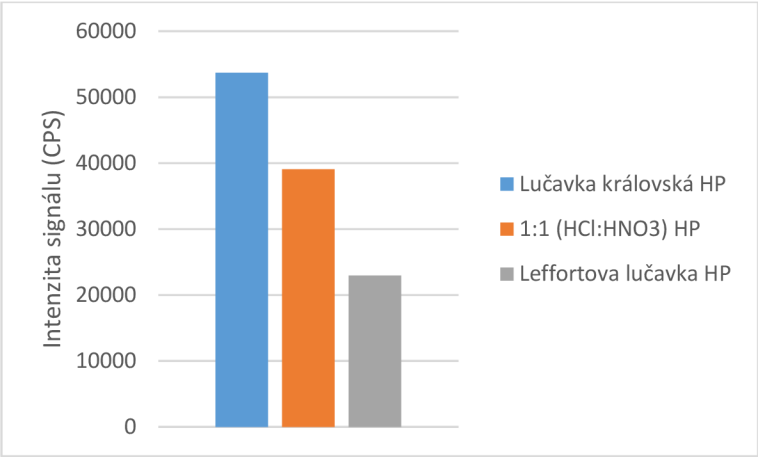
což výrazně překračuje hodnoty ostatních variant a pravděpodobně odráží výskyt tzv. *nugget efektu* – nerovnoměrného rozložení Au ve vzorku, kdy dochází k zachycení lokálních agregátů Au v jednotlivých navážkách (viz Graf 6).

Signály pro ^{180}Hf ukázaly trend obdobný jako u mikrovlnné extrakce (MW) – nejvyšší hodnoty byly naměřeny u Leffortovy lučavky (78 784 CPS), následované směsí HCl:HNO_3 1:1 (35 797 CPS) a nejnižší hodnoty vykázala lučavka královská (20 652 CPS). Tento vývoj svědčí o tom, že oxidačně silnější prostředí opět podporuje vyšší mobilizaci Hf do extraktu (viz Graf 4).

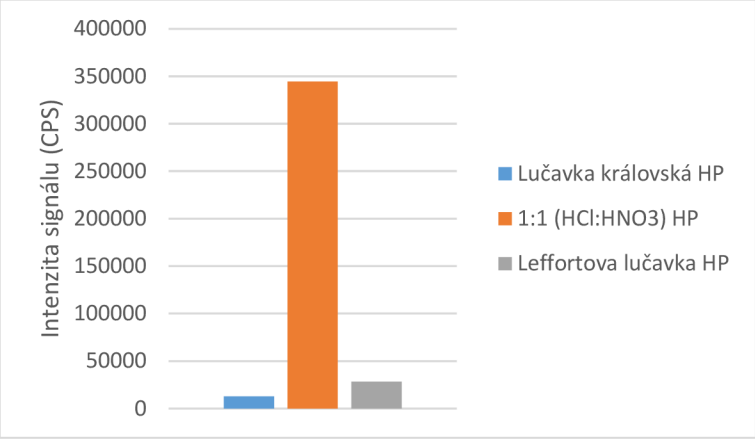
V případě izotopu ^{181}Ta byl trend odlišný – nejvyšší signál vykazovala lučavka královská (53 727 CPS), zatímco směs HCl:HNO_3 a Leffortova lučavka dosáhly nižších hodnot, 39 309 CPS a 22 963 CPS (viz Graf 5). Tato distribuce může naznačovat vyšší selektivitu extrakce tantalu v přítomnosti přebytku HCl, zatímco silně oxidační prostředí Leffortovy lučavky jeho extrakci zřejmě omezuje.



Graf 4 - Porovnání signálu m/z 180 (Hf) v režimu NoGas



Graf 5 - Porovnání signálu m/z 181 (Ta) v režimu NoGas



Graf 6 - Porovnání signálu m/z 197 (Au) v režimu NoGas

Lze konstatovat, že ačkoliv byl m/z = 197 (Au) u MW metody ve všech variantách relativně stabilní, signály prekurzorů (Hf, Ta) potenciálních interferencí se výrazně lišily v závislosti na typu extrakční směsi. U HP metody byl pozorován výrazně kolísavý signál, zejména v případě směsi 1:1, což může indikovat problémy s homogenitou nebo selektivitou extrakce.

Různá činidla a extrakční techniky uvolňují do roztoku rozdílné množství matricových složek, včetně potenciálních prekurzorů interferujících iontů (Hf, Ta). Čím vyšší je extrahovaná koncentrace takového prvku, tím větší je potenciální riziko vzniku polyatomických interferencí na cílové hmotě, v tomto případě m/z = 197 (Au).

Nejde tedy o přímý vliv použitého činidla jako zdroje interferencí, ale o jeho schopnost zprostředkovat uvolnění jiných složek z pevné matrice, které mohou v plazmatu vytvářet interferující ionty (polyatomické kationty).

5.1.2 Reakční režim s O_2

Pro doplnění posouzení a ověření selektivity stanovení byla provedena měření rovněž v kyslíkovém režimu. Tento mód umožňuje eliminaci případných interferencí vzniklých reakcí v plazmatu, zejména polyatomických kationtů. Cílem bylo zhodnotit reálné pozadí metody a případné znečištění činidly či prostředím.

Signály pro m/z = 197 byly ve všech slepých vzorcích velmi nízké. Nejvyšší hodnota (300 CPS) byla zaznamenána u roztoku HCl, zatímco nejnižší u Milli-Q vody (71 CPS). Procesní blanky MW a HP vykázaly 143 CPS, resp. 63 CPS – hodnoty hluboko pod signály reálných vzorků, což potvrzuje dostatečnou čistotu systému.

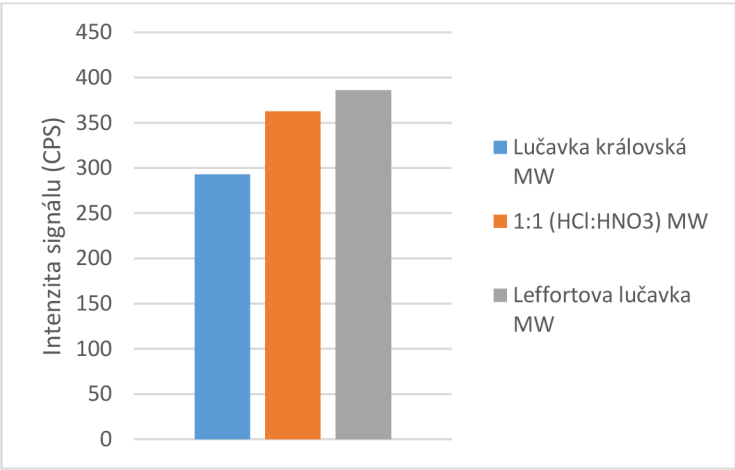
Signály na m/z = 180 (Hf) a 181 (Ta) byly prakticky nulové, s maximem 3 CPS u čistých kyselin (HCl, HNO_3) – tyto hodnoty jsou z hlediska spektrální interference zanedbatelné.

Výsledky ukazují, že použití kyslíkového režimu nevede k významné interferenci při stanovení zlata, a to díky efektivnímu uplatnění principu „mass shift“. V tomto režimu dochází k oxidaci interferujících iontů, jako je $^{180}Hf^{+}$, které se přeměňují na vyšší oxidované formy (např. $^{180}Hf^{16}O^{+}$, $^{180}Hf^{16}O^{1}H^{+}$ či $^{180}Hf^{16}O_2{}^{1}H^{+}$). Tyto nově vzniklé polyatomické ionty jsou posunuty na vyšší m/z a tím se eliminují ze signálu na m/z 197, kde se stanovuje zlato. Přestože se tedy na oko interference zvyšuje, ve skutečnosti dochází k její účinné eliminaci právě díky tvorbě dalších oxidovaných forem, které již v daném m/z neinterferují.

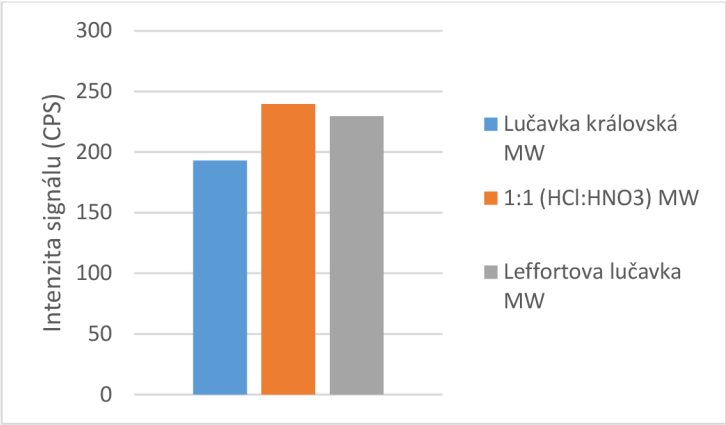
Tyto výsledky potvrzují, že slepé vzorky nevykazují žádnou významnou kontaminaci na sledovaných hmotách a použitá činidla ani laboratorní zázemí výrazně nepřispívají ke zvýšení analytického pozadí. Nízké CPS hodnoty ve slepých vzorcích tak potvrzují, že detekovaný signál Au ve vzorcích půd pravděpodobně pochází z analytu a nikoliv z kontaminace chemikáliemi či aparaturou.

