

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



Vliv sloučenin obsahujících síru na mobilitu rtuti a aktivitu mikroorganismů v půdě

Diplomová práce

Autor práce: Mgr. Andrea Burešová

Vedoucí práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.

2016

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Vliv sloučenin obsahujících síru na mobilitu rtuti a aktivitu mikroorganismů v půdě, vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v přiložené bibliografii.

V Praze dne:

Poděkování

Ráda bych především poděkovala vedoucí této práce paní profesorce Jiřině Szákové za trpělivost, podnětné připomínky a pomoc během vypracování této práce, ale i během studia. Velké díky patří všem kolegům, kteří se na analýzách této práce podíleli a díky nimž mohla být tato práce publikována v mezinárodním vědeckém časopise.

Souhrn

Rtuť jako těžký kov je známa především pro své negativní působení na lidské zdraví, tedy především pro svou teratogenitu a karcinogenitu. Kontaminace půdy rtutí je v dnešní době velký problém v celém světě. Řešením jsou půdní remediaci, které by tento kontaminant z půdy odstranily, či jinak eliminovaly jeho přístup do živých organismů. V tomto kontextu se uplatňují nejrůznější postupy, přičemž v poslední době se jako jeden z účinných postupů jeví využití siriých sloučenin, které se rtutí tvoří nerozpustné komplexy. Právě cílem této práce bylo zjistit efekt těchto látek během remediaci půdy kontaminované rtutí.

V tomto experimentu jsme zvolili dvě půdy lišícími se svými vlastnostmi, luvizem a černozem. Půdu jsme dali do nádob a aplikovali jsme do ní určité množství rtuti a zvlášt přidali tyto sirié látky 1) síran amonný 2) L-cystein 3) anaerobní digestát (bioodpad z bioplynové stanice) a 4) kontrolní půda bez přídavku jakékoliv látky. Celkem 21 dní jsme nechali půdu inkubovat ve tmě a vždy po 1, 7, 14 a 21 dnech jsme odebírali vzorky na jednotlivé analýzy. Ze vzorků bylo měřeno množství mobilních mikroživin, makroživin, rtuti a jejich sloučenin, pH, množství mikrobiální biomasy a dehydrogenázová aktivita.

Výsledky prokázaly významný rozdíl v chování rtuti v kontaminované půdě po přidání anaerobního digestátu. Jeho hlavní efekt v půdě je následující: 1) výrazné zlepšení půdních vlastností zvýšením množství živin v půdě a podporou nárůstu a aktivity mikrobiálního půdního společenstva a 2) proporční zvýšení množství metylrtuti v půdě a zároveň snížení množství volatilní rtuti emitované do ovzduší. Tento výsledek prokazuje, že anaerobní digestát může být efektivní látkou využívanou během bioremediace rtuti, čímž se zároveň podpoří koncept znovuvyžití odpadů a eliminuje se množství odpadů ukládaných na skládku. Nicméně je třeba dalších výzkumů, které by především prokázaly dlouhodobější efekt anaerobního digestátu v kontaminované půdě rtutí.

Klíčová slova: rtuť, síra, půda, mobilita, půdní mikroorganismy

Summary

Mercury as a heavy metal is known for its negative effect on human health, concretely for its teratogeny and carcinogeny. Soil contamination with a mercury is a big problem in all the world. Solution of this problem could be soil remediation, that helps to remove the contaminant from the soil or eliminates incoming of the contaminant by organisms. In this context are used various mechanisms, while as a effective is known using sulfur compounds, that make complexes with a mercury. The objective of this thesis is to determine the effect of these sulfur compounds in remediation of soil contaminated with a mercury.

For this experiment we used two soils with various properties, Luvisol and Chernozem. Soil was put to containers and mercury and these sulfur compounds 1) ammonium sulphate 2) L-cysteine 3) digestate (biowaste from biogas station) and 4) control soil without any addition of sulphur compound were added. The soil samples were incubated for 21 days, while after 1, 7, 14 and 21 days we collected samples for further analysis. From these samples, mobile pool of micronutrients, macronutrients, mercury species, microbial biomass carbon and dehydrogenase activity were measured.

Our results show difference in soil behaviour in soil where digestate was applied. The main effect of digestate was: 1) improvement of soil properties with addition of nutrients and improvement of soil microbial community biomass and activity and 2) increased of methylmercury in soil and decreased of volatile mercury emitted to atmosphere. As a conclusion, digestate seems to be an appropriate compound used in soil remediations of soil contaminated with mercury. This could support a waste reuse concept and eliminate an amount of wastes on a dumps. However, further research is need to determine long term effect of digestate in contaminated soils with mercury.

Key words: mercury, sulfur, soil, mobility, soil microorganisms

Obsah

1	Úvod	1
2	Cíle práce	2
3	Literární přehled	3
3.1	Kontaminace půdy těžkými kovy	3
3.2	Vliv půdních vlastností na mobilitu těžkých kovů v půdě	4
3.2.1	Fyzikálně-chemické vlastnosti	4
3.2.2	Půdní organická hmota	5
3.2.3	Půdní typy	6
3.3	Kontaminace půdy rtutí	7
3.3.1	Množství a zdroje rtuti v půdě	7
3.3.2	Formy rtuti a rizika pro živé organismy	9
3.3.3	Mobilita a transformace rtuti v půdě	10
3.4	Remediace půdy kontaminované rtutí	12
3.4.1	Mikrobiální bioremediace	13
3.4.2	Mikrobiální aktivita	15
3.5	Využití sloučenin obsahujících síru během remediací	16
3.5.1	Využití anaerobního digestátu	17
4	Materiál a metody	19
4.1	Půdy a melioranty	19
4.2	Schema inkubačního experimentu	20
4.3	Analytické metody	21
4.3.1	Biodostupné obsahy prvků	21
4.3.2	Speciace rtuti	21
4.3.3	Plynná elementární rtuť (Hg ⁰)	22
4.3.4	Půdní biologické parametry	22
5	Výsledky	24
5.1	Rtuť a mikroživiny	24
5.2	Makroživiny	28
5.3	Metylrtuť	31
5.4	Plynná elementární rtuť	33
5.5	Půdní pH	35

5.6	Mikrobiální biomasa	37
5.7	Dehydrogenázová aktivita	39
6	Diskuze	41
7	Závěr	46
8	Seznam literatury.....	47

1 Úvod

Půdy kontaminované těžkými kovy se stávají v dnešní době narůstajícím problémem v Evropě i jinde ve světě. Rtuť, jako jeden z pro zdraví nejzávažnějších těžkých kovů, je obsažena v různých odpadech a dalších materiálech, se kterými se v běžném životě setkáváme. Jmenovat můžeme především elektrospotřebiče, zářivky, dentální amalgámy a slitiny. Především prostřednictvím skládek odpadů se rtuť z antropogenní činnosti může dostávat do životního prostředí. Určité množství rtuti, deponované do půdního prostředí, se tak může snadno dostávat do těl primárních producentů, rostlin, a skrz ně dále do potravního řetězce. Její schopnost bioakumulace a biomagnifikace pak způsobuje nejrůznější zdravotní problémy především organismům na vrcholu potravního řetězce, tedy i člověku. Nejvyšší zdravotní riziko s sebou nese organická forma rtuti. Mezi anorganickou formu rtuti patří především dvojmocná rtuť a elementární rtuť.

Jednotlivé formy rtuti mohou být v půdě různě mobilní v závislosti na biotických a abiotických půdních podmínkách. Významným prediktorem mobility rtuti v půdě je například půdní pH a obsah půdní organické hmoty. Co se biotických faktorů týče, významné je složení půdního mikrobiálního společenstva, jeho biomasa a především jeho aktivita. Mobilita rtuti a tedy i tzv. biodostupnost pak určuje míru, s jakou přechází rtuť do živých systémů. Pokud je rtuť mobilní v půdním roztoku ve formě iontů, je více přístupná kořenům rostlin. Volatilní forma rtuti může být přijímána listy rostlin a u vyšších živočichů se do těla dostává dýcháním.

Možností odstranění rtuti z půdy či eliminace negativních dopadů rtuti na živé organismy, jsou tak zvané remediace. Existuje mnoho remediačních postupů, kterými lze rtuť zcela či částečně z půdy odstranit, přičemž právě bioremediace se ukázaly jako nejlevnější a nejnadanější řešení. S pomocí mikroorganismů lze některé kontaminanty odstranit, co se týče rtuti, tu mohou mikroorganismy akorát přeměnit na formu nedostupnou pro rostliny. Je známo, že některé látky podporují remediaci rtuti. Tyto látky mohou například podporovat mikrobiální aktivitu, tvořit se rtutí nerozpustné ligandy, případně sloužit jako částice, na které se rtuť pevně pojí. Snížením rozpustnosti těžkého kovu v půdě, se zabrání příjmu rtuti rostlinou, zvýšením rozpustnosti nastane efekt opačný. Prokazatelně efektivní v tomto smyslu se ukázaly například organické látky a látky obsahující síru, které se staly předmětem našeho zkoumání právě v této práci.

2 Cíle práce

Cílem této práce je zjistit, jakou funkci mají různé sirné sloučeniny na bioremediaci rtuti a aktivitu půdního společenstva během inkubačního experimentu. Velký důraz je kladen především na to, zdali bude mít prokazatelně vyšší efekt na remediaci rtuti digestát oproti ostatním použitým látkám. Jeho vyšší efektivita během remediace by mohla dát podnět pro jeho praktické využití v tomto směru, čímž by se podpořil koncept znovu využití odpadů a došlo by tak na příklad k eliminaci množství odpadů ukládaných na skládky.

V našem experimentu bylo využito látek obsahujících síru. Cíleně jsme zvolili sloučeniny anorganické i organické, abychom zjistili, jaký efekt budou mít na dvou různých půdách na remediaci rtuti a půdní mikrobiální společenstvo. Jako anorganickou látku jsme zvolili síran amonný, používaný jako půdní hnojivo a jako látky organické L-cystein a digestát. Právě digestát jsme zvolili na základě předchozích studií, které prokázaly jeho pozitivní efekt na aktivitu mikrobiálního společenstva a snížení mobility rtuti. Digestát je zdrojem nejen síry, ale i dalších živin, které podporují půdní úrodnost. Jelikož se jedná o odpad s anaerobní digesce, jeho použitím během bioremediace podporujeme znovu využití odpadu a jeho eliminaci. Pro pokus byly zvoleny dva půdní typy lišící se svými vlastnostmi, černozem a luvizem. Studováno bude množství mobilní rtuti, mikro a makroživin, množství volatilní rtuti a metylrtuti v půdách během inkubace. Pro určení vlivu na půdní mikrobiální společenstvo, stanovíme změny v množství půdní mikrobiální biomasy a její enzymovou aktivitu. Naše výsledky by měli poskytnout potvrzení či vyvrácení hypotézy, že efekt digestátu je v porovnání s dalšími sloučeninami efektivnější, během remediace půdy kontaminované rtutí.

3 Literární přehled

3.1 Kontaminace půdy těžkými kovy

Těžké kovy jsou kovy, jejichž atomová hustota je vyšší než 6 g/cm^3 s výjimkou arsenu, boru a selenu. Tato skupina prvků zahrnuje jak biologicky esenciální tak neesenciální prvky. Do esenciálních prvků řadíme například kobalt, měď, mangan a zinek a do neesenciálních kadmium, olovo a rtuť (Park et al. 2011).

V případě prvků, které nejsou pro člověka esenciální, můžeme zaznamenat v organismu člověka jejich negativní působení. Ale i prvky esenciální, pokud jsou přijímány v nadlimitním množství, mohou působit negativně na zdraví člověka. Způsobují chronické i akutní zdravotní potíže a vedou tak k imunitním, kardiovaskulárním, nervovým, reprodukčním, respiračním a dalším poruchám (Adriano et al. 2004). Významným zdrojem těžkých kovů mohou být například elektroodpady. Zařízení jako jsou počítače, ledničky, monitory a pračky, obsahují kromě výše zmíněných těžkých kovů také nikl, chrom, mangan, nikl, měď, hliník a kobalt. Do prostředí se pak dostávají nejčastěji během jejich recyklace nebo likvidace a do organismu pronikají různým způsobem, inhalací, ingestí ale i dermální cestou (Zeng et al. 2016). Tyto prvky se mohou do organismu dostávat z různých materiálů například z prachu, vzduchu, vody nebo z jídla. Co se týče jídla, pro kadmium je známá expozice z hlávkového zelí či kapusty, pro rtuť zase z mořských plodů, například z ryb a arsen se do těla může dostávat prostřednictvím pitné vody (Adriano et al. 2004). Významnou roli v kontaminaci potravin těžkými kovy hraje i půda, neboť některé rostliny a plodiny mohou těžké kovy z půdy přijímat, transformovat je, bioakumulovat a představovat tak ohrožení pro další jedince následujícími za nimi v potravním řetězci (Peralta-Videa et al. 2009).

V půdě kontaminované těžkými kovy je jejich největší dynamika v horní vrstvě půdy, neboť právě zde je největší kvantita a diverzita mikroorganismů, vyšší množství organické hmoty, vyšší kationtová výměnná kapacita a tudíž i vyšší sekvestrační kapacita (Adriano et al. 2004). Vysoké kontaminace těžkými kovy jsou patrné například ve městech, kde je jedním z hlavních zdrojů těžkých kovů doprava. Těžké kovy v půdě setrvávají delší dobu a mohou také přecházet do dalších složek životního prostředí například vyplavováním či zvětráváním půdy (Gu et al. 2016).

Právě těžké kovy představují pro Evropskou Unii nejčastější formu znečištění půd společně s minerálními oleji, které postihují 35 % (pro těžké kovy) a 25% (pro minerální oleje) rozlohy Evropské půdy (Agnello et al. 2015). Například Tóth et al. (2016) prezentovali, že v rámci Evropské Unie, je půda kontaminovaná nad prahovou hodnotu těžkými kovy nejvíce v západní části Evropské Unie a ve střecomořské oblasti. Naopak je tomu na severovýchodě a středo východě Evropské Unie, kde je půda těžkými kovy kontaminovaná nejméně. Nejvíce jsou těžkými kovy postiženy v Evropské Unii zemědělské půdy a také půdy lesní.

3.2 Vliv půdních vlastností na mobilitu těžkých kovů v půdě

3.2.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Kvalitu půdy určují její chemické, fyzikální a biologické vlastnosti. Fyzikální vlastnosti jsou dané velikostí, tvarem a uspořádáním půdních částic, ale také velikostí a tvarem prostoru mezi nimi, který se nazývá půdní póry. Ty mají vliv na proudění půdního vzduchu a půdního roztoku, který dodává rostlinám a půdním organismům živiny a vodu (Chandrasekaran et Ravisankar, 2015).

Mezi fyzikálně chemické půdní vlastnosti řadíme půdní texturu, elektrokonduktivitu, půdní pH a další. Právě tyto půdní vlastnosti ovlivňují dostupnost kovů různými cestami. Je známo, že jedním z nejdůležitějších faktorů, které přímo i nepřímo ovlivňují chování chemických prvků v půdě, je půdní pH (Tsadilas et Rinklebe 2013, Chandrasekaran et Ravisankar 2015). Nejčastěji je uváděno, že s nižší hodnotou půdního pH se zvyšuje množství mobilních a tedy dostupných těžkých kovů obsažených v půdě (Singh et Agrawal 2010). Přestože je obecně známo, že uvolňování těžkých kovů do půdního roztoku se zvyšuje s nižším pH, rtuť může vytvářet rozpustné sloučeniny i v silně alkalickém prostředí. Rozpouštění rtuti tak může nastat při pH 3, ale nejčastěji bylo pozorováno i při pH 5 a 11. Zvýšení rozpustnosti rtuti také nastává více v redukčních než oxidačních podmínkách (Xu et al. 2015). Podle Bravo et al. (2015) bylo zjištěno, že půdní pH ovlivňuje příjem prvků z půdy do rostlinných pletiv, v tomto případě konkrétně do vinné révy. Jednalo se o prvky s jedním či více oxidačními stavy v půdě, o železo, mangan, měď a olovo. Dostupnost některých prvků byla ovlivněna spíše jejich iontovým potenciálem. Například železo a hliník byly v půdě o pH kolem 7-8 přítomny zejména

ve formě hydroxidů, které se absorbují na půdní matrici a jsou tak méně dostupné pro rostlinu. Liu et al. (2016) studovali vliv půdních vlastností na akumulaci těžkých kovů v půdě v okolí Pekingu. V tomto případě bylo zjištěno, že hlavním faktorem určujícím akumulaci prvků, byla půdní organická hmota, až poté následovaná kationtovou výměnnou kapacitou. Svůj vliv ale měly i antropogenní faktory, jako růst populace dané oblasti. Janoš et al. (2010) sledovali efekt různých organických a anorganických látek přidávaných do půdy na mobilitu stanovených těžkých kovů. Přidávány byly dva typy mladého hnědého uhlí s vysokým obsahem huminových kyselin (lignit a oxyhumolit), dva typy komerčně dodávaných derivátů huminových kyselin (draselný a železitý humát) a dva anorganické materiály (popílek a přírodní zeolit). Extrakcí byla zjištěna vyluhovatelnost jednotlivých těžkých kovů, přičemž mobilitu v půdě nejmobilnějšího z nich, kadmia snižovaly především organické látky přidávané do půdy (draselný humát). Mobilitu mědi snižovaly naopak látky anorganické. Celkově byl efekt na snížení mobility různý u různých těžkých kovů.

3.2.2 Půdní organická hmota

Vedle hodnoty půdní reakce je množství organické hmoty označováno za nejvýznamnější faktor ovlivňující biodostupnost těžkých kovů v půdě. Její množství hraje významnou roli pro speciaci rtuti i ve vodním prostředí. Chakraborty et al. (2014) zaznamenali, že většina rtuti přítomné ve vodním sedimentu (55-90 %) byla asociována právě s organickou hmotou. K podobnému závěru, tedy že rtuť je silně vázána na rozpuštěnou organickou hmotu, také došli Kim et Luthy (2011). Organická hmota funguje jako sorbent těžkých kovů v závislosti na tom, jaké reaktivní ligandy obsahuje. Přítomnost a množství S-, N-, O- vazebných míst udává specifické spojení mezi ligandem a kovem (Hesterberg et al. 2001). Nejstabilnější složkou organické hmoty bývají huminové kyseliny, jejichž funkční skupiny interagují v půdě se rtutí. Těmito funkčními skupinami rozumíme především OH, COOH a SH skupiny (Xu et al. 2015). Organická hmota tedy může být příčinou nižší mobility rtuti v půdě a její nižší biodostupností, nicméně rozpuštěná organická hmota může způsobit přesně opačný efekt, jak publikovali například Zagury et al. (2006). V jiné studii je zmíněno, že organická hmota je schopna fungovat jako prostředek pro zachování těžkých kovů v půdě ve výměnné formě. Navíc dodává do půdního roztoku organické sloučeniny, čímž vzniká roztok fungující jako chelatační činidlo,

díky kterému se zvyšuje dostupnost těžkých kovů pro rostliny (Zeng et al. 2011). To potvrzují i výsledky zaznamenané ve studii, zabývající se množstvím organické hmoty ovlivňující chování těžkých kovů v půdě (Antoniadis et al. 2008).

Studie probíhající v Alpách vyhodnotila, že na severních svazích studovaných oblastí bylo akumulováno větší množství labilní organické hmoty vzhledem k nižším teplotám během roku a tudíž i nižší rozkladné činnosti půdních mikroorganismů. Na tomto místě byla zaznamenána vyšší afinita mědi a olova k tomuto typu organické hmoty v porovnání s dalšími sledovanými těžkými kovy. Afinita ostatních studovaných prvků byla naopak vyšší vůči stabilní organické hmotě. Tento výsledek poukazuje na to, že by se zvýšením průměrné teploty způsobené globálním oteplováním mohla změnit dostupnost některých těžkých kovů v Alpách a jim podobných oblastech (Egli et al. 2010). Chování rtuti v půdě silně ovlivňuje rozpuštěná i nerozpuštěná organická hmota, a to prostřednictvím změn její speciace a biodostupnosti v půdě. S pomocí organických kyselin se dá upravit půdní pH, které může zvýšit efektivitu odstranění rtuti její volatilizací, jak zjistili Ma et al. (2015). V tomto případě se zefektivnil účinek volatilizace rtuti z půdy přidáním kyseliny octové, čímž se snížila teplota nutná k volatilizaci a byla tak ušetřena energie vložená do tohoto procesu. Dvojmocná rtuť se dokáže silně vázat na huminové látky, čímž se stabilizuje. Ve vodě dokáží huminové látky dvojmocnou rtuť redukovat na elementární. Organická hmota ale také funguje jako zdroj energie pro mikroorganismy a podporou jejich činností v půdě může docházet ke zvýšení biometylace rtuti. Naopak ale mohou s rozpuštěnou organickou hmotou a anorganickou rtutí vznikat komplexy, které snižují množství dostupné rtuti vhodné k biometylaci pro mikroorganismy. Mezi často používané látky pro biostimulaci půdních mikroorganismů patří také odpady ze zemědělství a průmyslu (Park et al., 2011, Wang et al. 2014).

3.2.3 Půdní typy

Tak jako jsou odlišné půdy různě náchylné například k erozi či acidifikaci, stejně tak mohou být odlišně půdy náchylné i ke kontaminaci jednotlivými těžkými kovy. Průzkum na toto téma probíhal téměř před dvaceti lety ve střední a východní Evropě (Gzyl 1999). Bylo zjištěno, že například černozemě, zamokřené, písčité a jílovité půdy jsou nejnáchylnější

k znečištění těžkými kovy. Naopak hlinité nekyselé půdy jsou ke znečištění náchylné velmi málo.

Yang et al., (2014) zjistili, že vyšší biodostupnost těžkých kovů jako např. kadmium, olovo, zinek a měď pro rostliny byla zaznamenána u antropozemě v porovnání s kambizemí. K vyšší biodostupnosti však může z velké části přispívat snížené pH zaznamenané právě u antropozemě. Během výzkumu vlivu mědi na černoze v Rusku, bylo zjištěno, že hlavní vliv na adsorbci mědi měla velikost půdních částic. Nejvyšší adsorpce se projevila u jílovohlinité jižní černoze, za nimi následovaly hlinité jižní černoze a nejméně byla měď adsorbovaná u hlinitopísčitéch jižních černoze (Bauer et al. 2015). V jiné studii byla studována transformace a adsorbci zinku v černozi. Bylo zjištěno, že na transformaci a adsorbci má vliv především forma tohoto prvku (Minkina et al. 2014). Podobně byly studovány koncentrace těžkých kovů v zemědělských půdách, na kterých byla pěstována rýže, řepka a pšenice v závislosti na půdním typu. Bylo potvrzeno, že se různé těžké kovy mezi jednotlivými zemědělskými půdami chovají rozdílně. Změny v koncentracích prvků v závislosti na půdním typu byly zaznamenány u olova, zinku a kadmia. Naopak žádné rozdíly v koncentracích mezi třemi různými zemědělskými půdami nevykázala měď ani rtuť (Chen et al. 2016).

3.3 Kontaminace půdy rtuť

3.3.1 Množství a zdroje rtuti v půdě

Rtuť je prvkem, jehož nebezpečné vlastnosti jsou dány především jeho fyzikálně chemickými charakteristikami, určujícími její toxicitu, mobilitu a dobu setrvání v životním prostředí. Její koncentrace v půdě se obvykle pohybuje od 0,01 do 0,50 mg/kg (Qiu et al. 2006), uvádí se ale i rozmezí od 0,03 do 0,1 mg/kg (Wang et al. 2012). Do půdy se může dostávat jak přírodní cestou, tak antropogenní činností případně se do půdy opět emituje rtuť, která v ní již dříve byla obsažená. Do půdy se tedy může dostávat například díky zvětrávání hornin, geotermální aktivitou, ale také třeba pálením uhlí, dolování zlata a nebo z odpadů (Wang et al. 2012). V Polsku bylo měřeno množství rtuti deponované do půdy z atmosféry a bylo zjištěno, že největší množství a nejvyšší variabilita rtuti se nachází v městské lokalitě. V rámci této lokality největší množství a nejvyšší variabilita rtuti se nachází na území, které bylo

vystaveno největším srážkovým úhrnům během roku. Do ovzduší se rtuť dostávala s největší pravděpodobností jako důsledek intenzivního spalování fosilních paliv v kotlích v domácnostech a podnicích (Siudek et al. 2016).

Rtuť má široké využití v mnoha odvětvích průmyslu. Velké množství rtuti se tedy může dostávat do tuhých komunálních odpadů prostřednictvím výrobku, který rtuť obsahuje. Příkladem mohou být baterie, elektrické a elektronické přístroje a jejich součásti, metry na krevní tlak, teploměry a další výrobky (Wang et al. 2012). V roce 2013 bylo 5% z celkového množství antropogenní rtuti dostávající se do ovzduší původem právě z odpadů (Xu et al. 2015). Tyto odpady lze, podle LDR (Land Disposal Restrictions), rozdělit dle jejího množství na odpady s nízkým množstvím rtuti, odpady s vysokým množstvím rtuti a odpady obsahující rtuť elementární. Odpady s nízkým množstvím rtuti jsou ty, obsahující do 260 mg/kg celkové rtuti, přičemž odpady s vysokým množstvím rtuti obsahují více než 260 mg/kg celkové rtuti (Piao et Bishop 2006). Je pravdou, že v dnešní době se dají baterie a vysloužilá elektrozařízení snadno třídít, ale stát se může i to, že do popelnic na směsný komunální odpad se tyto předměty dostanou a poté končí na skládce. Zde může být koncentrace rtuti naměřena v rozmezí 0,17 až 46,2 mg/kg (Kim et Kim 2002). Rtuť se může ze skládky dále dostávat do ovzduší v takovém množství, které je závislé například na rozloze skládky a na meteorologických podmínkách dané oblasti. Száková et al. (2015) sledovali obsahy rizikových prvků v půdě a vegetaci na bývalé skládce nebezpečného odpadu, kde byla provedena remediace překrytím silnou vrstvou půdy. Bylo zjištěno, že rtuť je prvkem, který snadno proniká do vyšších vrstev půdy a může se kumulovat ve vegetaci, která bývalou skládku pokrývá.

Koncentrace rtuti v ovzduší podle Kim et Kim (2002) dosahovala v ovzduší v prvních letech 21. století koncentrace kolem 3,45–2952 ng/m³. O několik let později zjišťovali ve své studii Tang et al. (2015) koncentraci rtuti ve vzduchu, v půdě a v plodinách v blízkosti třídního elektroodpadu. Bylo zjištěno, že je zde koncentrace rtuti značně zvýšená. Může tak docházet k ohrožení lidské populace, která konzumuje potraviny obsahující zvýšené množství rtuti kvůli této třídní odpadů. Nejvíce ohrožení jsou však pracovníci této třídní, kteří jsou rtuti přímo exponováni. U nich bylo ve vlasových kořínkách naměřeno vyšší množství rtuti v porovnání s obyvateli přilehlého města.

3.3.2 Formy rtuti a rizika pro živé organismy

Vlastnosti, tedy i škodlivý účinek těžkých kovů, udává především jejich forma. Těžké kovy v půdě lze rozdělit dle jejich rozpustnosti v půdě do čtyř skupin jako I. rozpustnou formu v půdním roztoku II. výměnnou formu, tedy organickou a anorganickou složku III. strukturální složku půdy a IV. nerozpustnou složku vysráženou na půdní částice (Zeng et al. 2011). Co se týče rtuti, nejčastěji se v přírodě nacházejí v těchto anorganických a organických formách: dvojmocná rtuť, elementární (kovová) rtuť, monometylrtuť a dimetylrtuť. Elementární rtuť je jen málo rozpustná ve vodě, ale v atmosféře se může šířit na velké vzdálenosti. Jedno a dvojmocná rtuť je ve vodě lépe rozpustná, přičemž dvojmocná rtuť je v půdním prostředí běžnější, je schopná se srážet s anorganickými ligandy a sorbovat se na půdní matrici (Park et al. 2015).

Elementární a anorganická forma rtuti nejvíce poškozuje imunitní systém a ledviny, zatímco metylrtuť ohrožuje nejvíce kardiovaskulární a nervový systém a je označována jako jedna z nejtoxičtějších forem rtuti. Její toxicita může jedince ovlivnit již v prenatální fázi. Praktickým případem může být veřejně známá událost Minamata (Grandjean 2007), tedy katastrofální dopad havárie chemického podniku v Japonsku na populaci žijící v dané oblasti. Právě metylrtuť je pro člověka velmi problematická, neboť se dokáže bioakumulovat v živých organismech a v potravním řetězci se směrem ke konzumentům velmi rychle zvyšuje její koncentrace směrem k vrcholu potravní pyramidy. Je tedy pro jedince na vyšší trofické úrovni toxičtější v porovnání s jedincem na nižší trofické úrovni.

Rtuť ovlivňuje negativně i rostliny, konkrétně například jejich růst, fotosyntézu a zvyšuje míru antioxidantní odezvy organismu prostřednictvím vyšší aktivity enzymů jako jsou superoxid dismutázy a peroxidázy. Fernandez-Martinez et al. (2015) zjistili, že se elementární rtuť nachází v půdách v blízkosti dolů, kam se dostala prostřednictvím atmosférické depozice. Ovšem nízké obsahy byly zaznamenány naopak v kořenech rostlin, což znamená, že rtuť z půdy nebyla pro rostliny dostupná. Na druhou stranu bylo velké množství této formy rtuti naměřeno na listech rostlin, což opět svědčí pro schopnost přijímat ji z atmosféry. Co se týče metylrtuti, u té nebyly zaznamenány žádné koncentrace v půdě ani v kořenech rostlin, ale pouze na listech. Znamená to tedy, že u této formy rtuti můžeme čekat její průnik do rostlinných pletiv především z atmosféry. Jiná studie prokázala nejvyšší akumulaci metylrtuti v semenech rýže.

Kořenovým systémem přijímají rostliny anorganickou rtuť buď rozpuštěnou ve vodě, nebo ve formě anorganických solí prostou difuzí. Významnou roli hraje v této souvislosti samozřejmě celkový obsah rtuti v půdě (Meng et al. 2014). Koeficient udávající přenos prvku z půdy do rostlin je u těchto prvků následující : Cd > Zn > Cu > Hg > As > Pb. Tudíž je pro různé typy zeleniny rtuť z půdy relativně málo dostupná, v porovnání například s kadmíem, v porovnání s arsenem a olovem je naopak dostupnější více (Li et al. 2010).

Dále bylo zjištěno, že kontaminace půdy rtuťí může také snížit množství a aktivitu půdní mezofauny (Wang et al. 2012). Například u žížal byl zaznamenán negativní vliv na růst, přežívání a produkci kokonů. Tropická žížala *Pontoscolex corethrurus* je schopná rtuť bioakumulovat a negativní následky jí způsobí až koncentrace rtuti v půdě v rozmezí 50 - 100 mg/kg. Tato hodnota je mnohem vyšší v porovnání s některými jinými druhy žížal (Da et al. 2015). Množství a speciace rtuti také ovlivňuje aktivitu a složení společenstva půdních mikroorganismů. Rieder et Frey (2013) zjistili, že množství metylrtuti ovlivňuje strukturu mikrobiálního společenstva v lesních půdách. Vyšší senzitivitu vůči rtuti ovšem vykazovalo bakteriální společenstvo oproti společenstvu hub. Struktura společenstva hub byla stabilní ve všech půdách kontaminovaných různým množstvím rtuti. Velký význam na složení mikrobiálního společenstva hráli kromě koncentrace rtuti samozřejmě i půdní fyzikálně-chemické vlastnosti. Rtuť dokáže inhibovat i mikrobiální aktivitu. Casucci et al. (2003) stanovili sníženou enzymovou aktivitu a změny v mikrobiální biomase v závislosti na půdním typu, složení a částečně na obsahu půdní organické hmoty.

3.3.3 Mobilita a transformace rtuti v půdě

V půdě je rtuť běžně vystavena redoxním přeměnám způsobených mikroorganismy, stejně jako chrom a selen a naopak zinek, kadmium a olovo jim vystaveny nejsou. Tyto reakce mohou být asimilační či disimilační, vzhledem k tomu, jak zasahují do mikrobiálního metabolismu. Při asimilačních reakcích slouží prvek jako zdroj elektronů a při disimilačních reakcích nikoliv. Bakterie mohou redukovat rtuť z dvojmocné formy na volatilní elementární rtuť, čehož se využívá během bioremediací. Elementární rtuť může vznikat i abioticky redukcí dvouvalentní rtuti přítomností dvojmocného železa v půdě. Naopak, některé sloučeniny

hliníku, mohou produkci elementární rtuti snížit (Amirbahman et al. 2013). Hlavním procesem, kdy dochází k volatilizaci rtuti z půdy je i metylace rtuti, kdy dochází k uvolňování těchto toxických výparů z půdy do ovzduší. Metylrtuť vzniká metylací dvojvalentní rtuti činností anaerobních bakterií v anoxických podmínkách, tudíž jsou tímto efektem vysoce ohroženy zamokřené půdy a mokřady (Lewis et al. 2016). Tvorby metylrtuti se účastní například bakterie redukující sírné sloučeniny (Park et al. 2011). Produkce metylované formy rtuti záleží z velké části na koncentraci a speciaci dvojmocné formy rtuti v daném prostředí (Amirbahman et al. 2013). V půdě jsou nejčastějším donorem metylu huminové látky. Zde může docházet i k abiotické metylaci, kdy se oxidovaná rtuť vázaná na thioly metyluje prostřednictvím huminových látek. Demetylace v půdě pak může probíhat skrz oxidaci či redukci (Park et al. 2011).

Dostupnost, akumulaci a celkově chování těžkých kovů, mezi které patří i rtuť v půdě mohou ovlivňovat různé faktory. Xu et al. (2015) zjistili, že organická hmota ovlivňuje mobilitu rtuti především v kyselých půdách, přičemž alkalické půdy jsou více ovlivněny minerální složkou půdy. Důležitým faktorem je například i původ znečištění, tedy pokud se kontaminant do půdy dostal antropogenní či přírodní cestou. Například Reis et al. (2015) zmiňují, že kovy kontaminující půdu, pocházející z antropogenní činnosti jsou v půdě labilnější v porovnání s podobnou kontaminací geologického původu.

Různé jílové minerály obsažené v půdě mohou mít různou afinitu ke rtuti, vzhledem k jejich specifickému povrchu a povrchovou výměnnou kapacitou. Bylo zjištěno, že nejvíce dochází k navázání rtuti na montmorillonit v porovnání s dalšími jílovými minerály, jako je například kaolinit. Důvodem je právě jeho větší specifický povrch. Poté, co byl k jílu přidán humus, a došlo tedy ke zvýšení organické hmoty, došlo také ke zvýšení navázání rtuti na tyto organické částice. Humus se nejvíce adsorboval opět na montmorillonit a právě v tomto případě došlo k nejvyšší parcializaci rtuti a metylrtuti. Zároveň ale došlo k nejmenšímu navázání rtuti na půdní matrici. Z toho vyplývá, že rtuť je nejméně mobilní v půdách, kde jsou obsaženy jílové minerály a zároveň vysoké množství organické hmoty v podobě humusových látek (Zhu et Zhong 2015).

Je možné ke zvýšení imobilizace rtuti v půdě dospět několika cestami, přičemž Park et al. (2011) zjistili, že použitím oxidů železa, fosfátů a organické hmoty může dojít k efektivní imobilizaci dvojmocné rtuti. Ale například vysoký obsah vápníku působí proti snížení

rozpuštěnosti elementární rtuti způsobené zvýšením množstvím organické hmoty v půdě (Liu et al. 2016).