V rámci O_2 módu byly opět analyzovány tři různé extrakční směsi (lučavka královská, směs $HCl:HNO_3$ 1:1 a Leffortova lučavka) a dvě extrakční metody (mikrovlnný ohřev – MW, a ohřev na topné desce – HP) pro extrakci referenčního půdního materiálu Metranal 01. Cílem bylo simultánně sledovat intenzitu signálu pro hmotnostní poměry m/z = 180 (Hf), 181 (Ta) a 197 (Au).

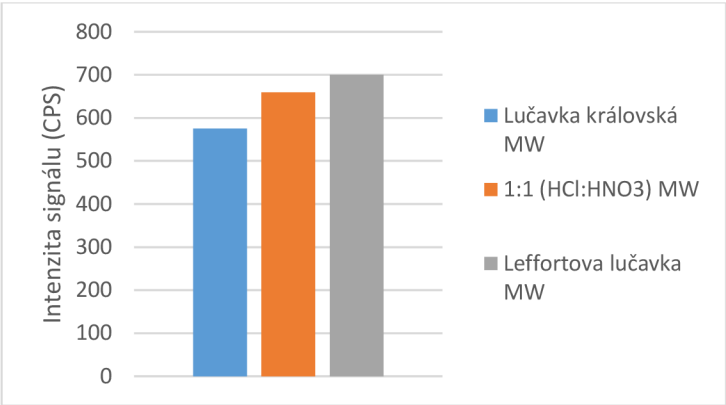
V případě mikrovlnné extrakce (MW) půd dosahovaly signály pro ^{197}Au hodnoty mezi 576-700 CPS, bez výrazných rozdílů mezi jednotlivými činidly (viz Graf 9), přičemž nejvyšší signál byl naměřen u Leffortovy lučavky (700 CPS). Graf 7 pro izotop 180 (Hf) ilustruje pozvolný nárůst v pořadí: lučavka královská (293 CPS) < směs 1:1 (363 CPS) < Leffortova lučavka (386 CPS). Pro izotop 181 (Ta) byl trend jiný (viz Graf 8), přičemž lučavka královská vykázala nejnižší hodnotu 193 CPS, a směs $HCl:HNO_3$ (1:1) nejvyšší signál (240 CPS).



Graf 7 - Porovnání signálu m/z 180 (Hf) v O_2 režimu



Graf 8 - Porovnání signálu m/z 181 (Ta) v O_2 režimu

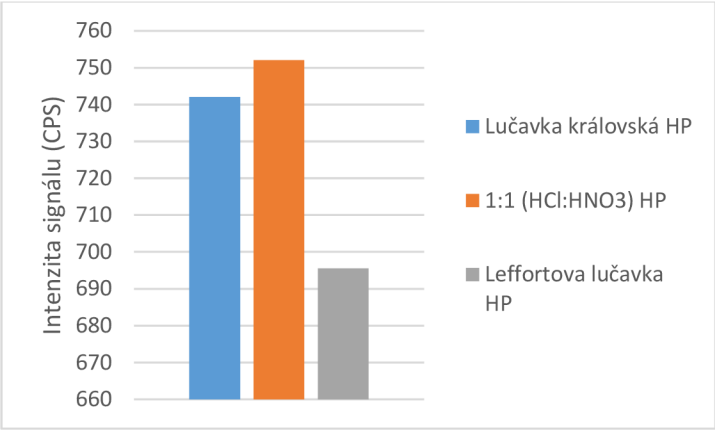


Graf 9 - Porovnání signálu m/z 197 (Au) v O_2 režimu

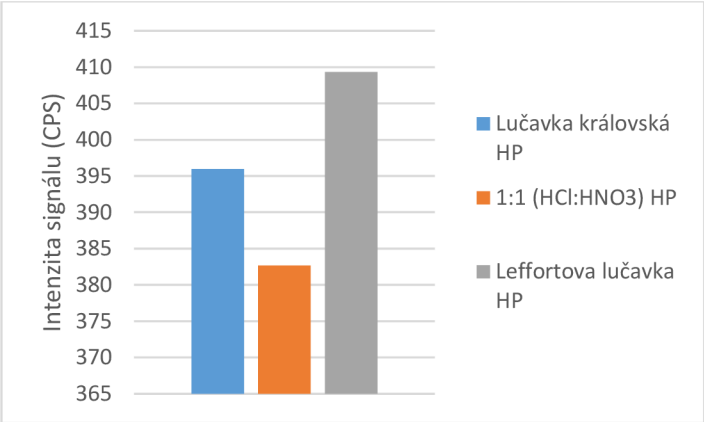
Ve všech vzorcích extrahovaných metodou ohřevu na topné desce (HP) byly zaznamenány stabilní signály pro potenciálně interferující prvky Hf (m/z = 180) a Ta (m/z = 181). Hodnoty Hf se pohybovaly v rozmezí 696–752 CPS a Ta mezi 383–409 CPS, což prezentuje Graf 10 a Graf 11.

Pro kvantitativní hodnocení opakovatelnosti extrakce byly vypočteny relativní směrodatné odchylky (RSD), které dosáhly 4,14 % pro Hf a 3,36 % pro Ta. Tyto hodnoty potvrzují velmi dobrou konzistenci měření a nízkou variabilitu mezi extrakčními směsmi. Nezaznamenali jsme žádné výkyvy, které by naznačovaly nekontrolovaný přenos interferujících složek ze vzorku do extraktu.

Tato stabilita je důležitá z hlediska interpretace výsledků zlata (m/z = 197), protože vylučuje významný přínos spektrální interference v důsledku fluktuací Hf nebo Ta v extrakčním médiu.

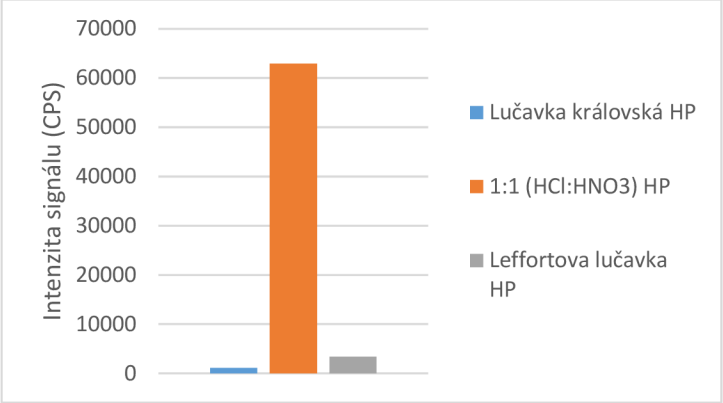


Graf 10 - Porovnání signálu m/z 180 (Hf) v O_2 režimu



Graf 11 - Porovnání signálu m/z 181 (Ta) v O_2 režimu

Naopak signály pro m/z = 197 (Au) vykazovaly výrazné rozdíly. Nejvyšší intenzita 62 946 CPS byla naměřena při extrakci směsí $HCl:HNO_3$ (1:1), zatímco ostatní směsi (Leffortova lučavka: 3 383 CPS, lučavka královská: 1 089 CPS) dosahovaly výrazně nižších hodnot (viz Graf 12). Tento skokový nárůst může naznačovat nugget effect – tedy nerovnoměrné rozptýlení Au ve vzorku v podobě drobných koncentrovaných částic (mikronuggetů). Takové částice nemusí být v celém vzorku rovnoměrně rozloženy, což může při malém množství navážky způsobit extrémně vysoký signál pouze u jednoho měření. Proto tento náhlý výkyv hodnot nelze jednoznačně interpretovat jako důsledek vyšší extrakční účinnosti směsi, ale je nutné jej považovat za potenciálně ovlivněný heterogenitou rozložení Au ve vzorku. Opakovatelnost a homogenita vzorku by měly být dále prověřeny.



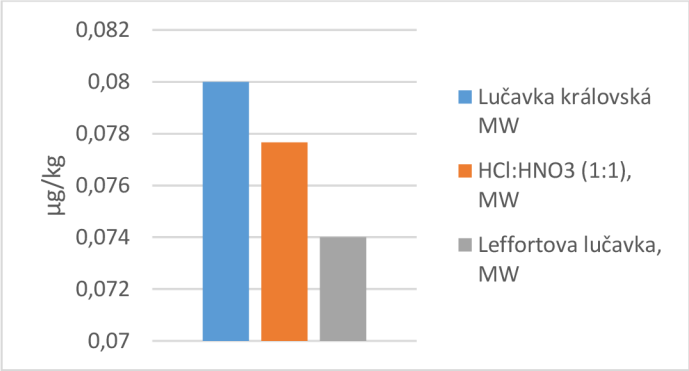
Graf 12 - Porovnání signálu m/z 197 (Au) O_2 režimu

Měření v kyslíkovém režimu však poskytuje významnou výhodu: umožňuje cílené odstranění některých spektrálních interferencí díky selektivním reakcím, čímž se zvyšuje analytická selektivita signálu m/z = 197 (Au).