3.4 Remediacie půdy kontaminované rtuť

Remediací půdy nazýváme postup vedoucí ke snížení množství či omezení dostupnosti kontaminantu v půdě, čímž dojde ke snížení jeho negativního účinku na životní prostředí a zdraví živých organismů. Rtuť může být imobilizována do stabilních forem in situ, čímž se přemění na formu, která v půdě není pro živé organismy riziková. Případně může být rtuť z půdy extrahována, aby se její biodostupná koncentrace v půdě snížila na akceptovatelnou hodnotu či se zcela eliminovala (Xu et al. 2015). Je možné tohoto cíle dosáhnout různými způsoby, dle kterého se rozřazují remediace na fyzikální, chemické a biologické metody. Příkladem fyzikální remediace těžkých kovů může být odstranění kontaminované půdy, a nahrazení půdou čistou případně smíchání kontaminované půdy s půdou čistou, čímž se sníží koncentrace daného těžkého kovu. Mezi fyzikální remediaci těžkých kovů patří dále i zvýšení volatilizace kontaminantu z půdy po předešlém působení mikrovlnného, infračerveného záření či páry. Mezi chemické metody řadíme například chemickou fixaci, chemické vymývání, vitrifikaci a další (Yao et al. 2012). U rtuti se nejčastěji používá například vymývání půdy. V tomto případě se fyzikálně oddělí rtuť do menšího objemu nebo se s pomocí chemických činidel rtuť v půdě solubilizuje. Rtuť lze v půdě také stabilizovat do stabilních a nerozpustných forem či solidifikovat v pevných rigidních materiálech. Zvýšením teploty a snížením tlaku se dá také dosáhnout zvýšení volatilizace rtuti a následně kondenzaci výparů podoby kovové rtuti (Xu et al. 2015).

Poslední skupinou remediálních metod jsou tak zvané bioremediace, což jsou, v porovnání s předešlými dvěma metodami, pro životní prostředí šetrnější remediální technologie využívající živých organismů (Yao et al. 2012). Mezi pozitiva bioremediací může patřit nižší cena bioremediačních opatření v porovnání s jinými metodami jako jsou například ex situ remediace a dále také jejich jednodušší provoz. Do bioremediací lze například zařadit přírodní atenuaci, bioaugmentaci a fytořemediaci. V případě přírodní atenuace se jedná o zcela přírodní proces, během kterého dochází k biodegradaci, disperzi, sorpci, volatilizaci a tak podobně. Během fytořemediace se využívají rostliny a asociované mikroorganismy k tomu,

aby kontaminant odstranily nebo jej učinily méně toxickým. Fytoremediaci lze rozdělit na fytoextrakci, fytostabilizaci a rhizodegradaci. V prvním případě, při fytoextrakci, se jedná o příjem kontaminantu rostlinou, při fytostabilizaci dochází k nahromadění kontaminantu pouze v kořenech a během rhizodegradaci jsou kontaminanty metabolizovány v rhizosféře rostlin půdními mikroorganismy. Třetí formou bioremediace, bioaugmentace, se rozumí zvýšení biodegradční schopnosti půdy inokulací jedné či více mikrobiálních kultur do půdy (Yao et al. 2012; Agnello et al. 2015).

Co se týče biologických metod, mikroorganismy nedokáží degradovat těžké kovy, pouze dokáží ovlivnit jejich migraci a transformaci změnou jejich fyzikálních a chemických vlastností (Yao et al. 2012). Mikroorganismy asociované s rostlinami mohou také transformovat těžké kovy do lépe dostupných a rozpustných forem s pomocí sideroforů, organických kyselin, biometylací, redoxních procesů a dalšími metodami. Tím se zefektivní bioremediace půd kontaminovaných těžkými kovy a díky další činnosti bakterií, jako je například poskytnutí některých živin rostlinám, se podpoří růst rostlin a podpoří se tím také růst rostlinné biomasy (Ullah et al. 2015).

3.4.1 Mikrobiální bioremediace

Mikrobiální remediace těžkých kovů je proces, kdy dochází ke snížení toxicity těžkých kovů v půdách za pomoci mikroorganismů. Mezi těžkými kovy kontaminující půdu a mikroorganismy v ní, se zkoumají dva vztahy. Za prvé, vliv těchto kovů na funkci a populaci mikrobiálního společenstva. Za druhé, vliv a role půdních mikroorganismů na transformaci těžkých kovů (Adriano et al. 2004).

Pro mikroorganismy je určité množství těžkých kovů v půdě toxické. Například pro *Escherichia coli* byla zjištěna inhbiční koncentrace rtuti již při 0.01 mM (Kavamura et Esposito 2010). Efekt těžkých kovů na aktivitu mikrobiálního společenstva v půdě sledovali například Lee et al. (2002), kdy byla naměřena negativní korelace mezi zvyšující se koncentrací těžkých kovů v půdě a aktivitou mikrobiálního společenstva. Negativní korelace vůči těžkým kovům byla zaznamenána i u většiny sledovaných enzymů, konkrétně u dehydrogenázy, kyselá fosfatázy a B-glukosidázy. Proto je třeba pro mikrobiální bioremediaci vybírat mikroorganismy odolné vůči působení těžkých kovů v půdě. Například bakterie, rostoucí v nejvyšší koncentraci

těžkých kovů jsou bakterie oxidující železo a síru, zahrnující termofilní archea (Valls et De Lorenzo 2002). Další možností je mikroorganismy určitým způsobem geneticky upravit. V tomto případě se využívají metody mutagenese a genového inženýrství. Wang et al. (2014) upravili pro bioremediaci mutant *Bacillus subtilis* s pomocí UV záření. Díky tomu se prokázal jako efektivní adsorbent olova, kadmia, chromu i rtuti. Bakterie mohou být rezistentní vůči těžkým kovům díky přítomnosti degradačních enzymů. Ty působení toxického účinku těžkého kovu snižují díky enzymatickému rozkladu či přeměny na méně toxickou formu.

Mechanismus bakteriální rezistence vůči dvojmocné rtuti je zprostředkován enzymem reduktázou, která je produktem genu *merA*. Ta je schopná přeměnit dvojmocnou rtuť na méně toxickou a těkavou elementární rtuť. Některé přírodní izoláty jsou také schopny přeměňovat organokovové sloučeniny rtuti, například vysoce toxickou metylrtuť, na méně toxickou dvojmocnou rtuť. Dále pak s pomocí reduktázy rtuti až na volatilní, nejméně toxickou formu rtuti. Příkladem mikroorganismu, u kterého byly tyto procesy popsány, může být například *Pseudomonas putida* (Valls et De Lorenzo 2002).

Mikrobiální remediace těžkých kovů zahrnuje takové mechanismy jako je extracelulární komplexace, precipitace, redoxní reakce, metylace, demethylace a biosorpce a intracelulární akumulace. Studovány byly různé kmeny rezistentních mikroorganismů v prostředí kontaminovaném různými formami rtuti. Nejvyšší schopnost akumulovat a transformovat rtuť v půdě měl Gram pozitivní sporulující kmen *Paenibacillus* (Száková et al., 2016). Transformace kovů bývá spojena se systémem cytochromů, ale důležitou roli v redukci kovů mohou hrát také specifické mikrobiální enzymy. Methylace rtuti může probíhat enzymaticky i neenzymaticky, v aerobních i anaerobních podmínkách. V podmínkách anaerobních mohou být rtuťnaté ionty biologicky metylovány mono- či dimethylrtuť. Tyto metylované formy rtuti bývají velmi toxické a zároveň více mobilní v porovnání s jinými formami rtuti (Adriano et al. 2004; Yao et al. 2012). Významný proces je také biosorpce rtuti. V tomto případě se kovy sorbují na buněčné povrchy mikroorganismů.

Některé bakterie oxidující síru produkují kyselinu sírovou, která způsobuje srážení některých kovů vyluhovaných bakteriemi redukujícími síru. V tomto případě se uplatňuje bakterie *Thiobacillus*, jež způsobuje uvolňování těžkých kovů z půdních částic a z komplexů, které jsou pro bakterii zdrojem elektronů (Kavamura et Esposito 2010). Ve svém článku píše Valls et De Lorenzo (2002) o schématu bioremediace využívající sírné bakterie. Nejdříve se

zvýší mobilizace těžkých kovů v půdě s pomocí bakterií oxidujících síru. Následně jsou tyto vyluhované kovy sráženy s pomocí bioreaktoru, který obsahuje bakterie redukující síru a železo, jako jsou například *Shewanella* a *Geobacter*.

Jedním z problémů mikrobiální bioremediace půdy může být nedostatek živin a dalších růstových faktorů, které způsobují nízkou růstovou rychlost půdních mikroorganismů a také nízkou aktivitu. To může vést k nedostatečným výsledkům v bioremediaci daného kontaminantu. Řešením ovšem může být dodání potřebných živin do půdy, které metabolismus mikroorganismů stimulují, čímž dochází k tak zvané biostimulaci. Mezi biostimulanty používané pro podporu růstu mikroorganismů patří látky různého charakteru (Wang et al. 2014). Dvojmocné železo v půdě může snížit metylaci dvojmocné rtuti s pomocí čisté kultury bakterií redukujících síru. Jednomocný zinek, je používán v permeabilních reaktivních bariérách k eliminaci znečištění podzemní vody mechanismem sorpce a redukce. Jeho dekontaminující účinek byl prokázán u chromu a arsenu. Společně s organickou látkou – granulovaným aktivním uhlím, byl prokázán pozitivní efekt na redukci metylrtuti v mokřadních sedimentech (Lewis et al. 2016).

3.4.2 Mikrobiální aktivita

Aktivita půdních mikroorganismů poskytuje informaci o biologické kvalitě dané půdy. Tato aktivita se dá měřit různými způsoby, například respirací, kdy může být měřená bazální rychlost respirace, indukovaná rychlost respirace po přidání živiny a podobně. Tento parametr je užitečný pro určení dekompozičních procesů v půdě. Některé látky přidávané do půdy během bioremediace mohou aktivitu mikroorganismů zvýšit, ale také zpomalit. Například Gong et al. (2005) přidávali slunečnicový olej do půdy, a tím byla snížena mikrobiální respirace z důvodu navázání organických sloučenin na slunečnicový olej a snížení tak dostupnosti organických látek mikroorganismům. Ovšem po nějaké době došlo ke zvýšení aktivity mikroorganismů, což je vysvětleno aklimatizací mikroorganismů na slunečnicový olej a jeho následné mikrobiální biodegradaci.

Dalším indikátorem mikrobiální kvality půdy je stanovení enzymové mikrobiální aktivity (Wang et al. 2009). Tito autoři zjistili prostřednictvím stanovení aktivity enzymu ureázy, že

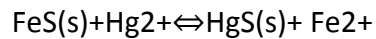
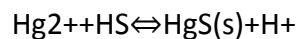
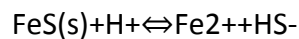
změny v koncentraci a speciaci mědi v půdě vedly ke změně mikrobiální a enzymové aktivity v závislosti na ekotoxicitě a biodostupnosti kontaminantu v půdě. Sun et al. (2016) pak měřili aktivitu enzymů katalázy, ureázy a invertázy v půdě kontaminované kadmíem. Do půdy byly aplikovány různé látky, které měly zvýšit mikrobiální aktivitu, což by přispělo k vyšší imobilizaci kontaminantu. Výsledek prokázal, že největší enzymová aktivita byla zaznamenaná v půdě, na kterou byl aplikován sepiolit, minerál obsahující křemík a hořčík. Snížení aktivity enzymů a tudíž katalytické funkce mikrobiálního společenstva studovali také Casucci et al. (2003). Zaznamenali snižující se enzymovou aktivitu v půdě kontaminované rtutí u enzymů fluorescein diacetátu (FDA) a o-difenol oxidázy, alkalické fosfatázy a arylsulfatázy. Naopak aktivita o-difenol oxidázy byla ovlivněna rtutí nejméně. Mechanismy působení rtuti na katalytickou funkci enzymů shrnuje tato studie následovně 1) přímá inhibice exprese hydrolytických enzymů rtutí 2) deaktivace enzymatických reakcí rtutí 3) komplexace substrátu se rtutí 4) reakce rtuti s aktivním místem enzymu nebo 5) reakce rtuti s komplexem enzym-substrát.

3.5 Využití sloučenin obsahujících síru během remediací

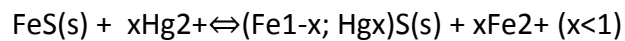
Síra může být významným prvkem v půdě, neboť nepřímo ovlivňuje její kvalitu vytvářením komplexů s kontaminanty, jako je právě rtuť. Právě díky síře a jejím sloučeninám se zvyšuje schopnost některých mikroorganismů uvolňovat těžké kovy z půdy. Jedná se například o mikroorganismy rodu *Thiobacillus*, které přímo síru využívají ve svém energetickém metabolismu a jejím dodáním do půdy se tak zvýší jejich metabolismus, čímž se urychlí i uvolňování těžkých kovů z půd. Ovšem nesmí se zapomínat na to, že zvýšené množství síry v půdě přispívá i k její acidifikaci (Nguyen et Lee, 2015). Jedním z nejvýznamnějších mechanismů precipitace kovů v půdě je produkce sulfidů bakteriemi redukujícími síru. Ty hrají významnou roli v imobilizaci kovů v anaerobních podmínkách. Tyto anaerobní bakterie produkují sulfáty a imobilizují kovy ve formě sloučenin síry a daného kovu (Valls et De Lorenzo 2002).

Dvojmocná rtuť je slabá Lewisova kyselina, která se preferenčně pojí se slabou Lewisovou bází jako se sirnými či thiolovými skupinami. Tudíž je sulfid železnatý (FeS) schopen imobilizovat rtuť přes chemické srážení, substituci rtuti do stabilních sloučenin FeS a povrchovou komplexaci (Gong et al. 2016). Všechny tyto reakce jsou zapsané níže.

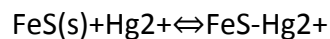
a) Precipitace HgS(s) s následným rozpuštěním FeS



b) Substituce Hg^{2+} s FeS



c) Komplexace Hg^{2+} s reaktivním povrchem FeS



Bylo popsáno, že adsorpce rtuti na FeS zahrnuje dva kroky. 1) hydrolýzu rtuťných iontů a 2) adsorpci rtuti na sulfidovou skupinu (Jean et Bancroft 1986, Gong et al., 2016). Síra má tedy schopnost vytvářet se rtuť sulfidy, které jsou pak špatně rozpustné. Přídavek síry k odpadům obsahujícím rtuť snížil množství rtuti unikající do ovzduší právě díky vytvoření špatně rozpustných rtuťnatých sulfidů (HgS). Imobilizace rtuti pomocí sulfidů se využívá také u anorganických forem rtuti v odpadních vodách (Piao et Bishop 2006). Bylo také zjištěno, že atmosférická depozice síranů způsobuje nižší uvolňování rtuti z půdy (Luo et al. 2015). Rtuť se může pojit i do organických sloučenin. Již dlouho je známo, že rtuťnaté ionty mají vysokou afinitu k thiolovým skupinám proteinů. Pro mikroorganismy je dvojmocná rtuť toxická a tak si vytvořily rezistentní mechanismus přeměňující tuto formu rtuti na volatilní elementární formu pomocí genu *merA* (Velasco et al. 1999).

3.5.1 Využití anaerobního digestátu

Velkým problémem poslední doby je vzrůstající množství odpadů. V posledních dvaceti letech se snížilo díky evropské legislativě množství skládek a jeden z hlavních způsobů jak toho docílit bylo snížit množství biodegradabilního odpadu. Přesto je kolem 40% bioodpadů v rámci EU stále posíláno na skládky. Jedním způsobem jak organickou část pevných odpadů dále využít je anaerobní digesce, při které dochází k biologické přeměně organického materiálu (především odpad z potravin a zemědělský odpad) v bioplyn a anaerobní digestát (Evangelisti

et al. 2014). Bioplyn obsahuje především oxid uhličitý a metan a je dále využíván k energetickým účelům. Jako zbytek po anaerobní digestaci je produkován na živiny bohatý digestát. Ten se v rámci minimalizace vytváření umělých půdních hnojiv, skleníkového efektu a zlepšení půdních vlastností začal využívat k agronomickým účelům.

Anaerobní digestát půdě poskytuje především dusík, fosfor, ale také síru a funguje tak jako levné hnojivo (García-Sánchez et al. 2014; Pivato et al. 2015; Tampio et al. 2016). Podle Evangelisti et al. (2014) je anaerobní digestace nejšetrnější k životnímu prostředí, co se produkce skleníkových plynů týče, v porovnání se spalovacími procesy a skládkováním. K podobným závěrům došli ve své studii Bernstad et la Cour Jansen, (2011), kteří porovnávali aerobní a anaerobní zpracování domovního bioodpadu ve Švédsku. Zjistili, že kompostování bioodpadu způsobuje vyšší produkci skleníkových plynů do ovzduší v porovnání s anaerobní digestací. Digestát může mít na půdu různý efekt v závislosti na jeho složení tedy například na množství a povaze organických látek, obsahu minerálních živin dostupných pro rostliny, ale také těžkých kovů a patogenních mikroorganismů. Mezi vlastnosti digestátu ovlivňující půdu patří také jeho pH. Digestát používaný na zemědělskou půdu by měl mít ideálně neutrální pH, alkalický digestát totiž může způsobovat volatilizaci dusíku z půdy a kyselý digestát zase může zvýšit mobilitu těžkých kovů v půdě (Tampio et al. 2016). Důležitým faktorem je samozřejmě také charakteristika půdy, do které je digestát aplikován.

Byla studována i možnost využití anaerobního digestátu pro remediaci půdy kontaminované rtutí. Ukázalo se, že použití digestátu zlepšilo půdní vlastnosti, jako je množství celkového organického uhlíku, vodorozpustného uhlíku, celkového rozpustného uhlíku a dusíku a anorganické formy dusíku (dusičnany). Důvodem je právě vysoké množství uhlíku (především v organické formě jako huminové kyseliny a fulvokyseliny) a dusíku v anaerobním digestátu. Navíc použitím digestátu se zvýšila aktivita mikrobiálního společenstva v půdě, přičemž narostla jak bakteriální, tak houbová půdní biomasa. Z těchto výsledků bylo usouzeno, že anaerobní digestát je vhodný k použití během bioremediace půdy kontaminované těžkými kovy (García-Sánchez et al. 2015). Digestát je kromě organické hmoty také bohatým zdrojem dalších živin včetně síry. Bylo ale zjištěno, že digestát má lepší účinek na snížení mobility rtuti v půdě ve srovnání s jinými zdroji síry, jako je například popel ze spalování biomasy (García-Sánchez et al. 2014).

4 Materiál a metody

4.1 Půdy a melioranty

Pro experiment byly zvoleny cíleně dva odlišné typy půdy, tedy 1) nekontaminovaná černozem s kationtovou výměnnou kapacitou (KVK) 230 mmol⁺/kg, hodnotou pH 7,5 a množství oxidovatelného uhlíku (Cox) 2,6 %. 2) nekontaminovaná luvizem s KVK 145 mmol⁺/kg, hodnotou pH 6,6 a Cox 1,7%. Další půdní charakteristiky jako je například obsah živin, je zaznamenán v tabulce 1. Vzorky půdy byly odebírány z hloubky 20 cm a ihned po odebrání byly vzorky homogenizovány a následně přesáty přes síto s velikostí ok 5 mm. Vzorky byly udržovány při laboratorní teplotě. Pro inkubační experiment byly vzorky opět přesáty přes síto s velikostí ok 2mm a dále byly udržovány v teplotě 4°C až do doby, než experiment započal. Vzorky digestátu (pH 8,2) byly odebrány z bioplynové stanice s výkonem 1732 kW/h; a materiál použitý k digesci se skládal z řízků cukrové řepy (50%), pevné zbytky po vylisování ovoce (matoliny) (42%), a kukuřice na siláž (8%). Obsah makro a mikroživin v digestátu byl následující: 1.20±0.01 % P, 2.12±0.01 % K, 0.49±0.02 % Mg, 3.15±0.01 % Ca, 0.60±0.01 % S, 0.004±0.001 % Cu, 0.18±0.01 % Fe, 0.02±0.00 % Mn, 0.03±0.00 % Zn. Obsah rtuti v digestátu je oproti ostatním prvkům zanedbatelný. Jako další melioranty s obsahem síry byly použity L-cystein a (NH₄)₂SO₄ (Fischer Scientific, Ltd.).

Tabulka 1. Hlavní fyzikálně-chemické charakteristiky studovaných půd

Půdní typ	luvizem	černozem
Půdní textura (NRSC)	Hlinito - jílovitá	Hlinito - jílovitá
Jílovitá frakce (< 0.002mm) [%]	5.38	2.18
Hlinitá frakce (0.002 - 0.05mm) [%]	68.14	71.80
Písková frakce (0.05 - 2 mm) [%]	26.48	26.03

Lokalita	50°4'22"N,14°10'19"E	50°7'40"N,14°22'33"E
Nadmořská výška (m n.m.)	410	286
P Mehlich III* (mg/kg)	100	91
K Mehlich III* (mg/kg)	80	230
Mg Mehlich III* (mg/kg)	110	240
Ca Mehlich III* (mg/kg)	3600	9000

*Biodostupný podíl prvků stanovený extrakčním procesem Mehlich III (Mehlich, 1984)

4.2 Schema inkubačního experimentu

Do polypropylenových nádob bylo vloženo 500 g černozemě a 500 g luvizemě a poté byly půdy zvlhčeny na 60% vodní kapacity. Rtuť byla do půdy přidána ve formě roztoku HgCl_2 tak, aby její koncentrace (Hg) v půdě odpovídala 12 mg/kg. Následně bylo přidáno: (1) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, (2) L-cystein a (3) digestát, přičemž vždy bylo přidáno množství odpovídající dávce 600 mg S na 1 kg půdy. Všechny půdy i s přísadkami byly pečlivě promíchány a inkubovány 21 dní při teplotě 24-27°C ve tmě, aby se předešlo potenciální fotochemické reakci. Odebírání vzorků probíhalo po 1, 7, 14 a 21 dnech inkubace, pro stanovení mobilního podílu rtuti v půdách, mikrobiální půdní aktivity a také interakce s mikro a makroživinami. Během každého odběrového dne bylo odebráno 30 g půdy pro stanovení pH, množství mobilní rtuti, uhlíku mikrobiální biomasy a dehydrogenázové aktivity. Na konci experimentu byla půda lyofilizována a použita pro analýzu organických forem rtuti. Každá varianta byla provedena ve dvou opakováních.

4.3 Analytické metody

4.3.1 Biodostupné obsahy prvků

Pro stanovení množství biodostupných prvků v půdě bylo odebráno 0,5 g od každého vzorku a zalito 20 ml 0,1 mol/l roztoku CH_3COOH . Přes noc byly vzorky třepány na třepačce (Quevauviller et al. 1993). Každá varianta byla provedena ve třech opakováních. Následně po extrakci byly vzorky centrifugovány na centrifuze Hettich Universal 30 RF (Německo) na 3000 rpm (tj. 460 g) po dobu deseti minut. Supernatant byl odebrán a uchován v 6°C pro pozdější měření. Koncentrace rtuti v extraktech byla stanovena pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem (ICP-MS, Agilent 770x, Agilent Technologies Inc., USA). ICP-MS byla vybavena automatickým dávkovačem vzorků ASX-500, tříkanálovou peristaltickou pumpou a zmlžovačem typu MicroMist. Kalibrační roztok byl připraven rozpuštěním prvku standardu ICP-MS jako 0,1 – 100 $\mu\text{g/L}$ pro Hg a byl měřen izotop ^{202}Hg . Interní standard ^{195}Pt byl použit v koncentraci 100 $\mu\text{g/l}$. Pro stanovení dalších prvků (Cu, Fe, Mn, Zn, P a S) byla použita atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, Agilent 720, Agilent Technologies Inc., USA). Přístroj byl vybaven dvoukanálovou peristaltickou pumpou, mlžnou komorou Struman-Masters a zmlžovačem tvaru V vyrobeným z inertního materiálu. Experimentální podmínky byly následující: energie 1,2 kW, průtok plasmy 15,0 l/min, pomocný průtok 0,75 l/min, průtok zmlžovačem 0,9 l/min.

4.3.2 Speciace rtuti

Zastoupení organických sloučenin rtuti bylo stanoveno v lyofilizovaných alikvótech půdy odebraných na konci pokusu ve spolupráci s katedrou chemie přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně. Pro stanovení organických sloučenin rtuti 250 mg lyofilizovaného vzorku půdy bylo třepáno s 10 ml 6 M HCl v ultrazvukové lázni při 50-55°C po dobu 90 minut. Plynovou chromatografií ve spojení atomovou fluorescenční spektrometrií (GC-AFS, Agilent Technologies 6890 N Network GC System s PSA 10.750 fluorescenčním detektorem) byly stanoveny obsahy metylrtuti, fenylrtuti a etylrtuti.

4.3.3 Plynná elementární rtuť (Hg⁰)

Stanovení plynné rtuti bylo provedeno ve spolupráci se Státním zdravotním ústavem v Praze. Byl použit přenosný analyzátor rtuti Lumex RA-915+ Zeeman (LUMEX Ltd., Rusko), což je nejčastěji používaný přístroj zaznamenávající vzdušnou rtuť pro rychlou analýzu znečištění ovzduší rtuť. Měří přímo a kontinuálně elementární rtuť v ovzduší s dobou odezvy 1 s. Jako zdroj primárního záření je použita bezelektrodová rtuťová výbojka (Hg EDL) nastavená na vlnovou délku rezonanční čáry 253,7 nm. Kalibrace byla nastavena výrobcem přístroje (Pandey et al. 2011).

Pro náš inkubační experiment v laboratorním prostředí, byla procedura optimalizována tak, aby byly získány srovnatelné výsledky během celého inkubačního pokusu. Byla provedena vždy dvě měření Hg⁰ v každé nádobě po 7, 14 a 20 dnech inkubace. První měření bylo provedeno přibližně 2 cm nad kontaminovanou půdou v inkubační nádobě ihned poté, co byl odstraněn poklop. To reprezentuje maximální hodnotu rtuti v povrchovém vzduchu získané během inkubační doby. Poté byla měřena teplota půdy po dobu jedné minuty v otevřené nádobě (7. a 14. den inkubace). Následně byla do inkubační nádoby vložena válcovitá komora o objemu 1,5 l (PE) s průměrem 10 cm a po čtyřech minutách byla stanovena koncentrace rtuti ve vnitřní části komory. Druhá hodnota tedy reprezentuje koncentraci Hg⁰ uvolňující se z kontaminované půdy do prostředí za reálnou dobu a za daných podmínek. Po druhém měření Hg⁰ každá nádoba s půdou byla opět uzavřena. Pozadřové hodnoty Hg⁰ v okolním vzduchu před měřením vzorků byly 6 – 9 ng/m³.

4.3.4 Půdní biologické parametry

Biologické parametry byly stanoveny pro všech šest variant pokusu během inkubace v jednotlivých časech odběru dílčích vzorků. Uhlík mikrobiální biomasy byl stanoven metodou chloroformové fumigační extrakce upravené podle parametrů, které publikovali Gregorich et al. (1994). 10 g půdy bylo vloženo do vakuového desikátoru a vystaveno výparům chloroformu po dobu 24 hodin. Následně byl extrahován veškerý organický uhlík s pomocí 0,5 mol.l⁻¹ K₂SO₄ v poměru 1:4 (w:v) poté, co byl vzorek 60 minut třepán a stanovení proběhlo s použitím

dichromanové oxidační metody podle Mingorance et al. (2007). Uhlík mikrobiální biomasy byl vyhodnocen jako rozdíl množství uhlíku mezi fumigovaným a nefumigovaným vzorkem (E_c) použitím K_{EC} koeficientu. Hodnota $K_{EC}=0,45$ byla použita k vypočítání uhlíku mikrobiální biomasy (Joergensen et al. 2011). Dehydrogenázová aktivita (EC 1,1) byla určena podle metody García et al. (1997). 1 g půdy byl inkubován s 1 ml 1,2% trifenyl tetrazolium chlorid (TTC) rozpuštěné v Tris-HCl pH 7,6 po dobu 24 hodin při teplotě 30°C. Po inkubaci byla extrahována produkce trifenylformazanu (TPF) 1:4 (v:v) směsí acetonu a měřena spektrometricky při 490 nm.

5 Výsledky

5.1 Rtuť a mikroživiny

Během inkubace byly stanoveny extrakcí kyselinou octovou koncentrace mobilní rtuti, mědi, železa, manganu a zinku, které jsou zaznamenány v tabulce 2. Co se týče rtuti, její koncentrace byla u kontroly, síranu amonného a L-cysteinu podstatně nižší i v luvizemi v porovnání s černozemí, přičemž většina hodnot byla v tomto případě pod mezí detekce stanovení. Naopak u půdy ošetřené digestátem, byla naměřena nejvyšší koncentrace rtuti v luvizemi v porovnání s dalšími ošetřeními. Během prvního odběru (den 1) byla u luvizemi vyšší koncentrace než v tomtéž odběru u stejného vzorku u černozemě. Hodnota byla naměřena pro luvizem (1.den, digestát) 1.57 ± 0.04 mg/kg přičemž u černozemě byla 0.028 ± 0.001 g/kg. V dalších odběrech se ovšem koncentrace rtuti u luvizemi postupně snížila a byla tak ve všech dalších odběrech nižší než koncentrace u černozemě. V černozemi je nejmenší množství rtuti během prvního odběru (den 1) naměřeno u vzorku s L-cysteinem, nejvíce naopak v kontrole. Později během inkubace se koncentrace rtuti snižuje především u vzorků ošetřených L-cysteinem a digestátem. Digestát má na konci ze všech případů nejnižší koncentraci rtuti. Naopak u půdy ošetřené síranem amonným, koncentrace rtuti během inkubace stoupá z hodnoty 0.048 ± 0.005 (den 1) až na hodnotu 0.187 ± 0.004 (den 21). V porovnání s kontrolou se tedy koncentrace rtuti zvýšila právě u půdy se síranem amonným a snížení bylo naměřeno u dvou zbývajících variant.

Stanovení koncentrace mědi ukázalo vyšší celkovou koncentraci u luvizemi v porovnání s černozemí. U luvizemi byla patrná nejvyšší koncentrace mědi u digestátu a nejmenší v kontrolním vzorku půdy. V průběhu inkubace se snižovala koncentrace mědi ve všech půdách s výjimkou půdy kontrolní. Nejnižší koncentrace mědi v luvizemi během posledního odběru (den 21) byla naměřena u půdy ošetřené síranem amonným, poté u půdy ošetřené L-cysteinem a nakonec u půdy s digestátem. Pouze půda obsahující přidaný síran amonný obsahovala na konci inkubace méně rtuti než kontrola.

U černozemě byly koncentrace mědi podstatně nižší, ovšem nejvyšší byla opět v půdě s digestátem a na druhém místě v půdě s L-cysteinem. Nižší obsah mědi na konci inkubace (den 21) byla naměřena pouze v půdě se síranem amonným.

Koncentrace železa byla vyšší u luvizemi v porovnání s černozeří. V luvizemi koncentrace železa stoupala během inkubace. Nejvyšší nárůst byl naměřen u půdy s digestátem, kdy z hodnoty 32.3 ± 5.2 mg/kg (den 1) stoupla na 617 ± 87.7 mg/kg (den 21). Pouze u půdy se síranem amonným byla koncentrace železa v průběhu inkubace nižší než u kontroly. U černozeří byl nejvyšší nárůst koncentrace železa naměřen u půdy a L-cysteinem a na konci inkubace byly koncentrace železa všech tří půd vyšší než u kontroly.

Stanovení koncentrace manganu prokázalo vysoké množství tohoto prvku v obou půdách v porovnání s předchozími prvky. Nejvyšší množství manganu bylo u černozeří i luvizemi naměřeno v půdě ošetřené digestátem (den 1). Na konci inkubace byla nejvyšší koncentrace manganu naměřená u luvizemi v půdě s digestátem a u černozeří v půdě s L-cysteinem. Na konci inkubace (den 21) byla koncentrace manganu u všech třech ošetřených půdách (jak u luvizemi tak černozeří) vyšší v porovnání s kontrolou. Množství zinku bylo celkově vyšší v luvizemi v porovnání s černozeří, přičemž nejvyšší koncentrace byla u obou půd naměřená v půdách s digestátem. Během inkubace jeho koncentrace rostla ve všech případech u obou půdních typů a nižší koncentrace byla zaznamenána u půd se síranem amonným. Jenom v tomto případě byla koncentrace nižší v porovnání s kontrolami obou typů půd.

Tabulka 2. Koncentrace rtuti a mikroživin (mg/kg) extrahovaných 0.11 mol/l kyselinou octovou během inkubačního experimentu. Průměry se stejným písmenem (a,b,c) nejsou signifikantně odlišné dle $p < 0,05$ v rámci jednotlivých sloupců. Uvedeny jsou aritmetické průměry a směrodatné odchylky, $n=4$.

Rtuť								
	luvizem				černozezem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	<	<	<	<	0.051±0.001b	0.074±0.001b	0.042±0.000b	0.051±0.001b
(NH ₄) ₂ SO ₄	<	<	<	<	0.048±0.005b	0.077±0.012b	0.173±0.006c	0.187±0.004c
L-cystein	<	0.005±0.001a	<	<	0.027±0.003a	0.041±0.009a	0.008±0.001a	0.007±0.001a
Digestát	1.57±0.04	0.013±0.001b	0.005±0.001	0.004±0.001	0.028±0.001a	0.022±0.002a	0.005±0.000a	0.005±0.001a
Měď								
	luvizem				černozezem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	0.40±0.01a	0.28±0.02a	0.46±0.07a	0.42±0.10a	0.20±0.00a	0.06±0.01a	0.09±0.01a	0.03±0.01a
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.41±0.01ab	0.30±0.02a	0.38±0.06a	0.17±0.02a	0.18±0.00a	0.04±0.01a	0.07±0.00a	0.02±0.01a
L-cystein	0.51±0.04b	0.27±0.12a	0.40±0.04a	0.31±0.06a	0.31±0.15a	0.16±0.01b	0.19±0.01b	0.19±0.03b
Digestát	0.81±0.03c	0.48±0.03a	0.51±0.07a	0.36±0.07a	0.37±0.07a	0.29±0.01c	0.34±0.01c	0.29±0.00c
Železo								
	luvizem				černozezem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	15.6±3.6a	50.0±5.4a	126±34.1ab	174±6.6a	10.4±6.5a	21.0±1.4ab	22.5±4.8b	11.8±1.9a
(NH ₄) ₂ SO ₄	9.4±0.9a	31.6±14.1a	33.4±6.2a	37.9±18.8a	8.4±0.9a	13.5±3.0a	10.3±0.9a	12.8±2.3a
L-cystein	18.4±3.7ab	297±21.2b	232±41.8b	570±58.0b	5.4±1.8a	58.5±11.7b	141±0.3b	391±45.3b
Digestát	32.3±5.2b	268±19.8b	237±5.9b	617±87.7b	11.3±0.7a	115±14.6	22.6±1.5c	24.2±2.3a
Mangan								
	luvizem				černozezem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	164±8a	204±11a	245±12a	225±1a	117±0a	108±25a	184±42a	164±26a
(NH ₄) ₂ SO ₄	206±13ab	196±5a	248±20ab	174±48a	134±43a	139±17a	213±26a	181±12a
L-cystein	232±1b	283±13b	311±16b	249±27a	247±12b	267±21b	338±8b	278±17ab
Digestát	237±9b	266±8b	286±12ab	280±51a	251±24b	274±14b	291±6b	224±14b

Zinek								
	luvizem				černozem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	7.16±0.99a	7.89±0.37a	9.59±0.23a	11.7±2.24a	1.31±0.13a	1.46±0.30a	2.33±0.31a	2.24±0.35a
(NH ₄) ₂ SO ₄	6.67±0.13a	9.71±0.45ab	9.13±0.82a	8.73±1.89a	1.25±0.21a	1.20±0.25a	2.35±0.11a	2.11±0.14a
L-cystein	7.86±0.79a	18.5±2.11bc	11.1±1.17ab	11.1±0.42a	1.60±0.20a	3.05±0.06b	5.00±0.01b	5.84±0.29b
Digestát	13.1±0.03b	21.7±4.17c	13.0±0.49b	14.2±1.36a	5.69±0.04b	6.59±0.20c	7.10±0.24c	6.17±0.05b

5.2 Makroživiny

Během inkubace byly stanoveny extrakcí kyselinou octovou koncentrace vápníku, draslíku, hořčíku, fosforu a síry. Tyto hodnoty jsou zaznamenané v tabulce 3. U vápníku byla vyšší koncentrace naměřená v černozemi v porovnání s luvizemí. U obou půd byla nejvyšší koncentrace tohoto makroprvku naměřená u půd s digestátem a ve všech půdách byla koncentrace vápníku vyšší na konci inkubace (den 21) v porovnání s počátkem inkubace (den 1). Kontrolní půdy měly vždy nejmenší koncentraci tohoto prvku. U draslíku je parná nejvyšší koncentrace u půd s digestátem a to až o jeden řád v porovnání s kontrolou u luvizemě i černozemě. Ostatní půdy obsahovaly podobnou koncentraci tohoto makroprvku jako půdy kontrolní. Koncentrace hořčíku a fosforu byla opět naměřená nejvyšší u obou typů půd s obsahem digestátu. V tomto případě byla koncentrace tohoto prvku přibližně dvojnásobná v porovnání s kontrolami. Ostatní půdy měli obsahy těchto prvků podobné s kontrolami. Téměř ve všech případech docházelo k úbytku těchto makroprvků během inkubace (den 1 až den 21).