5.2 Stanovení Au v modelové půdní matrici

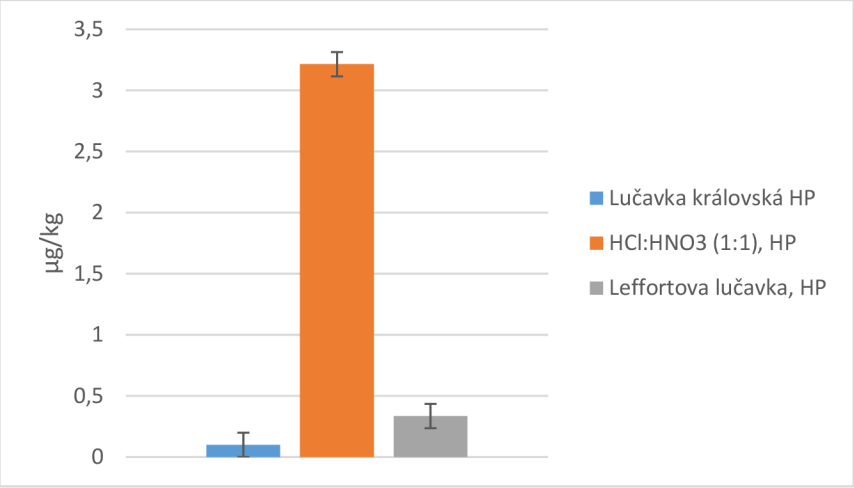
Po optimalizaci metodiky a hodnocení potenciálních spektrálních interferencí bylo přistoupeno k porovnání jednotlivých extrakčních metod z hlediska kvantifikace výtěžnosti zlata (^{197}Au) v referenčním půdním materiálu (Metranal 01). Koncentrace byly vypočteny na základě měřených intenzit a přepočteny na jednotky µg/kg přihlédnutím k navážce a ředění vzorků, čímž bylo možné provést relevantní srovnání mezi metodami mikrovlnné extrakce (MW) a extrakce na topné desce (HP).

Ve vzorcích analyzovaných po mikrovlnné extrakci se koncentrace Au pohybovaly v rozmezí 0,069–0,094 µg/kg (viz Graf 13 - Průměrné obsahy Au v říčním sedimentu (Metranal 01) po mikrovlnné extrakci), přičemž nejvyšší výtěžnost byla zaznamenána pro lučavku královskou (0,094 µg/kg). Leffortova lučavka dosáhla rovněž stabilních výsledků (průměrně 0,074 ± 0,006 µg/kg, SD, n = 3).



Graf 13 - Průměrné obsahy Au v říčním sedimentu (Metranal 01) po mikrovlnné extrakci (MW)

Naopak extrakce na topné desce vykazovala výrazně větší rozptyl výsledků (viz Graf 14). Zatímco pro lučavku královskou byly koncentrace obdobné jako u MW (0,093–0,106 µg/kg), u směsi 1:1 $HCl:HNO_3$ byla naměřena anomálně vysoká hodnota 6,292 µg/kg, pravděpodobně v důsledku tzv. nuggeting effect, tedy nerovnoměrné distribuce Au ve vzorku. Tato domněnka je podpořena skutečností, že ostatní repliky této varianty vykazovaly podstatně nižší hodnoty (0,137 µg/kg). Také Leffortova lučavka při extrakci na topné desce vykazovala vyšší koncentrace (0,335 ± 0,177 µg/kg, SD, n = 2) oproti mikrovlnné extrakci, avšak s výrazně větší variabilitou (0,210–0,461 µg/kg).



Graf 14 - Průměrné obsahy Au v říčním sedimentu (Metranal 01) po extrakci na topné desce (HP)

Tyto výsledky naznačují, že metoda MW poskytuje konzistentnější a reprodukovatelnější výsledky pro stanovení stopových koncentrací Au v geologických matricích. Vyšší variabilita u metody HP může souviset s méně homogenním rozkladem vzorku nebo s nerovnoměrnou distribucí zlata ve vzorcích.

Dle následujícího vzorce byla vypočtena průměrný obsah Au v referenčním říčním sedimentu (Metranal 01):

$$Obsah\ Au\ \left(\frac{mg}{kg}\right) = \frac{c(\frac{\mu g}{l}) \cdot V_{final}(l)}{m(g)}$$

c (µg/l) – koncentrace Au získaná metodou ICP-MS

V_{final} (l) – finální objem vzorku (V = 0,08 l)

m (g) – navážka vzorku (m_{HP} = 0,5 g; m_{MW} = 0,2 g)

Následně byl stanoven detekční limit metody (LOD_m) pro metodu MW a HP s ohledem na rozdílnou navážku a finální ředění analytu:

$$LOD_m = \frac{LOD_i(\frac{\mu g}{l}) \cdot V(l)}{m(g)}$$

$$V_{MW} = 0{,}08\, l$$

$$V_{HP} = 0{,}08\, l$$

$$m_{MW} = 0{,}2\, g$$

$$m_{HP} = 0{,}5\, g$$

$$LOD_i = 0{,}002\, \frac{\mu g}{l}$$

$$LOD_m\,(MW) = 1{,}04 \times 10^{-3} \frac{mg}{kg}$$

$$LOD_m\,(HP) = 4{,}16 \times 10^{-4} \frac{mg}{kg}$$

Z výsledků vyplývá, že metoda HP vykazovala výrazně vyšší extrahované množství Au při použití směsi $HCl:HNO_3$ (1:1) – konkrétně 0,514 mg/kg, zatímco při použití lučavky královské a Leffortovy směsi byly hodnoty výrazně nižší (0,016 mg/kg a 0,054 mg/kg).

Tento výsledek však nemusí nutně odrážet vyšší účinnost dané kombinace činidel, ale může být výrazně ovlivněn tzv. nugget efektem – tedy nerovnoměrným rozptylem zlata ve vzorku. Tento jev způsobuje statisticky významné odchylky zejména v případech, kdy je obsah zlata velmi nízký a jeho distribuce v matrici přirozeně heterogenní. Je tedy pravděpodobné, že v konkrétním vzorku HP-$HCl:HNO_3$ se náhodně vyskytla koncentrovanější částice zlata, což vedlo k řádově vyššímu výsledku, bez přímé vazby na skutečnou extrakční účinnost.

Naopak metoda MW vykázala vyrovnané koncentrace napříč všemi třemi činidly (0,030–0,032 mg/kg), což může svědčit o její vyšší reprodukovatelnosti při daných podmínkách.

Vzájemné srovnání metod MW a HP je tedy v tomto případě omezené právě vlivem nugget efektu. Pro objektivní hodnocení by bylo vhodné provést analýzy na větším počtu paralelních vzorků a pracovat s lépe homogenizovaným materiálem, čímž by se minimalizoval vliv náhodného rozložení kovových částic.

5.3 Stanovení Au v referenčním vzorku včel

Validace analytické metody pro stanovení Au ve včelím homogenátu vyžadovala nejprve optimalizaci postupu rozkladu biologické matrice. V této podkapitole jsou prezentovány výsledky komparativní studie, která hodnotila účinnost dvou rozdílných metod rozkladu: mikrovlnného rozkladu (MW) a klasického rozkladu na topné desce (HP). Referenční vzorky včelího homogenátu byly analyzovány za identických instrumentálních podmínek, přičemž klíčovým parametrem hodnocení byla nejen dosažená koncentrace Au v příslušném mineralizátu ze včelího homogenátu, ale také reprodukovatelnost výsledků a účinnost mineralizace organické matrice.

Pro komplexní hodnocení byly analyzovány jak původní referenční vzorky, tak vzorky obohacené o známé množství Au (spike). Výsledky, prezentované v Tabulka 4, ukazují koncentrace Au vyjádřené v µg/g a umožňují přímé srovnání výtěžností obou metod. Z vypočtených detekčních limitů (LOD) uvedených v Tabulka 3 vyplývá, že metoda HP poskytuje lepší (nižší) detekční limity ve srovnání s metodou MW.

Tabulka 3 - Stanovení LOD metodami MW vs. HP

Metoda	Finální objem (l)	Hmotnost vzorku (g)	LOD instrumentální (µg/l)	LOD metody (µg/g)
MW	0,08	0,125	0,002	0,0013
HP	0,025	0,15	0,002	0,0003

Limit detekce (LOD) analytické metody (MW či HP) pro stanovení Au byl vypočten na základě instrumentálního detekčního limitu (LOD_i) přístroje ICP-MS (LOD_i = 0,002 µg/l). Po přepočtu na finální objem extraktu a hmotnost vzorku včelího homogenátu činil LOD:

$$LOD = \frac{LOD_i(\frac{\mu g}{l}) \cdot V(l)}{m(g)}$$

$$V_{MW} = 0{,}08\ l$$

$$V_{HP} = 0{,}025\ l$$

$$m_{MW} = 0{,}125\ g$$

$$m_{HP} = 0{,}15\ g$$

$$LOD_i = 0{,}002\ \frac{\mu g}{l}$$

$$LOD_{MW} = 0{,}0013\ \frac{\mu g}{g}$$

$$LOD_{HP} = 0{,}0003\ \frac{\mu g}{g}$$

Pro ověření účinnosti extrakčních metod byly připraveny tzv. spike vzorky, tedy vzorky obohacené o 11,3 ng Au pomocí spikingu (finální objem pro HP byl 25 ml, pro MW pak 80 ml). V těchto případech byly zaznamenány výrazně vyšší koncentrace Au – 0,160 ± 0,005 mg/l, SD, n = 3) při použití MW metody a 0,526 ± 0,037 mg/l, SD, n = 3) při použití HP metody. To odpovídá výtěžnosti (recovery) přibližně 113 % u mikrovlnné extrakce (MW) s výrazně nižší variabilitou (±0,005 mg/l) ve srovnání s rozkladem na topné desce (HP) (116 %, ± 0,037 mg/l).

Během optimalizační fáze byla jako nejúčinnější extrakční činidlo pro Au původně vyhodnocena lučavka královská, která v testovaných podmínkách vykazovala dobrou extrakční účinnost. Nicméně podrobnější analýza výsledků na konci této fáze ukázala, že tento způsob rozkladu není pro včelí matrici zcela vhodný. U komplexních vzorků včelí tkáně docházelo k neúplnému rozkladu organické složky, což mohlo vést ke snížené výtěžnosti extrakce Au. Neúplně rozložené vzorky zároveň často obsahují suspendované částice, které mohou negativně ovlivnit měření na ICP-MS (například způsobovat nestabilitu signálu či kontaminaci vstupního systému). Z těchto důvodů je nezbytné vzorky dále filtrovat a ředit, což prodlužuje celkový analytický postup a zvyšuje nároky na následné zpracování.