Koncentrace síry byla nejnižší v kontrolních půdách u obou typů půd. V luvizemí se její koncentrace z 142 ± 17 mg/kg (den 1) snížila až na koncentraci 3.82 ± 0.34 mg/kg (den 21). V černozemí byl její úbytek v kontrolní půdě mezi prvním a posledním dnem inkubace jen přibližně o dvě jednotky mg/kg. Přibližně třicetinásobná (luvizem) a čtyřicetinásobná (černozem) koncentrace v porovnání s kontrolami byla naměřená v půdách s obsahem síranu amonného na začátku inkubace (den 1). V průběhu inkubace se koncentrace síry ve všech půdách snižovala. Výjimkou je černozem s obsahem digestátu, kde se síra během inkubace (den 1 až den 21) zvýšila z koncentrace 321 ± 20 mg/kg na koncentraci 360 ± 92 mg/kg

Tabulka 3. Koncentrace makroživin (mg/kg) extrahovaných 0.11 mol/l kyselinou octovou během inkubačního experimentu. Průměry se stejným písmenem (a,b,c) nejsou signifikantně odlišné dle $p < 0,05$ v rámci jednotlivých sloupců. Uvedeny jsou aritmetické průměry a směrodatné odchylky, $n=4$.

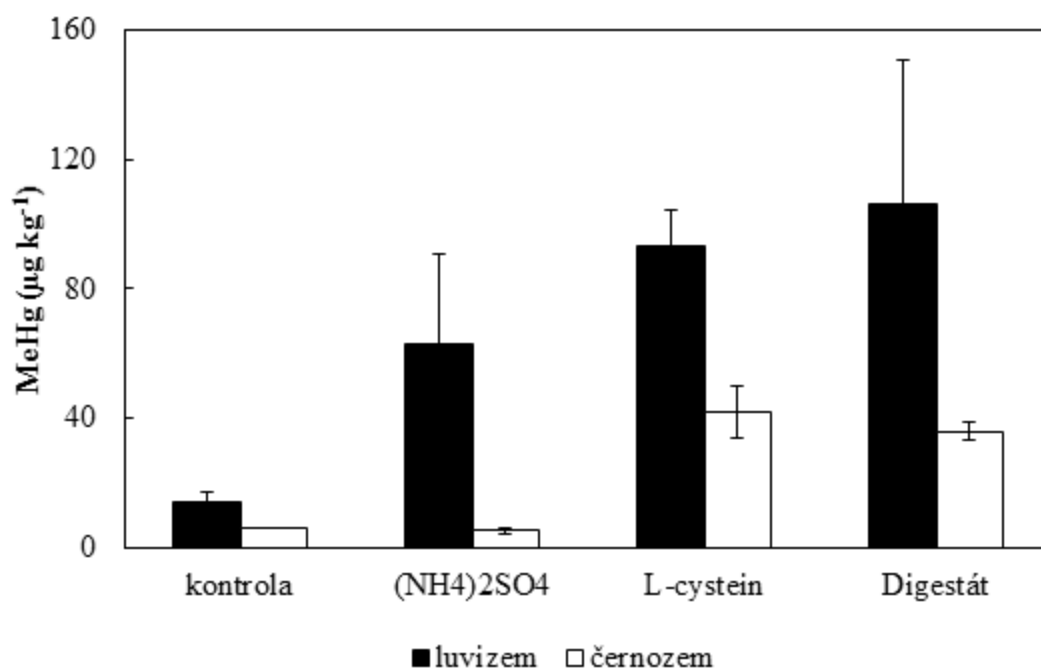
Vápník								
	luvizem				černozem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	3050±37a	2612±14a	2840±218a	3601±299a	8011±56a	6162±424a	7238±127a	8757±361a
(NH ₄) ₂ SO ₄	3195±93a	2882±85b	2764±145a	3334±141a	8103±447a	6252±71a	7520±18ab	8468±896a
L-cystein	3248±540a	2802±0b	3430±73a	3612±377a	8840±595a	6132±467a	8251±145b	9557±581a
Digestát	4774±205b	3802±28c	4315±308b	5823±833b	9355±127a	7592±863a	9264±344c	10688±478a
Draslík								
	luvizem				černozem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	189±7a	206±16a	183±6a	184±5a	130±28a	133±38a	128±38a	115±12a
(NH ₄) ₂ SO ₄	212±10a	218±1a	197±5a	200±10a	136±0a	133±2a	128±6a	122±20a
L-cystein	200±1a	213±8a	204±3a	213±0a	150±66a	111±11a	118±2a	118±8a
Digestát	2777±28b	2897±226b	2816±170b	2719±509b	2622±219b	2757±85b	2716±85b	2609±42b
Hořčík								
	luvizem				černozem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	166±10a	177±21a	160±19a	152±7a	465±13a	455±20a	430±4a	376±1a
(NH ₄) ₂ SO ₄	175±27a	181±8a	163±6a	136±14a	460±14a	463±6a	441±6a	376±35a
L-cystein	160±1a	190±6a	180±5a	150±9a	584±164a	448±30a	471±3a	409±3a
Digestát	461±10b	460±21b	439±28b	398±41b	704±12a	689±20b	698±16b	672±27b
Fosfor								
	luvizem				černozem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	142±17a	162±21a	135±2a	88.9±4a	201±7a	260±37a	213±1a	292±107ab
(NH ₄) ₂ SO ₄	143±12a	162±21a	128±3a	126±12ab	185±9a	241±16a	224±3a	203±8ab
L-cystein	189±58ab	221±41a	164±1b	106±27a	182±9a	251±52a	193±2a	97.3±19a
Digestát	309±1b	450±3b	351±1c	251±57b	372±0b	449±13b	417±27b	361±9b

Síra								
	luvizem				černozem			
Ošetření	den 1	den 7	den 14	den 21	den 1	den 7	den 14	den 21
Kontrola	10.4±1.5a	1.55±0.5a	6.65±2.9a	3.82±0.34a	19.5±2.7a	13.0±3.0a	18.0±3.5a	17±1.41a
(NH ₄) ₂ SO ₄	376±27c	325±24c	242±14c	280±24c	413±28c	388±51b	338±25c	407±31b
L-cystein	329±23bc	149±83bc	105±5b	156±5b	359±11bc	293±16b	155±25b	121±27b
Digestát	300±10b	155±1bc	148±22b	182±15b	321±20b	284±20b	275±55bc	360±92b

5.3 Metylrtuť

Na konci inkubace byla stanovena koncentrace metylrtuti (Obrázek 1). Koncentrace fenylrtuti a etylrtuti byly pod mezí detekce stanovení. V luvizemi byla naměřená nejvyšší koncentrace metylrtuti v půdě do které byl přidán digestát, množství metylrtuti zde dosahovalo více než 100 ug/kg. Nejnižší množství metylrtuti bylo naměřeno v půdě kontrolní, zde byla její koncentrace nižší než 20 ug/kg. Druhý nejvyšší obsah metylrtuti byl naměřen v půdě s L-cysteinem a o něco nižší koncentrace byla naměřená v půdě se síranem amonným. Všechny půdy jinak obsahovaly vyšší koncentraci metylrtuti v porovnání s kontrolou.

V černozech byl průměrný obsah metylrtuti podstatně nižší v porovnání s luvizemi, neboť jejich průměrná koncentrace nepřesáhla v žádné půdě hodnotu 50 ug/kg. Nejvyšší hodnota metylrtuti byla naměřená v půdě s obsahem L-cysteinu. Zde metylrtuť přesáhla mírně koncentraci 40 ug/kg. Nejnižší hodnoty metylrtuti (méně než 10 ug/kg) byly naměřené u kontrolní půdy a půdy s obsahem síranu amonného.



Obrázek 1. Koncentrace metylrtuti ($\mu\text{g Hg/kg}$) během inkubačního experimentu. Uvedeny jsou aritmetické průměry a směrodatné odchylky, $n=4$.

5.4 Plynná elementární rtuť

Množství elementární rtuti bylo sledováno během tří dnů v průběhu inkubace (tabulka 4). V případě luvizemě byl nejvyšší obsah (více než 50 000 ng/m³) elementární rtuti v nádobě a v půdě do které byl přidán síran amonný a to během prvního odběru (den 7). Tato hodnota dále během inkubace klesala až na 1576 ng/m³. Množství elementární rtuti v půdě, do které byl přidán digestát a L-cystein bylo během celého inkubačního procesu nižší, než v půdě kontrolní. Její množství v půdě s L-cysteinem bylo zcela nejnižší během celé inkubace. Tato hodnota klesala z 997 ng/m³ na 86 ng/m³. Nejvyšší rozdíl mezi prvním a posledním odběrem v koncentraci rtuti byl naměřen u půdy obsahující digestát. Zde koncentrace rtuti poklesla ze 7192 ng/m³ na 163 ng/m³, tedy přibližně o řád. Podobně výsledky byly zaznamenány i v případě měření v uměle vytvořené komoře.

U černozemě bylo největší množství (více než 50 000 ng/m³) naměřeno také v půdě s přidavkem síranu amonného a to během celé inkubace. V kontrolní půdě byla během prvního odběru (den 7) hodnota 50 000 ng/m³ a v dalších dvou odběrech se tato koncentrace zvýšila. Nejnižší hodnoty elementární rtuti byly naopak naměřené, stejně jako u luvizemi, v půdě s přidavkem L-cysteinu. Zde koncentrace rtuti klesala z hodnoty 421 ng/m³ (den 7) na 217 ng/m³ (den 20). U půdy obsahující digestát bylo množství rtuti sníženo o jeden řád, konkrétně ze 4772 ng/m³ (den 7) na 294 ng/m³ (den 20). V uměle vytvořené komoře byly hodnoty, s výjimkou kontrolní půdy, přibližně poloviční.

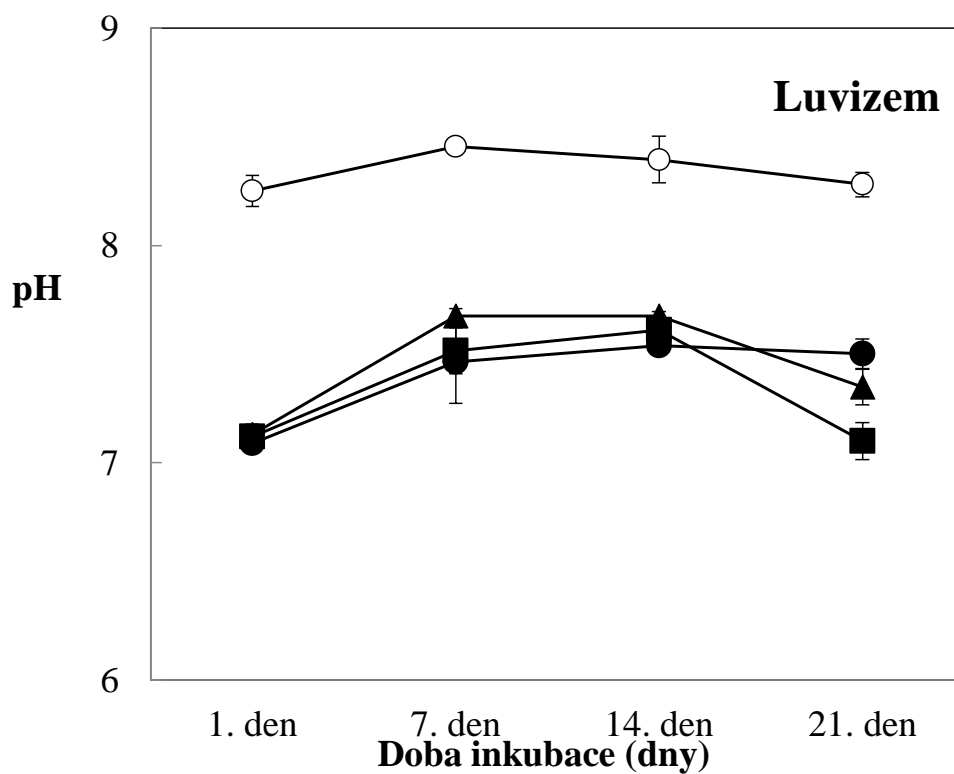
Tabulka 4. Koncentrace elementární plynné rtuti (v ng/m³) unikající z kontaminované půdy během inkubačního experimentu. Průměrné hodnoty po 7,14 a 20 dnech a teploty během měření (T °C).

Ošetření	den 7			den 14			den 20	
	Nádoba	Komora	T °C	Nádoba	Komora	T °C	Nádoba	Komora
luvizem								
Kontrola	29800	2691	25	2930	586	21	1470	286
(NH ₄) ₂ SO ₄	>50000	9086	25	2920	1036	21	1576	509
L-cystein	997	877	27	72	62	21	86	50
Digestát	7192	2424	26	93	97	21	163	77
černozem								
Kontrola	50000	5998	25	>50000	7167	21	>50000	8622
(NH ₄) ₂ SO ₄	>50000	24640	24	>50000	33040	21	>50000	37445
L-cystein	421	163	26	434	112	21	217	56
Digestát	4772	2272	24	183	105	21	294	77

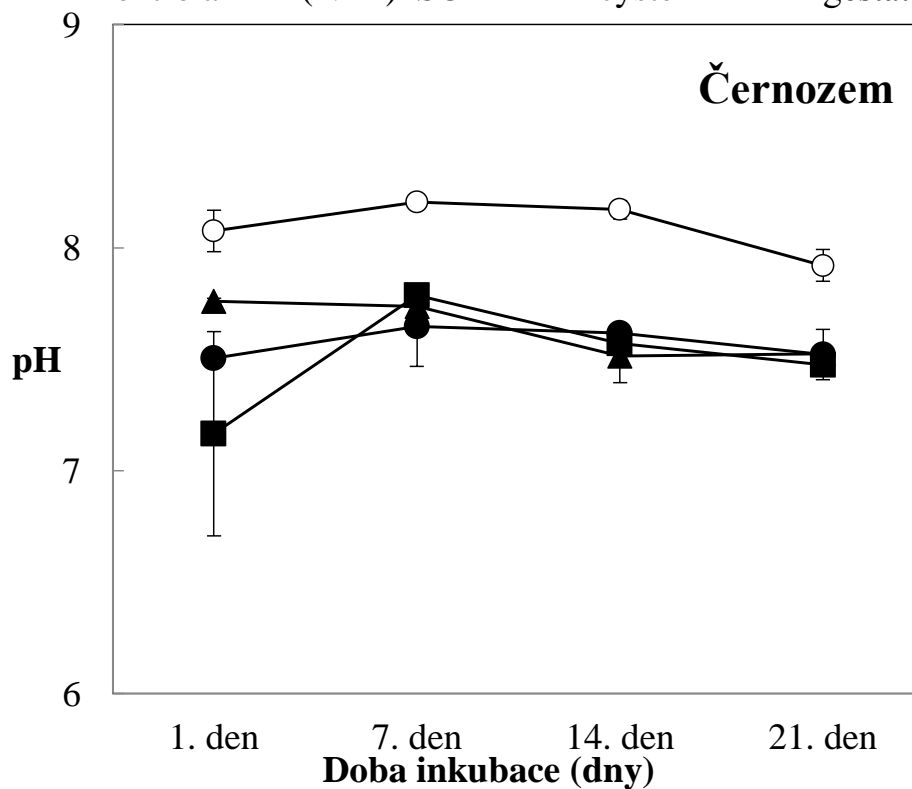
5.5 Půdní pH

Během inkubačního pokusu byla sledována hodnota pH všech půd. Výsledky jsou zaznamenány v grafu na obrázku 2. Výsledky ukázaly, že nejvyšší hodnotu pH během pokusu měla půda, do které byl aplikován digestát. Hodnoty pH zde byly vyšší než 8. Ostatní půdy měly pH podobné, mezi 7 a 8. Patrný je u všech půd nárůst hodnoty pH mezi prvním a druhým odběrem (den 1 a den 7) a pokles hodnoty pH během posledního odběru (den 21). U kontroly tento pokles hodnoty pH v posledním odběru nebyl patrný.

U černozemě byla hodnota pH nejvyšší opět u půdy obsahující digestát, tato hodnota se během inkubace pohybovala kolem 8. Na začátku inkubace (mezi dnem 1 a dnem 7) mírně stoupala a na konci inkubace (mezi dnem 14 a dnem 21) mírně klesala. Hodnoty pH u ostatních půd byly opět nižší, ovšem na začátku inkubace (den 1) se tyto hodnoty u těchto tří zbylých půd lišily. Nejnižší hodnotu pH (pH kolem 7) na začátku inkubace měla půda s obsahem síranu amonného a nejvyšší (pH kolem 7,8) půda s L-cysteinem, kontrolní půda měla hodnotu pH někde mezi těmito dvěma hodnotami. Během dalších odběrů byla hodnota pH u všech těchto tří půd podobná, tedy mezi druhým (den 7) a posledním (den 21) odběrem mírně klesala.



● kontrola ■ (NH₄)₂SO₄ ▲ L-cystein ○ Digestát



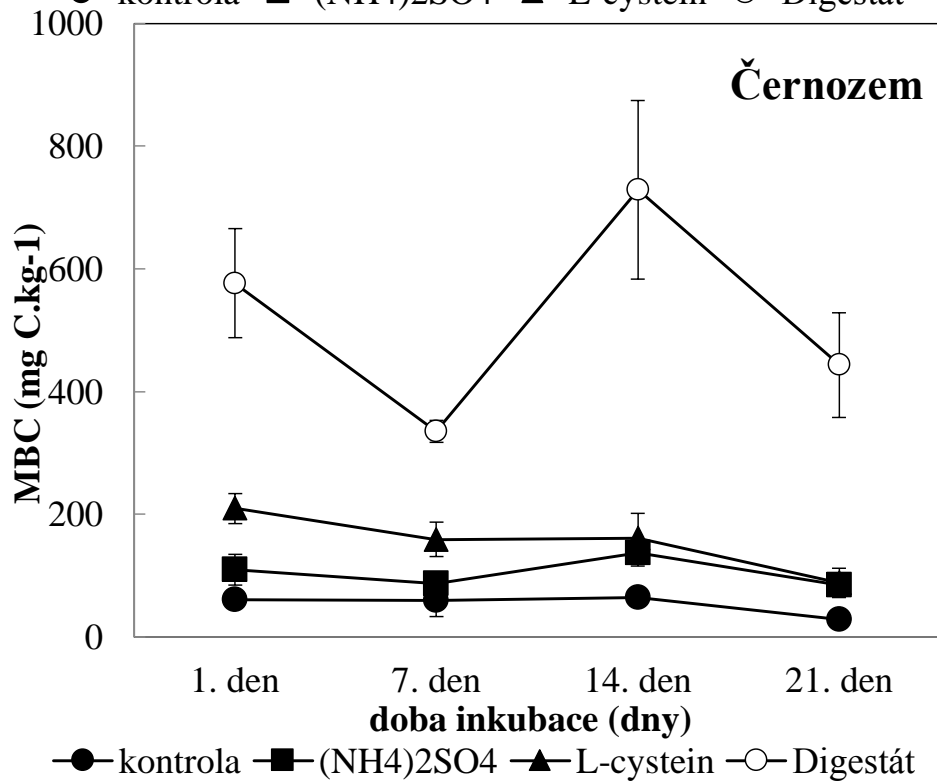
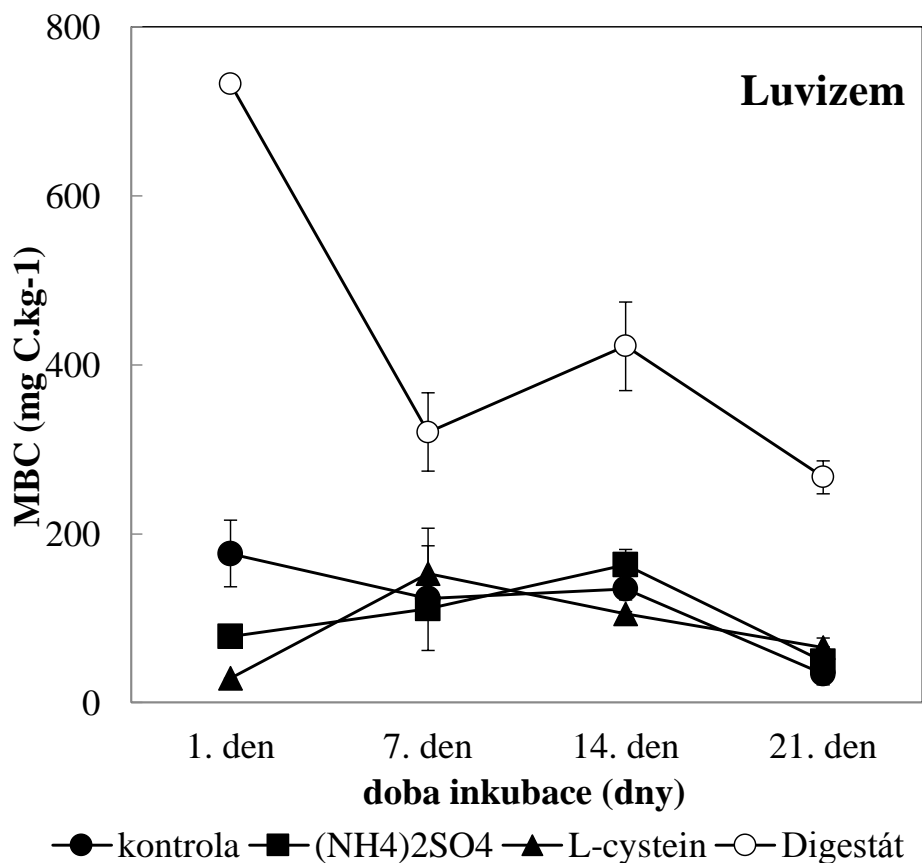
● kontrola ■ (NH₄)₂SO₄ ▲ L-cystein ○ Digestát

Obrázek 2. Hodnoty půdního pH během inkubačního experimentu. Uvedeny jsou aritmetické průměry a směrodatné odchylky, n=4.

5.6 Mikrobiální biomasa

Během inkubace bylo sledováno množství uhlíku mikrobiální biomasy poskytující informaci o množství mikrobiální biomasy během experimentu. Tyto výsledky jsou zaznamenané na obrázku 3. V luvizemi nejvyšší celkové množství mikrobiální biomasy bylo naměřeno v půdě, do které byl aplikován digestát a to na začátku inkubace (den 1), kdy hodnota dosahovala téměř k 800 mg C/kg. Nejnižší množství naopak bylo naměřeno v půdě, do které byl aplikován L-cystein také na začátku inkubace (den 1). Množství mikrobiální biomasy se zde blížilo nule. U ostatních variant bylo průměrné množství mikrobiální biomasy naměřeno mezi 50 – 200 mg C/kg. V půdě obsahující digestát množství mikrobiální biomasy klesl během druhého odběru (den 7) na hodnotu kolem 300 mg C/kg, během dalšího odběru (den 14) se zvýšil na hodnotu o něco vyšší než 400 mg C/kg a na konci inkubace (den 21) opět klesl na hodnotu kolem 230 mg C/kg. Ostatní varianty měly obsah mikrobiální biomasy odlišný během prvního dne inkubace, ovšem během dalších odběrů byly tyto hodnoty podobné. Podobné chování vykazovaly pokusné varianty na konci pokusu, tedy během posledního odběru (den 21), kdy byl naměřen mírný pokles mikrobiální biomasy.

V černozech je množství mikrobiální biomasy řádově podobné u jednotlivých variant jako v luvizemi. Její nejvyšší obsah je naměřen opět ve variantě, do které byl přidán digestát, ovšem nejvyšší hodnota (téměř 800 mg C/kg) je zaznamenána až ve třetím odběru. Množství mikrobiální biomasy je v této půdě v první den odběru kolem 600 mg C/kg, během druhého odběru (den 7) klesá pod 400 mg C/kg, ve třetím odběru (den 14) stoupá na nejvyšší hodnotu a poté (den 21) klesá na hodnotu mírně převyšující 400 mg C/kg. Množství mikrobiální biomasy u ostatních variant nepřevyšuje 200 mg C/kg, přičemž nejnižší hodnoty jsou naměřeny u kontroly během posledního odběru (den 21, kdy se blíží nule). Z těchto tří variant obsahovala nejvyšší množství mikrobiální biomasy (200 mg C/kg) ta varianta, do které byl přidán L-cystein. Všechny tyto tři varianty nevykazují téměř žádnou fluktuaci v množství mikrobiální biomasy během všech čtyř odběrů během inkubace.

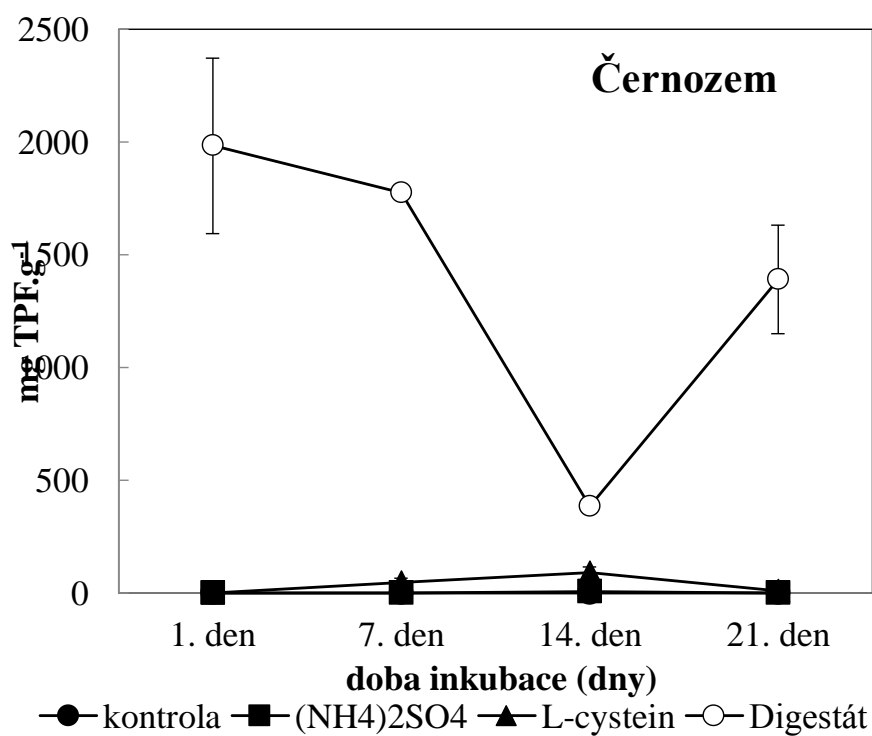
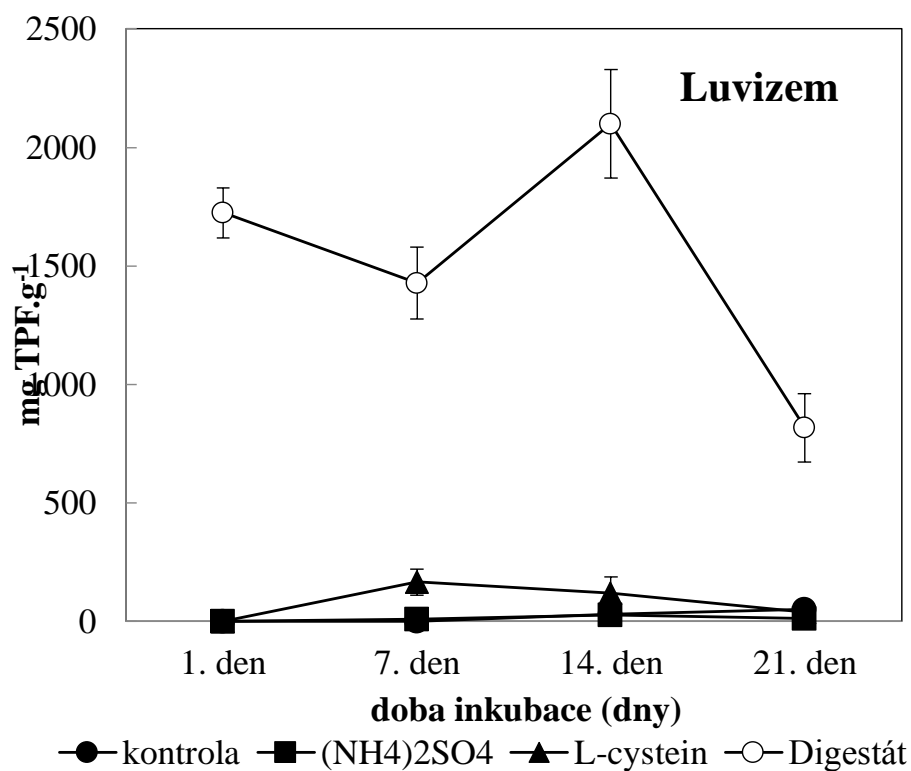


Obrázek 3. Množství uhlíku mikrobiální biomasy (MBC, mg C/kg) stanoveného během inkubačního experimentu. Uvedeny jsou aritmetické průměry a standardní odchylky, n=4.

5.7 Dehydrogenázová aktivita

Během inkubace byla měřena enzymová aktivita mikrobiálního společenstva. Enzym, jehož aktivita během experimentu byla měřena, je enzym dehydrogenáza (obrázek 4). Dehydrogenázová aktivita byla v luvizemi naměřená jednoznačně nejvyšší u půdy, do které byl přidán digestát. Zcela nejvyšší hodnota byla naměřena během třetího odběru (den 14), kdy dosahovala hodnoty kolem 2200 ng TPF/g. V prvním odběru (den 1) byla hodnota kolem 1800 ng TPF/g, ve druhém odběru (den 7) klesla na hodnotu 1500 ng TPF/g, ve třetím odběru dosáhl svého maxima a poté aktivita (den 21) klesla na nejnižší hodnotu kolem 800 ng TPF/g. Aktivita dehydrogenázy u ostatních půd se blížila nule s výjimkou půdy s obsahem L-cysteinu, kde byla aktivita ve druhém a třetím odběru (den 7 a 14) naměřena kolem 250 a 200 ng TPF/g.

U černoze byly výsledky podobné. Nejvyšší aktivita dehydrogenázy byla naměřena v půdě obsahující digestát. Absolutní maximum aktivity bylo naměřeno během prvního odběru (den 1), hodnota činila 2000 ng TPF/g. Maximální průměrná aktivita dehydrogenázy u černoze byla tedy nižší než u luvizemě. Ve druhém odběru (den 7) následoval mírný pokles na hodnotu přibližně 1800 ng TPF/g a ve třetím odběru (den 14) až na hodnotu kolem 300 ng TPF/g. Ve čtvrtém odběru (den 21) aktivita dehydrogenázy stoupla téměř až na hodnotu 1500 ng TPF/g. U ostatních variant se dehydrogenázová aktivita blížila nule, až na minimální nárůst aktivity u půdy obsahující L-cystein ve třetím odběru (den 14).



Obrázek 4. Dehydrogeázová aktivita (ng TPF/g) stanovená během inkubačního experimentu. Uvedeny jsou aritmetické průměry a standardní odchylky, n=4.

6 Diskuze

Efekt obou půdních typů a jednotlivých ošetření půdy na změny v množství mobilní rtuti je patrný z tabulky 2. V obou půdách je množství mobilní rtuti relativně nízké. Nízké procento mobilní rtuti i na extrémně kontaminované půdě kde vodorozpustné množství rtuti bylo nižší než 1,2% z celkového množství, pozorovali například také Rodriguez et al. (2010). Zhu et Zhong (2015) uvádějí, že rtuť by měla být nejméně mobilní v půdě s vysokým množstvím jílových mineálů a zároveň organické hmoty. Je tedy je překvapující, že efektivnější imobilizace rtuti je v luvizemi, kde je nižší kationtová výměnná kapacita a nižší obsah organických látek. Dvojitou funkci půdní organické hmoty během interakce se rtutí popsali Xu et al. (2015): organická hmota může zvýšit ale také snížit mobilitu rtuti v půdě podle toho, zda je organická hmota mobilní či nemobilní, rozpuštěná či nerozpuštěná. Organická hmota nerozpuštěná zvyšuje množství sorpčních míst, čímž může podpořit imobilizaci rtuti a tím zamezit jejím emisím z půdy. Podobně Gu et al. (2011) prokázali silnou interakci mezi redukovanými huminovými kyselinami a elementární rtutí prostřednictvím oxidativní komplexace vyvolané thiolovým ligandem. Na druhou stranu může půdní organická hmota zvýšit mobilitu rtuti prostřednictvím komplexace s rozpuštěnou organickou hmotou (Linde et al., 2007). Nicméně předchozí výsledky (Garcia-Sanchez et al, in press) ukázaly o něco vyšší procento rozpuštěné organické hmoty v luvizemi, tudíž je náš výsledek v rozporu s předchozím literárním zdrojem. To indikuje, že je velmi důležité znát detailní složení jednotlivých půd. Například Zhu et Zhong (2015) prokázali vyšší adsorpci rtuti na jílový minerál montmorillonit, který disponuje vyšším specifickým povrchem v porovnání s jinými jílovými minerály. Inhibiční efekt na biodostupnost rtuti v půdě byl umocněn přidáním humusových látek. Lee et al. (2009) ukázali klesající sorpci dvojmočné rtuti a fulvokyselin (komplexů) na povrchu muskovitu s narůstající hodnotou pH (od 3,7 do 12). Nejvyšší sorpční rychlost byla zaznamenána při pH 2. Stejně tak vyšší rozpustnost rtuti byla zaznamenána ve studii Liu et al. (2016) po přidání vápníku. Podobný výsledek je patrný z naší studie, kdy nejvyšší množství vápníku v půdě s digestátem způsobuje o něco vyšší mobilitu rtuti, ale pouze u luvizemě. Naše studované půdy obsahují různé minerální částice a tak různá sorpce a desorpce rtuti v půdě může být závislá na povaze těchto částic a zároveň variabilních fyzikálně-chemických podmínkách těchto půd.