Z tohoto důvodu byla v další fázi experimentu, zaměřeného na analýzu vzorků včel ze zlatonosných lokalit, jako extrakční činidlo zvolena Leffortova lučavka.
Tyto závěrečné poznatky vedly k přehodnocení metodického přístupu. Mikrovlnný rozklad (MW) se ukázal jako jednoznačně vhodnější alternativa.

Ve finální metodice byla zvolena kombinace mikrovlnné extrakce (MW) a Leffortovy lučavky, a to především kvůli efektivnějšímu rozkladu biologické matrice a vyšší robustnosti celého postupu. Následné odpaření extrakčního činidla pomocí topné desky (HP) bylo zařazeno – s cílem zvýšit koncentraci analytu ve vzorku a tím zlepšit detekční limit metody.

Tabulka 4 shrnuje výsledky stanovení obsahu Au ve včelím homogenátu a v tzv. spike vzorcích, tedy vzorcích obohacených o známé množství Au standardu, za použití dvou různých metod extrakce: mikrovlnného ohřevu (MW) a topné desky (HP). Naměřené hodnoty pro samotný včelí homogenát byly velmi nízké – konkrétně 0,00069 µg/g (MW) a 0,000056 µg/g (HP). Tyto nízké koncentrace odpovídají očekávání, neboť se jedná o přírodní biologický materiál bez umělého obohacení. Po přídavku známého množství zlata (spike) do extrakční

směsi byly stanovené hodnoty výrazně vyšší – 0,066 µg/g (MW) a 0,015 µg/g (HP). Tyto hodnoty odrážejí jednak efektivitu extrakce, jednak míru zpětného zisku přidaného standardu.

Z výsledků je patrné, že metoda MW poskytla vyšší hodnotu jak u přirozeného vzorku, tak u spike, což může naznačovat vyšší výtěžnost nebo účinnější rozklad matriční složky. Rozdíl mezi metodami je patrný zejména u spike vzorků, kde metoda MW dosáhla více než čtyřnásobné koncentrace oproti HP.

Tabulka 4 - Porovnání stanovení Au pomocí MW a HP metody z včelího homogenátu a extrakčního činidla obohaceného o spike

Název metody	µg/g
včelí homogenát, MW	0,00069
spike včelího homogenátu, MW	0,066
včelí homogenát, HP	0,000056
spike včelího homogenátu, HP	0,015

5.4 Stanovení Au v experimentálním vzorku včel

Na základě optimalizovaných podmínek a výsledků předchozích experimentů byla přistoupeno k analýze obsahu Au ve vzorcích včel odebraných ze zlatonosných lokalit
Analýza vzorků včel ze čtyř zlatonosných lokalit (Nová Ves pod Pleší, Trhové Dušníky, Libčice u Nového Knína, Zlatá u Kynšperku nad Ohří) a čtyř referenčních lokalit (Sudovo Hlavno, Šlovice, Louny, Hluboš) prokázala ve většině případů hodnoty pod mezí detekce LOD.

LOD instrumentální byl stanoven na 0,002 µg/l Au. Z důvodu alikvotování pouze 15 ml extraktu (z původních 20 ml) pro následné odpaření na objem 1–2 ml, finální doředění zpět na 20 ml a navážce 0,15 g včelího homogenátu je třeba při výpočtu koncentrace Au ve vzorcích včel zohlednit tuto úpravu objemu. Tato operace má přímý dopad nejen na výsledný výpočet obsahu Au v analyzovaných vzorcích, ale také na stanovení mezí detekce (LOD) celé metody, jelikož se mění reálné množství analytu vstupujícího do měření. Proto bylo nutné zavést LOD finální metody, které činí 0,00036 µg/g Au (tedy 0,36 ng/g Au).
Ve vzorcích z referenčních lokalit nebylo zlato detekováno – až na jediný případ. Konkrétně šlo o vzorek z lokality Louny, kde byl naměřen obsah 2,45 ng/g Au (viz Tabulka 4). Tento nález představuje výjimku ve srovnání s ostatními referenčními oblastmi, kde byly všechny hodnoty pod limitem detekce.

Mezi zlatonosnými lokalitami byl obsah Au ve většině analyzovaných vzorků včel pod mezí detekce LOD finální analytické metody, tj. < 0,36 ng/g Au (viz Tabulka 4). Výjimku představovaly čtyři lokality, ve kterých byl alespoň v jednom ze tří vzorků zaznamenán obsah

nad LOD. Nejvyšší hodnota byla zjištěna ve vzorku ze Zlaté u Kynšperku nad Ohří (4,73 ng/g Au). Mírně zvýšený obsah byl dále naměřen v Trhových Dušníkách (1,31 ng/g Au), v Libčicích u Nového Knína (0,40 ng/g Au) a v Nové Vsi pod Pleší, kde koncentrace dosáhla hraniční hodnoty 0,36 ng/g Au.

U lokalit Zlatá a Trhové Dušníky byla ve třech replikátech zaznamenán významně vyšší obsah Au pouze v jednom ze vzorků, zatímco ostatní byly pod mezí detekce. Tato situace spíše než na skutečnou variabilitu mezi vzorky ukazuje na možný výskyt tzv. nugget effectu – tedy přítomnosti Au v jednotlivých částech vzorku v důsledku jeho nerovnoměrného rozptýlení.

Na všech zlatonosných lokalitách byl zaznamenán alespoň jeden vzorek včelích těl s obsahem Au vyšším nebo rovným detekčnímu limitu metody (LOD) – což představuje zásadní rozdíl oproti referenčním lokalitám, kde byl Au stanoven pouze v jediném vzorku (Louny).

Z těchto výsledků pak nejvýrazněji vyčnívá lokalita Zlatá u Kynšperku nad Ohří, kde byla v jednom ze vzorků detekována koncentrace 4,73 ng/g Au, což je hodnotově i relativně výrazně nad všemi ostatními lokalitami. V ostatních zlatonosných oblastech byly zaznamenané koncentrace nižší, většinou blízké detekčnímu limitu, avšak stále naznačující možný kontakt včel se stopami zlata v prostředí. Tyto výsledky potvrzují potřebu dalšího testování metodiky, případně navýšení množství vzorku nebo rozsáhlejší vzorkování na lokalitě a větší počet biologických replik.

Tabulka 5 – Průměrný obsah Au ve včelách (ng/g)

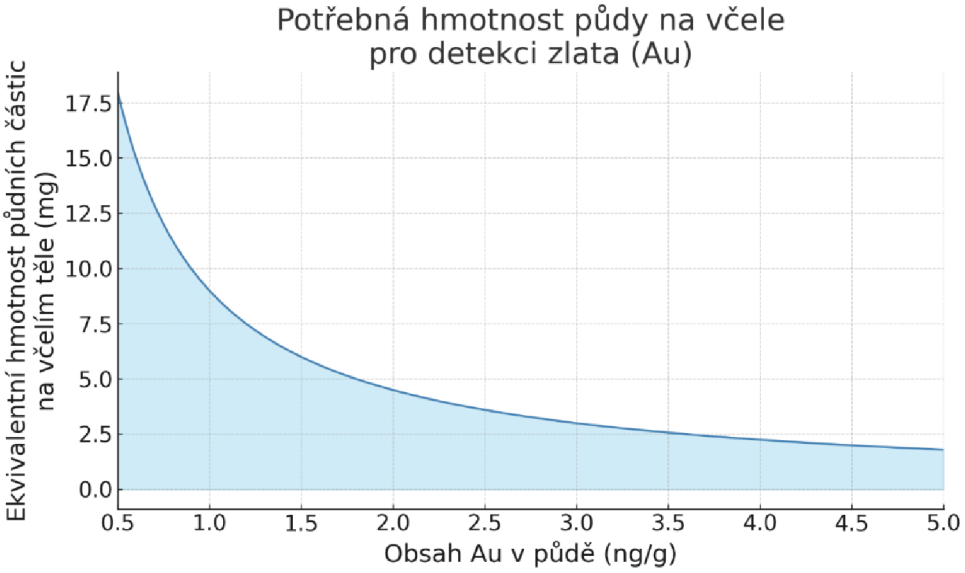
Typ lokality	Lokalita	Dílčí vzorek	Obsah Au (ng/g)	Poznámka k měření
Referenční	Šlovice	A	< 0,36	< LOD
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
	Louny	A	2,45	-
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
	Sudovo Hlavno	A	< 0,36	< LOD
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
	Hluboš	A	< 0,36	< LOD
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
Zlatonosná	Nová Ves pod Pleší	A	0,36	-
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
	Trhové Dušníky	A	1,31	-
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
	Libčice u Nového Knína	A	0,40	-
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD
	Zlatá u Kynšperku	A	4,73	-
		B	< 0,36	< LOD
		C	< 0,36	< LOD

6 Diskuze

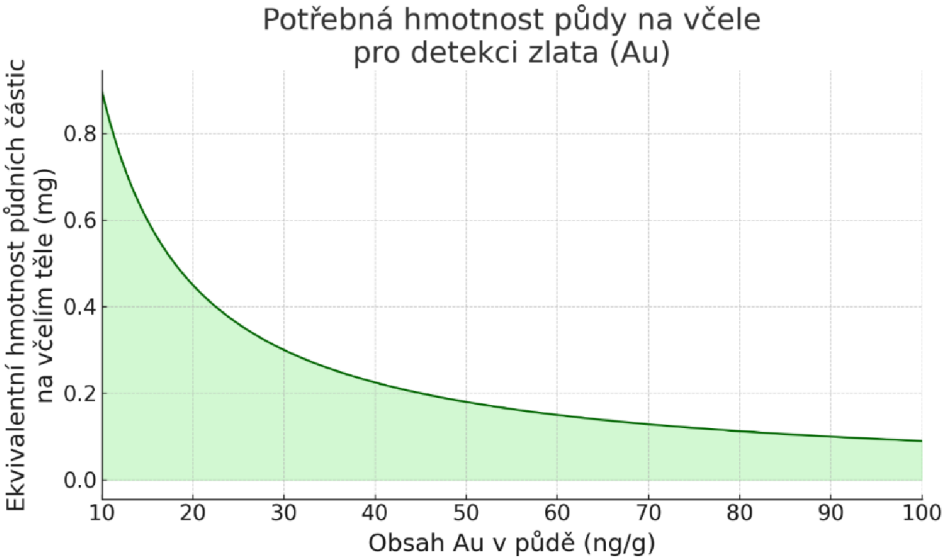
Výsledky analýz ukázaly nízký obsah Au ve včelách, přičemž v naprosté většině případů se hodnoty pohybovaly pod detekčním limitem použité metody (LOD), který činil 0,36 ng/g. Tento výsledek je potřeba interpretovat ve světle několika klíčových omezení – environmentálních, geologických a metodologických – které ovlivňují jednak dostupnost Au v prostředí a jednak samotnou pravděpodobnost jeho detekce na povrchu včel.

Prvotním limitujícím faktorem je samotná environmentální a geologická charakteristika sledovaných lokalit. Obsah Au v zemské kůře se obecně pohybuje v rozmezí 1–5 µg/kg (Shuster & Reith, 2018), přičemž běžné půdy mívají koncentrace zpravidla <2 µg/kg (Abd-Elmoniem Ebyan, 2024). Tato nízká koncentrace spolu s heterogenitou půdních matric výrazně omezuje množství Au, které se může teoreticky přenést na povrchu těla včely. Pro ilustraci tohoto konceptu byl sestaven jednoduchý model (viz Graf 15), který ukazuje, že pokud by půda obsahovala 1 µg/kg Au, musela by každá včela nést na svém povrchu přibližně 8–9 mg půdních částic, aby bylo možné dosáhnout detekovatelné hladiny Au (při hmotnosti sušiny jedné včely okolo 25 mg). Taková míra kontaminace včelího těla půdními částicemi je pravděpodobně nereálná, což by mohlo vysvětlovat neúspěšnou detekci Au ve včelách na téměř všech referenčních lokalitách (výjimku tvořila pouze lokalita Louny). Graf 15 tedy zobrazuje vztah mezi nízkým obsahem Au v půdě (0,5–5 ng/g, resp. µg/kg) a potřebnou hmotností půdních částic na jedné včele, která by umožnila detekci Au.

Naopak v případě zlatonosných oblastí je koncentrace Au v půdách podstatně vyšší – v závislosti na geologických podmínkách a antropogenním ovlivnění může dosahovat i desítek µg/kg. Graf 16 se zaměřuje na vyšší koncentrace Au v půdě (10–100 ng/g), tedy scénář typický právě spíše pro zlatonosné lokality či lokální anomálie. Modelový výpočet (viz Graf 16) ukazuje, že při koncentraci 20 µg/kg Au v půdě by k dosažení detekovatelné hladiny Au ve vzorku postačovalo pouhých <0,5 mg půdních částic na jednu včelu, což již může odpovídat reálnému množství částic přenesených na těle hmyzu během sběru potravy. Tento model tedy podporuje základní hypotézu, že v oblastech s vyšším obsahem Au v půdách je včela potenciálně vhodným nositelem informace o geochemickém pozadí a námi vyvinutá metoda tak může být dostatečně citlivá.



Graf 15 - Potřebná hmotnost půdy na včele pro detekci Au



Graf 16 - Potřebná hmotnost půdy na včele pro detekci Au

Tato modelová úvaha dobře koresponduje s empirickými výsledky: zatímco v referenčních lokalitách nebylo až na jednu výjimku (v lokalitě Louny) Au ve včelách detekováno, ve všech třech zlatonosných lokalitách se vyskytla alespoň jedna pozitivní detekce Au. Naše výsledky naznačují, že použitá metoda může být funkční a výtěžná v kontextu lokalit se zvýšeným obsahem Au. Zjištěná shoda mezi modelem a naměřenými daty tuto možnost dále podporuje.

Ke stanovení Au v testovaných matricích byl použit LOD metody 0,36 ng/g, což je pro environmentální studii přijatelná citlivost. Přesto existují studie s výrazně nižšími LOD metody – např. Tao et al. (2017) dosáhli hodnoty 0,014 ng/g díky optimalizaci extrakčního postupu a eliminaci spektrálních interferencí. Využili přídavek CH_4 do plazmatu a ředění aerosolu

proudem Ar, což snížilo interferenci ze strany iontů TaO^+ a $HfOH^+$ a zvýšilo citlivost pro signál Au. Výsledná metoda byla validována na geologických referenčních materiálech a vykazovala velmi nízký poměr interferenčních signálů (např. $TaO^+/Ta^+ < 0{,}08$ %).

Vedle environmentálních a instrumentálních omezení hrály roli i metodické faktory. Analyzované vzorky obsahovaly pouze 6 včel (tj. 150 mg suché hmoty). Tato velikost vzorku zvyšuje riziko statistické chyby – zejména při výskytu tzv. nugget efektu, kdy je Au přítomno v jednotlivých vzorcích ve formě ryzí částice. Důkazem jsou výkyvy obsahu Au ve vzorcích včel z experimentálních lokalit. Pokud dojde k náhodnému zachycení takové částice během odběru malého množství materiálu, vzniká skokový nárůst koncentrace, který však nereprezentuje skutečný průměrný obsah ve vzorku. Nugget efekt je dobře popsaný zejména u geologických a biologických materiálů s přirozeně nízkou homogenitou. V daném případě nelze příčinu výkyvu připsat spektrálním interferencím, protože signály tantalu a hafnia zůstaly stabilní a srovnatelné ve všech vzorcích. Lze tedy konstatovat, že se skutečně jednalo o částice obsahující Au.

S cílem minimalizace nugget efektu v budoucích experimentech se nabízí několik opatření. Jedním z nich je navýšení počtu odebraných včel na jednotlivých lokalitách, což přispěje k získání reprezentativnějšího obrazu daného území. Větší soubor analyzovaných jedinců zvyšuje pravděpodobnost zachycení průměrného složení a zároveň redukuje vliv případné kontaminace jedné včely extrémně obohacenou částicí. Důkladná homogenizace vzorku je také nezbytným krokem. Cílem je vytvořit jemný a pokud možno rovnoměrný „včelí prášek“, který minimalizuje rozdíly mezi různými částmi těla a distribuci přichycených částic. K tomu se jeví jako optimální kryogenní mletí nebo mechanické homogenizace s následným proséváním.

Z hlediska metodického designu je důležité zdůraznit, že v této diplomové práci nebyla finálně použita homogenizovaná směs včelích těl, a to ze specifických důvodů. Pokusné homogenizace v třecí misce ukázaly, že se jednotlivé části těla oddělují (končetiny, křídla, chloupky), avšak nerozrušují dostatečně – vznikala tedy heterogenní frakce, ve které bylo obtížné dosáhnout reprezentativní navážky. Např. fragmenty těl a křídel se mohly ve výsledné směsi navažovat v různých poměrech, což by znevýhodňovalo konzistentnost mezi replikami.

Zároveň je známo, že prachové částice se preferenčně zachycují na určitých částech těla včel (např. chloupky, končetiny, mezičlánkové záhyby), a tedy by homogenizace tohoto typu mohla narušit přirozenou distribuci částic zachycených na povrchu. Z těchto důvodů bylo upřednostněno navažování celých včel bez předchozí homogenizace.

Tímto přístupem však vzniká jiné riziko: pokud byla v analyzované šestici včel přítomna jen jediná s výraznou kontaminací (např. s nalepeným „nuggetem“), mohla tato jediná včela dominantně ovlivnit celý výsledek vzorku.

Implementace těchto opatření je zásadní zejména při stanovení stopových koncentrací zlata ve složitých biologických a environmentálních vzorcích, kde je homogenita často omezená. V konečném důsledku pak mohou přispět k významnému zvýšení reprodukovatelnosti, spolehlivosti a interpretovatelnosti výsledků.

Z analytického hlediska je jedním z klíčových parametrů LOD metody, který závisí na velikosti navážky, stupni ředění a instrumentální citlivosti. V této práci byly použity malé navážky (~0,15 g) a relativně vysoké ředění, což vedlo ke snížení koncentrace Au ve výsledném extraktu. Zlepšení LOD metody by mohlo být dosaženo zvýšením navážky, snížením ředění a optimalizací přístrojových parametrů. Dále se nabízí použití „reaction cell“ s přídavkem CH_4 pro odstranění spektrálních interferencí (Tao et al., 2017).