Aplikace digestátu způsobuje nárůst mobilního množství rtuti v luvizemi s rostoucím trendem během inkubace. V černozech mobilní množství rtuti se chová odlišně vzhledem k jednotlivým ošetřením. Nejvyšší mobilita je pozorovaná u půdy ošetřené síranem amonným, která během inkubace stoupala. Zatímco v kontrolních půdách bylo množství mobilní rtuti relativně stabilní během inkubace, v půdách s obsahem organické síry (L-cystein, digestát), bylo její množství nižší a během inkubace klesalo. Senevirathna et al. (2011) studovali kinetiku desorpce dvojmocné rtuti z kaolinitu ovlivněném cysteinem, který inhiboval desorpci dvojmocné rtuti v závislosti na pH. Podobně Gondikas et al. (2010) zjistili, že cystein zvýšil koloidní stabilitu adsorpcí na povrch částic sulfidu rtuťnatého, přičemž koloidní stabilita byla podpořena při pH vyšším než 7. Jak je již dlouho známo, rtuť má vysokou afinitu k thiolovým skupinám proteinů (Velasco, 1999). Tím pádem je zřejmé, že organické kyseliny obsahující thiolovou skupinu, dokáží výrazně ovlivnit mobilitu rtuti v půdách. Biester et Zimmer (1998) naměřili narůstající koncentraci rtuti ve vodných extraktech poté, co byly přidány alkalické polysulfáty, čímž vznikly rozpustné sulfidy rtuti a mobilizací rtuti navázané na huminové kyseliny v činidle s vysokým pH. Stejně tak v našich výsledcích jsme zaznamenaly rozdílné chování mobilní rtuti po přidání organických a anorganických sirných sloučenin.

Významnou roli hraje samozřejmě rozdílné pH studovaných půd. Craw (2005) zjistil, že rtuť je nejmobilnější v kyselých půdách mezi hodnotou pH 3 a 4. Nicméně, neutralizací kyselých půd může také dojít k poklesu adsorpce a zvýšení mobility rtuti v půdě. V našem pokusu nebyl zaznamenán téměř žádný efekt na změnu pH půdy po přidání L-cysteinu a síranu amonného (obrázek 1). Společně s kontrolou se pH těchto půd pohybovalo přibližně na neutrální hodnotě. Gudmundsson et al. (2004) pozorovali, že síran amonný snižuje půdní pH, avšak vysoké množství půdní organické hmoty či jílu, může tento efekt inhibovat (Chien et al., 2008). Právě tento efekt se mohl vyskytnout i v našem experimentu. Zvýšení půdního pH bylo zaznamenáno v půdě ošetřené digestátem, přičemž vyšší nárůst byl naměřen v luvizemi v porovnání s černozech. To by mohlo vysvětlit nárůst množství mobilní rtuti v této variantě.

Mobilita mikroživin (tabulka 2) je závislá na přítomnosti jednotlivých sirných sloučenin. U mědi, manganu a zinku se jejich mobilní množství po přidání síranu amonného nemění v porovnání s kontrolou. Aplikací L-cysteinu a digestátu se zvýšila koncentrace mobilních prvků, jejichž množství narůstalo během inkubace. Co se týče digestátu, narůstající množství mobilních prvků může být v půdě získáno právě z něj. Nicméně nárůst mobility železa a zinku

během inkubace indikuje komplexní sorpci a desorpci mezi jednotlivými prvky a organickými a minerálními půdními částicemi. Efekt L-cysteinu ve zvýšení mobility zinku a železa je podstatnější v porovnání s digestátem. Cystein je schopný oddělit prvky spojené s jílovými minerály. V tomto případě je známo, že železo hraje významnou roli v oxidaci cysteinu prostřednictvím redukce rozpuštěných oxidů železa (Vadas et Ahner, 2009).

Co se týče makroživin, podle očekávání způsobila aplikace sloučenin obsahujících vysoké množství síry zvýšenou mobilitu síry v půdě. U jednotlivých ošetření bylo množství mobilní rtuti jiné (tabulka 3). V luvizemi mobilita síry klesala po aplikaci L-cysteinu a digestátu. Podobné výsledky publikovali Kot et al. (2007), kteří došli k závěru, že rtuť může být imobilizována nově vzniklými sirnými funkčními skupinami v huminových kyselinách. Zvýšené množství dalších živin bylo nejpodstatnější v půdě s digestátem, což potvrzuje vysoké množství těchto živin v tomto materiálu (viz výše).

Množství metylrtuti narostlo v obou půdách ošetřených L-cysteinem a digestátem. Podobně Park et al. (2011) zaznamenali, že hlavním donorem metylu v půdě jsou organické látky, konkrétně látky huminové. U luvizemi bylo množství metylrtuti variabilnější v rámci jedné varianty v porovnání s černozemí, což značí variabilnější interakci mezi vodní a pevnou fází v luvizemi v porovnání s černozemí. Frohne et al. (2012) demonstrovali roli poměru rozpuštěné organické hmoty a rtuti během metylace rtuti. Pozitivní efekt byl zaznamenán mezi rozpuštěnou organickou hmotou a metylací rtuti ve vodním prostředí (Graham et al., 2012). Právě luvizem obsahovala větší množství rozpuštěné organické hmoty v porovnání s černozemí i dle předchozích výsledků (Garcia-Sanchez, in press), což mohlo způsobit vyšší mobilitu a nestálost metylrtuti v luvizemi. Nicméně Graham et al. (2012) nezjistili žádný vliv na zvýšení metylace rtuti v roztoku se rtutí, rozpuštěnou organickou hmotou a sírou s přidavkem L-cysteinu, což je v rozporu s našimi výsledky. Naopak Xu et al. (2015) shrnuli, že vyšší afinitu má anorganická rtuť k půdní organické hmotě než organické sloučeniny rtuti. Nicméně nižší množství metylrtuti bylo zaznamenáno v černozemi, která je charakteristická vyšším množstvím oxidovatelného uhlíku, což by mělo znamenat nižší rychlost metylace v této půdě nebo efektivnější imobilizaci rtuti a méně dostupný zdroj rtuti pro biometylaci.

Výsledky stanovení plynné elementární rtuti jsou zaznamenány v tabulce 4. Vysoká koncentrace elementární rtuti v kontrolní půdě a půdě ošetření síranem amonným je patrná především v černozemi, zatímco v luvizemi je patrný klesající trend v koncentraci elementární

rtuti během inkubace. Obrist et al. (2010) dokázali, že volatilizace rtuti a možná redukce dvojmocné formy rtuti je závislá na dostupnosti kyslíku v půdě. Proto byl, kvůli respiraci půdního uhlíku v půdách, zaznamenán významný vztah mezi emisí plynné rtuti z půdy a respirací oxidu uhličitého. Významným faktorem mikrobiálního rozkladu organické hmoty je i povaha dané hmoty. Yu et al. (2012) zkoumal rozklad organické hmoty adsorbované na vnitřní povrch smektitu. Zjistil, že adsorpce organické hmoty na tyto povrchy může znepřístupnit organickou hmotu mikrobiálnímu rozkladu. Tím pádem je rychlost volatilizace rtuti závislá jak na mikrobiální aktivitě tak dostupnosti organické hmoty. Nárůst volatilizace rtuti s nárůstem půdního pH byla zkoumána Yang et al (2007) a také Ma et al. (2015) ovšem tyto výsledky se neshodují s těmi našimi. Nejvíce pravděpodobné je, že rozdíly mezi hodnotami pH obou půd a efekty jednotlivých ošetření jsou příliš nízké, aby se tento efekt projevil.

Volatilizace rtuti půdními mikroorganismy se zdá být velmi rychlá, neboť je patrná již při prvních hodinách expozice (Sorkhoh et al., 2010). Pokud je rtuť v terestrických a vodních ekosystémech přítomná v nízkých koncentracích, navázání rtuti do vysoko afinních míst bakterií může mít významný efekt na potenciální redukci dvojmocné rtuti na elementární formu. Tím pádem dojde ke zvýšení mobility rtuti ve vodních i terestrických ekosystémech (Mishra et al., 2011). Sorkhoh et al. (2010) zjistili, že volatilizace rtuti zahrnující redukci dvojmocné rtuti na elementární rtuť, se vyskytuje u té samé bakteriální buňky, kde hydroxyláza pohlcuje molekuly kyslíku během využití uhlovodíků. To znamená, že obsahují anaerobní cytoplasmatická místa vhodná pro redukci dvojmocné rtuti. Naopak, Windmüller et al. (2015) zjistili narůstající oxidaci elementární rtuti v přítomnosti organické hmoty a omezení redukce dvojmocné rtuti. Tito autoři také vysvětlili interakci rtuti s půdní hmotou jako komplexy dvojmocné rtuti v rámci organických sirných strukturních ligandů, případně nespecifickou adsorpcí na oxidy železa, hliníku a manganu. Tyto procesy se zdají být významnými i v tomto experimentu.

Stanovením uhlíku mikrobiální biomasy i dehydrogenázové aktivity (obrázky 3 a 4) ukazují podobné projevy u všech ošetření s výjimkou digestátu. Nízká mikrobiální aktivita reprezentovaná nízkou dehydrogenázovou aktivitou, až k detekčnímu limitu, zanedbával Shaule (1996) v půdě kontaminované rtutí. Podně i Tazisong et al. (2012) referovali o snížené půdní respiraci, amidohydrolázové a fosfatázové aktivitě způsobené rtutí při koncentraci 100 mg/kg. Vyšší toxicitu rtuti, v porovnání s dalšími prvky (např. Cd, Ni a Zn) působící na

mikrobiální společenstvo, zaznamenali také Nweke et al. (2007). V našem případě přidavek síranu amonného a L-cysteinu, nezpůsobil signifikantní podporu mikrobiální aktivity v půdě. Opačný efekt je ovšem zřejmý u půdy s přidavkem digestátu. V tomto případě došlo přidavkem organické látky k rychlému nárůstu mikrobiální aktivity v půdě, podobně jako v jiných studiích (Liu et al., 2009). Důvodem také může být podpora nárůstu mikroorganismů rezistentních vůči vysoké koncentraci těžkého kovu, například bakterií oxidujících železo a síru, jak bylo zaznamenáno ve studii Valls et De Lorenzo (2002). Přídavky látek bohatých na dusík (např. prasečí kejda), mohou vést v kontaminovaných půdách k rychlejší nitrifikaci a imobilizaci dusíku v porovnání se síranem amonným. Ten zlepšuje mikrobiální aktivitu v půdě (de la Fuente et al. 2010). To je patrné i v našem případě. Zvýšení mikrobiální biomasy v půdě ošetřené digestátem jako snadno dostupným zdrojem organické hmoty pozorovali také García-Sánchez et al. (in press) v půdě několikanásobně více kontaminované rtutí ve srovnání s naším pokusem.

7 Závěr

Tento inkubační experiment prokázal změny v chování rtuti v různých půdách po přidavku jednotlivých sloučenin obsahujících síru. Nejvýraznější změny byly prokázány po přidavku anaerobního digestátu. Ten nejenže zlepšil fyzikálně-chemické a biotické půdní vlastnosti dodáním živin a organických látek do půdy, ale také výrazně ovlivnil speciaci a mobilitu rtuti v půdě. Po jeho přidavku do půdy se významně snížila volatilizace rtuti a zvýšilo se množství metylrtuti v půdě. Digestát tedy dokáže snížit množství rtuti unikající z půdy, čehož je možné prakticky využít během remediací půd kontaminovaných rtutí. Nejvíce podobný, ale přesto o něco nižší efekt na chování rtuti v půdě byl zaznamenán u L-cysteinu. Ten však, na rozdíl od digestátu, neměl pozitivní vliv na nárůst a aktivitu mikrobiální biomasy a dalších půdních vlastností. Digestát tedy sloužil zároveň jako účinný biostimulant. To znamená, že během remediací rtuti hrají nejvýznamnější roli organické látky v porovnání s anorganickými, ovšem pro komplexní zlepšení půdních vlastností a zároveň účinnou remediaci, je vhodné zvolit právě látku jakou je digestát.

Závěrem lze říci, že jsme potvrdili hypotézu, že digestát bude nejefektivnější přidávanou sirnou látkou během remediací půdy kontaminované rtutí, v porovnání s dalšími sloučeninami. Tento závěr poskytuje možnost jeho praktického využití a nese sebou významná pozitiva. Použitím digestátu se sníží únik rtuti z půdy, zvýší se mikrobiální biomasa v půdě a zároveň její aktivita. Využití digestátu také poskytuje možnost znovuvyužití vznikajících odpadů z anaerobní digesce a eliminace jejich ukládání na skládky případně jejich kompostování.

Ovšem pro další výzkum doporučuji provést dlouhodobější experimenty, které by prokázaly, jak se bude chovat rtuť po přidavku digestátu po delší době a třeba i ve střídajících se teplotách prostředí, alespoň částečně simulujících střídání ročních období léto/zima. Dále je třeba zvolit kombinaci dalších remedičních postupů společně s aplikací digestátu, která by zaručila eliminaci rtuti či její úplnou nedostupnost pro živé organismy. V neposlední řadě vidím v tomto výzkumu velký potenciál pro studium změn složení mikrobiálního společenstva. To může poskytnout například informaci o tom, zda přídavek digestátu nepodpoří po delší době přítomnost tzv. mikrobiálních *K*-strategů, které by nedostupné organokovové komplexy začali rozkládat a zvýšili tak volatilizaci rtuti z půdy do ovzduší.

8 Seznam literatury

1. Adriano, D. C., Wenzel, W. W., Vangronsveld, J., Bolan, N. S. (2004). Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma*, 122(2-4 SPEC. IIS.), 121–142.
2. Agnello, A. C., Bagard, M., Hullebusch, E. D. Van, Esposito, G., Huguenot, D. (2015). Science of the Total Environment Comparative bioremediation of heavy metals and petroleum hydrocarbons co-contaminated soil by natural attenuation , phytoremediation , bioaugmentation and bioaugmentation-assisted phytoremediation. *Science of the Total Environment*.
3. Amirbahman, A., Kent, D. B., Curtis, G. P., Marvin-Dipasquale, M. C. (2013). Kinetics of homogeneous and surface-catalyzed mercury(II) reduction by iron(II). *Environmental Science and Technology*, 47(13)
4. Antoniadis, V., Robinson, J. S., Alloway, B. J. (2008). Effects of short-term pH fluctuations on cadmium , nickel , lead , and zinc availability to ryegrass in a sewage sludge-amended field, 71, 759–764.
5. Bauer, T. V, Minkina, T. M., Pinski, D. L., Mandzhieva, S. S., Sushkova, S. N. (2015). Adsorption of copper by ordinary and southern chernozems from solutions of different salts. *Journal of Geochemical Exploration*, 8–13.
6. Bernstad, A., la Cour Jansen, J. (2011). A life cycle approach to the management of household food waste - A Swedish full-scale case study. *Waste Management*, 31(8), 1879–1896.
7. Biester, H., Zimmer, H. (1998). Solubility and changes of mercury binding forms in contaminated soils after immobilization treatment. *Environmental Science & Technology* 32, 2755-2762.
8. Bravo, S., Amorós, J. A., Pérez-de-los-Reyes, C., García, F. J., Moreno, M. M., Sánchez-Ormeño, M., Higuera, P. (2015). Influence of the soil pH in the uptake and bioaccumulation of heavy metals (Fe, Zn, Cu, Pb and Mn) and other elements (Ca, K, Al, Sr and Ba) in vine leaves, Castilla-La Mancha (Spain). *Journal of Geochemical Exploration*.
9. Casucci, C., Okeke, B. C., Frankenberger, W. T. (2003). Effects of mercury on microbial biomass and enzyme activities in soil. *Biological Trace Element Research*, 94(2), 179–191.
10. Craw, D. (2005). Potential anthropogenic mobilisation of mercury and arsenic from soils on mineralised rocks, Northland, New Zealand. *Journal of Environmental Management* 74, 283-292
11. Da, E., Nahmani, J., Lapied, E., Alphonse, V., Garnier-zarli, E., Bousserhine, N. (2015). Toxicity of mercury to the earthworm *Pontoscolex corethrurus* in a tropical soil of French Guiana. *Applied Soil Ecology*.
12. de la Fuente, C., Clemente, R., Martinez, J., Bernal, M.P. (2010). Optimization of pig slurry application to heavy metal polluted soils monitoring nitrification processes. *Chemosphere* 81, 603-610
13. Egli, M., Sartori, G., Mirabella, A., Giaccari, D., Favilli, F., Scherrer, D., Delbos, E. (2010). Science of the Total Environment The influence of weathering and organic matter on heavy metals lability in silicatic , Alpine soils. *Science of the Total Environment*, The, 408(4), 931–946.
14. Evangelisti, S., Lettieri, P., Borello, D., Clift, R. (2014). Life cycle assessment of energy from waste via anaerobic digestion: A UK case study. *Waste Management*, 34(1), 226–237.
15. Fernandez-Martinez, R., Larios, R., Gomez-Pinilla, I., Gomez-Mancebo, B., Lopez-Andres, S., Loreda, J., Rucandio, I. (2015). Mercury accumulation and speciation in plants and soils from abandoned cinnabar mines. *Geoderma*, 253-254, 30–38.
16. Frohne T., Rinklebe J., Langer U., Du Laing G., Mothes S., Wennrich R. Biogeochemical factors affecting mercury methylation rate in two contaminated floodplain soils. *Biogeosciences*, 9, 493–507

17. Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F., (1997). Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Communication in Soil Science and Plant Analysis* 28, 123-34.
18. García-Sánchez M., Holečková Z, Klouza M, Tlustoš P, Száková J. Influence of digestate and wood ash on biological properties and microbial activities of 2 mercury-polluted soils. Submitted to *BioMed Research International*.
19. Garcia-Sanchez, M., Garcia-Romera, I., Cajthaml, T., Tlustoš, P., Száková, J. (2015). Changes in soil microbial community functionality and structure in a metal-polluted site: The effect of digestate and fly ash applications. *Journal of Environmental Management*, 162(March 2016), 63–73.
20. García-Sánchez, M., Šípková, A., Száková, J., Kaplan, L., Ohecová, P., Tlustoš, P. (2014). Applications of organic and inorganic amendments induce changes in the mobility of mercury and macro- and micronutrients of soils. *Scientific World Journal*, 2014. 1-11
21. Gondikas A.P., Jang E.K., Hsu-Kim H. (2010). Influence of amino acids cysteine and serine on aggregation kinetics of zinc and mercury sulfide colloids. *Journal of Colloid and Interface Science* 347, 167–171
22. Gong, Y., Tang, J., Zhao, D. (2016). Application of iron sulfide particles for groundwater and soil remediation: A review. *Water Research*, 89, 309–320.
23. Gong, Z., Alef, K., Wilke, B. M., Mai, M., Li, P. (2005). Assessment of microbial respiratory activity of a manufactured gas plant soil after remediation using sunflower oil. *Journal of Hazardous Materials*, 124(1-3), 217–223.
24. Graham, A.M., Aiken, G.R., Gilmour, C.C. (2012). Dissolved organic matter enhances microbial mercury methylation under sulfidic conditions. *Environmental Science & Technology* 46, 2715-2723.
25. Grandjean, P. (2007). Methylmercury toxicity and functional programming. *Reproductive Toxicology*, 23(3), 414–420.
26. Gregorich, E. G., Carter, M. R., Angers, D. A., Monreal, C. M., Ellert, B. H. (1994). Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Canadian Journal Soil Science*, 74, 367–385.
27. Gu B., Bian Y., Miller C.L., Dong W., Jiang X., Liang L. (2011). Mercury reduction and complexation by natural organic matter in anoxic environments. *PNAS* 108, 1479–1483.
28. Gu, Y.-G., Gao, Y.-P., Lin, Q. (2016). Contamination, bioaccessibility and human health risk of heavy metals in exposed-lawn soils from 28 urban parks in southern China's largest city, Guangzhou. *Applied Geochemistry*.
29. Gudmundsson, T., Bjornsson, H., Thorvaldsson, G. (2004). Organic carbon accumulation and pH changes in an Andic Gleysol under a long-term fertilizer experiment in Iceland. *Catena* 56, 213-224.
30. Gzyl, J. (1999). Soil protection in Central and Eastern Europe, *Journal of Geochemical Exploration* 66, 333–337.
31. Hesterberg, D., Chou, J. W., Hutchison, K. J., Sayers, D. E. (2001). Bonding of HG(II) to reduced organic sulfur in humic acid as affected by S/Hg ratio. *Environmental Science and Technology*, 35(13), 2741–2745.
32. Chakraborty, P., Sarkar, A., Vudamala, K., Naik, R., Nath, B. N. (2014). Organic matter - A key factor in controlling mercury distribution in estuarine sediment. *Marine Chemistry*, 173, 302–309.
33. Chandrasekaran, A., Ravisankar, R. (2015). Spatial distribution of physico-chemical properties and function of heavy metals in soils of Yelagiri hills, Tamilnadu by energy dispersive X-ray fluorescence spectroscopy (EDXRF) with statistical approach. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 150, 586–601.
34. Chen, H., Yuan, X., Li, T., Hu, S., Ji, J., Wang, C. (2016). Characteristics of heavy metal transfer and their influencing factors in different soil–crop systems of the industrialization region, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 126, 193–201.

35. Chien, S.H., Gearhart, M.M., Collamer, D.J. (2008). The effect of different ammonical nitrogen sources on soil acidification. *Soil Science* 173, 544-551
36. Janoš, P., Vávrová, J., Herzogová, L., Pilařová, V. (2010). Effects of inorganic and organic amendments on the mobility (leachability) of heavy metals in contaminated soil: A sequential extraction study. *Geoderma*, 159(3-4), 335–341.
37. Jean, G.E., Bancroft, G.M., (1986). Heavy metal adsorption by sulphide mineral surfaces. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 50 (7), 1455-1553
38. Joergensen, R. G., Wu, J., Brookes, P. C. (2011). Measuring soil microbial biomass using an automated procedure. *Soil Biology and Biochemistry*, 43(5), 873–876.
39. Kavamura, V. N., Esposito, E. (2010). Biotechnological strategies applied to the decontamination of soils polluted with heavy metals. *Biotechnology Advances*, 28(1), 61–69.
40. Kim, E. A., Luthy, R. G. (2011). Partitioning of dissolved organic matter-bound mercury between a hydrophobic surface and polysulfide-rubber polymer. *Water Research*, 45(17), 5441–5448.
41. Kim, K.-H., Kim, M.-Y. (2002). Mercury emissions as landfill gas from a large-scale abandoned landfill site in Seoul. *Atmos. Environ.*, 36(31), 4919–4928.
42. Kot F.S., Rapoport V.L., Kharitonova G.V. (2007). Immobilization of soil mercury by colloidal sulphur in the laboratory experiment. *Centr. Eur. J. Chem.* 5, 846–857
43. Lee, I. S., Kim, O. K., Chang, Y. Y., Bae, B., Kim, H. H., Baek, K. H. (2002). Heavy metal concentrations and enzyme activities in soil from a contaminated Korean shooting range. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 94(5), 406–411.
44. Lee, S.S., Nagy, K.L., Park, C., Fenter, P. (2009). Enhanced uptake and modified distribution of mercury(II) by fulvic acid on the muscovite (001) surface. *Environmental Science & Technology* 43, 5295-5300.
45. Lewis, A. S., Huntington, T. G., Marvin-DiPasquale, M. C., Amirbahman, A. (2016). Mercury remediation in wetland sediment using zero-valent iron and granular activated carbon. *Environmental Pollution*, 212, 366–373.
46. Li, J., Lu, Y., Shim, H., Deng, X., Lian, J., Jia, Z., Li, J. (2010). Use of the BCR sequential extraction procedure for the study of metal availability to plants. *Journal of Environmental Monitoring : JEM*, 12(2), 466–471.
47. Linde M., Öborn I., Gustafsson J.P. (2007). Effects of changed soil conditions on the mobility of trace metals in moderately contaminated urban soils. *Water Air Soil Pollut* 183:69–83
48. Liu, M., Hu, F., Chen, X., Huang, Q., Jiao, J., Zhang, B., Li, H., (2009). Organic amendments with reduced chemical fertilizer promote soil microbial development and nutrient availability in a subtropical paddy field: The influence of quantity, type and application time of organic amendments. *Appl. Soil Ecol.* 42: 166-75.
49. Liu, R., Wang, M., Chen, W., Peng, C. (2016). Spatial pattern of heavy metals accumulation risk in urban soils of Beijing and its influencing factors. *Environmental Pollution*, 210, 174–181.
50. Luo, Y., Duan, L., Xu, G., Hao, J. (2015). Inhibition of mercury release from forest soil by high atmospheric deposition of Ca²⁺ and SO₄²⁻. *Chemosphere*, 134, 113–119.
51. Ma, F., Peng, C., Hou, D., Wu, B., Zhang, Q., Li, F., Gu, Q. (2015). Citric acid facilitated thermal treatment: An innovative method for the remediation of mercury contaminated soil. *Journal of Hazardous Materials*, 300, 546–552.
52. Mehlich, A. (1984). Mehlich 3 Soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant, *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 15, 1409–1416.
53. Meng, M., Li, B., Shao, J., Wang, T., He, B., Shi, J., Jiang, G. (2014). Accumulation of total mercury and methylmercury in rice plants collected from different mining areas in China. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*, 184, 179–86.
54. Mingorance, M. D., Barahona, E., Fernandez-Galvez, J. (2007). Guidelines for improving organic carbon recovery by the wet oxidation method. *Chemosphere*, 68(3), 409–413.

55. Minkina, T. M., Pinskiy, D. L., Bauer, T. V, Mandzhieva, S. S., Belyaeva, O. N., Kalinichenko, V. P., Endovitsky, A. P. (2014). Effect of attendant anions on zinc adsorption and transformation in chernozem. *Journal of Geochemical Exploration*, 144, 226–229.
56. Mishra, B., O'Loughlin, E.J., Boyanov, M.I., Kemner, K.M. (2011). Binding of Hg-II to High-Affinity Sites on Bacteria Inhibits Reduction to Hg-0 by Mixed Fe-II/III Phases. *Environmental Science & Technology*. 45, 9597-9603.
57. Nguyen, V. K., Lee, J. (2015). Effect of sulfur concentration on microbial removal of arsenic and heavy metals from mine tailings using mixed culture of *Acidithiobacillus* spp . *Journal of Geochemical Exploration*, 148, 241–248.
58. Nweke C.O., Ntinugwa C., Obah I.F., Ike S.C., Eme G.E., Opara E.C., Okolo J.C., Nwanyanwu C.E. (2007). In vitro effects of metals and pesticides on dehydrogenase activity in microbial community of cowpea (*Vigna unguiculata*) rhizoplane. *African Journal of Biotechnology* 6, 290-295
59. Obrist D., Faïn X., Berger C. (2010). Gaseous elemental mercury emissions and CO₂ respiration rates in terrestrial soils under controlled aerobic and anaerobic laboratory conditions. *Science of the Total Environment* 408, 1691–1700
60. Pandey, S. K., Kim, K.-H., Brown, R. J. C. (2011). Measurement techniques for mercury species in ambient air. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(6), 899–917.
61. Park, C. M., Katz, L. E., Liljestrand, H. M. (2015). Mercury speciation during in situ thermal desorption in soil. *Journal of Hazardous Materials*, 300, 624–632.
62. Park, J. H., Lamb, D., Paneerselvam, P., Choppala, G., Bolan, N., Chung, J. W. (2011). Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 185(2-3), 549–574.
63. Peralta-Videa, J. R., Lopez, M. L., Narayan, M., Saupe, G., Gardea-Torresdey, J. (2009). The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 41(8-9), 1665–1677.
64. Piao, H., Bishop, P. L. (2006). Stabilization of mercury-containing wastes using sulfide, *Environmental pollution* 139, 498–506.
65. Pivato, A., Vanin, S., Raga, R., Lavagnolo, M. C., Barausse, A., Rieple, A., Cossu, R. (2015). Use of digestate from a decentralized on-farm biogas plant as fertilizer in soils: An ecotoxicological study for future indicators in risk and life cycle assessment. *Waste Management*.
66. Qiu, G., Feng, X., Wang, S., Shang, L. (2006). Environmental contamination of mercury from Hg-mining areas in Wuchuan, northeastern Guizhou, China. *Environmental Pollution*, 142(3), 549–558.
67. Quevauviller, P., Ure, A., Muntau, H., Griepink, B. (1993). Improvement of analytical measurements within the BCR-program – Single and sequential extraction procedures applied to soil and sediment analysis. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 51, 129-134.
68. Reis, A. T., Lopes, C. B., Davidson, C. M., Duarte, A. C., Pereira, E. (2015). Extraction of available and labile fractions of mercury from contaminated soils: The role of operational parameters. *Geoderma*, 259-260, 213–223.
69. Rieder, S. R., Frey, B. (2013). Methyl-mercury affects microbial activity and biomass, bacterial community structure but rarely the fungal community structure. *Soil Biology and Biochemistry*, 64, 164–173.
70. Rodrigues S.M., Henriques B., Coimbra J., Ferreira da Silva E., Pereira M.E, Duarte A.C. (2010). Water-soluble fraction of mercury, arsenic and other potentially toxic elements in highly contaminated sediments and soils. *Chemosphere* 78: 1301–1312
71. Senevirathna W.U., Zhang H., Gu B. (2011). Effect of carboxylic and thiol ligands (oxalate, cysteine) on the kinetics of desorption of Hg(II) from kaolinite. *Water Air Soil Pollut* 215: 573–584

72. Shaheen, S. M., Tsadilas, C. D., Rinklebe, J. (2013). A review of the distribution coefficients of trace elements in soils: Influence of sorption system, element characteristics, and soil colloidal properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 201-202, 43–56.
73. Schaule, G., Griebe, T., Hempel, M. (1996) Microbial activity and the biological potential for the formation of organomercurials in soil. In: Sand, W. (Ed.). *Biodeterioration and Biodegradation*, Dechema Monographs, Vol. 133, Frankfurt and Weinheim, 523-528
74. Singh, R. P., Agrawal, M. (2010). Ecotoxicology and Environmental Safety Variations in heavy metal accumulation , growth and yield of rice plants grown at different sewage sludge amendment rates *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(4), 632–641.
75. Siudek, P., Kurzyca, I., Siepak, J. (2016). Atmospheric deposition of mercury in central Poland: Sources and seasonal trends. *Atmospheric Research*, 170, 14–22.
76. Sorkhoh N.A., Ali N., Dashti N., Al-Mailem D.M., Al-Awadhi H., Eliyas M., Radwan S.S. (2010). Soil bacteria with the combined potential for oil utilization, nitrogen fixation, and mercury resistance. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64 226-231
77. Sun, Y., Xu, Y., Xu, Y., Wang, L., Liang, X., Li, Y. (2016). Reliability and stability of immobilization remediation of Cd polluted soils using sepiolite under pot and field trials. *Environmental Pollution*, 208, 739–746.
78. Száková J., Havlíčková J., Šípková A., Gabriel J., Švec K., Baldrian P., Sysalová J., Coufalík P., Červenka R., Zvěřina O., Komárek J., Tlustoš P. (2016). Effects of the soil microbial community on mobile proportions and speciation of mercury (Hg) in contaminated soil, *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 0, 1-7
79. Száková J., Krýčková M., Tlustoš P., (2015), The risk element contamination level in soil and vegetation at the former deposit of galvanic sludges, *JOURNAL OF SOILS AND SEDIMENTS*, 16, 924–938
80. Tampio, E., Salo, T., Rintala, J. (2016). Agronomic characteristics of five different urban waste digestates. *Journal of Environmental Management*, 169, 293–302.
81. Tang, W., Cheng, J., Zhao, W., Wang, W. (2015). Mercury levels and estimated total daily intakes for children and adults from an electronic waste recycling area in Taizhou, China: Key role of rice and fish consumption. *Journal of Environmental Sciences*, 34, 107–115.
82. Tazisong, I.A., Senwo, Z.N., Williams, M.I. (2012). Mercury speciation and effects on soil microbial activities. *Journal of Environmental Science and Health Part A-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering* 47, 854-862
83. Tóth, G., Hermann, T., Da Silva, M. R., Montanarella, L. (2016). Heavy metals in agricultural soils of the European Union with implications for food safety. *Environment International*, 88, 299–309.
84. Ullah, A., Heng, S., Farooq, M., Munis, H., Fahad, S., Yang, X. (2015). Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria : A review. *Environmental and Experimental Botany*, 117, 28–40.
85. Vadas, T.M., Ahner, B.A. (2009). Extraction of lead and cadmium from soils by cysteine and glutathione. *Journal of Environmental Quality* 38, 2245-2252.
86. Valls, M., De Lorenzo, V. (2002). Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. *FEMS Microbiology Reviews*, 26(4), 327–338.
87. Velasco, A., Acebo, P., Flores, N., Perera, J. (1999). The mer operon of the acidophilic bacterium *Thiobacillus* T3.2 diverges from its *Thiobacillus ferrooxidans* counterpart. *Extremophiles*, 3(1), 35–43.
88. Wang, J., Feng, X., Anderson, C. W. N., Xing, Y., Shang, L. (2012). Remediation of mercury contaminated sites - A review. *Journal of Hazardous Materials*, 221-222, 1–18.
89. Wang, Q. Y., Zhou, D. M., Cang, L., Li, L. Z., Wang, P. (2009). Solid/solution Cu fractionations/speciation of a Cu contaminated soil after pilot-scale electrokinetic remediation and their relationships with soil microbial and enzyme activities. *Environmental Pollution*, 157(8-9), 2203–2208.

90. Wang, T., Sun, H., Mao, H., Zhang, Y., Wang, C., Zhang, Z., Sun, L. (2014). The immobilization of heavy metals in soil by bioaugmentation of a UV-mutant bacillus subtilis 38 assisted by novoGro biostimulation and changes of soil microbial community. *Journal of Hazardous Materials*, 278, 483–490.
91. Windmüller C.C., Durão Júnior W.A., de Oliveira A., doValle C.M. (2015). The redox processes in Hg-contaminated soils from Descoberto (Minas Gerais, Brazil): Implications for the mercury cycle. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 112, 201–211
92. Xu, J., Bravo, A. G., Lagerkvist, A., Bertilsson, S., Sjöblom, R., Kumpiene, J. (2015). Sources and remediation techniques for mercury contaminated soil. *Environment International*, 74C, 42–53.
93. Yang Y., Zhang C., Shi X., Lin T., Wang D. (2007) Effect of organic matter and pH on mercury release from soils. *Journal of Environmental Sciences* 19, 1349–1354
94. Yang, L., Huang, B., Hu, W., Chen, Y., Mao, M., Yao, L. (2014). The impact of greenhouse vegetable farming duration and soil types on phytoavailability of heavy metals and their health risk in eastern China. *Chemosphere*, 103, 121–130.
95. Yao, Z., Li, J., Xie, H., Yu, C. (2012). Review on Remediation Technologies of Soil Contaminated by Heavy Metals. *Procedia Environmental Sciences*, 16, 722–729.
96. Yu, B.S., Dong, H.L., Han, P.Y. (2012). Experimental research on microbial degradation of organic matter adsorbed in smectite internal surface area in the interlayer of the structure. *Acta Petrologica Sinica* 28, 949-960.
97. Zagury, G. J., Neculita, C.-M., Bastien, C., Deschênes, L. (2006). Mercury fractionation, bioavailability, and ecotoxicity in highly contaminated soils from chlor-alkali plants. *Environmental Toxicology and Chemistry / SETAC*, 25(4), 1138–1147.
98. Zeng, F., Ali, S., Zhang, H., Ouyang, Y., Qiu, B., Wu, F., Zhang, G. (2011). The influence of pH and organic matter content in paddy soil on heavy metal availability and their uptake by rice plants. *Environmental Pollution*, 159(1), 84–91.
99. Zeng, X., Xu, X., Boezen, H. M., Huo, X. (2016). Children with health impairments by heavy metals in an e-waste recycling area. *Chemosphere*, 148, 408–415.
100. Zhu, D., Zhong, H. (2015). ScienceDirect Potential bioavailability of mercury in humus-coated clay minerals. *JES*, 36, 48–55.