Další možností je zařazení prekoncentračních technik. Např. *cloud point extraction* (CPE) s použitím neiontových surfaktantů umožňuje selektivní zachycení Au z vodných matric a byla úspěšně aplikována i pro stopové koncentrace (Yamini & Ghambarian, 2012). Dále lze využít sorpce na thiol-modifikované sorbenty nebo železité oxidy (Ciftci, 2010). V geologických aplikacích bývá často použita metoda *fire assay*, která má výrazně nižší detekční limity, ale je destruktivní a technologicky náročnější (Balaram & Subramanyam, 2022). Začlenění jedné z těchto technik do preanalytického postupu by mohlo významně zlepšit LOD metody a zvýšit pravděpodobnost úspěšné detekce Au.

Kromě metodických aspektů je třeba zohlednit i sezónní a environmentální faktory. Odběry probíhaly v srpnu – tedy v období, kdy včely sbírají potravu zejména z kvetoucích luk, mezí, bylinných porostů či okrajů lesů, které tvoří hustý a souvislý porost. Vegetace působí jako fyzická bariéra, která brání pohybu prachových částic a tím snižuje celkovou prašnost prostředí. Vzhledem k tomu, že včely zachytávají na povrchu svého těla anorganické částice především pasivním kontaktem s aerosolem a povrchem rostlin, omezená prašnost přímo snižuje pravděpodobnost akumulace Au na jejich těle. Tento efekt je dále posilován vlivem srážek. Dešťové epizody v době aktivního sběru včel významně snižují prašnost prostředí, a to jak mechanickým smytím částic z vegetace, tak omezením pohybu suchých půdních částic. Srážky tak ve spojení s hustým vegetačním krytem výrazně omezují možnost kontaktu včel s částicemi obsahujícími Au.

V neposlední řadě je důležité zvážit geologickou distribuci zlata. Zlato se v prostředí nevyskytuje rovnoměrně – jeho přítomnost může být omezena na hlubší půdní horizonty,

případně na specifické geologické formace, jako jsou rozsypy nebo staré haldy rudních ložisek (lokalizované na povrchu). Pokud se včely vyskytují v oblastech, kde se Au nevyskytuje v povrchových vrstvách, je pravděpodobnost jeho zachycení na těle v důsledku pasivního kontaktu nízká.

7 Závěr

Tato diplomová práce se zaměřila na možnost využití včely medonosné (*Apis mellifera*) jako pasivního biomonitoru přítomnosti Au v terestrickém prostředí. Cílem práce bylo ověřit, zda lze obsah Au ve včelím těle spolehlivě stanovit pomocí rutinní analytické metody a zda je možné tento obsah využít pro rozlišení mezi zlatonosnou a referenční lokalitou.

Provedené analýzy potvrdily, že zvolená kombinace mikrovlnné extrakce (MW) a následné zakoncentrace analytu odparem rozpouštědla pomocí ohřevu na topné desce (HP) je vhodná pro zpracování vzorků včel. Jako extrakční činidlo byla použita Leffortova lučavka. Následné stanovení metodou ICP-MS umožnilo rutinní a reprodukovatelné detekce stopových koncentrací Au ve vzorcích včel. Limit detekce (LOD) této analytické metody byl stanoven na hodnotu 0,36 ng/g. Výsledky dále ukázaly, že ve všech čtyřech zlatonosných lokalitách bylo Au ve vzorcích včel alespoň jednou detekováno, zatímco jen na třech ze čtyřech referenčních lokalit byly hodnoty dílčích vzorků pod mezí detekce metody LOD. Vzhledem k vysoké heterogenitě distribuce Au a možnému výskytu tzv. nugget efektu je třeba výstupy interpretovat s opatrností a v kontextu dalších podpůrných metod.

Práce dále ukázala, že i přes určitá metodická a environmentální omezení – jako je sezónní variabilita, vliv vegetace či nízká koncentrace Au v přirozeném prostředí – mají včely potenciál stát se užitečným nástrojem pro environmentální screening oblastí s výskytem ušlechtilých kovů. Vhodnou optimalizací analytického postupu (např. vyšší navážky, snížení ředění nebo využití prekoncentračních technik) a zvýšením počtu analyzovaných jedinců lze podpořit spolehlivost detekce a snížit vliv náhodných odchylek.

Zjištění této práce rozšiřují dosavadní poznatky o využití včely jako biomonitoru a potvrzují její potenciál nejen pro účely environmentálního monitoringu rizikových prvků – oblast, která je v odborné literatuře již dobře etablovaná, a ze které tato diplomová práce částečně čerpala teoretická východiska – ale také pro nové, dosud málo využívané aplikace v geochemickém průzkumu. Analýza přirozeně se vyskytujících včel poskytuje možnost prostorového screeningu přítomnosti ušlechtilých kovů bez nutnosti destruktivních zásahů do krajiny, a představuje tak ekologicky šetrnou a nákladově efektivní alternativu ke konvenčním metodám prospekce.

Literatura

Abd-Elmoniem Ebyan, O. (2024, August 30). Biogeochemical Exploration for Gold Mineralization Using Wild Plants. *JOTCSA*, *11*(3), 1125–1165. https://doi.org/10.18596/jotcsa.1421730

Alcorlo, P., Otero, M., Crehuet, M., Baltanás, A., & Montes, C. (2006). The use of the red swamp crayfish (Procambarus clarkii, Girard) as indicator of the bioavailability of heavy metals in environmental monitoring in the River Guadiamar (SW, Spain). *Science of The Total Environment*, *366*, 380–390.

Badiou-Bénéteau, A., Benneveau, A., Géret, F., & Delatte, H. (2013). Honeybee biomarkers as promising tools to monitor environmental quality. *Environment International*, *60*, 31–41.

Balaram, V., & Subramanyam, K. S. V. (2022). Sample preparation for geochemical analysis: Strategies and significance. *Advances in Sample Preparation*, *1*, 100010. https://doi.org/10.1016/J.SAMPRE.2022.100010

Bargańska, Z.,Ȝebioda, M., & Namiešnik, J. (2016). Honey bees and their products: Bioindicators of environmental contamination. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *46*(3), 235–248. https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1078220

Belder, D. (2024, November 19). *10 Largest Producers of Gold by Country (Updated 2024)*. Investing Nes Network.

Bilandžić, N., Dokić, M., Sedak, M., Kolanović, B. S., Varenina, I., Končurat, A., & Rudan, N. (2011). Determination of trace elements in Croatian floral honey originating from different regions. *Food Chemistry*, *128*(4), 1160–1164. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.04.023

Borovička, J., Dunn, C. E., Gryndler, M., Mihaljevič, M., Jelínek, E., Rohovec, J., Rohošková, M., & Řanda, Z. (2010). Bioaccumulation of gold in macrofungi and ectomycorrhizae from the vicinity of the Mokrsko gold deposit, Czech Republic. *Soil Biology and Biochemistry*, *42*(1), 83–91. https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2009.10.003

Catalano, P., Della Sala, F., Cavaliere, M., Caputo, C., Pecoraro, D., Crispino, G., Lettera, S., Caioni, G., Esposito, M., Verre, A., Castellone, L., Bianco, E., & Amorena, M. (2024). Use of Honey Bees and Hive Products as Bioindicators to Assess Environmental Contamination in Targeted Areas of the Campania Region (Italy). *Animals*, *14*(10), 1446. https://doi.org/10.3390/ANI14101446/S1

SUROVINOVÉ ZDROJE ČESKÉ REPUBLIKY NEROSTNÉ SUROVINY 2023: Statistické údaje do roku 2022. Online. In: . Česká geologická služba, 2023, s. 458. Dostupné z:

https://cgs.gov.cz/system/files/2024-02/surovinove-zdroje-ceske-republiky-2023_0.pdf. [cit. 2025-04-19].

Ciftci, H. (2010). Separation and solid phase extraction method for the determination of cadmium in environmental samples. *Desalination*, *263*(1–3), 18–22. https://doi.org/10.1016/J.DESAL.2010.06.028

Ćirić, J., Spirić, D., Baltić, T., Branković Lazić, I., & Trbović, D. (2020). Honey Bees and Their Products as Indicators of Environmental Element Deposition. *Biological Trace Element Research*, *199*, 2312–2319.

Conti, M. E., Astolfi, M. L., Mele, G., Ristorini, M., Vitiello, G., Massimi, L., Canepari, S., & Finoia, M. G. (2022). Performance of bees and beehive products as indicators of elemental tracers of atmospheric pollution in sites of the Rome province (Italy). *Ecological Indicators*, *140*, 109061. https://doi.org/10.1016/J.ECOLIND.2022.109061

Conti, M. E., & Botrè, F. (2001). Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, *69*, 267–282.

Conti, M. E., & Cecchetti, G. (2001). Biological monitoring: lichens as bioindicators of air pollution assessment — a review. *Environmental Pollution*, *114*(3), 471–492. https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00224-4

Costa, A., Veca, M., Barberis, M., Tosti, A., Notaro, G., Nava, S., Lazzari, M., Agazzi, A., & Maria Tangorra, F. (2019). Heavy metals on honeybees indicate their concentration in the atmosphere. a proof of concept. *Italian Journal of Animal Science*, *18*(1), 309–315. https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1520052

Cunningham, M. M., Tran, L., McKee, C. G., Polo, R. O., Newman, T., Lansing, L., Griffiths, J. S., Bilodeau, G. J., Rott, M., & Guarna, M. M. (2022). Honey bees as biomonitors of environmental contaminants, pathogens, and climate change . *Ecological Indicators* , *134*.

Demková, L., Hauptvogl, M., Oboňa, J., Bobuľská, L., Jančo, I., Harangozo, Ľ., Lakatošová, J., Kowalski, S., & Árvay, J. (2024). Comprehensive assessment of mercury contamination in bees, bee products and moss and lichen bags. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *285*, 117132. https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2024.117132

Dżugan, M., Wesołowska, M., Zaguła, G., Kaczmarski, M., Czernicka, M., & Puchalski, C. (2018). Honeybees (Apis mellifera) as a biological barrier for contamination of honey by environmental toxic metals. *Environmental Monitoring and Assessment 2018 190:2*, *190*(2), 1–9. https://doi.org/10.1007/S10661-018-6474-0

Gillanders, R. N., Glackin, J. M., Babić, Z., & Muštra, M. (2021). Biomonitoring for wide area surveying in landmine detection using honeybees and optical sensing. *Chemosphere*, *273*.

Girotti, S., Ghini, S., Ferri, E., Bolelli, L., Colombo, R., Serra, G., Porrini, C., & Sangiorgi, S. (2020). Bioindicators and biomonitoring: honeybees and hive products as pollution impact assessment tools for the Mediterranean area. *Euro-Mediterranean Journal for Environmental Integration*, *5*(3). https://doi.org/10.1007/s41207-020-00204-9

Gombert, S., Asta, J., & Seaward, M. R. D. (2006). Lichens and tobacco plants as complementary biomonitors of air pollution in the Grenoble area (Isère, southeast France). *Volume 6, Issue 2, Pages 429 - 443*, *6*(2), 429–443. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2005.06.001

Goretti, E., Pallottini, M., Rossi, R., La Porta, G., Gardi, T., Cenci Goga, B. T., Elia, A. C., Galletti, M., Moroni, B., Petroselli, C., Selvaggi, R., & Cappelletti, D. (2020). Heavy metal bioaccumulation in honey bee matrix, an indicator to assess the contamination level in terrestrial environments. *Environmental Pollution*, *256*, 113388. https://doi.org/10.1016/J.ENVPOL.2019.113388

Goretti, E., Pallottini, M., Selvaggi, R., & Petroselli, C. (2018). Mustelids as bioindicators of the environmental contamination by heavy metals. *Ecological Indicators*, *94*, 320–327.

Hnutí duha: Průzkumy ložisek zlata v české krajině. Online. In: . 2014, s. 1-5. Dostupné z: https://hnutiduha.cz/sites/default/files/publikace/2014/02/pruzkumy_zlato.pdf. [cit. 2025-04-19].

Holt, E. A., & Miller, S. W. (2011). Bioindicators Using Organisms to Measure Environmental Impacts. *Global and Regional Ecology*.

Ilijević, K., Vujanović, D., Orčić, S., Purać, J., Kojić, D., Zarić, N., Gržetić, I., Blagojević, D. P., & Čelić, T. V. (2021). Anthropogenic influence on seasonal and spatial variation in bioelements and non-essential elements in honeybees and their hemolymph. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *239*, 108852. https://doi.org/10.1016/J.CBPC.2020.108852

Řeháček J. (2016). *Obsahy arzenu v půdách zlatonosných ložisek středočeské metalogenetické zóny* [Bakalářská práce, Univerzita Karlova v Praze]. https://dodo.is.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/83210/BPTX_2015_1_11310_0_375782_0_174783.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Kłos, A., Ziembik, Z., Rajfur, M., Dołhańczuk-Śródka, A., Bochenek, Z., Bjerke, J. W., Tømmervik, H., Zagajewski, B., Ziółkowski, D., Jerz, D., Zielińska, M., Krems, P., Godyń, P., Marciniak, M., & Świsłowski, P. (2018). Using moss and lichens in biomonitoring of heavy-metal contamination of forest areas in southern and north-eastern

Poland. *Science of The Total Environment*, *627*, 438–449. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2018.01.211

Kořan, J. (1988). *Sláva a pád starého českého rudného hornictví.*

Kursa, M., & Szurman, I. (2013). *Vysoká škola báňská-Technická univerzita Ostrava Ušlechtilé a drahé kovy (studijní opory) učební text / scénáře / testy.*

Lambert, O., Piroux, M., Puyo, S., Thorin, C., Larhantec, M., Delbac, F., & Pouliquen, H. (2012). Bees, honey and pollen as sentinels for lead environmental contamination. *Environmental Pollution*, *170*, 254–259.

Lasat, M. M. (2002). Phytoextraction of Toxic Metals. *Journal of Environmental Quality*, *31*(1), 109–120. https://doi.org/10.2134/JEQ2002.1090

Leita, L., Muhlbachova, G., Cesco, S., & Barbattini, R. (1996). Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, *43*, 1–9.

Li, L., Zheng, B., & Liu, L. (2010). Biomonitoring and Bioindicators Used for River Ecosystems: Definitions, Approaches and Trends. *Procedia Environmental Sciences*, *2*, 1510–1524. https://doi.org/10.1016/J.PROENV.2010.10.164

Lintern, M. J., & Anand, R. R. (2017). Dispersion of gold and other metals by trees, gravels and soils near Boddington Gold Deposit, Western Australia. *Journal of Geochemical Exploration*, *181*, 10–21. https://doi.org/10.1016/J.GEXPLO.2017.06.016

Litochleb, J. (2000). *Exkurze České geologické společnosti*. http://www.geology.cz/svet-geologie/vylety/pruvodce/Jilovsky_zlatonosny_revir.pdf

Litochleb, J., Cerny, P., & Sejkora, J. (2012). Ložiska a výskyty nerostných surovin na území brdských Hřebenů a v jejich okolí (střední Čechy). *Bull. Mineral.-Petrolog.* https://publikace.nm.cz/file/1cb9c0c9d958e480579c61b83941995f/17679/129Litochleb_Vol.no20_Issueno2.pdf

Litochleb, J., Sejkora, J., Palatý, T., & Šimon, M. (2007). *Těžba zlatonosných rozsypů v jižním okolí Prahy*. Archaia Brno, o.p.s, Muzeum Vysočiny, p.o.

Litochleb, J., Sejkora, J., Šrein, V., & Malec, J. (2009). Kašperskohorské zlato (Šumava, Česká republika) The Kašperské Hory gold (the Šumava Mts., Czech Republic). *Bull. Mineral.-Petrolog. Odd. Nár. Muz. (Praha)*, *17*.

Litochleb, J., Sejkora, J., Šrein, V., & Šreinová, B. (2011). Historie dolování, ložisková geologie a mineralogie některých lokalit v novoknínské zlatonosné oblasti (střední Čechy). *Mineralogicko-Petrologické Oddělení, Národní Muzeum*, 101–129.

https://publikace.nm.cz/file/ec0d8488897815ee46346dc182330d14/17041/101%20LitochlebSejkoraSreinSreinova%20Novokninsko.pdf

Majer, J. (1991). Po kovonosných stezkách dějin Československa. In *Hornická Příbram ve vědě a technice*.

Makowska, K., Martín, J., Rychlik, A., Aparicio, I., Santos, J. L., Alonso, E., & Gonkowski, S. (2022). Biomonitoring parabens in dogs using fur sample analysis – Preliminary studies. *Science of The Total Environment*, *807*, 150757. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.150757

Marcoccia, D., Tzanetou, E. N., & Pietropaoli, M. (2024). Biomonitoring of particulate matter and volatile organic compounds using honey bees and their products. A contemporary overview. *Science of The Total Environment*, *956*.

Markert, B., Breure, A. M., & Zechmeister, H. G. (2003). *Bioindicators and Biomonitors: Principles, Concepts and Applications*. https://www.researchgate.net/publication/313718613_Bioindicators_and_Biomonitors_Principles_Concepts_and_Applications

Mestek, Oto. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Online, skripta. Praha: VŠCHT Praha, 2010. Dostupné z: https://old.vscht.cz/anl/josef/LabAtom/Navod_ICP-MS_2010.pdf. [cit. 2025-04-19].

Moorchilot, V. S., Louis, H., Haridas, A., Praveena, P., Arya, S. B., Nair, A. S., Aravind, U. K., & Aravindakumar, C. T. (2025). Bisphenols in indoor dust: A comprehensive review of global distribution, exposure risks, transformation, and biomonitoring. *Chemosphere*, *370*, 143798. https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2024.143798

Morávek, P. (2009). Těžba zlata v historii českých zemí. *Uhlí Rudy, Geol.Průzkum*.

Morávek, P. (2013). *Surovinový potenciál zlata České republiky*. Uhlí, Rudy, Geologický Průzkum.

Morávek, P. (2016). *Význam těžby zlata ve středověké historii českých zemí*. https://doi.org/10.70391/7e0.3.b

Moreno, C. (2016). *Importance and Health of Honey Bee (Apis Mellifera): A Review*. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24378.49603

Mortensen, A., Schmehl, D., & Ellis, J. (2013, March). *Featured Creatures: European Honey Bee*. Entomology and Nematology Department, University of Florid.

Närhi, P., Middleton, M., & Sutinen, R. (2013). Biogeochemical gold signatures in common juniper and Norway spruce at Suurikuusikko shear zone, Finnish Lapland. *Journal of Geochemical Exploration*, *128*, 80–87. https://doi.org/10.1016/J.GEXPLO.2013.01.011

Nelms S. M. (2005). Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry Handbook. In *Blackwell Publishing Ltd.* (Nelms S. M.). Wiley. https://doi.org/10.1002/9781444305463.FMATTER

Oishi, Y. (2022). Moss biomonitoring using lead isotope ratios requires careful attention: Evaluation of transboundary pollutants in Japan. *Atmospheric Environment*, *275*, 119004. https://doi.org/10.1016/J.ATMOSENV.2022.119004

Paini, D. R. (2004). Impact of the introduced honey bee (Apis mellifera) (Hymenoptera: Apidae) on native bees: A review. In *Austral Ecology* (Vol. 29, Issue 4, pp. 399–407). https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2004.01376.x

Perugini, M., Manera, M., Grotta, L., Abete, M. C., Tarasco, R., & Amorena, M. (2011). Heavy metal (Hg, Cr, Cd, and Pb) contamination in urban areas and wildlife reserves: Honeybees as bioindicators. *Biological Trace Element Research*, *140*(2), 170–176. https://doi.org/10.1007/s12011-010-8688-z

Reddi, G. S., Ganesh, S., Rao, C. R. M., & Ramanan, V. (1992). Determination of gold in geological materials by atomic absorption spectrometry after bromine and hydrochloric acid extraction at room temperature. *Analytica Chimica Acta*, *260*(1), 131–134. https://doi.org/10.1016/0003-2670(92)80136-U

Reith, F., Lengke, M. F., Falconer, D., Craw, D., & Southam, G. (2007). The geomicrobiology of gold. *The ISME Journal*, *1*(7), 567–584. https://doi.org/10.1038/ISMEJ.2007.75

EKOLIST. (2020, February). *Říční niva řeky Litavky: nechtěné toxické dědictví - Ekolist.cz*. https://ekolist.cz/cz/publicistika/priroda/ricni-niva-reky-litavky-nechtene-toxicke-dedictvi

Ruschioni, S., Riolo, P., Minuz, R. L., Stefano, M., Cannella, M., Porrini, C., & Isidoro, N. (2013). Biomonitoring with honeybees of heavy metals and pesticides in nature reserves of the Marche region (Italy). *Biological Trace Element Research*, *154*(2), 226–233. https://doi.org/10.1007/s12011-013-9732-6

Sanyal, S. K., Shuster, J., & Reith, F. (2019). Cycling of biogenic elements drives biogeochemical gold cycling. *Earth-Science Reviews*, *190*, 131–147. https://doi.org/10.1016/J.EARSCIREV.2018.12.010

Shuster, J., & Reith, F. (2018). Reflecting on Gold Geomicrobiology Research: Thoughts and Considerations for Future Endeavors. *Minerals 2018, Vol. 8, Page 401*, *8*(9), 401. https://doi.org/10.3390/MIN8090401

Šídová, T. (2017). *Prvková analýza vzorků se složitou matricí metodou ICP-oa-TOF-MS - PDF Free Download* [Disertační práce, Univerzita Pardubice]. https://docplayer.cz/68928106-Prvkova-analyza-vzorku-se-slotitou-matrici-metodou-icp-oa-tof-ms.html

Silici, S., Uluozlu, O. D., & Soylak, M. (2013). Honeybees and honey as monitors for heavy metal contamination near thermal power plants in Mugla, Turkey. *Toxicology and Industrial Health*, *32*(3).

Smith, K. E., & Weis, D. (2022). Metal and Pb isotope characterization of particulates encountered by foraging honeybees in Metro Vancouver. *Science of The Total Environment*, *826*, 154181. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2022.154181

Smola, Adam. *Zlato v mladší době železné v Čechách*. Bakalářská práce, vedoucí Salač, Vladimír. Univerzita Karlova, Filozofická fakulta, Ústav pro archeologii, 2012.

Smola, A. (2017). *Vybrané regiony laténského osídlení v Čechách a jejich možný vztah ke zdrojům zlata* [Univerzita Karlova]. https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/93237/120276550.pdf

Stejskal, D. (2022). *Bakalářská práce: Zlato v Jeseníkách a jeho využití*. https://dspace.vsb.cz/bitstream/handle/10084/148515/STE0479_HGF_B2102_2102R001_2022.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Stenson, J. (2006). Disaster management as a tool for sustainable development: a case study of cyanide leaching in the gold mining industry. *Journal of Cleaner Production*, *14*(3–4), 230–233. https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2005.03.003

Strnad, L., Golias, V., Mihaljevic, M., & Pudilova, M. (2012). *The Variscan Kašperské Hory orogenic gold deposit, Bohemian Massif, Czech Republic*. Ore Geology Reviews. https://pdf.sciencedirectassets.com/271770/1-s2.0-S0169136812X00064/1-s2.0-S0169136812001680/main.pdf?X-Amz-Security-Token=IQoJb3JpZ2luX2VjEP7%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FwEaCXVzLWVhc3QtMSJHMEUCICvR84dJdTAzqyZx1%2Fy5C3G6Eijr3WoeTVl2k%2F8Q9hMLAiEA3ziXTPnUMw%2FgbDktsBRLsHoILzDxSq5%2B4FuCJelRLRIqvAUIt%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2F%2FARAFGgwwNTkwMDM1NDY4NjUiDNn8b9SngQQYVw7VfSqQBXwH3tsV9QnrIDsHqCREwSAz2kYgqwalDrDmTjtbr2bsxjZ

Y10pcYMWROMOzvPWHCTJ2tlLGHXcMtiBrGNR67WiYE37nnnsxt9hUtIB5Gr24tc5Fyv6v34TaZkE

Strnad, L., Šebek, O., Fayadová, M., & Vrba, J. (2016). Determination of Gold in e-Waste Dust Samples and Geological Matrices by ICP-MS after Extraction by an HClO4-HBr-HI-Aqua Regia Mixture. *Geostandards and Geoanalytical Research*, *40*(2), 257–266. https://doi.org/10.1111/J.1751-908X.2015.00368.X

STRNAD; ŠEBEK a MIHALJEVIČ. MODERNÍ ANALYTICKÉ METODY V GEOLOGII - APLIKACE HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM V GEOVĚDÁCH. Online, skripta. Praha: VŠCHT Praha, 2008. Dostupné z: https://old.vscht.cz/anl/paci/PAC/prezentace/Moderni%20analyticke%20metody%20v%20geologii.pdf. [cit. 2025-04-19].

Šupal, P. (2013). *Právnická fakulta Masarykovy univerzity Obor Právo Katedra práva životního prostředí a pozemkového práva Diplomová práce Těžba zlata*.

Szkanderová, V. (2018). *Vývoj postupu pro stanovení vybraných kovů v klinických vzorcích pomocí ICP-MS* [DIPLOMOVÁ PRÁCE]. Univerzita Palackého v Olomouci.

Tang, X., Li, B., Lu, J., Liu, H., & Zhao, Y. (2020). Gold determination in soil by ICP-MS: comparison of sample pretreatment methods. *Journal of Analytical Science and Technology*, *11*(1). https://doi.org/10.1186/S40543-020-00245-3

Tao, D., Guo, W., Xie, W., Jin, L., Guo, Q., & Hu, S. (2017). Rapid and accurate determination of gold in geological materials by an improved ICP-MS method. *Microchemical Journal*, *135*, 221–225. https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2017.09.014

Thomas, R. (2003). Practical Guide to ICP-MS : A Tutorial for Beginners. *Practical Guide to ICP-MS*. https://doi.org/10.1201/9780203027073

Thomas, R. (2022, October). A Beginner's Guide to ICP-MS Part XII — A Review of Interferences. *Spectroscopy*, 24–31. https://www.chemistry.uoc.gr/eclass/modules/document/file.php/CHEM-POST104/Supporting%20Course%20Files/ICPMS%20Part%20XII%20Interferences.pdf

Váňa, J. (2017, June 19). *Historie těžby a zpracování zlata v Jílovém u Prahy*. https://www.stavebni-technika.cz/clanky/historie-tezby-a-zpracovani-zlata-v-jilovem-u-prahy

Vasconcelos, P., & Richard Kyle, J. (1991). Supergene geochemistry and crystal morphology of gold in a semiarid weathering environment: application to gold exploration. *Journal of*

Geochemical Exploration, *40*(1–3), 115–132. https://doi.org/10.1016/0375-6742(91)90034-R

Yamini, Y., & Ghambarian, M. (2012). Environmental applications of cloud-point extraction. *Comprehensive Sampling and Sample Preparation: Analytical Techniques for Scientists*, 657–680. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00108-3

Yim, S. A., Choi, M. S., & Chae, J. S. (2012). Direct determination of gold in rock samples using collision cell quadrupole ICP-MS. *Volume 23, Issue 1, Pages 171 - 178*, *23*(1), 171–178. https://doi.org/10.1007/s13361-011-0270-1

Zarić, N. M., Deljanin, I., Ilijević, K., Stanisavljević, L., Ristić, M., & Gržetić, I. (2018). Honeybees as sentinels of lead pollution: Spatio-temporal variations and source appointment using stable isotopes and Kohonen self-organizing map. *Science of the Total Environment*, *642*.

Zarić, N. M., Ilijević. K., Stanisavljević, L., & Gržetić, I. (2017). Use of honeybees (Apis mellifera L.) as bioindicators for assessment and source appointment of metal pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*, 25828–25838.

Zimák, Jiří. LOŽISKA NEROSTNÝCH SUROVIN. Online, skripta. Praha: Katedra geologie PřF UP Olomouc, 2005. Dostupné z: https://www.geology.upol.cz/upload/studijni_materialy/plne_texty_skript/2005_Zimak_Jiri_Loziska_nerostnych_surovin1.pdf. [cit. 2025-04-19].

Žůrek, M. (2015). *VYUŽITÍ ROSTLIN V PŘÍPRAVĚ NANOČÁSTIC* [Diplomová práce]. MASARYKOVA UNIVERZITA PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA.